

María Zapata García

Impacto de antibióticos,
corticosteroides y microbiota en la
eficacia de la inmunoterapia en
pacientes con cáncer de pulmón
no célula pequeña

Director/es

Lastra Del Prado, Rodrigo
Paño Pardo, José Ramón

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

IMPACTO DE ANTIBIÓTICOS,
CORTICOSTEROIDES Y MICROBIOTA EN LA
EFICACIA DE LA INMUNOTERAPIA EN PACIENTES
CON CÁNCER DE PULMÓN NO CÉLULA PEQUEÑA

Autor

María Zapata García

Director/es

Lastra Del Prado, Rodrigo
Paño Pardo, José Ramón

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Programa de Doctorado en Medicina

2026



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

IMPACTO DE ANTIBIÓTICOS, CORTICOSTEROIDES Y MICROBIOTA EN LA EFICACIA DE LA INMUNOTERAPIA EN PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA

Autor

María Zapata García

Director/es

Rodrigo Lastra del Prado

José Ramón Paño Pardo

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA: Escuela de Doctorado

Programa Doctorado en Medicina

2025

Repositorio de la Universidad de Zaragoza - Zaguan

<http://zaguan.unizar.es>

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	1
ABREVIATURAS	3
RESUMEN	5
1. - INTRODUCCIÓN	6
1.1.- Epidemiología	6
1.1.1.- Otros factores de riesgo y agregación familiar	6
1.2.- Diagnóstico	7
1.2.1- Cribado	7
1.2.2- Evaluación inicial y sospecha clínica	8
1.2.3.- Pruebas de imagen y estadificación.....	8
1.2.4.- Obtención de tejido	12
1.2.5- Diagnóstico anatomopatológico	12
1.2.6.- Evaluación funcional	13
1.3.- Tratamiento	13
1.3.1.- Tratamiento del CPCNP: estadios localizados	13
1.3.2.- Tratamiento del CPCNP: estadio metastásico	14
1.4.- Inmunoterapia y microbiota	19
1.4.1.- Conceptos generales sobre la microbiota	19
1.4.2.- Microbiota intestinal.....	20
1.4.3.- Microbiota pulmonar	22
1.4.4.- Factores externos que modifican la microbiota y su impacto en la eficacia de inmunoterapia.....	23
1.5.- Inmunoterapia y efectos adversos	27
2.- HIPÓTESIS	30
3.- OBJETIVOS	31
4.- MATERIAL Y MÉTODOS	32
4.1.- Diseño y Población del estudio.....	32
4.1.1.- Entorno	32
4.1.2.- Inclusión y recogida de muestras	33

4.2.- Criterios de inclusión y de exclusión	33
4.3.- Variables del estudio	34
4.3.1.- Variables demográficas y basales del paciente (Tabla 1)	34
4.3.2.- Variables relacionadas con el tumor (Tabla 2)	34
4.3.3.- Variables relacionadas con los tratamientos recibidos (Tabla 3)	35
4.3.4.- Variables relacionadas con las determinaciones realizadas en muestras de sangre, heces y saliva (Tabla 4)	35
- Porcentaje poblaciones linfocitos T CD8 Gzm B- en sangre periférica (variable numérica 0-100).	35
4.3.5.- Variables relacionadas con el seguimiento (Tabla 5)	36
4.5.- Análisis de PD-L1.....	37
4.6.- Análisis de la composición de la microbiota.....	37
4.7.- Análisis de modelos predictivos con Machine Learning/ Modelos predictivos mediante aprendizaje automático	38
4.8.- Análisis estadístico.....	39
5.- RESULTADOS.....	40
5.1.- Pacientes y tratamiento	40
5.2.- Análisis de la microbiota.....	41
5.3.- Análisis de supervivencia	45
5.4.- Marcadores de respuesta a inmunoterapia	51
6.- DISCUSIÓN.....	54
7.- CONCLUSIONES.....	61
8.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS	73

AGRADECIMIENTOS

Llegar al final de esta tesis ha sido posible gracias al acompañamiento, la guía y el apoyo de muchas personas, a quienes me gustaría dedicar unas palabras de agradecimiento.

En primer lugar, quiero expresar mi más sincera gratitud a mis directores de tesis, el Dr. Rodrigo Lastra y el Dr. José Ramón Paño, por su compromiso y por haberme guiado con rigor científico y humano a lo largo de todo este proyecto. Su experiencia, sus aportaciones y su paciencia, sobre todo esto último, han sido clave para que esta investigación avanzara con solidez y sentido. Gracias por acompañarme también en las dudas, en los bloqueos y por celebrar cada pequeño paso.

Mi más profundo agradecimiento al Servicio de Oncología Médica del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (Zaragoza) y, en especial, a la Dra. Isla, por implicarse con tanta generosidad desde el inicio y por haber sido la impulsora real de este trabajo. Su capacidad para ver más allá de lo inmediato, su apoyo y su entrega profesional han sido fundamentales desde el primer momento.

No puedo dejar de agradecer a todos mis compañeros residentes (Alba, Mara, Ana, Elisa, Alberto, ...), con quienes he compartido esta etapa vital. Gracias por los buenos momentos, por las risas incluso cuando no había fuerzas para ellas, por el apoyo silencioso (y a veces muy explícito) cuando hacía falta, por las guardias compartidas, por los cafés eternos y por demostrarme, cada día, que el camino es mucho más llevadero cuando se camina en buena compañía.

A mis amigos, tanto los que están cerca como los que han seguido este proceso desde la distancia, gracias por ser ese refugio tan necesario. Por las conversaciones que nada tenían que ver con la tesis, por los buenos días a horas intempestivas, por los planes que me sacaron del bucle, por el ánimo cuando las fuerzas flaqueaban y, sobre todo, por estar. Vuestra amistad me ha dado el equilibrio para seguir adelante, y eso vale tanto como cualquier avance científico. No me faltéis nunca.

Y finalmente, a mi familia. A mi madre, por su fuerza, su paciencia y su apoyo incondicional, que han sido mi faro en los momentos de duda. A Ismael, por su amor, su paciencia infinita y por saber estar siempre, incluso cuando todo lo demás parecía tambalearse. Gracias por estar siempre ahí, por sostenerme incluso cuando no sabíais muy bien cómo hacerlo. Gracias a todos por entender mis ausencias, por respetar mis silencios, por celebrar mis logros y también por no dramatizar mis tropiezos. Y a mis abuelos que, aunque no están, sé que me han acompañado en este proyecto y que estarían muy orgullosos de que haya llegado al final. Este trabajo es tan mío como vuestro.

A todos los que habéis formado parte de este proceso, de una manera u otra, gracias de corazón. Esta tesis es el resultado de muchos esfuerzos y, no solo

representa un trabajo científico, sino también una etapa muy especial de mi vida. Ha sido un camino largo, a veces difícil, pero también lleno de aprendizaje y de personas que lo han hecho mucho más llevadero. Gracias por estar ahí.

ABREVIATURAS

ADC: Adenocarcinoma	Gzm: Granzima
AGAs: Alteraciones genéticas accionables	HR: Hazard ratio
Akk: <i>Akkermansia muciniphila</i>	ICI: Inhibidores de control inmune
ARNr: Ácido ribonucleico ribosómico	IMC: Índice de masa corporal
ASCO: Sociedad Americana de Oncología Clínica	IrAE: Efectos adversos inmunorelacionados
ATB: Antibióticos	LDA: Análisis discriminante lineal
BAG: Biopsia por aguja gruesa	LEfSE: análisis de tamaño del efecto lineal discriminante
BOR: Mejor respuesta global	Mg: miligramos
CEICA: Comité de Ética de Investigación Clínica de Aragón	MMR: Sistema de reparación de errores de emparejamiento
CI: Consentimiento informado	mSG: Mediana de supervivencia global
CP: Cáncer de pulmón	NGS: Secuenciación de nueva generación
CPCP: Cáncer de pulmón de célula pequeña	p: Valor de probabilidad
CPCNP: Cáncer de pulmón de célula no pequeña	PCoA: Análisis de Coordenadas Principales
CTLs: Linfocitos T citotóxicos	PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
DCR: Tasa control de enfermedad	PD-1 Proteína de muerte celular programada
DEX: Dexametasona	PD-L1: <i>Programed Death Ligand 1</i>
EAs: Efectos adversos	PR: Progresión enfermedad
EC: Ensayos clínicos	PROA: Programas de optimización de uso de antibióticos
EE: Enfermedad estable	RC: Respuesta completa
EMA: Agencia Europea del Medicamento	RP: Respuesta parcial
EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica	SEPAR: Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica
FDA: Agencia Americana del Medicamento	

SG: Supervivencia global

SLE: Supervivencia libre de enfermedad

SLP: Supervivencia libre de progresión

SBRT: Radioterapia estereotáctica

SV: Supervivencia

TCBD: Tomografía computarizada de baja dosis

TILs: Linfocitos infiltrantes de tumor

TMB: Carga mutacional tumoral

TPS: Tumor Proportion Score

TRO: Tasa de respuesta objetiva

TTF1: Factor de transcripción tiroideo 1

UCAT: Unidad de soporte de genómica traslacional

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

WHO: World Health Organization

RESUMEN

El cáncer de pulmón constituye una de las principales causas de morbimortalidad a nivel mundial, siendo el cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP) el subtipo más frecuente y responsable de la mayoría de las muertes. La irrupción de la inmunoterapia basada en inhibidores de puntos de control inmunológico (ICI) ha supuesto un cambio de paradigma en el tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, la respuesta clínica a estos tratamientos es muy variable y, actualmente, carecemos de biomarcadores predictivos fiables que permitan seleccionar de forma precisa a los pacientes que más se beneficiarán. En este contexto, la microbiota emerge como un modulador del sistema inmune y su interacción con tratamientos concomitantes podría condicionar la eficacia de la inmunoterapia.

En este marco, llevamos a cabo un estudio prospectivo en una cohorte de 55 pacientes con CPCNP tratados con ICI, con el objetivo de identificar marcadores predictivos de respuesta y de aparición de toxicidades inmunomediadas (IrAEs), a partir del análisis de la microbiota mediante técnicas de secuenciación 16S, complementado con modelos predictivos de regresión y aprendizaje automático. Asimismo, se analizó la evolución clínica y la supervivencia global (SG) en relación con el uso de tratamientos concomitantes que alteran la microbiota, como los antibióticos y los corticosteroides.

Nuestros resultados muestran que existen diferencias significativas en la composición de la microbiota respiratoria entre respondedores y no respondedores a ICI. Los pacientes respondedores presentan una mayor diversidad alfa y una menor abundancia del filo *Firmicutes* y del género *Streptococcus*. Mediante modelos de regresión logística, se identificó al género *Gemella* como el principal predictor de no respuesta, mientras que *Lachnoanaerobaculum* se asoció con una mayor probabilidad de respuesta favorable al tratamiento inmunoterápico.

Además, se observó que el uso de antibióticos se asocia con una menor tasa de respuesta a los ICI, y el tratamiento con corticosteroides se relacionó con una peor SG. Aunque la mayoría de estudios previos han centrado su atención en la microbiota intestinal, nuestros hallazgos subrayan la relevancia de la microbiota respiratoria como posible biomarcador de eficacia en pacientes con CPNM.

Estos resultados abren la puerta a futuras estrategias de modulación de la microbiota con el objetivo de optimizar la respuesta a la inmunoterapia. Una mejor comprensión del impacto de la microbiota, así como del efecto de los tratamientos que la alteran, permitirá avanzar hacia una medicina más personalizada y mejorar los resultados clínicos de los pacientes con CPNM.

1. - INTRODUCCIÓN

1.1.- Epidemiología

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (1,2). En España según los cálculos de REDECAN, los tumores más frecuentemente diagnosticados son los de mama, pulmón, colon y recto. A pesar de que se ha relacionado típicamente con el sexo masculino, se estima que en 2025 el cáncer de pulmón (CP) sea el tercer tumor más comúnmente diagnosticado en ambos sexos (3). Histológicamente, dentro del cáncer de pulmón se diferencian dos grandes grupos el cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP), o microcítico, y el cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP). En Europa la distribución histológica ha cambiado en los últimos años, habiendo disminuido los carcinomas escamosos de pulmón en varones pero no en mujeres y habiendo aumentado, en ambos géneros, la incidencia de adenocarcinomas (ADC) (4).

Respecto a las tasas de supervivencia (SV), hasta hace poco, la SV a 5 años era menor del 20% (Incluyendo tanto CPCP como CPCNP). Sin embargo, los avances de los últimos años en cuanto a un mejor conocimiento de la genómica en este tumor incorporando nuevas terapias dirigidas, junto con la inmunoterapia principalmente, han condicionado una mejora muy significativa en la supervivencia global (SG), alcanzando algunas series una SV a 5 años del 32%, siendo especialmente notable esta mejoría en determinados subgrupos de pacientes (estadios localizados, portadores de mutaciones accionables, entre otros) (3).

A pesar de su elevada incidencia (32768 casos nuevos en 2024 en España) la prevalencia del CP es relativamente baja (41143 pacientes a cinco años tras el diagnóstico), dada su alta tasa de mortalidad (1,5). En 2020, se estimaron 2.2 millones de nuevos casos de cáncer de pulmón y 1.8 millones de muertes debido a esta enfermedad (5). Sin embargo, a pesar de esto, la SV de estos tumores ha aumentado en los últimos años gracias a la prevención, diagnóstico precoz, avances terapéuticos y el control de su principal factor de riesgo, el tabaquismo (3). Según las estimaciones de la World Health Organization (WHO) el 71% de los fallecimientos por cáncer de pulmón están relacionados con el tabaco (6,7).

1.1.1.- Otros factores de riesgo y agregación familiar

Además del tabaquismo, se han identificado numerosos factores de riesgo que contribuyen al desarrollo del CP, donde se incluyen la exposición ambiental a sustancias carcinógenas como el radón, el asbesto, la contaminación del aire y los metales pesados (8,9). El segundo factor de riesgo identificado es la exposición al radón (1). El radón, un gas radioactivo presente en el aire, procedente de la descomposición de otros gases nobles presentes en los terrenos rocosos,

graníticos, volcánicos... El radón y el tabaco tienen un efecto sinérgico, aumentando 25 veces el riesgo de desarrollar CP. En pacientes no fumadores, el radón es el principal factor de riesgo, aumentando un 16% el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón por cada 100 Bq/m³ (6,9).

Por otro lado, la susceptibilidad genética desempeña un papel significativo en algunos casos, evidenciado por la agregación familiar. La agregación familiar y las variantes genéticas asociadas con el cáncer de pulmón han ganado atención como factores relevantes para comprender la susceptibilidad individual, especialmente en el CPCNP. Entre los genes más estudiados destacan los relacionados con la reparación del ADN (como *ERCC1* y *XRCC1*) y los implicados en el metabolismo de carcinógenos derivados del tabaco, como *CYP1A1* y *GSTM1* (10).

Adicionalmente, ciertos síndromes hereditarios, como el síndrome de Li-Fraumeni, asociado a mutaciones en el gen *TP53*, o las mutaciones germinales en *EGFR* y *ALK*, han sido reportados en familias con historia de cáncer de pulmón (10,11). Estudios recientes destacan que las mutaciones hereditarias en genes como *EGFR* y *TP53* pueden incrementar el riesgo de desarrollar este tipo de cáncer, incluso en ausencia de exposición al tabaco. Además, se han identificado variantes en loci relacionados con procesos de reparación del ADN y respuesta inmune, que modulan la susceptibilidad al CPCNP (11).

La influencia de factores ambientales en combinación con distintas predisposiciones genéticas subraya la complejidad del desarrollo de CPCNP. En ciertas investigaciones recientes se ha confirmado la relevancia de estudios de familias con historial de CP, donde la identificación de mutaciones específicas podría facilitar estrategias personalizadas de prevención y tratamiento (12).

1.2.- Diagnóstico

Las guías clínicas disponibles (NCCN, ESMO, SEOM, ...) recomiendan una estrategia de diagnóstico individualizada para cada paciente, dependiendo de la localización y tamaño tumoral, la presencia o no de metástasis a distancia, la afectación mediastínica y las características del paciente. Se insiste, así mismo, en la necesidad de un manejo multidisciplinar, dentro de un comité de tumores. La definición biológica y morfológica del tumor es imprescindible, ya que el manejo terapéutico posterior dependerá de ello (2,13).

1.2.1- Cribado

Como se ha mencionado al inicio de este trabajo, el CP es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, y por ello, su detección precoz es crucial para mejorar las tasas de SV. El cribado mediante tomografía computarizada de baja dosis (TCBD) ha demostrado ser eficaz en la detección

precoz de este tipo de cáncer, permitiendo identificar tumores en estadios iniciales y, por ende, reducir la mortalidad asociada (14,15).

En España, a pesar de la evidencia científica que respalda la implementación de programas de cribado en este tipo de tumor, todavía no se ha establecido un programa nacional de cribado sistémico. Sin embargo, se están llevando a cabo iniciativas piloto para evaluar la viabilidad y eficacia de dichos programas en el contexto español (15).

Uno de los proyectos más destacados es el Proyecto CASSANDRA (Cancer Screening, Smoking Cessation and Respiratory Assessment), promovido por la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Este programa multicéntrico y multidisciplinar incorpora la TCBD como herramienta de cribado, en combinación con estrategias de deshabituación tabáquica y la colaboración con atención primaria. El objetivo principal del proyecto CASSANDRA es demostrar la viabilidad, factibilidad y coste-efectividad del cribado de CP en España, con miras a su posible incorporación en la cartera de servicios del Sistema Nacional de Salud (16,17).

Además de CASSANDRA, se están desarrollando otros estudios y ensayos clínicos en España para evaluar diferentes aspectos del cribado en el CP, incluyendo la identificación de poblaciones de alto riesgo, la optimización de los protocolos de cribado y la integración de nuevas tecnologías y biomarcadores que puedan mejorar la precisión diagnóstica. Estas iniciativas buscan generar datos robustos que respalden la implementación de programas de cribado efectivos y adaptados a las características específicas de la población. La combinación de estrategias de prevención primaria y secundaria es esencial para lograr una reducción sustancial en la incidencia y mortalidad por cáncer de pulmón (16,18).

1.2.2- Evaluación inicial y sospecha clínica

El proceso diagnóstico comienza con una anamnesis detallada, que incluya los factores de riesgo como el tabaquismo, la exposición a agentes carcinogénicos (radón, asbestos), los antecedentes familiares oncológicos, la presencia de síntomas sugestivos (hemoptisis, disnea, tos persistente, dolor torácico o síndrome constitucional entre otros) y una exploración física minuciosa que, aunque en la mayoría de los casos puede ser inespecífica, puede ayudarnos a identificar signos de enfermedad avanzada o complicaciones secundarias como pueden ser el síndrome de vena cava superior o las adenopatías supraclaviculares (18).

1.2.3.- Pruebas de imagen y estadificación

El primer paso en el diagnóstico suele ser una radiografía de tórax, aunque su sensibilidad es limitada para detectar lesiones pequeñas y en ciertas localizaciones. La tomografía axial computerizada (TAC) de tórax con contraste es

la técnica de elección para caracterizar las lesiones pulmonares (18,19). Además, la TAC permite realizar la estadificación, pudiendo evaluar el tamaño y localización de la lesión primaria, la presencia de afectación ganglionar o de lesiones a distancia (metástasis). En pacientes con sospecha de enfermedad avanzada, en los que queden dudas tras la realización de la TAC, la tomografía por emisión de positrones (PET-TC) mejora la precisión de la estadificación y ayuda a diferenciar entre lesiones benignas y malignas. En caso de adenopatías mediastínicas sospechosas en PET-TC o TAC, se recomienda la realización de una ecobroncoscopia (EBUS) o una mediastinoscopia para su confirmación. En los casos en que haya sospecha de metástasis cerebrales, la resonancia magnética (RM) cerebral es el gold standard (2,18,20).

La estadificación es una parte clave en el diagnóstico ya que va a determinar las opciones terapéuticas. Esta se realiza en base a la clasificación TNM (en el momento de realización de éste trabajo, se encontraba vigente la 8ª edición de 2017), que consiste en la caracterización tumoral en base a sus características primarias (T), afectación ganglionar regional (N) y metástasis a distancia (M) (16).

Clasificación TNM Cáncer de pulmón - 8ª Edición	
T: Tumor primario	
Tx	El tumor primario no puede ser evaluado o tumor evidenciado por la presencia de células malignas en esputo o lavados bronquiales pero no evidenciado en pruebas de imagen o broncoscopia
T0	Sin evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor < o igual a 3 cm en su diámetro mayor rodeado por pulmón o pleura visceral sin evidencia mediante broncoscopia de invasión más proximal que el bronquio lobar.
T1a (mi)	Adenocarcinoma mínimamente invasivo
T1a	Tumor ≤ 1 cm en su diámetro mayor.
T1b	Tumor > 1 cm pero ≤ 2 cm en su diámetro mayor.
T1c	Tumor > 2 cm pero ≤ 3 cm en su diámetro mayor.
T2	Tumor > 3 cm, pero ≤ 5 cm con alguno de los siguientes criterios: - Afecta bronquio principal independientemente de la distancia desde carina pero sin afectación carinal.

	<ul style="list-style-type: none"> - Invade pleura visceral. - Asociado a atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende a la región hiliar, afectando a parte o todo el pulmón.
T2a	Tumor > 3 cm pero ≤ 4 cm en su diámetro mayor.
T2b	Tumor > 4 cm pero ≤ 5 cm en su diámetro mayor.
T3	Tumor > 5 cm pero ≤ 7 cm o con nódulos tumorales en el mismo lóbulo que el tumor primario o que invade directamente alguna de las siguientes estructuras: pared torácica (incluyendo pleura parietal y tumores del sulcus superior), nervio frénico, pericardio parietal.
T4	Tumor > 7 cm o asociado a nódulos tumorales en distinto lóbulo ipsilateral al del tumor primario o invade alguna de las siguientes estructuras: diafragma, mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio laríngeo recurrente, esófago, cuerpo vertebral y carina.
N: Ganglios linfáticos regionales	
Nx	No se puede evaluar la afectación de ganglios linfáticos regionales.
N0	No existe afectación de ganglios linfáticos regionales.
N1	Metástasis en ganglios ipsilaterales peribronquiales y/o hiliares e intrapulmonares ipsilaterales. Incluyendo afectación por extensión directa.
N2	Metástasis en ganglios mediastínicos ipsilaterales y/o subcarinales.
N3	Metástasis en ganglios mediastínicos o hiliares contralaterales, escalénicos o supraclaviculares.
M: Metástasis a distancia	
M0	No existen metástasis a distancia.
M1	Presencia de metástasis a distancia.
M1a	Nódulos en lóbulo contralateral, tumor con nódulos pleurales o pericárdicos o derrame pleural o pericárdico malignos.
M1b	Metástasis única extratorácica.
M1c	Metástasis múltiples extratorácicas en uno o varios órganos.

Agrupación por estadios, 8ª Edición TNM de Cáncer de Pulmón			
Estadio	T	N	M
Carcinoma Oculto	Tx	N0	M0
Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio IA1	T1a (mi)	N0	M0
	T1a	N0	M0
Estadio IA2	T1b	N0	M0
Estadio IA3	T1c	N0	M0
Estadio IB	T2a	N0	M0
Estadio IIA	T2b	N0	M0
Estadio IIB	T1a-c	N1	M0
	T2a	N1	M0
	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Estadio IIIA	T1a-c	N2	M0
	T2a-b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
Estadio IIIB	T1a-c	N3	M0
	T2a-b	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N2	M0
Estadio IIIC	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
Estadio IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
	Cualquier T	Cualquier N	M1b
Estadio IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1c

1.2.4.- Obtención de tejido

Una vez identificado el tumor, el siguiente paso es la obtención de tejido para la confirmación histológica y la realización de estudios moleculares. Hay que tener en cuenta que, en caso de sospecha de metástasis es de elección la biopsia de la enfermedad a distancia siempre, que sea posible, de cara a realizar diagnóstico y estadiaje (19). Con objetivo de conseguir un diagnóstico histológico preciso se recomienda, siempre que sea posible, la toma de muestras tumorales representativas, como aquellas obtenidas mediante BAG o biopsia quirúrgica. Para lesiones centrales, la prueba de elección es la broncoscopia, que además permite la toma de muestras ganglionares mediastínicas mediante EBUS. En el caso de lesiones periféricas o a distancia estaría indicada la biopsia con aguja gruesa (BAG) guiada por ecografía o TAC. Otras alternativas serían la toracocentesis, en caso de presencia de derrame pleural, o la biopsia quirúrgica si las técnicas menos invasivas han fallado (18,20,21).

1.2.5- Diagnóstico anatomopatológico

Una de las principales características del cáncer de pulmón es que se trata de una enfermedad muy heterogénea. Histológicamente, como hemos mencionado previamente, los tumores epiteliales malignos pulmonares se han clasificado en dos grandes grupos, los CPCNP (80-90% de los casos) y los CPCP (10-20% del total). Dentro de los CPCNP los subtipos más frecuentes son los carcinomas escamosos, los ADC y los carcinomas de células grandes (4). El **carcinoma escamoso** o carcinoma epidermoide ha sido el subtipo más frecuente hasta hace unos años. Sin embargo, dadas las modificaciones en el hábito tabáquico (aparición de filtros y menor concentración de alquitrán, entre otros) esta situación ha cambiado. Cuando el tumor se encuentra bien diferenciado aparecen áreas de queratinización, puentes intercelulares y perlas córneas, lo que facilita el diagnóstico anatomopatológico. Desde el punto de vista de la inmunohistoquímica, es característico de estos tumores la positividad para las citoqueratinas 5 y 6 y p40 y la negatividad para las citoqueratinas 7 y 20 y para el factor de transcripción tiroideo 1 (TTF1) (22).

El **adenocarcinoma** se ha convertido en el subtipo más frecuente. Se caracteriza por la formación de estructuras glandulares y/o la presencia de material de secreción. Son tumores muy heterogéneos siendo sus áreas centrales de patrón sólido, las intermedias de patrón papilar y las periféricas un crecimiento bronquio alveolar (4,22). Según la última clasificación de la WHO la subclasificación de los ADC es importante dado que tienen un patrón metastásico, recurrencia y SV diferentes, incluso se ha sugerido que tengan distinto beneficio con la terapia adyuvante (pendiente de estudios prospectivos que lo confirmen) (4). Desde el punto de vista inmunohistoquímico, los ADC se caracterizan por la positividad de la citoqueratina 7 y del TTF1 y la negatividad para la citoqueratina 20 (22).

El **carcinoma de células grandes** es el subtipo más infrecuente. Es una neoplasia muy indiferenciada, que no permite la clasificación como ninguno de los subtipos histológicos previos. Otros subgrupos histológicos, dentro de los CPCNP, mucho menos frecuentes, son los carcinomas sarcomatoides, el carcinoma basaloide, el tumor carcinoide y el carcinoma neuroendocrino de células grandes (21,22).

El **carcinoma de célula pequeña** o microcítico se caracteriza por un crecimiento difuso de células de pequeño tamaño, citoplasma escaso, con abundantes células en mitosis. Puede mostrar áreas de necrosis. Respecto a su inmunohistoquímica, los marcadores más frecuentes son la enolasa neuronal específica, la sinaptofisina, la cromogranina y el CD56 (20,21).

Además del subtipo histológico, algunas características celulares pueden ser útiles para el tratamiento, como es la expresión de la proteína de membrana *Programed Death Ligand 1* (PD-L1). Es por esto que las últimas guías clínicas recomiendan testar, por inmunohistoquímica, la expresión de PD-L1 en prácticamente todos los CPCNP (2). Tras los avances realizados en el diagnóstico molecular y en las terapias dirigidas, las últimas guías clínicas recomiendan la realización de test moleculares de secuenciación masiva (NGS) en todos los CPCNP (2,20).

1.2.6.- Evaluación funcional

Una vez que disponemos de un diagnóstico anatomopatológico y una estadificación de la enfermedad, es importante realizar una evaluación funcional de paciente que incluye pruebas de función pulmonar y valoración del estado general mediante escalas como la del *Easter Cooperative Oncology Group* (ECOG). Esta evaluación ayudará a determinar la idoneidad de tratamientos quirúrgicos, radioterápicos o tratamientos sistémicos(2,18).

1.3.- Tratamiento

1.3.1.- Tratamiento del CPCNP: estadios localizados

El abordaje del CPCNP en estadios localizados (I-III A) se basa principalmente en el abordaje quirúrgico combinado con terapias adyuvantes o neoadyuvantes. La lobectomía con linfadenectomía sistemática es el *gold standard* para tumores resecables en pacientes operables con buen estado funcional. La quimioterapia adyuvante, basada en platino, en estadios IB-III A ha demostrado mejorar la SG (5%) (18). Recientemente, el atezolizumab adyuvante ha sido aprobado para aquellos pacientes en estadio II-III A, con tumores PD-L1 positivos, tras cirugía y quimioterapia al haber evidenciado un beneficio en supervivencia libre de enfermedad (SLE) en el ensayo IMpower010 (20).

En aquellos con estadio IIIA con afectación mediastínica, potencialmente resecable, las estrategias de quimio-inmunoterapia neoadyuvante se han establecido como un nuevo estándar de tratamiento, tras haber demostrado en ensayos clínicos (EC) como el CheckMate 816 un aumento en la SV y en las tasas de resección completa. Además, en pacientes con tumores con mutaciones accionables, como *EGFR*, el uso de terapia dirigida adyuvante (por ejemplo, osimertinib) está cambiando el panorama terapéutico (18). En pacientes con tumores estadios IB, II o IIIA resecados, *ALK* translocado, el empleo de alectinib adyuvante ha demostrado también beneficio en SLE. (23)

En pacientes con estadios tempranos irresecables, o aquellos no candidatos a cirugía, el tratamiento de elección es la quimiorradioterapia concurrente. En pacientes con enfermedad estable tras quimiorradioterapia, el uso de durvalumab adyuvante, basado en los resultados del EC PACIFIC, ha mostrado un beneficio significativo en la supervivencia libre de progresión (SLP) y en la SG, consolidándose como un nuevo estándar de tratamiento en esta población (18,19).

1.3.2.- Tratamiento del CPCNP: estadio metastásico

Tradicionalmente, el CP se había considerado una única enfermedad, pero gracias a los avances de las últimas décadas, se ha objetivado que el CP es un conjunto heterogéneo de tumores. Las terapias dirigidas son el tratamiento estándar para aquellos CPCNP con determinadas alteraciones genómicas accionables (AGAs) como lo son las mutaciones de *EGFR*, *MET*, *BRAF*, *KRAS*, *HER2*, y las translocaciones de *ALK*, *ROS1*, *RET*, *NTRK*, entre otras (13,24).

Los CP se habían considerado poco inmunógenos, dado el escaso beneficio observado en los estudios con inhibidores/moduladores de citoquinas. Sin embargo, el reciente desarrollo de los inhibidores de control inmune (ICI) ha supuesto un cambio radical en el esquema terapéutico del CP (4). De los numerosos puntos de control del sistema inmune estudiados, para evadir el sistema inmune, el más conocido es la proteína de muerte celular programada 1 y su ligando (PD-1/PD-L1) (24).

Hasta la llegada de la inmunoterapia, la base del tratamiento del CP era la quimioterapia, en especial las combinaciones con platino. En un meta-análisis realizado en 2004, se observó un beneficio de la combinación de dos quimioterápicos frente a la monoterapia o al triplete de quimioterapia (25). Los datos del metaanálisis, publicado en 2006, revelaron un beneficio del 22%, estadísticamente significativo, en el riesgo de muerte a 1 año de los dobletes con platino, sin conllevar esto un aumento inaceptable de las toxicidades (26).

1.3.2.1- Inmunoterapia en el tratamiento del CPCNP

El primer hito en la utilidad de los ICI en el tratamiento del CP, vino de la mano de nivolumab en los EC fase III CheckMate 057 y CheckMate 017, ambos publicados en 2015 (24). Nivolumab es un anticuerpo humanizado IgG4 anti PD-1,

que actúa interrumpiendo la señalización mediada por PD-1 pudiendo restaurar así la inmunidad antitumoral (27). Los EC CheckMate 057 y CheckMate 017 demostraron la superioridad de nivolumab frente a docetaxel en SG y tasa de respuesta objetiva (TRO), en segunda línea de tratamiento en pacientes con CPCNP, escamosos o no escamosos, tras progresión a quimioterapia basada en platinos (27,28). Posteriormente llegaron otras aprobaciones para pembrolizumab y atezolizumab (24,29,30).

1.3.2.1.1- Inmunoterapia en 1ª línea de tratamiento

Los resultados tan satisfactorios que presentaron los ICI en segunda línea de tratamiento, sentaron las bases para comenzar los ensayos en primera línea. En los últimos años se han presentado resultados de un gran número de EC fase III con pembrolizumab, nivolumab más ipilimumab, atezolizumab, cemiplimab, entre otros, que muestran resultados sin precedentes en SG ya sea en monoterapia como en combinación con quimioterapia frente a la quimioterapia sola. Éstos resultados han modificado los estándares de tratamiento y han ampliado las posibilidades terapéuticas para aquellos pacientes sin AGAs (2,24).

El EC KEYNOTE-024 fue un estudio fase III que comparó, en pacientes naïve de tratamiento, con expresión PD-L1 de al menos 50% y sin mutaciones en *EGFR* y *ALK*, pembrolizumab 200 miligramos (mg) cada 21 días, hasta un máximo de dos años) frente a quimioterapia basada en platino (a elección del investigador). Se aleatorizaron 305 pacientes y permitió el crossover del grupo de quimioterapia al grupo de pembrolizumab a la progresión. El estudio alcanzó su objetivo principal con una mediana de SLP de 10.3 meses versus 6 meses (HR: 0.50; 95% CI, 0.37 a 0.68; $p < 0.001$) (31,32). Respecto a los objetivos secundarios, alcanzó una mayor TRO (44.8% vs 27.8%), la mediana de SG (tras una mediana de seguimiento de 25.2 meses) fue de 30.3 meses frente a 14.2 meses (HR 0.63; 95% CI, 0.47-0.86; $p = 0.005$) y la tasa de efectos adversos fue menor en el grupo experimental (31,33).

Habiéndose demostrado la utilidad de pembrolizumab en monoterapia en aquellos pacientes con expresión de PD-L1 $\geq 50\%$, se planteó su utilidad en aquellos con una expresión menor. Para este objetivo se llevó a cabo el estudio KEYNOTE-042 (32).

El EC KEYNOTE-042 fue un estudio fase III, que incluyó 1274 pacientes que no habían recibido tratamiento previo, sin mutaciones driver en *ALK* ni *EGFR* y con expresión PD-L1 $\geq 1\%$ medido por TPS. Se aleatorizaron los pacientes a recibir pembrolizumab 200 mg cada 21 días (hasta un máximo de 35 ciclos) frente a quimioterapia basada en platino, a elección del investigador, de 4 a 6 ciclos. El objetivo primario fue la SG en pacientes con TPS $\geq 50\%$, $\geq 20\%$ y $\geq 1\%$, en la población por intención de tratar. La mediana de SG a 5 años, con una mediana de seguimiento de 61.1 meses, fue de 21.9%, 19.4% y 16.6% respectivamente ($\geq 50\%$ HR 0.68, 95% CI 0.57-0.81, $p = 0.0003$; $\geq 20\%$ HR 0.75, 95% CI 0.64-0.87, $p = 0.0020$; $\geq 1\%$ HR 0.79, 95% CI 0.70-0.89, $p = 0.0018$) (34,35). Sin embargo, el mayor beneficio en SG se encontró en aquellos pacientes con un TPS $\geq 50\%$, no

demostrándose un beneficio estadísticamente significativo en aquellos con una expresión entre 1-49% (HR 0,92, IC del 95 % 0,77 a 1,11) (4).

El EC IMpower110 fue un estudio fase III, que incluyó 572 pacientes con histología escamoso y no escamoso, con expresión de PD-L1 de al menos 1% o un índice de células infiltrantes de tumor teñidas con PD-L1 $\geq 10\%$. Los pacientes se aleatorizaron a recibir atezolizumab (anti PD-L1) 1200 mg cada 21 días, frente a quimioterapia (carboplatino/cisplatino más pemetrexed/gemcitabina). El objetivo primario fue la SG, evaluada en función de la expresión de PD-L1. La mediana de SG en aquellos pacientes con expresión de PD-L1 $\geq 50\%$ fue de 20.2 meses en el grupo de atezolizumab frente a 13.1 meses en el grupo de quimioterapia (HR 0.59; 95% CI, 0.40–0.89; $p = 0.01$). En el resto de subgrupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en SV (20,36). En base a estos resultados, atezolizumab tiene indicación en primera línea de tratamiento para pacientes con CPCNP, sin mutaciones driver, con una expresión de PD-L1 $\geq 50\%$ (recomendación I;A según guías NCCN) (20).

En este mismo escenario clínico, pacientes con CPCNP, que no han recibido tratamiento previo, con expresión de PD-L1 $\geq 50\%$, se testó la utilidad de cemiplimab, un antiPD-1, en el EC EMOPOWER-Lung 1 (20,37). Se aleatorizaron los pacientes a recibir cemiplimab 350 mg cada 21 días frente a doblete de quimioterapia basado en platino, a elección del investigador. Se permitió el crossover del grupo de quimioterapia al grupo de cemiplimab a la progresión. Los objetivos primarios fueron la SG y la SLP. En cuanto a la mediana de SG, no fue alcanzada en el grupo de tratamiento con cemiplimab, frente a 14.2 meses de mediana de SG en el grupo de quimioterapia [Hazard ratio (HR) 0.57; 95% CI 0.42-0.77; $p=0.0002$]. La mediana de SLP fue de 8.2 meses frente a 5.7 meses respectivamente (HR 0.54; 95% CI 0.43-0.68; $p<0.0001$). Diferencias estadísticamente significativas tanto para SG como para SLP (a pesar de la alta tasa de crossover 74%) (37).

En base a los resultados de los ensayos clínicos previamente mencionados, pembrolizumab, atezolizumab y cemiplimab en monoterapia, son el tratamiento de elección en primera línea para aquellos pacientes con CPCNP metastásico con expresión PD-L1 $\geq 50\%$, independientemente de la histología (4,20,31,36,37).

Tras haber revisado las indicaciones para aquellos pacientes con expresión PD-L1 $\geq 50\%$, se exponen a continuación las recomendaciones para pacientes con expresión PD-L1 $< 50\%$ o negativa.

El EC KEYNOTE-189 fue un estudio fase III doble ciego, que aleatorizó a 616 pacientes (ratio 2:1) con CPCNP metastásicos, histología no escamosa, sin mutaciones driver, que no habían recibido tratamiento previo para enfermedad metastásica a recibir pemetrexed más derivado de platino más pembrolizumab 200mg o placebo, cada 21 días, 4 ciclos, seguido de pembrolizumab o placebo más pemetrexed como terapia de mantenimiento, hasta un máximo de 35 ciclos (38). Tras una mediana de seguimiento de 10.5 meses este ensayo fue positivo para

ambos objetivos principales, observando una mediana de SLP de 8.8 meses en el grupo de combinación con pembrolizumab frente a 4.9 meses en el grupo control y una tasa de SG estimada a los 12 meses de 69.2% frente a 49.4% respectivamente (HR 0.49, 95% CI, 0.38-0.64; $p < 0.001$). El beneficio en SG se mantuvo en todos los subgrupos, mientras que el beneficio en SLP no se confirmó en aquellos con un PD-L1 por TPS $< 1\%$. En la actualización de los resultados tras 5 años de seguimiento de este estudio, se mantienen las diferencias estadísticamente significativas tanto en SG como en SLP en todos los subgrupos, apoyando así la indicación de la triple terapia independientemente de la expresión de PD-L1 (39).

Dado que el ensayo previamente descrito sólo incluía histología no escamosa, unos meses más tarde se publicó el EC KEYNOTE-407, dirigido a pacientes con CPCNP histología escamosa (40). Fue un EC fase III doble ciego, que aleatorizó 559 pacientes (ratio 1:1) con CPCNP histología escamosa, metastásicos, a recibir carboplatino más paclitaxel (o nab-paclitaxel) durante los primeros cuatro ciclos, asociado a pembrolizumab 200mg o placebo cada 21 días, hasta un máximo de 35 ciclos. Se alcanzaron los objetivos primarios de SG (mediana 15.9 meses frente a 11.3 meses, beneficio para el grupo experimental; HR 0.64; 95% CI, 0.49-0.85; $p < 0.001$) y SLP (mediana 6.4 meses frente a 4.8 meses, para el grupo de pembrolizumab). El beneficio en SG fue consistente independientemente de la expresión de PD-L1 (40).

En el EC IMpower150, la suma de atezolizumab a bevacizumab y quimioterapia (carboplatino más paclitaxel) mejoró significativamente la SG y la SLP, en aquellos pacientes con CPCNP, histología no escamosa e independientemente de la expresión de PD-L1, frente a bevacizumab más quimioterapia. La mediana de SG (mSG) fue de 19.2 meses para el grupo de la cuádruple terapia frente a 14.7 meses en el grupo de bevacizumab/carboplatino/paclitaxel (HR 0.78; 95% CI 0.64–0.96; $p = 0.02$)(41). En este ensayo se incluyeron pacientes con mutaciones en los genes *EGFR* y *ALK*, manteniéndose en estos subgrupos el beneficio en SG. Se ha convertido en un esquema de tratamiento de primera línea para aquellos pacientes con CPCNP, independientemente de la expresión de PD-L1, y es una alternativa de tratamiento para aquellos pacientes con mutaciones *EGFR* o *ALK* que progresan a terapias dirigidas (4,41).

El EC IMpower132 comparó la combinación carboplatino o cisplatino con pemetrexed asociado a atezolizumab, con atezolizumab y pemetrexed de mantenimiento, frente al doblete de quimioterapia seguido de pemetrexed de mantenimiento. Este estudio fue superior en SLP (mediana de 7.6 meses frente a 5.2 meses, respectivamente) pero no alcanzó la significación estadística en la mejoría de la SG (18.1 meses frente a 13.6 meses, HR 0.81; 95% CI 0.64-1.03; $p = 0.0797$). Este esquema no está aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) (42).

El ensayo CheckMate 227, EC fase III, en el que se aleatorizaron pacientes con cáncer de pulmón estadio IV, histología escamosa y no escamosa, a recibir

nivolumab más ipilimumab, nivolumab o quimioterapia (PD-L1 $\geq 1\%$); o nivolumab más ipilimumab, nivolumab más quimioterapia o quimioterapia (PD-L1 $< 1\%$). Tras 54.8 meses de mediana de seguimiento, la SG es mayor en el subgrupo de nivolumab más ipilimumab frente al de quimioterapia en el grupo de pacientes con PD-L1 $\geq 1\%$ (HR 0.76, 95% CI 0.65-0.90) y en el de PD-L1 $< 1\%$ (0.64; 0.51-0.81). Este beneficio se observó en ambas histologías, fue independiente de la expresión de PD-L1 y de la carga mutacional tumoral (TMB) (43).

El ensayo Checkmate9LA, fue un estudio fase III que aleatorizó a pacientes con CPCNP estadio IV/recurrente, a recibir nivolumab más ipilimumab asociado a 2 ciclos de QT, basada en platino, frente a quimioterapia (4 ciclos de quimioterapia basada en platinos) en primera línea. En un primer análisis intermedio (seguimiento medio de 8.1 meses) se observó una mejoría en la SG para el grupo experimental (14.1 meses frente a 10.7 meses), manteniéndose este beneficio en histología escamosa (14.5 meses vs 9.1 meses), en histología no escamosa (17 m vs 11.9 m) e independientemente de la expresión de PD-L1 (44). Cabe destacar una tasa de efectos adversos (EAs), de cualquier grado, significativamente mayor en el grupo experimental (30%) que en el grupo control (18%). Esta combinación de 4 fármacos ha sido aprobada por la EMA como una de las opciones de tratamiento disponibles en primera línea en ambas histologías (45).

Los estudios previamente descritos, dejan una pregunta clave por responder, que sería si en aquellos pacientes con PD-L1 TPS $\geq 50\%$ la combinación de quimioterapia e inmunoterapia frente a la inmunoterapia en monoterapia ofrece algún beneficio.

1.3.2.1.2- Inmunoterapia en 2ª línea de tratamiento

Como ya se ha mencionado previamente, tres anti PD-1 o PD-L1 han sido aprobados en pacientes con CPCNP en segunda línea de tratamiento, que no han recibido previamente inmunoterapia.

Nivolumab (administrado una vez cada 2 semanas) y atezolizumab (cada tres semanas) están aprobados por EMA y FDA para pacientes con CPCNP avanzado o metastásico, independientemente de la expresión de PD-L1 y de la histología, mientras que pembrolizumab (administrado cada 3 semanas) está aprobado para ambas histologías pero sólo para pacientes con expresión de PD-L1 $\geq 1\%$ (27-30).

Los ensayos fase III que dieron estas aprobaciones, CheckMate 057 y CheckMate 017 para nivolumab, ensayo OAK para atezolizumab y KEYNOTE-010 para pembrolizumab, emplearon como brazo control docetaxel, demostrando en todos ellos una diferencia estadísticamente significativa favorable para el brazo de la inmunoterapia.

Para aquellos pacientes que han recibido inmunoterapia en primera línea, la quimioterapia en monoterapia (docetaxel o pemetrexed), continúa siendo el tratamiento estándar (4).

A pesar de todos los avances en el proceso diagnóstico y en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, sigue existiendo una gran variabilidad en la respuesta al tratamiento. Es por esto que, aunque la inmunoterapia ha supuesto un cambio drástico en el tratamiento del CP, y de otros muchos tumores, una proporción no despreciable de pacientes continúa recayendo o no respondiendo a ella (46,47). Ante esta discrepancia de respuestas, se han intentado identificar factores predictivos de respuesta a inmunoterapia (linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), expresión de PD-L1, inestabilidad de microsatélites o déficit del sistema de reparación de errores de emparejamiento (MMR), entre otros. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta el momento son limitados, por lo que continuar esta línea de investigación es importante para mejorar la respuesta clínica a la inmunoterapia. En este contexto, la microbiota emerge como un actor clave en la regulación del sistema inmune y la respuesta a la inmunoterapia.

1.4.- Inmunoterapia y microbiota

Diversos estudios han demostrado que la composición de la microbiota intestinal y del tracto respiratorio puede influir en la activación de las respuestas inmunes, favoreciendo o limitando el efecto de los ICI. Dado el impacto clínico de la inmunoterapia en el CPCNP y la creciente evidencia del papel modulador de la microbiota, resulta fundamental investigar esta relación con el objeto de desarrollar estrategias para optimizar la respuesta a los ICI.

1.4.1.- Conceptos generales sobre la microbiota

Cuando hablamos de microbiota nos referimos al conjunto de microorganismos (bacterias, virus, hongos, arqueas y protistas que residen en diversos nichos del organismo humano. Su composición varía según la localización anatómica, con comunidades específicas en el tracto gastrointestinal, piel, tracto respiratorio, cavidad oral y genitourinario (48). La mayor concentración de microorganismos se encuentra en el tracto gastrointestinal, seguido de la piel. La microbiota intestinal ha sido la más estudiada debido a su papel en la homeostasis inmunológica y metabólica, sin embargo, la microbiota del tracto respiratorio ha cobrado relevancia dada su potencial interacción con los ICI en el tratamiento del CP (49–51). Aunque la microbiota intestinal y pulmonar están separadas físicamente se ha sugerido la existencia de un eje intestino- pulmón. A pesar de esta posible relación, la microbiota pulmonar ha sido menos estudiada y el conocimiento que disponemos de ella es menor (46,52).

A la hora de realizar un análisis y estudio de la complejidad y diversidad de la microbiota, la PCR cuantitativa ha demostrado ser una prueba fiable (52,53). Sin embargo, los métodos de secuenciación masiva son las técnicas más empleadas, entre ellos la secuenciación del ácido ribonucleico ribosómico (ARNr) 16S para la identificación taxonómica y la metagenómica *shotgun*, que permite una

caracterización funcional más detallada (54,55). La identificación taxonómica mediante secuenciación del ARNr 16S permite clasificar los microorganismos presentes en una muestra hasta el nivel de género o especie, proporcionando un perfil detallado de la composición de la microbiota. Por otro lado, la metagenómica *shotgun* secuencia todo el material genético presente en la muestra, lo que no solo permite una identificación más precisa de las especies, sino también el análisis de su potencial funcional, como la capacidad de metabolizar fármacos o modular la respuesta inmune (51). Además, la metabolómica y la metatranscriptómica han sido incorporadas para evaluar la actividad metabólica y la expresión génica de los microorganismos, respectivamente (49,51).

Para interpretar estos datos, se han desarrollado métricas de diversidad alfa y beta. La α -diversidad evalúa el número total de especies (riqueza) y la uniformidad de su distribución en una muestra individual. Se utilizan distintos índices, como el índice de Shannon o el de Chao1, para cuantificar esta diversidad. Una menor diversidad alfa se ha asociado con disbiosis, un estado de desequilibrio en la microbiota que puede afectar la respuesta del sistema inmune y comprometer la eficacia de la inmunoterapia. La β -diversidad se refiere a las diferencias y similitudes de distribución de microorganismos entre muestras. De esta manera, permite identificar variaciones en la estructura microbiana asociadas a diferentes estados de salud. Diferencias en la β -diversidad podrían reflejar patrones específicos de microbiota vinculados a una mejor o peor respuesta a ICI, así como a la aparición de IrAE. Estas mediciones son clave en estudios que buscan establecer la microbiota como biomarcador predictivo en oncología (54,56).

1.4.2.- Microbiota intestinal

La microbiota intestinal, comprende una variedad de microorganismos, como previamente hemos indicado (52,53). Se han realizado estudios taxonómicos en distintas poblaciones, uno de los más grandes es el *Proyecto del Microbioma Humano* (57). Cuando hablamos de microbioma, nos referimos no solo a la inmensa variedad de microorganismos que habitan en el cuerpo humano, sino también a sus genes y metabolitos. De dicho proyecto se extrajo una importante conclusión y es que no existe una única composición normal de la microbiota en individuos sanos. Lo que sí es común en todos los sujetos sanos son las bacterias más predominantes, que pertenecen a dos filos (categoría taxonómica que se encuentra entre el reino y la clase), que son los *Firmicutes* (65%, que incluye Gram-positivos como *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Rumicoccus*, entre otros) y *Bacteroidetes* (23%, incluyendo Gram-negativos como *Bacteroides*, *Porphyromonas* o *Prevotella*) (53,57). Por detrás en frecuencia encontramos las *Proteobacteria* (8%, aquí encontraríamos *Helicobacter* y *Escherichia*), las *Actinobacteria* (3%, incluyendo Gram-negativos como los *Bifidobacterium*) y otros filos menos frecuentes. En cuanto a los hongos y arqueas, suponen menos de 1% de la microbiota intestinal, siendo predominantes los géneros *Cándida* y *Saccharomyces* (52). Dentro del tracto digestivo, la mayor densidad de microorganismos se

encuentra en el colon, donde predominan los anaerobios como *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Porphyromonas* y *Bifidobacterium*.

Sin embargo, la microbiota intestinal, parece tener una composición diferente en los pacientes que padecen CP. Según el estudio publicado en 2018 por Zhang et al., los pacientes con CP presentaban una concentración menor de *Proteobacterias* y *Firmicutes*, a costa de unos niveles más altos de *Bacteroidetes* y *Fusobacterias* (58).

En distintos estudios se ha postulado que una microbiota intestinal sin disbiosis es un importante regulador del sistema inmune. Se ha implicado a la microbiota como un factor causal o preventivo, de diversas enfermedades, entre ellas el cáncer (52). En este sentido, se han realizado algunos estudios preclínicos que informan que la microbiota intestinal está implicada en la respuesta a inmunoterapia en algunos tumores (46). Esto es así dada la capacidad de la microbiota intestinal y sus metabolitos de modular, tanto la inmunidad innata como la adaptativa, por ejemplo, mediante la producción de citoquinas o la regulación de la función de las células T, lo que puede influir en la eficacia de los ICI (59). En base a ésta función, diversos estudios han mostrado que la microbiota intestinal regula el potencial de la inmunoterapia para estimular la función antitumoral del sistema inmune (52,60,61). Consecuencia de esta interacción entre ICI y microbiota intestinal, podrían explicarse las diferentes interpersonales de la respuesta a la inmunoterapia (61,62).

Se han encontrado diferencias significativas en la composición de la microbiota intestinal entre los respondedores y no respondedores a inmunoterapia. Routy et al, en 2018 encontraron que la presencia de *Akkermansia muciniphila* se relacionaba con mejores respuestas a ICI, en especial con anti-PD1 (63). Además, en 2023 se publicó un ensayo que mostraba que una mayor α -diversidad en la microbiota intestinal (analizada en muestra de heces) se relacionaba con una mejor respuesta a ICI (64). En un estudio realizado en pacientes con CPCNP, tratados con nivolumab, se objetivó una mayor estabilidad y diversidad en la composición de la microbiota de los respondedores frente a la de los no respondedores.

En 2022, se publicó un metaanálisis relativo a pacientes con melanoma, y dirigido a encontrar una posible relación entre la composición de la microbiota intestinal (en muestra fecal) y la respuesta y efectos adversos de los ICI. Los resultados mostraron que la presencia de bacterias del filo *Actinobacteria* y de las familias *Lachnospiraceae*/*Ruminococcaceae* de *Firmicutes* se relacionaban con una respuesta favorable al tratamiento. Por el contrario, la presencia de bacterias Gram-negativas se relacionaban con una mayor actividad inflamatoria, un aumento del ratio neutrófilo-linfocito y con unos peores resultados de SV (65).

Se ha postulado una relación entre *Bacteroides fragilis*, y otras especies de *Bacteroides spp*, y la eficacia de agentes anti-CTLA-4, ya que suelen estar sobreexpresadas en íleo, estimulando las células Th1, tras el bloqueo de CTLA-4,

que contribuye a su beneficio terapéutico (55,66,67). Recientemente, en una revisión realizada por Ma et al., se ha observado que algunas especies de *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve species* y *Faecalibacterium spp*, se asocian a una mayor eficacia de la terapia con anti-PD1 (55,68). Parece que *Bifidobacterium* aumenta el IFN-g y las células T CD8+, estimula la maduración de las células dendríticas y aumenta el total de linfocitos T citotóxicos (CTLs) específicos del tumor (55,66). Además, otras especies bacterianas, como *Akkermansia muciniphila*, *Clostridiales* y *Ruminococcaceae*, si están presentes en la microbiota, previenen el síndrome del intestino permeable y la inmunosupresión sistémica y su presencia se relaciona con mejores resultados con el uso de ICI (55,63,68).

En este sentido, se han publicado varios estudios en los que se ha visto que los suplementos con *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium butyricum*, *Enterococcus hirae* o *Barnesiella intestinihominis* mejoran a respuesta y aumentan significativamente la SLP en aquellos pacientes con CPCNP en tratamiento con inmunoterapia en monoterapia o en combinación con quimioterapia (63,69).

Los investigadores continúan trabajando en el diseño de ensayos clínicos más robustos, con el objetivo de disminuir los sesgos y la variabilidad, y así poder verificar la relación causal entre microbiota intestinal, las alteraciones en su composición habitual, y la eficacia y seguridad de la inmunoterapia. Se espera que el trasplante de microbiota fecal y la intervención dietética, se conviertan en herramientas auxiliares en la terapia con ICI, mejorando los resultados de estos estándares de tratamiento (70).

1.4.3.- Microbiota pulmonar

La microbiota pulmonar, o de vías respiratorias, comparada con la microbiota intestinal es solo una pequeña parte de la microbiota humana, a pesar de lo cual no deja de ser esencial para la homeostasis del huésped y es un punto clave en la fisiopatología de algunas enfermedades respiratorias. El estudio de la microbiota pulmonar en el cáncer de pulmón surge del reconocimiento de su papel en la modulación de la respuesta inmunitaria no solo a nivel local, si no también sistémica. A diferencia de la intestinal, la microbiota pulmonar está en contacto directo con el microambiente tumoral, pudiendo influir en la inflamación, la inmunovigilancia y la eficacia de los tratamientos (71,72).

A pesar de que los pulmones tienen una microbiota específica, los filos bacterianos que predominan en el pulmón, son los mismos que los predominantes en la microbiota intestinal. Los filos predominantes, en individuos sanos, son *Firmicutes* (*Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*) y *Bacteroidetes*, seguidos de *Proteobacterias* y *Actinobacterias* (52,72).

Al igual que sucedía con la composición de la microbiota intestinal, que se modificaba en pacientes con cáncer de pulmón, también se ha visto variabilidad en

α y β diversidad en la microbiota pulmonar (71). En muestras de pulmón en pacientes con cáncer de pulmón, se han observado mayores niveles de *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella* y de los filos bacterianos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (71). La mayoría de las bacterias predominantes en los cánceres de pulmón tienen cualidades anaeróbicas. Estas bacterias aumentan en número a medida que progresa el tumor, lo que ocasiona un aumento del entorno hipóxico y proinflamatorio (72). Este cambio en el entorno puede influir negativamente en la respuesta inmune contra el tumor. Al interferir con la modulación inmunológica que facilita la acción de los ICI, esta alteración de la microbiota pulmonar podría relacionarse con una menor SV en pacientes con CPCNP en tratamiento con inmunoterapia (72).

1.4.4.- Factores externos que modifican la microbiota y su impacto en la eficacia de inmunoterapia

Es conocido que, a pesar del gran desarrollo de la inmunoterapia y sus amplias aplicaciones, muchos pacientes no se benefician de los tratamientos con ICI, ya que experimentan una resistencia o una progresión rápida. El mecanismo por el que esto ocurre es desconocido, por lo que se están realizando muchos estudios para identificar biomarcadores de resistencia (73). Recientemente se han desarrollado varias líneas de investigación, que han relacionado la composición de la microbiota con la eficacia de la inmunoterapia en pacientes con cáncer. Estudios, llevados a cabo primero en modelos preclínicos, revelaron que la actividad antitumoral de la inmunoterapia requiere la presencia de una composición normal de la microbiota.

Siguiendo este objetivo, se ha observado que la microbiota puede verse alterada por factores extrínsecos al huésped, como es el empleo de antibióticos (ATB), corticoides o inhibidores de la bomba de protones, que puede modificar la composición y la diversidad de la microbiota intestinal (46). Se ha sugerido que, estos factores extrínsecos, al producir una alteración en la microbiota intestinal, puedan tener un impacto negativo en la eficacia de la inmunoterapia.

1.4.4.1.- Microbiota y antibióticos

Se ha analizado la composición de la microbiota tras el empleo de distintos ATB, como la amoxicilina oral o ciprofloxacino observando cambios en ella. En microbiota intestinal se ha comprobado que estos cambios duran unos 30 días, aunque en algunas personas pueden mantenerse incluso varios meses. Pero esta disparidad, no ocurre solo inter-individuo, sino también intra-individuo y es que al analizar la microbiota de vías respiratorias en muestras de saliva, se ha observado que recuperan su composición normal más rápidamente (57).

La alteración de la microbiota puede conllevar un mal funcionamiento de ésta y por tanto una mala protección frente a los patógenos, y es que la microbiota está muy relacionada con el sistema inmune y su correcto funcionamiento. En esta

interacción entre microbiota y sistema inmune interfieren los ATB, que además de facilitar la aparición de trastornos inmunológicos, aumentan la susceptibilidad a desarrollar algunas infecciones. En esta dirección se ha visto que la exposición a cefalosporinas o clindamicina aumenta la susceptibilidad a desarrollar infecciones por *Clostridium difficile* y el empleo de estreptomicina o vancomicina la de desarrollar infecciones por *Salmonella typhimurium* (57). En muchas ocasiones, para tratar infecciones como las mencionadas previamente se emplean ATB de amplio espectro, lo que puede ser contraproducente ya que pueden facilitar la translocación bacteriana fuera del intestino. Se espera que los ATB, como modificadores de la microbiota, influyan en la eficacia de la inmunoterapia (74).

Tras haberse realizado estudios en ratones libres de microorganismos y expuestos a ATB, que confirmaban que para una correcta actividad de los ICI se requería la presencia de la microbiota intestinal, se han presentado estudios en pacientes, que han demostrado, de la misma manera, que el empleo de ATB antes de iniciar la inmunoterapia, disminuye significativamente su beneficio en distintos tumores (uroteliales, melanoma o CPCNP entre otros) (73). En el estudio presentado por Derosa et al. en 2018, que incluyó pacientes diagnosticados de CPCNP, tratados con ICI, que habían recibido o no tratamiento ATB (en los primeros 30 días desde inicio de la inmunoterapia), se concluyó que el uso de ATB se relacionaba con una peor SV. Se sugirió así mismo que modular la alteración que produce el uso de ATB sobre la microbiota intestinal, podría ser una estrategia para conseguir mejores resultados con ICI (75).

Resultados similares fueron presentados en un estudio de cohortes retrospectivo, que incluía pacientes con CPCNP y cáncer renal, informando de una reducción significativa de la SLP (1,9 frente a 7,4 meses, IC 95%: 1,4-6,9, $p < 0,01$) y la SG (17,3 frente a 30,6 meses, IC 95%: 1,1-10,8, $p = 0,03$) en aquellos pacientes que habían recibido antibioterapia sistémica (76). El análisis del impacto que tiene el momento de uso de la antibioterapia sobre la eficacia de los ICI concluyó que, la reducción de su eficacia fue más marcada en aquellos pacientes que habían recibido antibióticos dentro de los 30 días previos al inicio de la inmunoterapia, en comparación con aquellos que los recibieron dentro de los 60 días anteriores a su inicio. Es probable que, el proceso de recuperación de la microbiota, pueda explicar estas diferencias.

Recientemente, se ha publicado un análisis agrupado de los ensayos clínicos fase II POPLAR y fase III OAK (con un total de 1512 pacientes), ambos evaluaban el uso de atezolizumab frente a docetaxel en CPCNP. Se estudió el efecto de la toma de antibióticos entre 30 días antes y 30 días después del inicio de la inmunoterapia, objetivándose un pronóstico desfavorable en los pacientes que recibían antibióticos de forma concomitante con atezolizumab. El análisis exploratorio sugirió que las diferencias de SG se mantenían independientemente de la clase de antibiótico utilizado (77)

Estos datos han sido confirmados por estudios prospectivos y meta-análisis como el presentado en el año 2020, en el congreso ESMO de inmuno-oncología. Se

presentaron datos de un meta-análisis que incluyó 70 cohortes independientes, que demostraba una asociación entre el uso de ATB y la SV en pacientes que habían recibido tratamiento con ICI. Los datos obtenidos sugerían un efecto deletéreo del uso de ATB en la SV de los pacientes, en especial en aquellos con CPCNP y melanoma y cuando esta exposición ocurría poco tiempo antes o inmediatamente después del inicio de la inmunoterapia (78–80). Los datos de éste y otros meta-análisis sugieren que la microbiota intestinal puede tener un papel inmunomodulador en los pacientes tratados con inmunoterapia (73). A pesar de la relación sugerida en estos estudios, es importante destacar que las cohortes incluyeron grupos de pacientes muy diversos y heterogéneos, con enfermedad en estadios localmente avanzados y metastásicos, diferentes índices ECOG y distintas líneas de tratamiento. En este contexto, el uso de ATB podría actuar como un factor de confusión, ya que se encuentra asociado a otros factores intrínsecamente relacionados con peores resultados clínicos.

Siguiendo esta idea, y partiendo del hecho de que no sólo existe una composición normal de la microbiota, se han intentado hacer relaciones entre las bacterias presentes en la microbiota intestinal y la respuesta a los ICI. Varios autores han comprobado que la presencia de *Akkermansia muciniphila* (Akk), *Ruminococcus* o *Bifidobacterium* se relaciona con mejores respuestas a inmunoterapia (63). En el estudio prospectivo realizado entre 2015 y 2019 por de Derosa et al, se demostró que aquellos pacientes Akk+ tenían mejores respuestas con ICI en monoterapia en primera o segunda línea que aquellos Akk-. Sin embargo, se observó que no era tan importante la presencia o ausencia si no la cantidad relativa de Akk, relacionándose las altas cantidades de Akk con peor pronóstico. También intentaron relacionar el uso de ATB y Akk, viendo que el empleo de éstos primeros reducía la alfa diversidad del grupo Akk+, se relacionaba con unos niveles altos de Akk y una dominancia de *Clostridium* y *Lachnoclostridium*, todo ello predictor de mal pronóstico (73).

1.4.4.2.- Microbiota, inmunoterapia y corticoides

Los corticoides, empleados para reducir la inflamación, tienen una actividad inmunológica disminuyendo la función de las células T y afectando al microbioma (80). Giles et al. demostraron que el efecto inmunosupresor de la dexametasona (DEX) consistía en la regulación al alza del ARNm y de la proteína CTLA-4 en los linfocitos T CD4 y CD8 y en el bloqueo de entrada en el ciclo celular y diferenciación mediadas por CD28. Por lo tanto, parece que el bloqueo de CTLA-4, pero no de PD-1, puede prevenir en parte algunos de los efectos negativos de los corticoides en la respuesta inmune (81). Dado que la inmunoterapia se ha convertido en uno de los tratamientos de elección en diversos tumores, como se ha explicado previamente en el caso del CPCNP, han surgido dudas acerca de su uso concurrente con tratamientos inmunosupresores, como los corticoides. Tradicionalmente se ha pensado que su uso disminuía la respuesta a la inmunoterapia, motivo por el cual estos pacientes han sido frecuentemente excluidos de ensayos clínicos (82). Cabe mencionar que no es infrecuente, que

durante el curso del tratamiento con ICI los pacientes requieran iniciar tratamiento corticoideo ya sea por toxicidad relacionada con el tratamiento, por problemas relacionados con el tumor o por eventos ajenos a estas dos causas (como por ejemplo las reagudizaciones de pacientes EPOC) (83–85).

Se han realizado diversos estudios, en su mayoría retrospectivos, cuyo objetivo ha sido establecer una relación entre estos dos tratamientos, estratificando a los pacientes en función de dos variables, aquellos que reciben dosis \geq o $<$ prednisona 10 mg o equivalentes y aquellos que reciben tratamiento con corticoides de manera basal antes del inicio de los ICI (anti PD-1 o anti PD-L1) o en los primeros treinta días del tratamiento frente a aquellos que los inician posteriormente. En los distintos estudios, se ha observado una SLP y una SG menor en aquellos que han recibido dosis ≥ 10 mg de prednisona al día, al inicio o en los primeros 30 días de tratamiento con inmunoterapia, tal como se muestra en la tabla 1 (83,85–89). Para explicar éstos resultados deletéreos relacionados con el uso de corticoides, como se explica en un trabajo recientemente publicado por nuestro equipo de trabajo, se ha postulado que el uso de corticoides al inicio del tratamiento con ICI, podrían mitigar la explosión proliferativa de células T CD8+, que serían necesarias para una respuesta efectiva a la inmunoterapia (88,90). Por otro lado, ha de tenerse en cuenta que los pacientes con uso temprano de corticoides tienden a tener peor ECOG y/o mayor número de metástasis (cerebrales o no) (85,90).

Además, en uno de estos estudios retrospectivos (86), se ha observado una clara diferencia en las curvas de SG entre aquellos que precisaron iniciar la corticoterapia por un motivo relacionado con su tumor y aquellos que lo iniciaron para manejo de toxicidad. Esto demuestra que el uso precoz de corticoides por síntomas secundarios al tumor es un factor de mal pronóstico independiente para la SG (91). Además de confirmar que no hay un efecto detrimental en su uso si es para manejo de la toxicidad, se ha observado que el uso de corticoides como premedicación, al emplear quimioterapia concomitante con inmunoterapia, tampoco tiene un efecto negativo en la SV. Se han propuesto varias hipótesis de por qué sucede esto; una de ellas sugiere que la dosis de corticoides o la duración del tratamiento, podrían estar asociados con una menor respuesta a los ICI; otra de ellas postula que el beneficio de la combinación podría tener un efecto sinérgico que contrarresta la acción perjudicial de los corticoides (88). Esto intenta explicar que, si hay indicación de uso no debe evitarse, ya que el efecto beneficioso que aportan compensa su acción perjudicial (86,92).

Además del efecto inmunosupresor, sobre todo inhibiendo ciertas funciones de los linfocitos T, parece que los corticoides pueden estimular la polarización de los macrófagos y alterar la microbiota.

En una revisión realizada en 2021, se presentaron resultados de 5 trabajos en los que se estudiaba el efecto de los corticoides sobre la microbiota de vías respiratorias. Dos de estos estudios demostraron un aumento significativo en la α -diversidad tras el empleo de corticoides inhalados (en el contexto de pacientes con

enfermedad respiratoria de base). Sin embargo, el único estudio que presentó resultados con corticoterapia oral, mostró una tendencia a un descenso de la diversidad de la microbiota en vías respiratorias, pero sin ser estadísticamente significativo. En cuanto a la composición de la microbiota respiratoria, *Proteobacteria* y *Firmicutes* parecían estar inversamente relacionados (en un estudio había un aumento de *Proteobacteria*, mientras que en el otro se vio un aumento de *Firmicutes*), por lo que, a pesar de que mostraron un cambio significativo en la composición y diversidad de la microbiota respiratoria, no pudieron dar datos concluyentes sobre la dirección de los cambios (93).

Dado el creciente interés por el papel de la microbiota como factor modulador de la respuesta inmune y la influencia de tratamientos concomitantes, resulta necesario investigar prospectivamente su relevancia en pacientes con CPCNP tratados con ICI.

1.5.- Inmunoterapia y efectos adversos

La activación de las células T inducida por la inmunoterapia, no es específica de cada tumor. La respuesta inmune inducida por los ICI, puede dañar los tejidos del huésped y causar efectos adversos inmunomediados (IrAE) (94). Éstos ocurren en hasta un 80% de los pacientes que reciben ICI en monoterapia y en un 95% de los que reciben inmunoterapia en combinación. Su presentación puede ser en forma de colitis, disfunciones endocrinas, alteraciones cutáneas, neumonitis o miocarditis, entre otros. Suelen aparecer en las primeras 12 semanas del tratamiento (aunque pueden ocurrir hasta 6 meses después de su suspensión) y en grados leves o moderados (95). Se ha sugerido que factores como el uso de combinaciones o factores relacionados con la microbiota, puedan asociarse a un riesgo aumentado de IrAE.

Se ha propuesto también una relación entre su aparición y la respuesta a inmunoterapia. En algunos ensayos se ha relacionado la aparición de IrAE en pacientes con CPCNP, en tratamiento con antiPD-1 o antiPD-L1, con una mejor respuesta a estos tratamientos (84,92,96). También en un análisis secundario del estudio CA 209-003, un ensayo fase 1, multicéntrico, que incluyó 270 pacientes con cáncer microcítico de pulmón, melanoma y cáncer de células renales, se evaluó esta relación. Los pacientes que presentaron algún IrAE, tuvieron una SG significativamente mayor respecto a aquellos que no experimentaron estos efectos adversos, incluso se objetivó que en aquellos en los que fue necesaria una suspensión temprana del tratamiento, debido a estos efectos adversos, la regresión tumoral fue persistente (97).

En el congreso de la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) de 2021 se presentaron datos un análisis combinado de tres ensayos fase 3 con atezolizumab en primera línea de tratamiento. La mediana de tiempo de aparición de estos IrAE fue de 1.7 meses, hasta un 48% de los pacientes presentaron alguno de ellos, un 11% siendo grados 3-5. El efecto secundario más frecuente fue el rash

seguido de la hepatitis. Los pacientes que presentaron efectos secundarios mostraron una mayor SG que aquellos que no los presentaron. Sin embargo, ese 11% que presentó IrAE grado 3-5 presentaron una SG menor que aquellos sin IrAE con con IrAE grados 1-2 (98).

En enero de 2022 se presentaron los datos de un metaanálisis que incluyó 52 ensayos clínicos, con un total de 23.322 pacientes. Encontraron que la incidencia de efectos adversos, grado 3-4, era similar en los subgrupos de inmunoterapia con antiPD-L1 (37%), antiPD-1 (33%) y quimioterapia (37%), mientras que la incidencia era mayor en los grupos de combinación, ya fuera con doble inmunoterapia o con quimioterapia más inmunoterapia. Respecto a los EAs observados, en los subgrupos de pacientes tratados con ICI fueron más frecuentes las neumonitis, hepatitis, colitis y el rash, encontrando una relación positiva en cuanto a su aparición y los resultados de SV. Así encontraron que, en el subgrupo de pacientes con anti PD-L1 la aparición de hepatitis se relacionó de manera significativa con una mejor SLP ($p < 0.0001$) y, en el subgrupo de pacientes con antiPD1 la aparición de neumonitis y rash se relacionó también con mejor SLP ($p = 0.0049$ y $p < 0.0001$, respectivamente) (99).

La relación entre IrAE y microbiota también ha sido estudiada. Se han observado diversos cambios en la microbiota intestinal tras la administración de anti-CTLA-4. *Bacterioides spp* se ha relacionado con una respuesta favorable al tratamiento con anti-CTLA-4, sin llevar asociado un aumento significativo de la toxicidad intestinal (67). Dubin et al propusieron la presencia *Bacteroidetes phylum* en la microbiota, como un biomarcador relacionado con la protección frente a colitis secundaria al tratamiento con anti-CTLA-4. *Bacteroidetes phylum* fue encontrado en pacientes diagnosticados de melanoma, en tratamiento con anti-CTLA-4, que no desarrollaron colitis y pueden estimular la diferenciación de células T reguladoras y limitar la inflamación (100). Chaput et al propusieron resultados similares, relacionando *Bacteroidetes* con pacientes melanoma sin colitis pero con menor respuesta al tratamiento antitumoral (101).

En el año 2022, ante la inconsistencia de los datos publicados en cuanto a la relación de la microbiota con la respuesta a la inmunoterapia, se realizó un metaanálisis en pacientes con melanoma, en los que se analizó la composición basal y tras un año de tratamiento con ICI (antiPD-1) de la microbiota intestinal. Los resultados relativos a la aparición de IrAE, expusieron a la presencia de dos firmas bacterianas, con distinto patrón y frecuencia de aparición de éstos, una de ellas enriquecida en *Lachnospiraceae spp.* y la otra enriquecida en *Streptococcus spp.* La primera se relaciona con una mayor tasa de IrAE y unos peores resultados de SLP (65).

Hasta el momento actual, la mayoría de los estudios llevados a cabo para relacionar la composición de la microbiota con la respuesta a la inmunoterapia se han realizado en pacientes diagnosticados de melanoma y analizando la microbiota intestinal. Sin embargo, parece interesante ampliar este campo de estudio a los pacientes con CPCNP, ya que son un grupo de pacientes altamente beneficiados de

tratamiento con ICI y que podrían beneficiarse de los resultados relativos a la composición de la microbiota como factor predictor/predictivo de respuesta a inmunoterapia. Además, al ser un tumor relacionado intrínsecamente con la vía aérea, nos abre la posibilidad de estudiar la microbiota en vía respiratoria y establecer una posible relación. Son necesarios estudios prospectivos que analicen en pacientes con CPCNP, posibles biomarcadores predictivos de respuesta y eficacia de la inmunoterapia. El conocimiento y futuro empleo de esos biomarcadores nos permitiría un tratamiento más personalizado y un uso más racional de los ICI.

El desarrollo de nuevos tratamientos en el campo del cáncer de pulmón, especialmente la inmunoterapia, ha supuesto avances significativos, pero sigue existiendo una variabilidad considerable en la respuesta de los pacientes. La identificación y el análisis de biomarcadores predictivos de respuesta a inmunoterapia, que puedan personalizar el tratamiento y maximizar su efectividad es una necesidad esencial todavía no cubierta. En este sentido, la exploración de la microbiota y su posible influencia sobre la respuesta a los ICI ofrece una vía prometedora para mejorar el tratamiento y la selección de pacientes. En base a todo esto, se ha decidido poner en marcha un estudio piloto que tiene como objetivo abordar esta brecha de conocimiento, analizando prospectivamente en una cohorte de pacientes diagnosticados de CPCNP, en tratamiento con inmunoterapia, posibles biomarcadores predictivos de respuesta a ICI.

2.- HIPÓTESIS

Hipótesis 1: La composición de la microbiota en vías respiratorias, por su localización, podría reflejar mejor el estado inmune del tumor en pacientes con CPCNP y predecir así la respuesta a la inmunoterapia.

Hipótesis 2: Los pacientes con CPCNP avanzados en tratamiento con ICI y que reciben antibióticos presentan una peor respuesta al tratamiento

Hipótesis 3: Los pacientes con CPCNP avanzados en tratamiento con ICI y que reciben corticoides (dosis de prednisona, o equivalente, >10 mg al día, presentan una peor respuesta al tratamiento.

Hipótesis 4: El empleo de fármacos concomitantes con ICI, como corticoides o ATB, tiene un impacto en la composición de la microbiota

Hipótesis 5: Podría existir una relación entre la composición de la microbiota en vías respiratorias e intestinal en aquellos pacientes con CPCNP que reciben tratamiento con inmunoterapia.

Hipótesis 6: La microbiota en vías respiratorias tiene una capacidad igual o superior a la de la microbiota intestinal para predecir la eficacia y la toxicidad a la inmunoterapia.

3.- OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Evaluar si la composición y diversidad de la microbiota de vías respiratorias basal se asocian con la respuesta a inmunoterapia, en una cohorte de pacientes con CPCNP avanzado o metastásico.

Objetivos secundarios:

- Analizar la relación entre la composición de la microbiota en saliva y heces y la aparición de irAE, durante el tratamiento con inmunoterapia.
- Determinar si determinados taxones bacterianos o perfiles de diversidad alfa/beta están asociados a una mayor SV.
- Determinar si determinados perfiles de diversidad alfa/beta o taxones bacterianos están asociados a una mejor o peor respuesta al tratamiento con ICI. Evaluada según el mejor estado de respuesta (BOR) documentado para cada paciente desde el inicio del tratamiento
- Evaluar el impacto del uso de antibióticos y corticoides en la SV de los pacientes tratados con ICI.
- Evaluar el impacto del uso de antibióticos y corticoides en la respuesta al tratamiento con inmunoterapia [tasa control de enfermedad (DCR)].
- Evaluar si el uso de antibióticos y corticoides, en el periodo peri-inmunoterapia, modifica la composición de la microbiota en saliva y su relación con la evolución clínica, en términos de SV y respuesta al tratamiento.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.- Diseño y Población del estudio

Estudio prospectivo, observacional y unicéntrico, realizado en el Hospital Clínico Lozano Blesa. Este diseño se seleccionó por su idoneidad para realizar los análisis pertinentes en condiciones reales de práctica clínica, mediante una recogida sistemática de datos clínicos y microbiológicos, garantizando la homogeneidad en los procedimientos gracias a su carácter unicéntrico.

Dado que se trataba de un estudio piloto, se definió un tamaño muestral de 55 pacientes (50 más un 10% por posibles pérdidas). El cálculo muestral considerado obedece a criterios exploratorios de búsqueda de señales iniciales de evidencia científica ante la escasez de información disponible, así como a ajustes de presupuesto disponible. Los pacientes previamente mencionados fueron reclutados de manera consecutiva en las consultas externas de Oncología Médica de dicho hospital, entre abril de 2019 y octubre de 2020.

4.1.1.- Entorno

El presente estudio se llevó a cabo en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, centro de tercer nivel ubicado en la ciudad de Zaragoza, y perteneciente al Sector Sanitario Zaragoza III del Servicio Aragonés de Salud.

Este hospital dispone de 802 camas y da cobertura asistencial a una población mixta urbana y rural, procedente tanto de Zaragoza capital como de diversas comarcas del entorno: Cinco Villas, Ribera Alta del Ebro, Campo de Cariñena, Campo de Borja, Tarazona y el Moncayo, Calatayud, Campo de Daroca, Valdejalón y Aranda, entre otras.

El hospital cuenta con una Unidad de Oncología Médica con experiencia en el tratamiento del cáncer de pulmón, y participa de forma activa en el desarrollo de estudios clínicos, tanto en fases tempranas como en estudios observacionales. Asimismo, dispone de servicios de apoyo imprescindibles para la realización del presente estudio, incluyendo laboratorio de microbiología, anatomía patológica, biobanco institucional y acceso a secuenciación masiva a través de la Unidad de Soporte de Genómica Traslacional (UCAT).

El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Aragón (CEICA), con el número de protocolo PI19/052, y se llevó a cabo conforme a los principios éticos de la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado (CI) previo a su inclusión en el estudio.

4.1.2.- Inclusión y recogida de muestras

En el momento de entrada en el estudio, se explicaba y se procedía a la firma del consentimiento informado CI, tras lo que se aportaban al paciente los tubos necesarios para la recogida de heces y saliva. Cada paciente contribuyó con muestras de saliva (n=54) y heces (n=52). Las heces fueron recogidas por el paciente en su domicilio dentro de las 24 horas previas a la visita hospitalaria, mientras que las muestras de saliva y sangre fueron recogidas durante la consulta por el personal médico, previo al inicio del tratamiento con ICI.

Las muestras de saliva y heces fueron enviadas al Biobanco del Sistema de Salud de Aragón, donde se codificaron, congelaron a -80 °C lo antes posible. Se mantuvieron en estas condiciones hasta que el reclutamiento estuvo completo y se procedió a su posterior estudio.

4.2.- Criterios de inclusión y de exclusión

Los criterios de inclusión en el estudio que tenían que cumplir los pacientes, para poder entrar en el estudio eran:

- Ser mayor de 18 años al diagnóstico.
- Tener una capacidad funcional conservada, determinada mediante la escala del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), con valor igual o menor a 2.
- Haber sido diagnosticado de CPCNP irreseccable o metastásico, estadio III o IV.
- Diagnóstico de novo o tras recidiva a un tratamiento (diferente a inmunoterapia).
- Tener indicación de tratamiento con ICI (inhibidores PD-1/PD-L1), en monoterapia o en combinación con quimioterapia. Los pacientes con estadio IV podían recibir inmunoterapia como primera línea (en monoterapia o en combinación con quimioterapia) o como subsecuentes líneas de tratamiento. Los pacientes con estadio III irreseccable comenzaban la inmunoterapia tras finalizar el tratamiento radical con quimio radioterapia concomitante (si no había progresión de la enfermedad).
- No haber recibido previamente tratamiento con inmunoterapia.
- Firmar el Consentimiento Informado para participar en el estudio.

En cuanto a los criterios de exclusión:

- Pacientes con cáncer de pulmón con histología no CPCNP.
- Pacientes con un segundo tumor concomitante.
- Pacientes con contraindicación para recibir tratamiento con inmunoterapia.
- Pacientes con capacidad funcional deteriorada, mediante la escala ECOG, con un valor mayor a 2 (102).

- Estar en curso de tratamiento corticoideo, con dosis de prednisona ≥ 10 mg o equivalente, en el momento del reclutamiento.
- Pacientes con diagnóstico de inmunodeficiencia primaria o secundaria, incluyendo infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

4.3.- Variables del estudio

Se recogieron diversas variables demográficas, variables relacionadas con el tumor, variables relacionadas con los tratamientos recibidos (Inmunoterapia, corticoides, antibióticos) y variables recogidas en las muestras de sangre, heces y saliva, así como variables relacionadas con el seguimiento. Las variables recogidas se agruparon en cinco bloques temáticos y se definieron según su rol analítico como:

- **Variables independientes:** características clínicas, microbiológicas e inmunológicas potencialmente asociadas a los desenlaces del estudio.
- **Variables dependientes:** respuesta clínica a inmunoterapia, aparición de efectos adversos inmunomediados, SLP y SG.
- **Covariables/confusoras:** uso de antibióticos, uso de corticoides, ECOG, expresión de PD-L1, línea de tratamiento, tipo de ICI, índice de masa corporal (IMC), hábito tabáquico, etc.

4.3.1.- Variables demográficas y basales del paciente (Tabla 1)

- Edad al momento del reclutamiento (años, continua).
- Sexo (hombre/mujer).
- Raza: caucásica, asiática, negra u otras.
- IMC: calculado en kg/m², categorizado como $< / \geq 30$.
- ECOG: 0-2.
- Hábito tabáquico en el momento del reclutamiento: fumador, exfumador, nunca fumador.
- Comorbilidades relevantes: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), VIH.

4.3.2.- Variables relacionadas con el tumor (Tabla 2)

- Histología: CPCNP escamoso o CPCNP no escamoso.

- Estadío tumoral al momento del reclutamiento, según la clasificación TNM vigente (8ª edición): III / IV.
- Indicación de tratamiento: localmente avanzado, paliativo primera línea o paliativo líneas sucesivas.
- Expresión de PD-L1, cuantificada mediante Tumor Proportion Score (TPS): <1%, ≥1-49%, ≥50% o desconocido.

4.3.3.- Variables relacionadas con los tratamientos recibidos (Tabla 3)

- Tipo de ICI: Nivolumab, Pembrolizumab, Atezolizumab, Durvalumab, Avelumab u otros.
- Respuesta a ICI: Sí (incluyendo respuesta completa, parcial y enfermedad estable) /No (incluyendo progresión).
- Mejor respuesta a ICI, de acuerdo con los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST) versión 1.1. Respuesta completa, parcial, enfermedad estable, progresión o no evaluable.
- Toxicidad inmunorrelacionada, según los Criterios Comunes de Terminología para Eventos Adversos del Instituto Nacional del Cáncer, versión 5.0: Sí / No, Tipo (endocrina, hepática, cutánea, etc.), momento de aparición (precoz / tardía), etc.
- Tratamiento con ATB: Sí/No, número de ciclos, principio activo empleado, momento de uso (2 meses antes hasta 1 mes tras inicio ICI / después de 1 mes de ICI), etc.
- Tratamiento con corticoides: Sí /No, número de ciclos, momento de uso (2 meses pre-ICI hasta 1ª dosis / tras primer ciclo), etc.

4.3.4.- Variables relacionadas con las determinaciones realizadas en muestras de sangre, heces y saliva (Tabla 4)

- Porcentaje poblaciones linfocitos T CD8 Granzima (Gzm) B+ en sangre periférica (variable numérica 0-100).
- Porcentaje poblaciones linfocitos T CD8 Gzm B- en sangre periférica (variable numérica 0-100).
- Porcentaje linfocitos T CD4 reg en sangre periférica (variable numérica 0-100).
- Cociente de linfocitos T CD8 / linfocitos T CD4 reg en sangre periférica (variable numérica de 0 a 100).
- Porcentaje células NK (CD56+CD16+ CD3-) en sangre periférica (variable numérica 0-100).

- Linfocitos T CD4 de memoria en sangre periférica (variable numérica 0-100).
- Composición de microbiota de heces y vías respiratorias: alfa / beta diversidad, taxones bacterianos.

4.3.5.- Variables relacionadas con el seguimiento (Tabla 5)

- Tiempo hasta Respuesta ICI (meses): Fecha Respuesta ICI-Fecha Inicio ICI.
- Duración de Respuesta ICI (meses): Fecha Progresión- Fecha Respuesta ICI.
- Progresión: Sí /No.
- Tiempo hasta Progresión (meses): Fecha Progresión ICI - Fecha Inicio ICI.
- Muerte: Sí /No.
- Tiempo hasta muerte (meses): Fecha Fallecimiento – Fecha Inicio ICI.

4.4.- Seguimiento de los pacientes

De acuerdo con nuestra práctica clínica habitual, durante la administración del tratamiento los pacientes fueron valorados cada 2-3 semanas. En estas visitas, se recopiló toda la información clínica relevante para el estudio, particularmente los datos relacionados con la antibioterapia, que incluyeron el ciclo de antibióticos, el origen de la infección y la respuesta clínica, así como el consumo de corticoides. El periodo de registro abarcó desde 2 meses antes del inicio del tratamiento con inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI) hasta el final del seguimiento. Durante el período de tratamiento, la respuesta tumoral fue evaluada cada 9-12 semanas, de acuerdo con los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST) versión 1.1 (103). Los pacientes que alcanzaron una respuesta al tratamiento y comenzaron el seguimiento, fueron evaluados cada 3 meses. El seguimiento de los pacientes fue realizado hasta progresión tumoral, fallecimiento, decisión del paciente de abandonar el estudio o cierre del mismo. Se documentaron y analizaron todas las pérdidas de seguimiento, y se consideró no evaluable a cualquier paciente sin datos suficientes para valorar respuesta o toxicidad.

Respecto a la seguridad del tratamiento, fue monitorizada mediante el registro de eventos adversos y la evaluación de alteraciones en los parámetros analíticos. Los IrAE se monitorizaron sistemáticamente en cada visita y se clasificaron según los Criterios Comunes de Terminología para Eventos Adversos del Instituto Nacional del Cáncer, versión 5.0 (84).

4.5.- Análisis de PD-L1

La expresión de la proteína PD-L1 fue evaluada en las muestras tumorales disponibles al diagnóstico, es decir, antes del inicio del tratamiento. Las muestras se consideraron adecuadas para la tinción de PD-L1 si contenían más de 100 células neoplásicas viables. La expresión de PD-L1 se evaluó utilizando el kit de inmunohistoquímica PD-L1 IHC 22C3 pharmaDx, en muestras de tumor fijadas en formalina, utilizando la puntuación TPS, que es el porcentaje de células tumorales viables que muestran una tinción parcial o completa de la membrana. La expresión de PD-L1 se consideró confirmada cuando se observó tinción en la membrana de las células tumorales (con cualquier intensidad). Los niveles de expresión predefinidos se clasificaron en 1% a 50% (expresión baja) o más del 50% (expresión alta).

4.6.- Análisis de la composición de la microbiota

Como se ha mencionado previamente, cada paciente contribuyó con muestras de saliva (n=54) y heces (n=52). Ambas muestras fueron congeladas a -80°C lo antes posible, y se mantuvieron en estas condiciones hasta completar el proceso de reclutamiento.

Tras completar dicho reclutamiento, las muestras de saliva y heces fueron posteriormente derivadas al Departamento de Microbiología del Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), con el objetivo de realizar la extracción de ADN y la secuenciación masiva del gen 16S rDNA. Las muestras recogidas fueron descongeladas lentamente a -20°C durante 24 horas y posteriormente a 4°C durante otras 24 horas, para evitar la muerte bacteriana y la fragmentación del ADN. El ADN total se obtuvo mediante el kit QiaAmp (Biotools, QIAGEN), a partir del pellet de saliva tras centrifugación y de alícuotas de 200 µl de una solución de 0,5 g de heces disueltas en 5 ml de agua. La composición bacteriana fue determinada mediante la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región V3-V4 del ADN ribosomal 16S (ADNr 16S). Los productos de la PCR fueron agrupados de manera equitativa y sometidos a secuenciación masiva (2x300 pb) en una plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.) en la UCAT del Instituto de Investigación Sanitaria Ramón y Cajal (Madrid, España). El proceso de secuenciación masiva fue exitoso y superó todos los controles de calidad. Solo una muestra de saliva fue descartada debido a la baja cantidad de lecturas.

El control de calidad de las secuencias se realizó con DADA2, con una rareza de 12,000 secuencias por muestra. Las variantes de secuenciación de amplicones se obtuvieron mediante asignación taxonómica con el clasificador Silva_132. Se realizaron estudios de diversidad alfa y beta, utilizando el complemento q2-diversity de QIIME2, tras normalizar las muestras por rarefacción (submuestreo sin reemplazo). Para el análisis de la diversidad alfa, se utilizaron los índices de Faith y Shannon. Por otro lado, la diversidad beta se exploró mediante la técnica de

Análisis de Coordenadas Principales (PCoA). Este análisis se basó en las distancias de UniFrac ponderadas y no ponderadas, permitiendo observar las relaciones de similitud entre los pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento. Además, se llevó a cabo un análisis de tamaño del efecto lineal discriminante (LEfSe) para evaluar qué taxones explicaban las diferencias entre los grupos previamente mencionados (respondedores y no respondedores) y su poder de discriminación mediante el análisis discriminante lineal (LDA). Los datos de secuenciación fueron depositados en Genbank (BioProject PRJNA1054537).

4.7.- Análisis de modelos predictivos con Machine Learning/ Modelos predictivos mediante aprendizaje automático

Se exploró la precisión de varios modelos predictivos utilizando diversos algoritmos de aprendizaje automático, tales como la regresión logística, los bosques aleatorios (*random forest*), los vecinos más cercanos (*k-nearest neighbors*), las redes neuronales y las máquinas de vectores de soporte. Para ello, se construyeron modelos basados en tres conjuntos de datos: 1) características clínicas, 2) abundancia bacteriana en saliva y heces, y 3) la combinación de ambos. La selección de variables se realizó empleando un enfoque de selección automática de características basado en importancia de variables (*feature importance*) para cada algoritmo.

Los datos fueron preprocesados mediante la normalización de variables continuas y codificación de variables categóricas. Los valores faltantes se trataron mediante imputación por la media (para datos continuos) o la moda (para datos categóricos). Para evaluar la robustez de los modelos y minimizar el sesgo de sobreajuste, se aplicó validación cruzada estratificada de tipo k-fold (k=5). Además, considerando el desbalance en la proporción de pacientes respondedores y no respondedores, se exploraron estrategias como el ajuste de pesos en las clases y el uso de técnicas de sobremuestreo (*oversampling*) en el conjunto de entrenamiento.

La evaluación del rendimiento se realizó utilizando métricas como el **f1-score**, precisión, exhaustividad y el área bajo la curva ROC, priorizando el f1-score por su capacidad para balancear precisión y exhaustividad en conjuntos de datos desbalanceados. Dado el tamaño relativamente pequeño de nuestra cohorte, desde el punto de vista del aprendizaje automático, se promediaron los resultados a lo largo de 500 experimentos para obtener una estimación más robusta. Todos los modelos fueron implementados en Python 3.8.10, utilizando el paquete Scikit-learn. Finalmente, la interpretación de los modelos se abordó mediante el análisis de importancia de variables, identificando aquellas características que más contribuían a la predicción de respuesta a inmunoterapia, SG y SLP.

4.8.- Análisis estadístico

La distribución normal de las variables fue comparada utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para las variables cuantitativas, la normalidad de la distribución fue verificada mediante la prueba de Anderson-Darling, con el fin de definir si se debían emplear test de análisis paramétricos (prueba t) o no paramétricos (prueba de Mann-Whitney). Por ejemplo, la prueba de Mann-Whitney se empleó para evaluar si existían diferencias en los niveles de citrulina o en los distintos porcentajes de subpoblaciones linfocitarias en función del uso o no de antibióticos, corticosteroides, o de la aparición de toxicidad inmunorrelacionada.

Las correlaciones entre la SG (en meses) y las variables cuantitativas se evaluaron utilizando el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, dependiendo de la distribución de los datos. Las variables cualitativas, como la respuesta clínica (respondedor/no respondedor) o la presencia de IrAE, se analizaron mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según el tamaño muestral y la distribución de frecuencias esperadas.

El análisis descriptivo de la función de SV y de la función de riesgo acumulado fue realizado mediante el estimador de límite de producto de Kaplan-Meier. El objetivo del estudio fue evaluar si la función de riesgo difería según la presencia de ciertos factores, a través de un análisis bivariante. La prueba de Mantel-Haenszel (log-rank) se utilizó para comparar las funciones de riesgo entre los distintos grupos. El modelo de riesgos proporcionales de Cox, conocido como regresión de Cox, se utilizó para estimar un modelo que examinara cómo las covariables influyen colectivamente en el riesgo de complicaciones. Se consideraron significativos los valores de probabilidad (p) inferiores a 0.05, con un intervalo de confianza del 95%.

El manejo de valores perdidos se abordó según el tipo de variable y la proporción de datos ausentes. En variables con menos del 5% de datos faltantes se aplicó imputación simple (mediana para variables continuas, moda para cualitativas). En los casos con mayor proporción, las variables afectadas fueron excluidas del análisis correspondiente.

5.- RESULTADOS

5.1.- Pacientes y tratamiento

En nuestro estudio se incluyeron un total de cincuenta y cinco pacientes diagnosticados de CPCNP en estadio avanzado o metastásico, todos ellos de raza caucásica y candidatos a recibir tratamiento con inmunoterapia. La mediana de edad de los pacientes incluidos fue de 65 años (62,64-67,39), con una distribución de género que mostró que el 70.9% de los pacientes eran hombres, lo que refleja una tendencia común en esta patología a día de hoy. En el momento del diagnóstico, el 65.5% de los pacientes presentaban un ECOG de 0 mientras que el 34.5% restante presentaban un ECOG de 1. En cuanto a los antecedentes de hábito tabáquico, se observó que sólo el 3.6% de los pacientes eran no fumadores, mientras el 96.4%, eran fumadores o exfumadores. Este dato es significativo, ya que el tabaquismo es un factor de riesgo conocido y ampliamente documentado en la etiología del cáncer de pulmón.

La caracterización histológica reveló que el 60% eran adenocarcinomas y, el 40% restante, fueron carcinomas de células escamosas. Como hemos comentado previamente en la introducción, uno de los parámetros a determinar para realizar un correcto abordaje terapéutico en el CPCNP, es la expresión de PD-L1. En nuestra muestra el 18.2% de los pacientes presentaba una expresión menor al 1% (PD-L1 negativo), el 29.1% mostraba una superior al 50% (alta expresión), mientras que el mayor porcentaje de pacientes, el 38.2%, mostraba una expresión entre 1 y 49% (PD-L1 positivo, pero baja expresión).

Respecto al estadio en el que se encontraba la enfermedad en el momento del diagnóstico, un 74.5% de los pacientes presentaban una enfermedad metastásica, es decir, un estadio IV y el 25.5% se encontraba en un estadio III o localmente avanzado. De estos, un 32.7% recibió tratamiento con inmunoterapia como primera línea de tratamiento y un 41.8% lo recibió en segunda y subsecuentes líneas de tratamiento. El 25.5% restante, recibió ICI como parte del tratamiento de la enfermedad localmente avanzada (estadio III). Dentro de los diferentes ICI empleados, el más frecuentemente utilizado fue pembrolizumab en un 38.2% de los pacientes, seguido de atezolizumab en un 32.7% de los casos, durvalumab en un 25.5%, siendo nivolumab el menos empleado, con solo un 3.6% de pacientes.

Centrándonos ahora en los tratamientos concomitantes que se prescribieron a los pacientes, motivo de éste trabajo, se describen a continuación las características relativas al uso de corticoides y antibióticos. En cuanto al uso de antibióticos, el 50.9% de los pacientes requirió su uso. Dentro de éste porcentaje, el 60% los emplearon tras el primer mes desde el inicio de la inmunoterapia, mientras que el 40% restante los necesitó en un período comprendido entre los 2 meses previos y los 42 días posteriores al inicio del tratamiento con ICI. Aunque el

60.7% de los pacientes sólo precisó un ciclo de antibioterapia, el 28.6% necesitó dos ciclos y hasta un 7.1% de los pacientes necesitaron cuatro ciclos de tratamiento antibiótico. Respecto a las indicaciones por las que fueron utilizados estos fármacos, las principales fueron las infecciones respiratorias (71.5%), de las cuales el 28.6% correspondieron a neumonías o infecciones respiratorias bajas, seguidas de las infecciones del tracto urinario (14.3%) e intraabdominales (3.6%), sin embargo, en un 7.1% de los casos, la causa de la indicación no se pudo determinar (infecciones/fiebre de origen desconocido). Los antibióticos más frecuentemente empleados fueron amoxicilina más ácido clavulánico, azitromicina y levofloxacino. Las medianas de días de tratamiento fueron muy variables en función del principio activo empleado y del número de ciclos empleados. Por ejemplo, en el primer ciclo de tratamiento, la mediana de días de tratamiento para los más empleados fue: amoxicilina más ácido clavulánico 6.4 días (desviación típica: 1.4), azitromicina 2.5 días (desviación típica: 0.7) y levofloxacino 3.8 días (desviación típica: 4.7). La duración del tratamiento fue dividida en alta o baja en función del cociente de exposición de antibióticos/ICI [número de días de antibiótico/número de días de ICI (considerando las medianas)].

Pasando ahora al tratamiento con corticoides, fueron necesarios en el 58.2% de los pacientes. De estos, el 71.9% de los pacientes los empleó tras el primer ciclo de inmunoterapia, mientras que el 28.1% restante de la cohorte los recibió en el período comprendido entre los 2 meses antes del inicio del tratamiento con ICI hasta la fecha de administración del primer ciclo. La principal indicación para el uso de corticoides fue la aparición de IrAE en el 34.4% de los casos. Tras esto, con una frecuencia de empleo mucho menor encontramos las metástasis cerebrales (9.4%) y las exacerbaciones de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (9.4%).

Se recogen las características previas en la tabla 6 recogida en los anexos.

Hemos mencionado en el apartado anterior, los IrAE como principal causa de uso de corticoides y es que, hasta un 45.5% de los pacientes los presentó en algún grado. La mayoría de estos eventos adversos fueron tardíos, definidos como aquellos que ocurrieron después de los primeros tres meses desde el inicio de la inmunoterapia. En cuanto al tipo de toxicidad, las más frecuentes con un 10.9% de los casos fueron la cutánea y la pulmonar (neumonitis), seguido de la toxicidad endocrina y musculoesquelética ambas en un 9.1% de los pacientes. Respecto a la gravedad, el 75% de los IrAE fueron grado 1-2, presentando un solo paciente una toxicidad grado 4, manifestada como hepatitis.

5.2.- Análisis de la microbiota

Después del control de calidad, sólo se eliminó una muestra de saliva debido a la baja cantidad de lecturas, asegurando así la integridad de los datos microbiológicos analizados. Al comparar la microbiota respiratoria (en saliva) de los pacientes respondedores frente a la de los no respondedores a la

inmunoterapia, se encontraron diferencias significativas en la composición microbiana (Figuras 1-3). En ambos grupos, *Firmicutes* y *Bacteroidota* fueron los filos dominantes. Sin embargo, se observó una mayor proporción relativa de *Firmicutes* en los pacientes no respondedores en comparación con los respondedores, quienes mostraron un predominio relativamente mayor de *Bacteroidota*. El filo *Actinobacteria* mostró una ligera mayor abundancia en no respondedores, mientras que el filo *Proteobacteria* fue más evidente en respondedores (Figura 1).

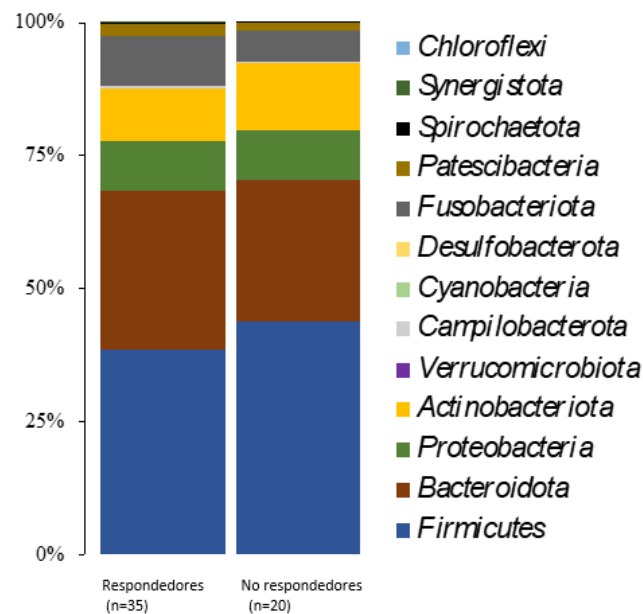


Figura 1: Medianas de los filos bacterianos en la muestra respiratoria. Diferencias entre los respondedores y no respondedores a los inhibidores de puntos de control inmunitario.

En el análisis de la diversidad de la microbiota oral, los pacientes respondedores mostraron valores significativamente más altos de alfa-diversidad [índices Faith PD ($p=0.01$) y Shannon ($p=0.01$)]. En el análisis de la beta-diversidad se reveló una clara separación entre respondedores y no respondedores, tanto por el índice UniFrac ponderado ($p=0.002$) como con el índice UniFrac no ponderado ($p=0.003$). Por otro lado, el análisis LEfSe identificó en los pacientes respondedores al tratamiento con ICI una presencia significativamente mayor de los géneros *Fusobacteria* (índice LDA ≈ 3.2) y *Porphyromonas* (índice LDA ≈ 3.0), dos grupos microbianos implicados en la modulación de la respuesta inmune según los datos de la literatura científica. Mientras que, en los pacientes no respondedores a la inmunoterapia, se encontró una mayor abundancia del género *Streptococcus* (índice LDA ≈ 2.5) (Figuras 2 y 3).

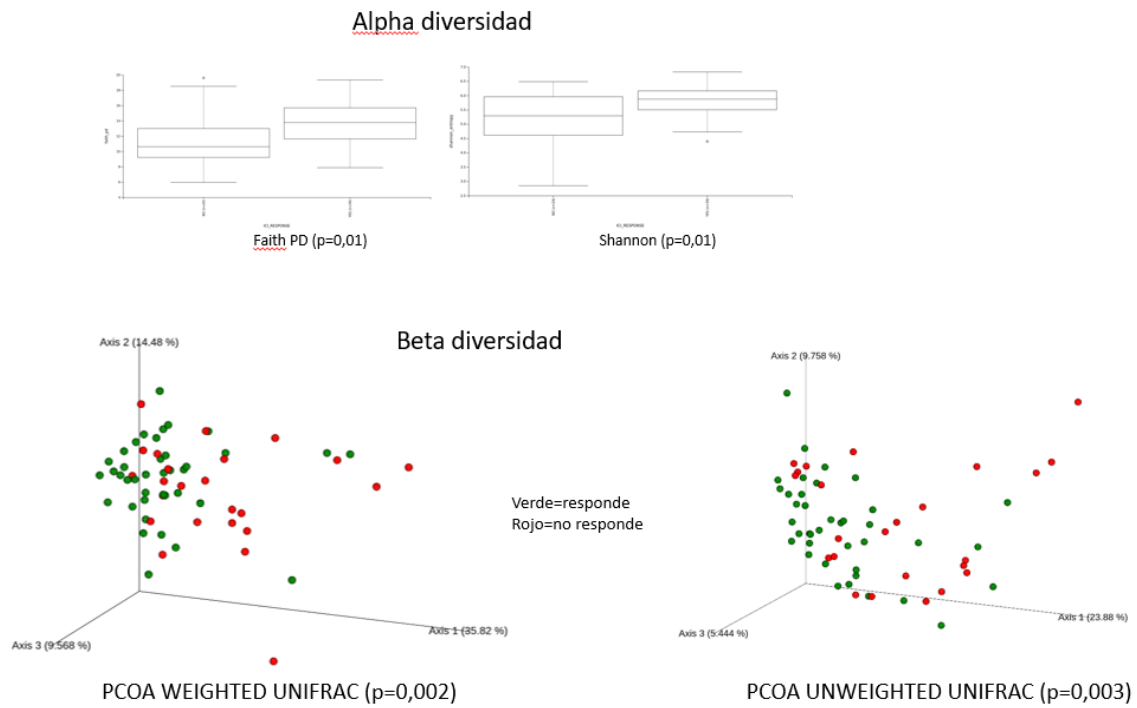


Figura 2: Alfa y beta diversidad de la microbiota en saliva en respondedores y no respondedores a inmunoterapia. Superior: Diversidad alfa en los índices Faith P y Shannon. Inferior: diversidad beta utilizando el análisis unifrac ponderado y no ponderado PCoA.

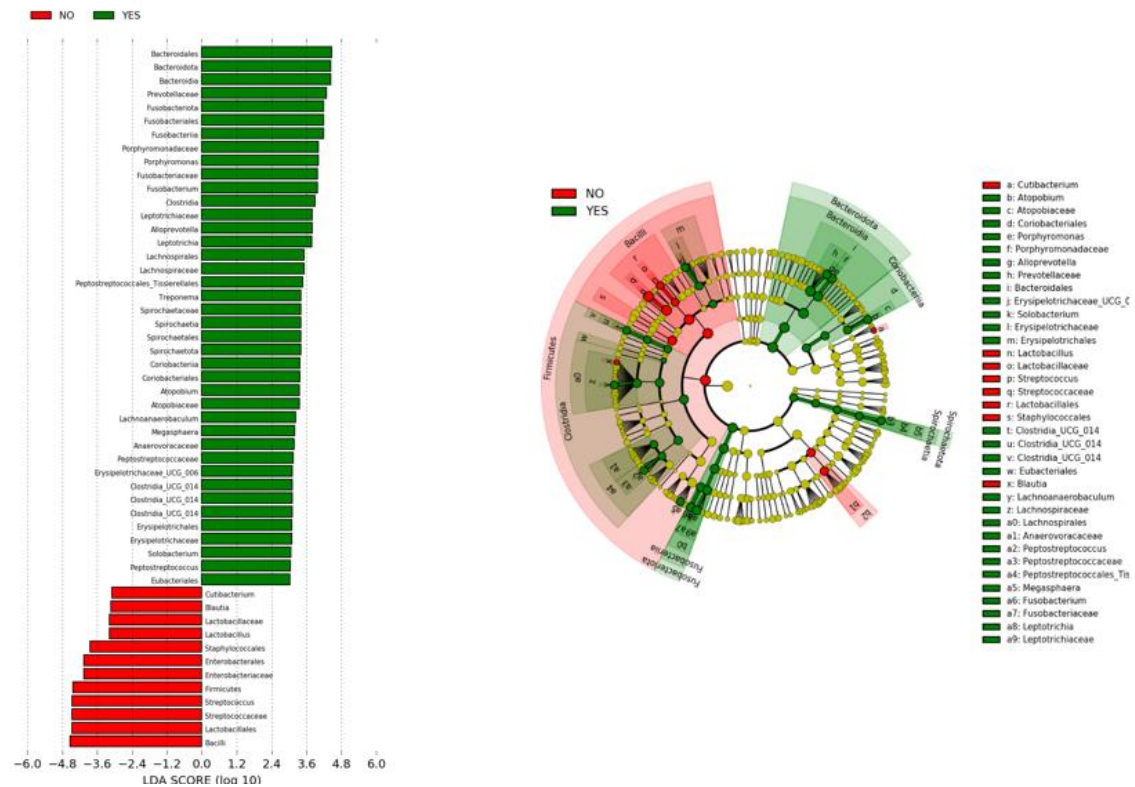


Figura 3: Diferencias en la microbiota respiratoria entre respondedores y no respondedores a los inhibidores de puntos de control inmunitario mediante análisis discriminante de tamaño de efecto lineal.

Respecto a los cambios encontrados en la microbiota según la medicación concomitante, se relacionó el uso de corticoides con una mayor presencia de *Actinomyces*. Se exploró la relación entre la composición de la microbiota y el uso de ATB, el tipo y el número de ciclos de ATB empleados, sin encontrar diferencias significativas.

5.3.- Análisis de supervivencia

La mediana de SG fue de 19 meses (Intervalo de confianza (IC) del 95% (11.3 a 26.87), mientras que la SLP fue de 10 meses (IC del 95%, 2.81 a 17.19). Tras alcanzar los 24 meses de mediana de seguimiento, el 36% de los pacientes permanecían vivos y un 30% de ellos no habían experimentado progresión de su enfermedad.

Al analizar la cohorte por subgrupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en SG en función del sexo, el hábito tabáquico, el IMC ni la histología tumoral. Cuando se analizó la SG en base a la edad (utilizando como punto de corte los 75 años), aunque no se encontraron diferencias significativas, sí que encontramos una tendencia a una menor SG en los pacientes añosos (20 vs 4 meses, p-valor= 0.065). Sin embargo, al analizar el ECOG, los pacientes con ECOG 0 tenían una mSG de 27 meses, significativamente mayor que la de aquellos con ECOG 1 que fue de 4 meses ($p < 0.001$) (Figura 4).

Al realizar el análisis de la cohorte en función de la mejor respuesta obtenida, se encontraron diferencias estadísticamente significativas. La mediana de SG para aquellos que presentaron progresión de la enfermedad (PR) fue de 4 meses, para aquellos con enfermedad estable (EE) 20 meses, para los que alcanzaron una respuesta parcial fue de 27 meses y, en el grupo de los pacientes que consiguieron una respuesta completa (RC), la mediana de SG no había sido alcanzada en el momento de este análisis (Figura 4). Para extrapolar esta conclusión a nivel poblacional se ha utilizado el contraste de Mantel-Haenszel (log-rank), concluyendo que sí hay diferencias significativas entre los grupos (estadístico=75,560; p-valor=0,001). Comparando los grupos dos a dos, se concluye que las diferencias en la supervivencia son significativas entre PR y: RC (estadístico=18,821; p-valor=0,0001), RP (estadístico=16,938; p-valor=0,0001) y EE (estadístico=9,489; p-valor=0,002); además hay diferencias comparando RC con EE (estadístico=5,708; p-valor=0,017).

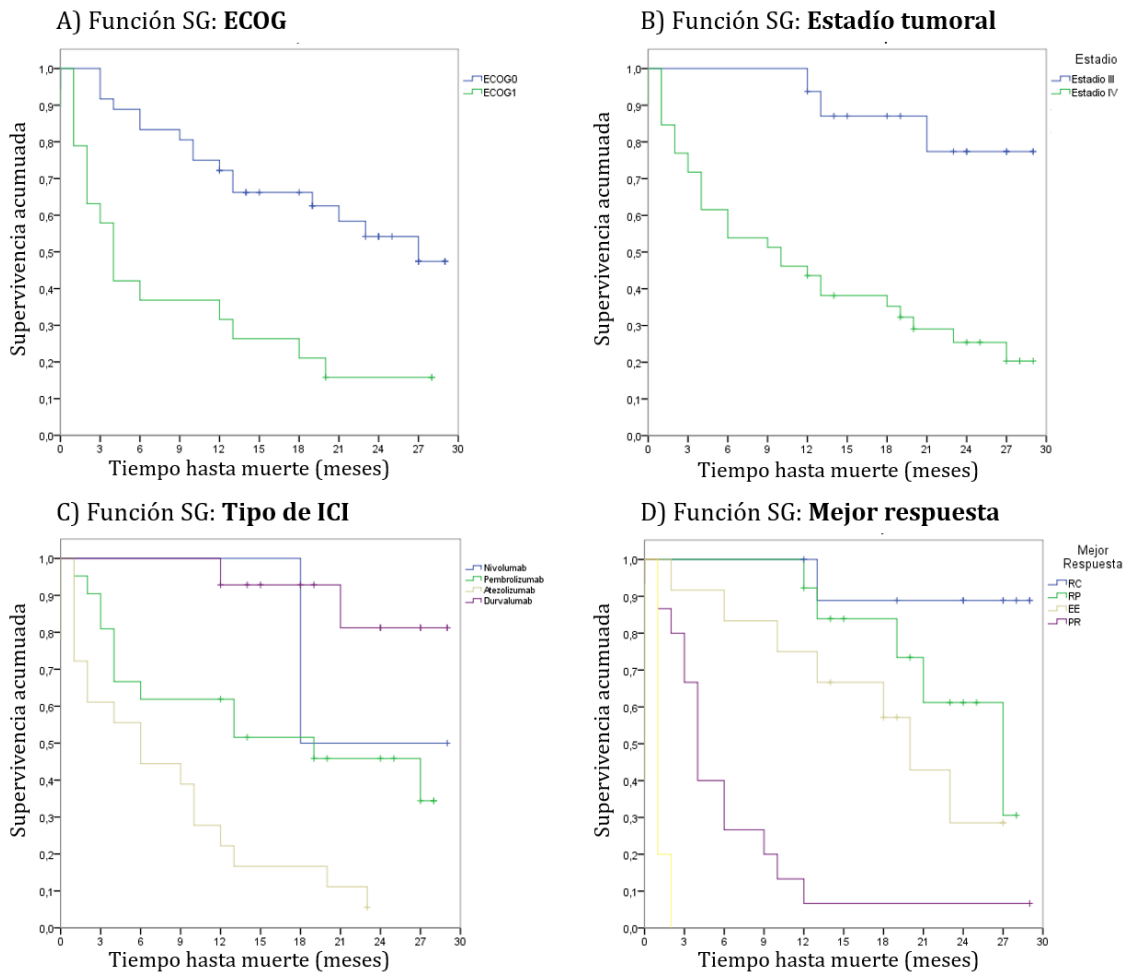


Figura 4: Curvas de supervivencia de Kaplan–Meier. A) Curvas de supervivencia basadas en la escala del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). B) Curvas de supervivencia basadas en el estadio tumoral. C) Curvas de supervivencia basadas en el tipo de inmunoterapia. D) Curvas de supervivencia basadas en la mejor respuesta alcanzada. Los datos numéricos y los valores p se especifican en el texto anterior.

Tras estos análisis, se analizó la SV de nuestra cohorte en base a la exposición a distintos fármacos: antibióticos y corticoides. Aunque no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el análisis de la SG y la exposición a antibióticos, sí que destacaba una tendencia a una SV más prolongada en aquellos que no requirieron el empleo de antibioterapia [mSG 23 meses (IC95%: 13.47 – 32.58) para aquellos que no los emplearon frente a 12 meses (IC95%: 6.81 – 17.19) en aquellos que sí los precisaron; estadístico=3,113, $p= 0.078$]. Cuando se realizó el análisis de SG en función del número de ciclos (diferenciando un único ciclo frente a >1 ciclo) o del momento de su empleo (desde dos meses antes hasta un mes después del inicio de ICI frente a su uso tras el primer mes del inicio del tratamiento) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas [Figura 5 (A-C)] Tras analizar la SLP no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en población global ni en el análisis por subgrupos.

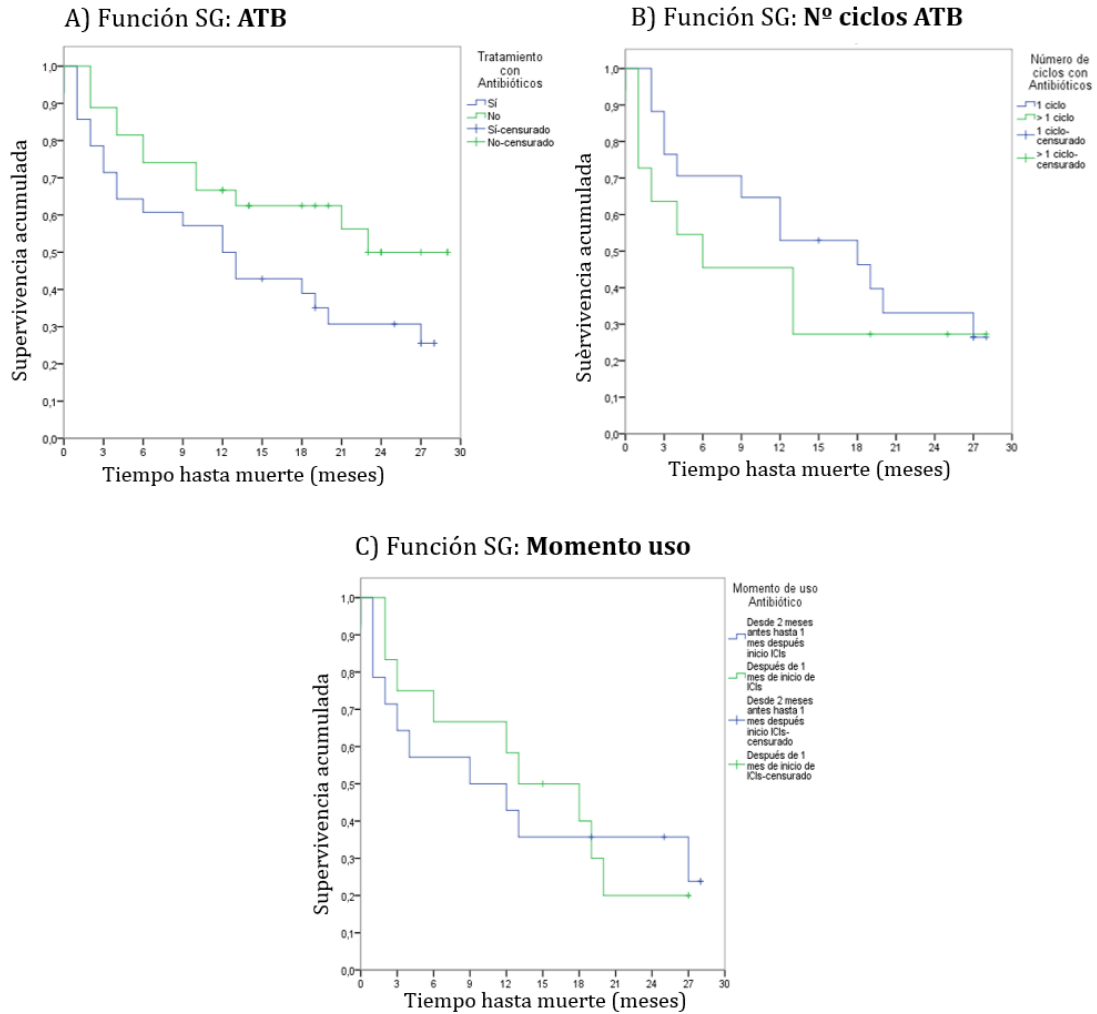


Figura 5: Curvas de supervivencia de Kaplan–Meier. A) Curvas de SG basadas en el empleo o no de ATB. B) Curvas de SG basadas en los ciclos de ATB. C) Curvas de SG basadas en momento de empleo.

A pesar de no haber encontrado una asociación entre la SG y el empleo de antibioterapia, dentro de la cohorte de pacientes respondedores a ICI, se observó que el 60% no habían recibido tratamiento con ATB, mientras que dentro de los no respondedores el 74% los había empleado ($p=0.0439$) (Figura 6).

P value and statistical significance	
Test	Fisher's exact test
P value	0.0439
P value summary	*
One- or two-sided	Two-sided
Statistically significant (P < 0.05)?	Yes

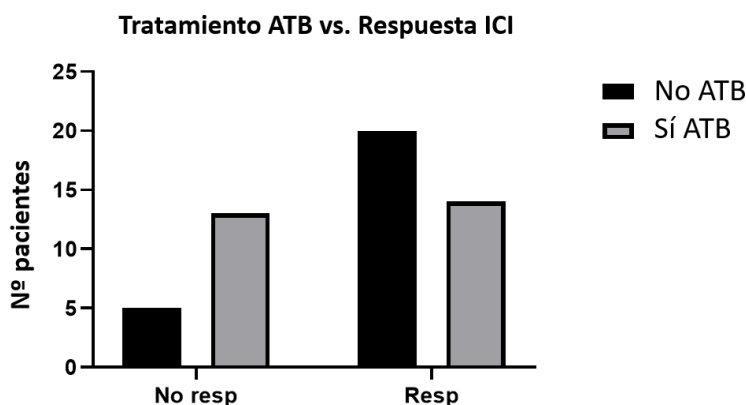


Figura 6: Prueba de significación estadística y gráfico de asociación entre el tratamiento antibiótico y la respuesta a ICI.

Como ya indicamos previamente, se realizó también un análisis estadístico de correlación entre la SV y el empleo de corticoides. Cuando se analizó la relación entre su empleo y la SG, sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas, favoreciendo a aquellos pacientes que no los necesitaron (mSG no alcanzada en el grupo sin corticoides vs 10 meses en el grupo que los necesitó, estadístico=6,453, $p=0.011$). Sin embargo, cuando llevamos a cabo el análisis por subgrupos basado en la razón de su uso (Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), IrAE, metástasis cerebrales u otros) o el momento de uso (desde 2 meses antes hasta 1 mes tras el primer ciclo frente a después del primer ciclo de ICI) estas diferencias no se mantuvieron [Figura 7 (A-C)].

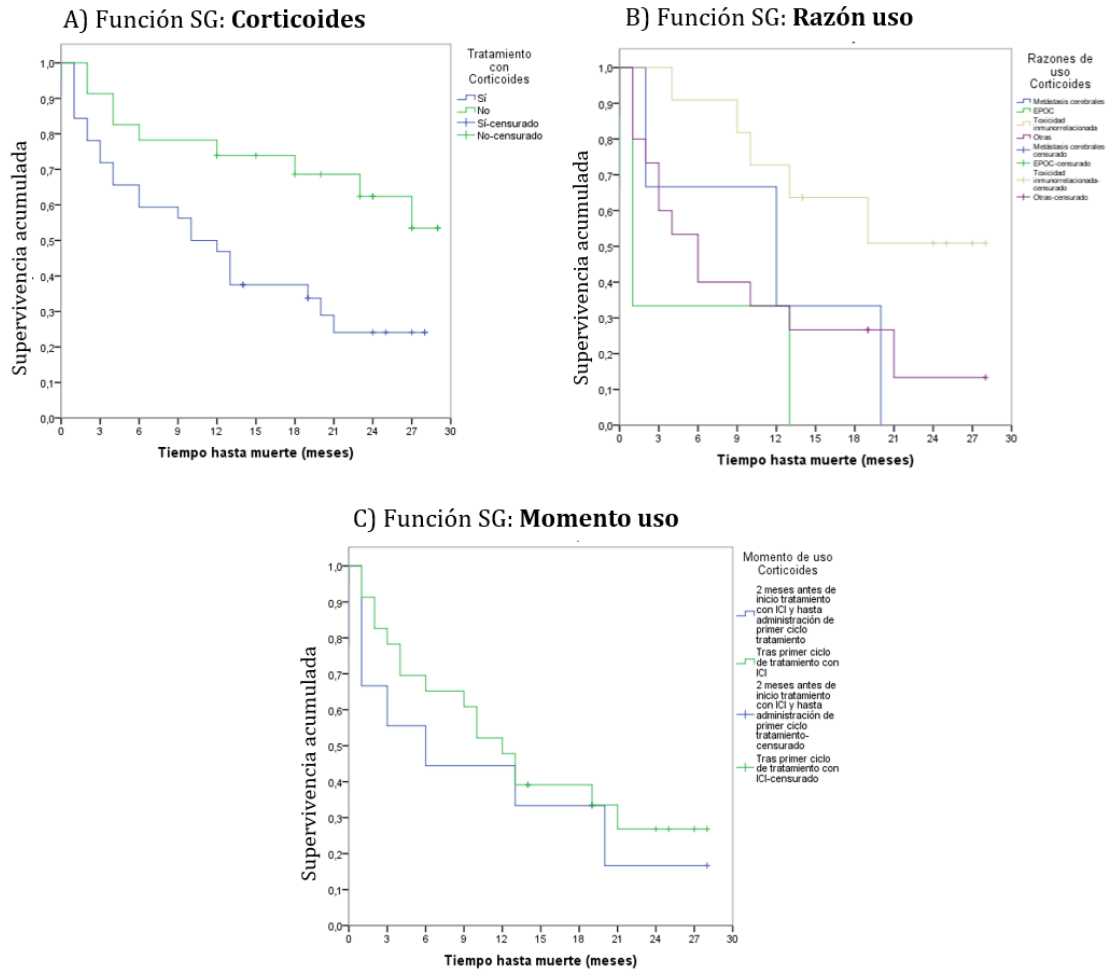


Figura 7: Curvas de supervivencia de Kaplan–Meier. A) Curvas de SG basadas en el empleo o no de corticoides. B) Curvas de SG basadas en la razón de su uso C) Curvas de SG basadas en momento de su empleo.

A pesar de haber encontrado diferencias significativas en la relación de los corticoides y la SG, no fue así cuando se analizó la SLP (mSLP sin corticoides 10m frente a 7 meses con corticoides, $p=0.846$). Lo mismo ocurrió cuando se realizó el análisis por subgrupos teniendo en cuenta los previamente mencionados [Figura 8 (A-C)].

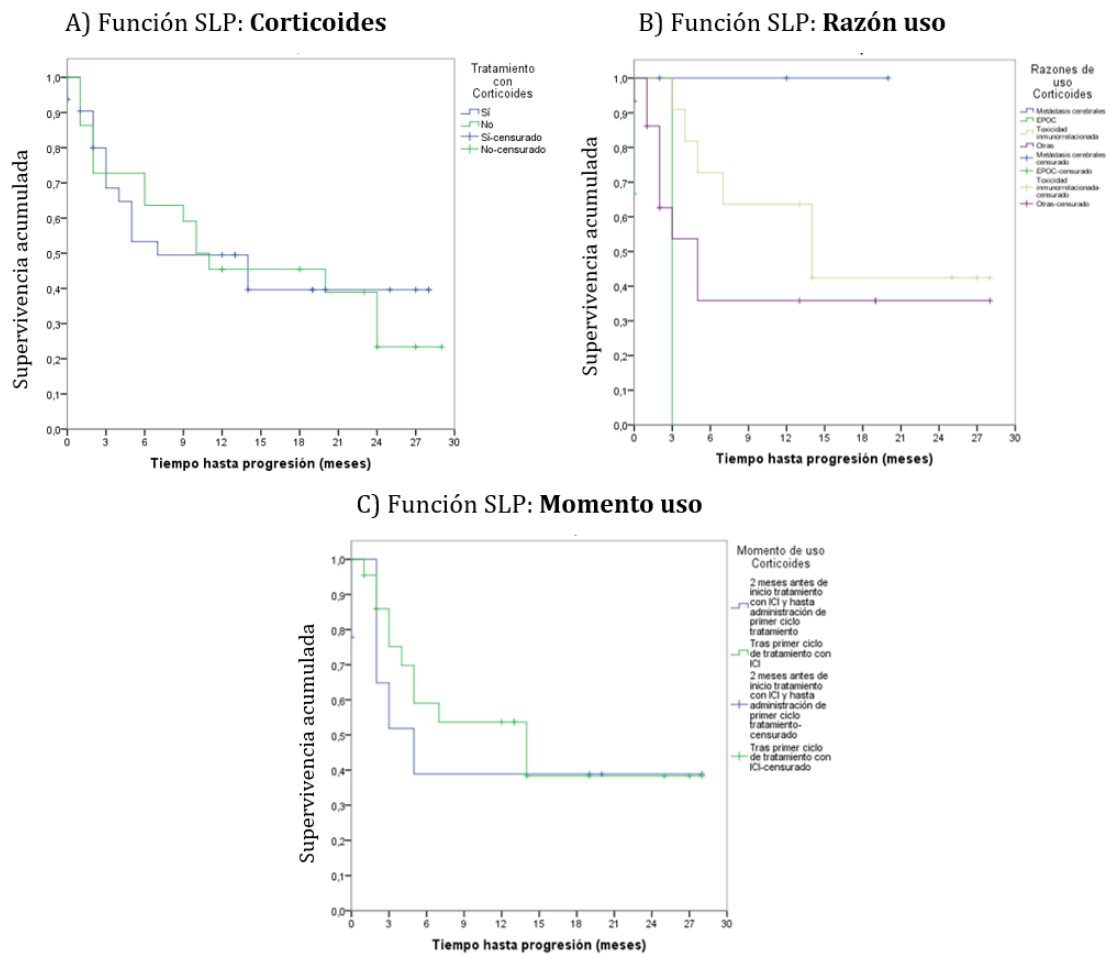


Figura 8: Curvas de supervivencia de Kaplan–Meier. A) Curvas de SLP basadas en el empleo o no de corticoides. B) Curvas de SLP basadas en la razón de su uso C) Curvas de SLP basadas en momento de su empleo.

Por último, se valoró la correlación de la SV con la aparición de IrAE. Se observó una correlación positiva, con una SG más extendida en aquellos que presentaron algún tipo de IrAE, aunque sin alcanzar la significación estadística (estadístico=3,824, $p=0.051$). La mSG en los pacientes con IrAE fue de 21 meses, frente a aquellos que no los presentaron en los cuales fue de 6 meses. Sin embargo, cuando se analizó la SLP, las diferencias observadas en las curvas de Kaplan-Meier sí se tradujeron en una significación estadística al realizar el análisis. Así encontramos una mSLP de 20 meses en aquellos que sí presentaron algún tipo de toxicidad inmunomediada frente a 6 meses en aquellos que no la presentaron (estadístico=4,698, $p=0.03$) [Figura 9 (A-B)].

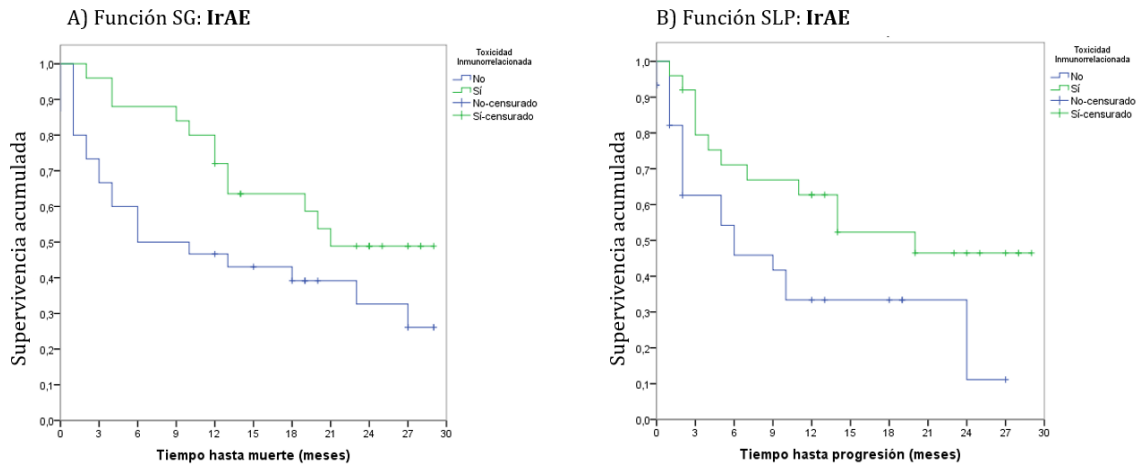


Figura 9: Curvas de supervivencia de Kaplan–Meier. A) Curvas de SG basadas en la aparición o no de IrAE. B) Curvas de SLP basadas en la aparición o no de IrAE.

Se trató de buscar o establecer una relación entre la aparición de toxicidad inmunomediada y las variaciones en los porcentajes de distintas poblaciones linfocitarias. Se analizaron tanto linfocitos T-CD8, con sus respectivas subpoblaciones (LAG3+, TIM3+), como linfocitos T- CD4 como las *células natural killer*, sin encontrar ninguna relación con estas subpoblaciones linfocitarias.

5.4.- Marcadores de respuesta a inmunoterapia

Uno de los objetivos de este trabajo, fue intentar encontrar marcadores de respuesta a estos tratamientos. En base a esto se analizó la relación entre la respuesta encontrada a los ICI y diversas variables. Se consideraron respondedores al tratamiento aquellos que habían alcanzado una RC, RP O EE, sumando un total de treinta y cinco pacientes (63.6% de la muestra). Esta respuesta se relacionó con una SG y una SLP más prolongadas. También se estableció una correlación entre la respuesta y la aparición de toxicidad inmunomediada, especialmente encontrando un mayor porcentaje de pacientes sin IrAE en los no respondedores a ICI, a pesar de no ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0.087$) (Figura 10).

P value and statistical significance	
Test	Fisher's exact test
P value	0.0873
P value summary	ns
One- or two-sided	Two-sided
Statistically significant (P < 0.05)?	No

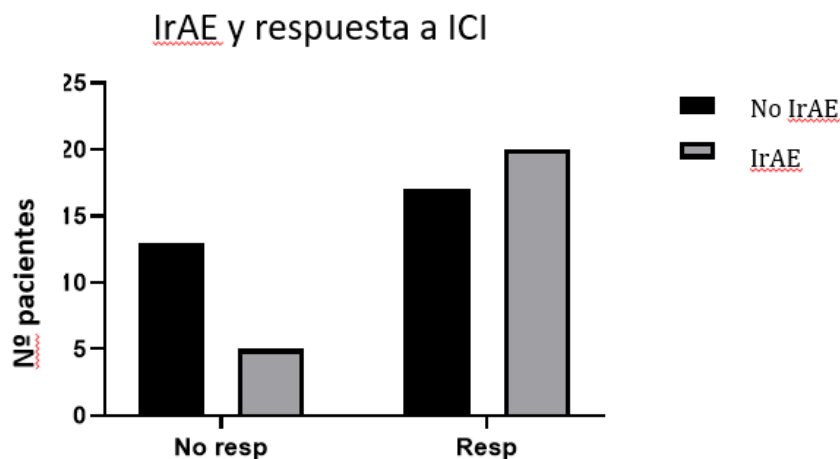


Figura 10: Prueba de significación estadística y gráfico de asociación entre la aparición de IrAE y la respuesta a ICI.

Respecto a la composición de la microbiota y su relación con la respuesta a los ICI, se observó que los pacientes respondedores a inmunoterapia presentaban una mayor abundancia de *Bacteroidota*, en detrimento de *Firmicutes*, con un aumento de hasta cuatro veces en la abundancia de *Fusobacterium* y *Porphyromonas*, mientras que la de *Streptococcus* se redujo en hasta 4.5 veces (Figura 11).

Considerando la posibilidad de predecir respuesta a la inmunoterapia empleando la información derivada de la composición de la microbiota salival, se empleó un modelo de regresión logística con parámetros $c=1$ y una penalización Ridge. Según nuestro análisis, la abundancia de *Gemella* en saliva fue el mejor predictor de falta de respuesta a ICI mientras que la abundancia de *Lachnoanaerobaculum* fue el mejor predictor de respuesta (RC, RP o EE) a la inmunoterapia.

A pesar de las diferencias encontradas en la respuesta al tratamiento en función de la composición de la microbiota, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni clínicamente relevantes en la supervivencia global.

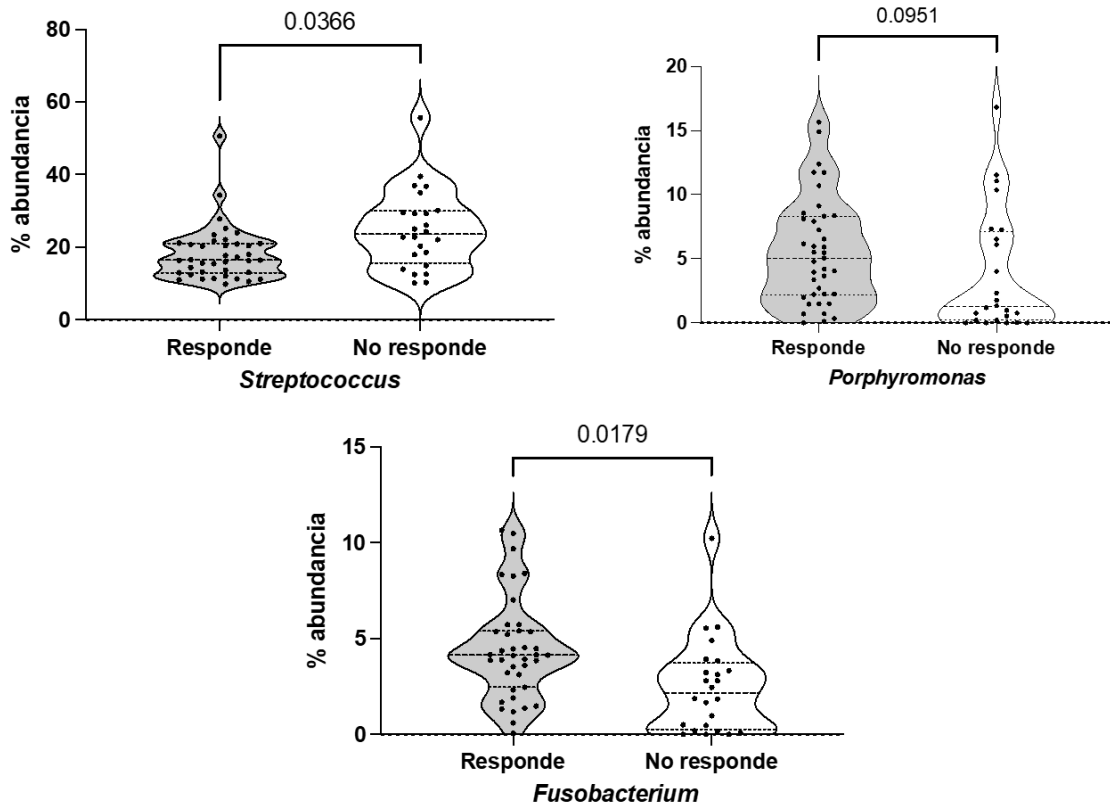


Figura 11: Abundancia de los géneros bacterianos más relevantes entre respondedores y no respondedores.

6.- DISCUSIÓN

En este estudio piloto, hemos estudiado de manera prospectiva una cohorte de 55 pacientes, todos ellos diagnosticados de CPCNP avanzado o metastásico, que cumplieran criterios y fueron tratados con inmunoterapia, con el objetivo de evaluar el efecto de corticoides y antibióticos y la aparición de IrAE en la eficacia de los ICI. Nuestros hallazgos, aunque preliminares, permiten generar hipótesis relevantes que podrían guiar futuras investigaciones en este campo emergente. Otro de los aspectos a evaluar fue la consideración de la microbiota respiratoria (evaluada en nuestra cohorte en saliva) como un posible factor predictivo tanto de respuesta a ICI como de aparición de toxicidad inmunomediada.

Las características basales de nuestros pacientes, en cuanto a aspectos demográficos, estadiaje, entre otros, fueron similares a aquellas encontradas en la literatura científica (30,38,40,43,77). Es importante mencionar que, en algunos de los ensayos referenciados a lo largo de éste trabajo, había una menor proporción de pacientes ECOG 0 y una mayor proporción de no fumadores (20,94). Esta diferencia en la proporción de fumadores, podría verse explicado en base a que, los pacientes no fumadores presentan una mayor frecuencia de alteraciones accionables (reordenamientos *ALK*, mutaciones *EGFR*) que los hacen candidatos a terapias dirigidas en lugar del tratamiento con ICI (35,43). Siendo este uno de los motivos por lo que este subgrupo está menos representado en nuestra cohorte.

Respecto a las tasas de respuesta y a la SV, en nuestro estudio se alcanzó una mSLP en la población global de 10 meses, una mSG de 19 meses y una tasa de respuesta de 42.4%. Estos resultados son consistentes con los previamente reportados en ensayos clínicos con muestras similares de pacientes tratados con inmunoterapia en los cuales las medianas de SV y tasas de respuesta son comparables (29–31,36,37,104). Cabe destacar que los resultados de SG en pacientes ECOG 1, son significativamente peores que los encontrados en pacientes ECOG 0, y distan de los disponibles en la literatura actual, donde los resultados entre ambas poblaciones de pacientes no son tan dispares (32,36). Este hallazgo podría deberse a una infraestimación del ECOG de los pacientes, a una mayor carga tumoral, y su interpretación ha de realizarse con cautela dado el limitado tamaño muestral.

Como se ha podido ver en los datos expuestos previamente, no todos los pacientes responden de una manera uniforme a los ICI, lo cual evidencia la heterogeneidad en la eficacia de estas terapias. Hasta el momento, no se ha encontrado un factor único que explique esta variabilidad en la respuesta, si no que se han descrito distintos aspectos que pueden estar implicados como las diferencias en el perfil génico tumoral, la composición de la microbiota, la carga tumoral, el estado inmune basal del paciente incluso el desarrollo de toxicidad inmunorrelacionada, que por su parte también muestra una gran variabilidad entre los pacientes. En los ensayos clínicos, la aparición de IrAE se reportó hasta en

un 80% de los pacientes que reciben ICI en monoterapia y en un 95% de los que recibieron combinaciones de ICI, siendo las más frecuentes la toxicidad cutánea, endocrina y gastrointestinal (94,96,98,99); estos porcentajes son mucho mayores de los descritos en nuestra muestra, donde tan solo un 45.5% de los pacientes presentaron estos efectos adversos, de una manera similar a algunos estudios presentados más recientemente como el de Raynes et al. (105).

Uno de los resultados más sólidos observados en nuestro trabajo fue la asociación entre la aparición de IrAE y una mayor probabilidad de respuesta y SG, en línea con múltiples estudios previos (Diehl et al., 2021; Cortellini et al., 2020). Esta relación sugiere una activación más robusta del sistema inmune en pacientes que desarrollan IrAE, lo que puede reflejar una mayor eficacia del tratamiento inmunomodulador. A pesar de la limitación del tamaño muestral, la consistencia de esta observación con la literatura existente le otorga un peso clínico relevante. La aparición de éstos IrAE puede influir en la adherencia al tratamiento y, en algunos casos, en la necesidad de emplear tratamientos como los corticoides, que podrían influir en la eficacia de los ICI. Sin embargo, en nuestro estudio se pudo mostrar que, aunque el empleo de corticoides se relacione con una peor SV y una menor respuesta al tratamiento, cuando su uso era debido a la aparición de toxicidad inmunomediada, no afectaba a la respuesta ni a la SV de manera significativa.

Respecto a los tratamientos concomitantes, se ha analizado en diversos trabajos la influencia del uso de corticosteroides, inhibidores de la bomba de protones, antibióticos, entre otros, sobre la eficacia de la inmunoterapia. En la mayoría de estos estudios, el uso de estos tratamientos se ha asociado con una menor SV y una peor respuesta al tratamiento (30,77,78,82,90,93,106). Un ejemplo ilustrativo de este fenómeno es la revisión retrospectiva realizada por Tinsley *et al.* En su cohorte de 291 pacientes, un subconjunto de 92 recibió antibióticos y mostró una reducción tanto en la SG como en la SLP en comparación con quienes no los recibieron (mediana de SG de 10.4 meses frente a 21.7 meses) (79). Estos resultados son muy similares a los observados en nuestra cohorte, con una mediana de SG de 12 meses entre los individuos que utilizaron antibióticos, en contraste con 23 meses en aquellos que no lo hicieron.

Nuestros hallazgos revelan una disparidad en la SLP y SG mayor de la reportada en el meta-análisis realizado por Lurienne *et al.* En su estudio, el uso de antibióticos resultó en una reducción de 1.2 meses en la SLP (no estadísticamente significativa) y de 6.7 meses en la SG. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, las diferencias en la SG fueron estadísticamente significativas. Esta disparidad podría explicarse por la inclusión de pacientes con ECOG 2 (un subgrupo no incluido en nuestra cohorte) así como también por la indicación de tratamiento con ICI. En este meta-análisis, la mayoría de los pacientes recibieron inmunoterapia en segunda línea y posteriores, por el contrario, en nuestra cohorte la mayoría de los pacientes recibió ICI como tratamiento de primera línea (80). No obstante, dada la naturaleza unicéntrica del estudio y la heterogeneidad de los esquemas antibióticos empleados, esta asociación debe interpretarse con cautela.

El uso de corticosteroides, especialmente en dosis altas (> 10 mg de prednisona o equivalente) al inicio del tratamiento, puede interferir con la eficacia de la inmunoterapia al ejercer un efecto inmunosupresor significativo que afecta la activación de linfocitos T, fundamentales para el mecanismo de acción de los ICI, lo que limita la efectividad del tratamiento (85,87,88). Estudios en pacientes con CPCNP tratados con ICI han mostrado que, aquellos que recibieron corticosteroides en las semanas previas o durante el inicio de la inmunoterapia, presentaron menores SG y SLP, siendo los resultados de SG de nuestra cohorte consistentes con los publicados en la literatura científica (88,89,91). Sin embargo, nuestro estudio no alcanzó la significación estadística en cuanto a la SLP o en los diferentes subgrupos analizados, a diferencia de los estudios de Arbour *et al.*, entre otros, que sí la alcanzaron, en especial respecto al motivo de empleo de éstos. Cuando estos se administraron para controlar síntomas derivados del cáncer, como disnea o dolor, el impacto negativo en la SV pareció ser mayor que cuando se emplearon para manejar IrAE, donde el efecto es menos evidente (88).

En diversas publicaciones de la literatura científica, se ha sugerido que la desestructuración de la microbiota intestinal y, potencialmente de la salival, en particular los cambios producidos por el consumo de antibióticos, puede tener un impacto negativo en la eficacia de la inmunoterapia, ya que una microbiota saludable parece ser clave para la activación de una respuesta inmunitaria adecuada (75,78–80,106). Este patrón, reproducido en múltiples cohortes, sugiere un impacto negativo de los antibióticos sobre la modulación inmunológica mediada por la microbiota, abriendo una vía para intervenciones estructuradas a través de programas de optimización de uso de antibióticos (PROA). Sin embargo, aún existen numerosos aspectos que merecen una investigación más profunda, incluyendo el impacto de cada familia específica de antimicrobianos (82). Por ejemplo, estudios recientes han sugerido que los antibióticos de amplio espectro, al alterar de manera más significativa la composición de la microbiota intestinal, podrían afectar más negativamente la respuesta a la inmunoterapia en comparación con aquellos que actúan de manera más localizada. Además, el momento y la duración del tratamiento antimicrobiano también parecen desempeñar un papel crítico en el grado de disbiosis inducido y, por ende, en la eficacia de los ICI (63,75).

Respecto a esos factores relacionados con el uso de antibióticos, varios estudios han mostrado que la exposición a antibióticos en el mes previo al inicio de la terapia con ICI se asocia con una peor respuesta a éste tratamiento y una menor SG. Esto está de acuerdo con las investigaciones que sugieren que la microbiota tarda aproximadamente 4-6 semanas en restaurarse tras la exposición a esos tratamientos (75). Sin embargo, en un estudio recientemente publicado se sugiere que la exposición a antibioterapia incluso en el año previo al inicio de la inmunoterapia puede tener un efecto deletéreo sobre la microbiota (106). Este hallazgo expande la ventana de vulnerabilidad a los efectos de los antibióticos sobre la respuesta a los ICI, sugiriendo que el impacto de la disbiosis podría ser más prolongado de lo inicialmente supuesto. Estos factores resaltan la necesidad

de realizar estudios prospectivos, que analicen con mayor precisión las interacciones entre los distintos tipos de ATB y la composición de la microbiota en pacientes oncológicos en tratamiento con inmunoterapia.

Siguiendo esta línea de los cambios producidos en la microbiota por distintos tratamientos actualmente, los datos sobre el efecto específico de los corticosteroides en la microbiota oral de pacientes tratados con inmunoterapia son aún limitados. No obstante, algunos trabajos sugieren que los corticosteroides pueden modificar la composición microbiana en diversas localizaciones anatómicas, incluida la cavidad oral. En este sentido, se ha documentado un aumento de especies del género *Actinomyces* en la saliva de pacientes que reciben corticoides, aunque la mayoría de estos estudios no se han centrado específicamente en el contexto del tratamiento con ICI (107). Dado que *Actinomyces* se ha asociado con estados de inmunosupresión en otras condiciones clínicas, se ha comenzado a investigar su posible implicación en la respuesta a inmunoterapia. De forma concordante, Georgiou et al. (2022) describieron una mayor proporción de *Actinobacteria* en la microbiota en saliva de pacientes con cáncer de pulmón, incluso en ausencia de medicación concomitante que pudiera sesgar estos hallazgos (52).

En una revisión sistemática publicada en 2021, se observó que los pacientes que recibieron corticoides, como tratamiento de enfermedades del tracto respiratorio, presentaron un aumento significativo en la presencia de *Actinobacteria* en la microbiota salival. Este incremento se atribuyó principalmente a la familia *Microbacteriaceae*, que incluye diversos géneros de bacterias. Sin embargo, el estudio no destacó diferencias específicas en cuanto a la especie *Actinomyces*, lo que sugiere que, aunque hubo un aumento general en *Actinobacteria*, la variabilidad entre especies dentro de este grupo puede no haber sido lo suficientemente pronunciada como para ser significativa (93).

Como hemos comentado previamente en el apartado de resultados, nuestro trabajo también evaluó las posibles diferencias en la composición de la microbiota entre pacientes respondedores y no respondedores a ICI. En este aspecto, nos parece importante enfatizar que los estudios de composición de la microbiota no son directamente comparables con aquellos estudios de funcionalidad (90). Mientras que los estudios de composición nos indican qué clase de bacterias están presentes en una muestra, los de funcionalidad van un paso más allá e investigan si estas bacterias desempeñan realmente un papel activo en la modulación de la respuesta terapéutica, por ejemplo, mediante la degradación de los fármacos (como los ICI) (107,108).

Esto es especialmente relevante en el contexto de la inmunoterapia, ya que aunque ciertos estudios han identificado géneros bacterianos asociados con una mejor o peor respuesta a los ICI, la mera presencia de estas bacterias no implica necesariamente una función directa. Los estudios de funcionalidad, que analizan la actividad metabólica y la interacción directa de la microbiota con el sistema inmunitario y los fármacos, resultan esenciales para comprender los

mecanismos subyacentes a estas asociaciones. Para determinar si realmente estas bacterias son responsables de la falta de respuesta a los ICI, sería necesario evaluar sus funciones específicas, como son la capacidad para degradar o inactivar los medicamentos en cuestión (108,109). Sin embargo, esta tarea puede resultar compleja dado que enfrenta desafíos tales como la dificultad para la manipulación y el cultivo en el laboratorio. Por ejemplo, algunas especies bacterianas involucradas en la modulación de la respuesta a los ICI, como *Akkermansia muciniphila* o *Bifidobacterium*, son extremadamente difíciles de cultivar en el laboratorio, lo que complica aún más la posibilidad de realizar estudios experimentales que confirmen su papel funcional (73), Siguiendo la misma tendencia que la observada en los resultados que presentaron McCulloch et al. (pacientes con melanoma tratados con ICI) (65), en nuestra cohorte de pacientes también se registró un enriquecimiento del género *Streptococcus* en la microbiota de los no respondedores a la inmunoterapia. Este género ha sido relacionado en algunos estudios con procesos inflamatorios y patogénicos en el ámbito respiratorio. Esto refuerza la idea presentada con anterioridad, referente a que ciertas composiciones bacterianas pueden influir en la eficacia de la inmunoterapia, sugiriendo que una mayor proporción de *Streptococcus* podría estar relacionada con una menor respuesta a ICI en distintos tipos de tumores (63,65).

Un aspecto diferencial de nuestro trabajo es que, el análisis de la composición de la microbiota salival, mostró asociaciones preliminares con la respuesta a inmunoterapia. En particular, se observó una mayor abundancia relativa de géneros como *Prevotella* y *Veillonella* en pacientes no respondedores. Aunque estos hallazgos deben validarse en cohortes más amplias, resultan biológicamente plausibles: *Prevotella* ha sido asociada con perfiles inflamatorios Th17 y con disbiosis oral y sistémica en distintos contextos (Larsen, 2017), mientras que *Veillonella* podría contribuir a un microambiente proinflamatorio mediante la producción de metabolitos como lactato, que favorecen la supresión de linfocitos T (Pushalkar et al., 2018). Estas bacterias podrían actuar como moduladores del eje microbiota-inmunidad tumoral, aunque su rol específico en cavidad oral —frente al intestinal, más estudiado— requiere mayor caracterización funcional. Las diferencias en la composición de la microbiota, es decir, la disbiosis encontrada entre respondedores y no respondedores, apoyaría la teoría de que la microbiota podría servir como un potencial marcador predictivo de respuesta al tratamiento con ICI.

Como se ha demostrado previamente en otros estudios, el tratamiento con inmunoterapia se ha asociado con una reducción de los filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes* en la microbiota intestinal. Sin embargo, en nuestra cohorte, se ha observado una mayor abundancia de *Firmicutes* en aquellos con una respuesta subóptima a los ICI (108). Estos hallazgos parecen contradecir la literatura disponible, sugiriendo que la suplementación con *Bifidobacterium* podría mejorar la respuesta a la inmunoterapia. No obstante, algunos estudios han reportado un

aumento en la abundancia de *Bacteroidetes* entre los individuos con una peor respuesta a los ICI, y como consecuencia con una menor SG (56,110).

Somos conscientes de los efectos detrimentales que tiene el uso de corticoides y antibióticos en la eficacia de la inmunoterapia. La composición de la microbiota salival, podría haber sido influenciada por el uso de medicación concomitante, lo cual puede contribuir potencialmente a las diferencias entre respondedores y no respondedores. Una cuestión crucial es determinar cuál es la composición de la microbiota más favorable para la eficacia de los ICI y cómo puede reestablecerse esta composición normal tras el tratamiento con antibióticos o corticoides (110). Algunos trabajos han demostrado que ciertas bacterias comensales, tales como *Akkermansia muciniphila*, son más abundantes en muestras de heces (y por extensión en la microbiota fecal) de los respondedores (75,108). Sin embargo, este patrón no se observó en nuestra cohorte, lo que podría indicar una variabilidad en el perfil microbiano asociado a la respuesta a inmunoterapia en función de factores individuales o de la composición específica de la microbiota de cada paciente. Así se sugiere que las posibles diferencias en la composición de la microbiota, que favorecen la respuesta a ICI, podrían ser específicas de cada paciente, subrayando la necesidad de un enfoque más individualizado a la hora de optimizar la eficacia de los ICI.

En este contexto de impacto negativo del empleo de ATB, resulta interesante incorporar la perspectiva PROA en el manejo de pacientes oncológicos candidatos a tratamiento con inmunoterapia. Más allá de su objetivo tradicional, la reducción de resistencias y toxicidades, los PROA podrían desempeñar un papel estratégico en la preservación de la eficacia de los ICI. Esto pasaría por el diseño e implementación de intervenciones específicas dirigidas a los médicos que atienden a estos pacientes, particularmente en contextos de atención urgente, hospitalización o medicina de familia, donde las decisiones sobre el inicio empírico de antibióticos suelen ser críticas.

Desde un enfoque poblacional, estos pacientes constituyen un perfil de alto impacto potencial para las políticas PROA: intervenir en este punto podría no solo mejorar los resultados clínicos de la inmunoterapia en estos pacientes, sino también generar beneficios indirectos en el uso de ATB en otros pacientes vulnerables. Esta aproximación representa una intersección innovadora entre medicina personalizada, microbiología clínica, oncología e infectología, que merece ser explorada y estructurada en futuras líneas de investigación y políticas sanitarias.

Respecto a la importancia de la individualización de los resultados, y las diferencias entre pacientes, cabe destacar que en nuestro estudio la inclusión de una población de pacientes tan heterogénea, que recibió el tratamiento con ICI tanto en contexto adyuvante como metastásico, y en diferentes líneas de tratamiento, ya fueran iniciales como subsiguientes, representa una limitación notable. Los pacientes en líneas subsiguientes suelen requerir múltiples ciclos de tratamientos coadyuvantes como son los antibióticos y los corticoides, lo que

puede atenuar el verdadero impacto de estos medicamentos sobre la microbiota y los resultados encontrados con el tratamiento inmunoterápico. Todo esto podría explicar la falta de significancia estadística en los resultados obtenidos, sugiriendo la necesidad de estudios adicionales con poblaciones más uniformes.

Además de una inclusión más homogénea de pacientes, las características taxonómicas asociadas a una mejor respuesta ICI, deberían ser caracterizadas más a fondo en ensayos prospectivos de mayor escala. Llama la atención que, a pesar de identificar una asociación entre ciertos perfiles microbianos y la aparición de toxicidad inmunorrelacionada, este aspecto no ha sido ampliamente discutido en estudios previos. Nuestros resultados sugieren que ciertos microorganismos podrían predisponer a una mayor activación inmunitaria sistémica, favoreciendo tanto la eficacia como los efectos adversos del tratamiento. Este vínculo, aunque incipiente, representa una línea de investigación prometedora para el desarrollo de biomarcadores duales de eficacia/toxicidad.

Este estudio presenta diversas limitaciones inherentes a su diseño exploratorio. La unicentricidad, el tamaño muestral reducido y la falta de validación externa limitan la generalización de los resultados. Además, no se consideraron otros factores potencialmente moduladores de la microbiota, como dieta, comorbilidades o tratamientos concomitantes. Finalmente, el uso de técnicas 16S limita la resolución taxonómica y funcional del análisis microbiano. Pese a estas limitaciones, nuestros hallazgos abren múltiples vías de investigación. Futuras cohortes prospectivas y multicéntricas permitirán validar estos resultados y explorar mecanismos causales. La combinación de perfiles microbianos de vía respiratoria con datos clínicos y de toxicidad podría conducir al desarrollo de modelos predictivos más precisos y personalizados, que optimicen la selección de pacientes para inmunoterapia. Además, la posibilidad de modular la microbiota a través de intervenciones dirigidas —como prebióticos, probióticos o trasplante fecal— plantea un horizonte terapéutico innovador en oncología de precisión.

7.- CONCLUSIONES

Conclusión 1: La evidencia científica disponible y nuestros hallazgos sugieren que la microbiota intestinal y la microbiota de las vías respiratorias podrían desempeñar un papel relevante en la respuesta a los ICI. Su composición difiere significativamente entre los respondedores y los no respondedores a este tratamiento.

Conclusión 2: En nuestra cohorte se observó que, la microbiota en saliva (recogida previamente al inicio del tto con ICI) de los respondedores presentaba una mayor abundancia de los filos *Bacteroidota* y de los géneros *Fusobacterium* y *Porphyromonas*, así como una menor proporción de los filos *Firmicutes* y *Streptococcus*. Estos resultados respaldan la hipótesis de que la microbiota podría tener un papel como potencial marcador predictivo de respuesta a inmunoterapia.

Conclusión 3: El uso de corticoides se asoció en nuestra cohorte con una SG significativamente menor. En cambio, la exposición a ATB, a pesar de relacionarse con una menor respuesta a los ICI, no alcanzó una asociación significativa respecto a la SG.

Conclusión 4: Se observó una asociación entre el uso de corticoides y una mayor presencia de *Actinomyces*, mientras que el empleo de ATB (tipo y número de ciclos) no mostró un impacto diferencial significativo en la composición de la microbiota.

Conclusión 5: En cuanto a los IrAE, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la SG, aunque existe una tendencia hacia una mejoría de la SLP en aquellos que presentaron IrAE. De la misma manera, se observó una peor respuesta a los ICI en los que no presentaron IrAE.

Conclusión 6: La dificultad para realizar estudios funcionales exhaustivos de la microbiota limita la comprensión de los mecanismos exactos mediante los cuales podría influir en la eficacia de los tratamientos oncológicos como los ICI. Este es un desafío metodológico que será necesario abordar en futuras investigaciones.

Conclusión 7: En base a nuestros hallazgos, revertir las alteraciones inducidas por corticoides y antibióticos, con el objetivo de favorecer una composición microbiana similar a las de los respondedores, podría representar una vía de optimización de la respuesta al tratamiento con ICI y, por tanto, los resultados de SV en pacientes con CPCNP, aunque esta hipótesis debe ser confirmada en estudios más amplios y multicéntricos.

Conclusión 8: Estos resultados deben interpretarse con cautela dado el carácter exploratorio, el tamaño muestral limitado y la unicentricidad de nuestro estudio. No obstante, este trabajo aporta evidencia preliminar que podría orientar futuras investigaciones y abrir la puerta a estrategias terapéuticas personalizadas

basadas en la modulación de la microbiota para mejorar la respuesta a inmunoterapia en el CPCNP.

8.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Leiter A, Veluswamy RR, Wisnivesky JP. The global burden of lung cancer: current status and future trends. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023;20:624–39.
2. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, et al. Non-oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2023;34(4):358–76.
3. SEOM. Las cifras del cáncer en España 2024. 2024.
4. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2018;29(suppl4)(January):iv192–237. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy275>
5. Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics, 2024. *CA Cancer J Clin*. 2024;74(2):203.
6. WHO. WHO handbook on Indoor Radon a Public Health Perspective. 2009. 110 p.
7. Ordóñez-Mena J, Schöttker B, Mons U, Jenab M, Freisling H, Bueno-de-Mesquita B, et al. Quantification of the smoking-associated cancer risk with rate advancement periods: meta-analysis of individual participant data from cohorts of the CHANCES consortium. *BMC Med*. 2016;14:62.
8. Liu Y, Chen X, Wang D, Yu X. Radon exposure and the risk of lung cancer: A meta-analysis of observational studies. *Cancer Causes Control*. 2020;31(4):289–301.
9. Lantz PM, Mendez D, Philbert MA. Radon, smoking, and lung cancer: The need to refocus radon control policy. *Am J Public Health*. 2013;103(3):443–7.
10. Huang Y, Chen L, Jin Y. Genetic polymorphisms in DNA repair pathways influence the risk of non-small-cell lung cancer: A meta-analysis. *Environ Res*. 2021;202(111778).
11. Sorscher S, LoPiccolo J, Heald B, Chen E, Bristow SL, Michalski ST, et al. Rate of Pathogenic Germline Variants in Patients With Lung Cancer. *JCO Precis Oncol*. 2023;(7):1–10.
12. Arrieta O, Caballé-Pérez E, Hernández-Pedro N, Romero-Nuñez E, Lucio-Lozada J, Castillo-Ruiz C, et al. Prevalence of pathogenic or likely pathogenic germline variants in cancer predisposition genes among selected patients with lung adenocarcinoma: The GERMLUNG study. *Lung Cancer*. 2024;Aug(194):107864.
13. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, et al. Oncogene-

- addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Ann Oncol* [Internet]. 2023;34(4):339–57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.12.009>
14. Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, Fagerstrom RM, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening - The National Lung Screening Trial Research Team. *N Engl J Med*. 2011;365(5):395–409.
 15. Koning HJ, van der Aalst CM, de Jong PM, Scholten ET, Nackaerts K, Heuvelmans MA. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *N Engl J Med*. 2020;382:503–13.
 16. Torácica). S (Sociedad E de N y C. Proyecto CASSANDRA: un programa de cribado de cáncer de pulmón en España.
 17. Ramaswamy A. Lung Cancer Screening: Review and 2021 Update. *Curr Pulmonol Reports* [Internet]. 2022;11(1):15–28. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13665-021-00283-1>
 18. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2017;28(Supplement 4):iv1–21. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx222>
 19. Remon J, Soria JC, Peters S. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer: an update of the ESMO Clinical Practice Guidelines focusing on diagnosis, staging, systemic and local therapy. *Ann Oncol* [Internet]. 2021;32(12):1637–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.1994>
 20. Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, Akerley W, Bauman JR, Ankit B. Non-Small Cell Lung Cancer. *NCCN Guidel* [Internet]. 2022;version 3. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf
 21. Travis W, Rekhtman N. Pathological diagnosis and classification of lung cancer in small biopsies and cytology: strategic management of tissue for molecular testing. *Semin Respir Crit Care Med*. 2011;32:22–31.
 22. Gómez Román JJ. Anatomía patológica y patología molecular del cáncer de pulmón. *Med Respir* [Internet]. 2010;3(1):31–46. Available from: <http://www.neumologiaysalud.es/descargas/volumen3/vol3-n1-5.pdf>
 23. Wu Y-L, Dziadziuszko R, Ahn JS, Barlesi F, Nishio M, Lee DH, et al. Alectinib in Resected ALK -Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2024;390(14):1265–76.
 24. Mamdani H, Matosevic S, Khalid AB, Durm G, Jalal SI. Immunotherapy in Lung Cancer: Current Landscape and Future Directions. *Front Immunol*. 2022;13(February):1–12.
 25. Delbaldo C, Michiels S, Syz N, Soria J-C, Le Chevalier T, Pignon J-P. Benefits of

- adding a drug to a single-agent or a 2-agent chemotherapy regimen in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2004;292(4):470–84.
26. Pujol J-L, Barlesi F, Daurès J-P. Should chemotherapy combinations for advanced non-small cell lung cancer be platinum-based? A meta-analysis of phase III randomized trials. *Lung Cancer.* 2006;51(3):335–45.
 27. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel D, Steins M, Ready N, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advancer Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Caner. *N Engl J Med.* 2015;373(17):1627–39.
 28. Brahmer JR, Reckamp KL, Baas P, Crinó L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(2):123–35.
 29. Herbst R, Baas P, Kim D, Felip E, Perez-Gracia J, Han J. Pembrolizumab Versus Docetaxel for Previously Treated, PD-L1-Positive, Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-010): A Randomised Controlled Trial. *Lancet.* 2016;387(10027):1540–50.
 30. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J. Atezolizumab Versus Docetaxel in Patients With Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer (OAK): A Phase 3, Open-Label, Multicentre Randomised Controlled Trial. *Lancet.* 2017;389(10066):255–65.
 31. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson A, Hui R, Csoszi T, Fulop A, et al. Pembrolizumab Versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1823–33.
 32. Hofman P. First-line immunotherapy for patients with advanced stage or metastatic non-small cell lung cancer...finally what threshold of PD-L1 expression on tumor cells? *Transl Lung Cancer Res.* 2019;8(5):728–30.
 33. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csoszi T, Fülöp A, et al. Updated analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab versus platinum-based chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer with PD-L1 tumor proportion score of 50% or greater. *J Clin Oncol.* 2019;37(7):537–46.
 34. Mok T, Wu Y, Kudaba I, Kowalski D, Cho B, Turna H, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2019;393(10183):1819–30.
 35. De Castro GJ, Kudaba I, Wu Y, Lopes G, Kowalski DM. Five-Year Outcomes With Pembrolizumab Versus Chemotherapy as First-Line Therapy in Patients With Non – Small-Cell Lung Cancer and Programmed Death Ligand-1 Tumor Proportion Score ≥ 1 % in the KEYNOTE-042 Study clinical trial updates abstract. *J Clin Oncol.* 2022;0(0):0.
 36. Herbst R, Giaccone G, de Marinis F, Reinmuth N, Vergnenegre A, Barrios C, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of PD-L1-Selected Patients with

- NSCLC. *N Engl J Med*. 2020;383(14):1328–39.
37. Sezer A, Kilickap S, Gümüş M, Bondarenko I, Özgüroğlu M, Gogishvili M, et al. Cemiplimab monotherapy for first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer with PD-L1 of at least 50%: a multicentre, open-label, global, phase 3, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2021;397(10274):592–604.
 38. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(22):2078–92.
 39. Garassino MC, Gadgeel S, Speranza G, Felip E, Esteban E, Dómine M, et al. Pembrolizumab Plus Pemetrexed and Platinum in Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer: 5-Year Outcomes from the Phase 3 KEYNOTE-189 Study. *J Clin Oncol*. 2023;41(11):1992–8.
 40. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gümüş M, Mazières J, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(21):2040–51.
 41. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378:2288–301.
 42. Papadimitrakopoulou V, Cobo M, Bordon R, Al. E. IMPOWER132: PFS and safety results with 1L atezolizumab + carboplatin/cisplatin + pemetrexed in stage IV non-squamous NSCLC. In: IASLC 19th World Conference on Lung Cancer 2018; abstr. 2018. p. OA05.07.
 43. Paz-Ares LG, Ramalingam SS, Ciuleanu TE, Lee JS, Urban L, Caro RB, et al. First-Line Nivolumab Plus Ipilimumab in Advanced NSCLC: 4-Year Outcomes From the Randomized, Open-Label, Phase 3 CheckMate 227 Part 1 Trial. *J Thorac Oncol* [Internet]. 2022;17(2):289–308. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.09.010>
 44. Reck M, Ciuleanu T-E, Cobo Dols M, Schenker M, Zurawski B, Menezes J. Nivolumab (NIVO) + ipilimumab (IPI) + 2 cycles of platinum-doublet chemotherapy (chemo) vs 4 cycles chemo as first-line (1L) treatment (tx) for stage IV/recurrent non-small cell lung cancer (NSCLC): CheckMate 9LA. *J Clin Oncol*. 2020;38(15_suppl):9501.
 45. Paz-Ares L, Ciuleanu TE, Cobo M, Schenker M, Zurawski B, Menezes J, et al. First-line nivolumab plus ipilimumab combined with two cycles of chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer (CheckMate 9LA): an international, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2021;22(2):198–211.
 46. Huang X-Z, Gao P, Song Y-X, Xu Y, Sun J-X, Chen X-W, et al. Antibiotic use and the efficacy of immune checkpoint inhibitors in cancer patients: a pooled analysis of 2740 cancer patients. *Oncoimmunology*. 2019;00(00):1665973.
 47. Yi M, Yu S, Qin S, Liu Q, Xu H, Zhao W, et al. Gut microbiome modulates efficacy of immune checkpoint inhibitors. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):1–10.

48. Gilbert J, Quinn R, Debelius J, Zhenjiang ZX, Morton J, Garg N, et al. Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature*. 2020;577(7792):94–101.
49. Dickson R, Huffnagle G. The lung microbiome: new principles for respiratory bacteriology in health and disease. *PLoS Pathog*. 2020;16(3):e1008213.
50. Routy B, Letarte N, Finzi A. The influence of the microbiome on anti-PD-1 immunotherapy in oncology. *J Immunother Cancer*. 2021;9(9:e001926).
51. Almeida A, Mitchell AL, Boland M, Forster SC, Gloor GB, Tarkowska A, et al. A new genomic blueprint of the human gut microbiota. *Nature*. 2019;568:499–504.
52. Georgiou K, Marinov B, Farooqi AA, Gazouli M. Gut microbiota in lung cancer: Where do we stand? *Int J Mol Sci*. 2021;22(19):1–17.
53. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães V, Sokol H, Doré J, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol*. 2009;9:123.
54. Gopalakrishnan V, Helmink BA, Spencer CN, Reuben A, Wargo JA. The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity, and Cancer Immunotherapy. *Cancer Cell* [Internet]. 2018;33(4):570–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.015>
55. Routy B, Derosa L, Daille R, Roberti PM, Zitvogel L. The impact of the intestinal microbiota in therapeutic Impact du microbiote intestinal dans le cancer. *C R Biol*. 2020;341(2018):284–9.
56. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews M. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* (80-). 2018;359:97–103.
57. Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med* [Internet]. 2016;8(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13073-016-0294-z>
58. Zhang W-Q, Zhao S-K, Luo J-W, Dong X-P, Hao Y-T, Li H, et al. Alterations of fecal bacterial communities in patients with lung cancer. *Am J Transl Res*. 2018;10(10):3171–85.
59. Xie Y, Liu F. The role of the gut microbiota in tumor, immunity, and immunotherapy. *Front Immunol*. 2024;15(June):1–20.
60. Georgiou K. Gut Microbiota in Obesity and Bariatric Surgery: Where Do We Stand? In *Gut Microbiome-Related Diseases and Therapies*. In: Gazouli M, Theodoropoulos G, editors. *The Microbiomes of Humans, Animals, Plants, and The Environment*. Springer I. Switzerland; 2021. p. 183–227.
61. Peterson SN, Bradley LM, Ronai ZA. The Gut Microbiome: An Unexpected Player in Cancer Immunity. *Curr Opin Neurobiol*. 2020;62:48–52.
62. Pitt JM, Vétizou M, Waldschmitt N, Kroemer G, Chamaillard M, Boneca IG, et

- al. Fine-Tuning Cancer Immunotherapy: Optimizing the Gut Microbiome. *Cancer Res.* 2016;76:4602–7.
63. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, et al. Gut Microbiome Influences Efficacy of PD-1–Based Immunotherapy against Epithelial Tumors. *Science* (80-). 2018;359:91–7.
 64. Kiouisi DE, Kouroutzidou AZ, Neanidis K, Karavanis E, Matthaïos D, Pappa A, et al. The Role of the Gut Microbiome in Cancer Immunotherapy: Current Knowledge and Future Directions. *Cancers (Basel)*. 2023;15(7):1–26.
 65. McCulloch J, Davar D, Rodrigues R, Badger J, Fang J, Cole A, et al. Intestinal microbiota signatures of clinical response and immune-related adverse events in melanoma patients treated with anti-PD-1. *Nat Med.* 2022;28(3):545–56.
 66. Vill R, Carrier G, Veziat J, Billard E, Barnich N, Gagni J, et al. Intestinal Microbiota : A Novel Target to Improve Anti-Tumor Treatment ? 2019;1–25.
 67. Vétizou M, Daillère R, Zitvogel L. Microbiote intestinal et réponses aux thérapies anti-tumorales. *Medecine/Sciences.* 2016;32(11):974–82.
 68. Ma W, Mao Q, Xia W, Dong G, Yu C, Jiang F. Gut microbiota shapes the efficiency of cancer therapy. *Front Microbiol.* 2019;10(JUN).
 69. Tomita Y, Ikeda T, Sakata S, Saruwatari K, Sato R, Iyama S, et al. Association of Probiotic *Clostridium Butyricum* Therapy with Survival and Response to Immune Checkpoint Blockade in Patients with Lung Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2020;8:1236–42.
 70. Xin Y, Liu CG, Zang D, Chen J. Gut microbiota and dietary intervention: affecting immunotherapy efficacy in non–small cell lung cancer. *Front Immunol.* 2024;15(February):1–12.
 71. Zeng W, Zhao CZ, Yu M, Chen H, Pan Y, Wang Y, et al. Alterations of lung microbiota in patients with non-small cell lung cancer. *Bioengineered [Internet].* 2022;13(3):6665–77. Available from: <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2045843>
 72. Mur LA, Huws SA, Cameron SJ, Lewis PD, Lewis KE. Lung Cancer: A new frontier for microbiome research and clinical translation. *eCancer.* 2018;12:866.
 73. Derosa L, Routy B, Thomas AM, Iebba V, Zalcman G, Friard S, et al. Intestinal *Akkermansia muciniphila* predicts clinical response to PD-1 blockade in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Nat Med.* 2022;28(2):315–24.
 74. Hakozaki T, Okuma Y, Omori M, Hosomi Y. Impact of prior antibiotic use on the efficacy of nivolumab for non-small cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2019;17(3):2946–52.
 75. Derosa L, Hellmann MD, Spaziano M, Halpenny D, Fidelle M, Rizvi H, et al. Negative association of antibiotics on clinical activity of immune checkpoint

- inhibitors in patients with advanced renal cell and non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(6):1437–44.
76. Ahmed J, Kumar A, Parikh K, Anwar A, Knoll BM, Puccio C, et al. Use of broad-spectrum antibiotics impacts outcome in patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Oncoimmunology* [Internet]. 2018;7(11):1–6. Available from: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1507670>
 77. Chalabi M, Cardona A, Nagarkar DR, Dhawahir Scala A, Gandara DR, Rittmeyer A, et al. Efficacy of chemotherapy and atezolizumab in patients with non-small-cell lung cancer receiving antibiotics and proton pump inhibitors: pooled post hoc analyses of the OAK and POPLAR trials. *Ann Oncol*. 2020;31(4):525–31.
 78. Zalcman G, Crespin A, Cervesi J, Al E. Update of systematic reviews and meta-analyses studying the association between antibiotic use and clinical outcomes of cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. In: *ESMO Immuno-Oncology Virtual Congres*. 2020. p. 50P.
 79. Tinsley N, Zhou C, Tan G, Rack S, Lorigan P, Blackhall F, et al. Cumulative Antibiotic Use Significantly Decreases Efficacy of Checkpoint Inhibitors in Patients with Advanced Cancer. *Oncologist*. 2020;25(1):55–63.
 80. Lurienne L, Cervesi J, Duhalde L, de Gunzburg J, Andreumont A, Zalcman G, et al. NSCLC Immunotherapy Efficacy and Antibiotic Use: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Thorac Oncol*. 2020;15(7):1147-1159.
 81. Giles A, Hutchinson M-K, Sonnermann H, Jung J, Fecci P. Dexamethasone-induced immunosuppression: mechanisms and implications for immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2018;6(1).
 82. Meriggi F, Zaniboni A. Antibiotics and steroids, the double enemies of anticancer immunotherapy: a review of the literature. *Cancer Immunol Immunother*. 2021;70(6):1511–7.
 83. Stock-Martineau S, Magner K, Jao K, Wheatley-Price P. Challenges of Immunotherapy in Stage IV Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO Oncol Pract*. 2021;17(8):465–71.
 84. Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American society of clinical oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol*. 2018;36(17):1714–68.
 85. Fucà G, Galli G, Poggi M, Lo Russo G, Proto C, Imbimbo M, et al. Modulation of peripheral blood immune cells by early use of steroids and its association with clinical outcomes in patients with metastatic non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. *ESMO Open*. 2019;4(1):1–8.
 86. Scott SC, Pennell NA. Early use of systemic corticosteroids in patients with advanced NSCLC treated with nivolumab. *J Thorac Oncol*. 2018;13(11):1771–5.
 87. Ricciuti B, Dahlberg S, Adeni A, Sholl L, Nishino M, Award M. Immune

- checkpoint inhibitor outcomes for patients with non-small-cell lung cancer receiving baseline corticosteroids for palliative versus nonpalliative indications. *J Clin Oncol.* 2019;37:1927–34.
88. Arbour KC, Mezquita L, Long N, Rizvi H, Auclin E, Ni A, et al. Impact of baseline steroids on efficacy of programmed cell death-1 and programmed death-ligand 1 blockade in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(28):2872–8.
 89. Drakaki A, Luhn P, Wakelee H, Dhillon PK, Kent M, Shim J, et al. Association of systemic corticosteroids with overall survival in patients receiving cancer immunotherapy for advanced melanoma, non-small cell lung cancer or urothelial cancer in routine clinical practice. *Ann Oncol.* 2019;30:xi16–7.
 90. Cruellas M, Yubero A, Zapata M, Galvez EM, Gascón M, Isla D, et al. How could antibiotics, probiotics, and corticoids modify microbiota and its influence in cancer immune checkpoint inhibitors: A review. *Infect Immun.* 2021;89(9):1–7.
 91. De Giglio A, Mezquita L, Auclin E, Blanc-Durand F, El-Amarti L, Caramella C, et al. Impact of early introduction of steroids on immune-checkpoint inhibitors (ICI) in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Disclosure information Laura Mezquita. Paris; 2020.
 92. Indini A, Rijavec E, Grossi F. Immune related adverse events and response to immunotherapy: Focus on corticosteroids. *Lung Cancer* [Internet]. 2020;145(January):225. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2020.02.009>
 93. Hartmann JE, Albrich WC, Dmitrijeva M, Kahlert CR. The Effects of Corticosteroids on the Respiratory Microbiome: A Systematic Review. *Front Med.* 2021;8(March).
 94. Schneider BJ, Naidoo J, Santomaso BD, Lacchetti C, Adkins S, Anadkat M, et al. Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated with Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2021;39(36):4073–126.
 95. Johnson DB, Chandra S, Sosman JA. Immune Checkpoint Inhibitor Toxicity in 2018. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2018;320(16):1702–3.
 96. Jamal S, Hudson M, Fifi-Mah A, Ye C. Immune-related Adverse Events Associated with Cancer Immunotherapy: A Review for the Practicing Rheumatologist. *J Rheumatol.* 2020;47(2):166–75.
 97. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Five-Year Survival and Correlates Among Patients With Advanced Melanoma, Renal Cell Carcinoma, or Non-Small Cell Lung Cancer Treated With Nivolumab. *JAMA Oncol.* 2019;5(10):1411–20.
 98. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Nishio M, Mok T, Reck M, et al. Pooled analyses of immune-related adverse events and efficacy from the phase 3 trials IMpower130, IMpower132 and IMpower150. 2021.

99. Zhou C, Li M, Wang Z, An D, Li B. Adverse events of immunotherapy in non-small cell lung cancer: A systematic review and network meta-analysis. *Int Immunopharmacol.* 2022;102:108353.
100. Dubin K, Callahan MK, Ren B, Khanin R, Viale A, Ling L, et al. Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis. *Nat Commun [Internet].* 2016;7:1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms10391>
101. Chaput N, Lepage P, Coutzac C, Soularue E, Le Roux K, Monot C, et al. Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Ann Oncol.* 2017;28(6):1368–79.
102. Dall’Olio FG, Maggio I, Massucci M, Mollica V, Fragomeno B, Ardizzoni A. ECOG performance status ≥ 2 as a prognostic factor in patients with advanced non small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors—A systematic review and meta-analysis of real world data. *Lung Cancer.* 2020;145:95–104.
103. Eisenhauer E, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz L, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009;45(2):228–47.
104. Gray JE, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Three-Year Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC—Update from PACIFIC. *J Thorac Oncol.* 2020;15(2):288–93.
105. Raynes G, Stares M, Low S, Haron D, Sarwar H, Abhi D, et al. Immune-Related Adverse Events, Biomarkers of Systemic Inflammation, and Survival Outcomes in Patients Receiving Pembrolizumab for Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel).* 2023;15(23).
106. Eng L, Sutradhar R, Niu Y, Liu N, Liu Y, Kaliwal Y, et al. Impact of Antibiotic Exposure Before Immune Checkpoint Inhibitor Treatment on Overall Survival in Older Adults With Cancer: A Population-Based Study. *J Clin Oncol.* 2023;41(17):3122–34.
107. Kakabadze Z, Dumbadze E, Boniashvili D, Barbakadze L, Chakhunashvili D, Kakabadze M. Oral Microbiome and Immunomodulatory Effects of Antibiotics and Corticosteroids in Cancer Therapy. *Microorganisms.* 2020;8(8).
108. Sevcikova A, Izoldova N, Stevurkova V, Kasperova B, Chovanec M, Ciernikova S, et al. The impact of the microbiome on resistance to cancer treatment with chemotherapeutic agents and immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2022;23(1).
109. Wallace TL, Hurst S, Hailer MJ, Martinez R, Ramasamy P, Ziemer DC. Microbiome-mediated drug interactions in cancer therapy: A review. *J Clin Med.* 2022;11(9):2573.
110. Alkan G, Senturk Oztas N, Turna ZH, Ozguroglu M. Effect of antibiotic treatment on immune checkpoint inhibitor efficacy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2023;184.

ANEXOS

Tabla 1.- Variables relacionadas con el paciente.

Tabla 1.- Variables relacionadas con el paciente:
Edad al diagnóstico
Sexo: mujer ó varón
Raza: caucásica, asiática, negra u otras.
Peso: medido en kilogramos (Kg)
Talla: medida en centímetros (cm)
Índice de Masa Corporal (IMC= Peso/talla ²): < 30 kg/m ² vs >30 kg/m ² (Obesidad)
ECOG: 0 (capacidad normal), 1 (Restricción leve actividad), 2 (restricción intensa de actividad), 3 (vida cama-sillón > 50% tiempo), 4 (incapacidad total, vida cama-sillón 100% del tiempo)
Infecciones crónicas latentes: Tuberculosis, ...
Tabaco: fumador/exfumador ó no fumador

Tabla 2.- Variables relacionadas con el tumor.

Tabla 2.- Variables relacionadas con el tumor:
Histología: CPCNP escamoso o CPCNP no escamoso
Estadio tumoral, escala TNM: III ó IV
Indicación de tratamiento: localmente avanzado, paliativo primera línea ó paliativo líneas sucesivas.
Expresión PD-L1

Tabla 3.- Variables relacionadas con los tratamientos recibidos.

Tabla 3.- Variables relacionadas con los tratamientos recibidos:	
Tipo de ICI:	<input type="checkbox"/> Nivolumab (Anti PD-1) <input type="checkbox"/> Pembrolizumab (Anti PD-1) <input type="checkbox"/> Atezolizumab (Anti PD-L1) <input type="checkbox"/> Durvalumab (Anti PD-L1) <input type="checkbox"/> Avelumab (Anti PD-L1) <input type="checkbox"/> Otros
Respuesta a ICI:	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
Mejor respuesta a ICI:	<input type="checkbox"/> Respuesta completa (RC) <input type="checkbox"/> Respuesta parcial (RP) <input type="checkbox"/> Enfermedad estable (EE) <input type="checkbox"/> Progresión (PR) <input type="checkbox"/> No evaluable
Toxicidad inmunorrelacionada:	<input type="checkbox"/> Sí o No <input type="checkbox"/> Tipos: endocrina, colitis, hepática, cutánea, musculo esquelética,... <input type="checkbox"/> Momento de aparición: precoz (primeros 3 meses) o tardía (posterior) <input type="checkbox"/> Grado de toxicidad: 1 a 5 <input type="checkbox"/> Poblaciones de células NK <input type="checkbox"/> Linfocitos T memoria en sangre periférica <input type="checkbox"/> Modificación en composición de la microbiota <input type="checkbox"/> Influencia en la eficacia del tratamiento con ICI
Tratamiento con Antibióticos (ATB):	<input type="checkbox"/> Sí o No <input type="checkbox"/> Número de ciclos <input type="checkbox"/> Principio activo <input type="checkbox"/> Características infección <input type="checkbox"/> Momento de uso (2 meses antes hasta 1 mes tras inicio ICI vs después de 1 mes de ICI) <input type="checkbox"/> Duración del tratamiento

<input type="checkbox"/> Linfocitos T memoria en sangre periférica <input type="checkbox"/> Modificación en composición de la microbiota <input type="checkbox"/> Influencia en la eficacia del tratamiento con ICI
Tratamiento con corticoides: <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sí o no <input type="checkbox"/> Número de ciclos. <input type="checkbox"/> Momento de uso (2 meses preICI hasta 1ª dosis vs tras 1º ciclo) <input type="checkbox"/> Razones de uso (metástasis cerebrales, EPOC, Toxicidad, otras) <input type="checkbox"/> Linfocitos T memoria en sangre periférica. <input type="checkbox"/> Composición de microbiota. <input type="checkbox"/> Influencia en eficacia de ICI.

Tabla 4.- Variables relacionadas con las determinaciones realizadas en muestras de sangre, heces y saliva.

Tabla 4.- Determinaciones en muestras de sangre, heces y saliva
Porcentaje poblaciones linfocitos T CD8 Granzima (Gzm) B+ en sangre periférica (variable numérica 0-100): <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> PD1+ <input type="checkbox"/> TIM3+ <input type="checkbox"/> LAG3+ <input type="checkbox"/> NK CELL <input type="checkbox"/> NK CD56+CD3-CD16+Gzm B+ <input type="checkbox"/> NK CD56+CD3-CD16-Gzm B+
Porcentaje poblaciones linfocitos T CD8 GzmB- en sangre periférica (variable numérica 0-100): <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> PD1+ <input type="checkbox"/> TIM3+ <input type="checkbox"/> LAG3+ <input type="checkbox"/> NK CD3+ <input type="checkbox"/> NK CD56+CD3-CD16-TIM3+ <input type="checkbox"/> NK CD56+CD3-CD16-LAG3+
Porcentaje linfocitos T CD4 reg en sangre periférica (variable numérica 0-100): <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Gzm B- <input type="checkbox"/> Gzm B+
Cociente de linfocitos T CD8 / linfocitos T CD4 reg en sangre periférica (variable numérica de 0 a 100)
Porcentaje células NK (CD56+CD16+ CD3-) en sangre periférica (variable numérica 0-100):

<input type="checkbox"/> PD1+ <input type="checkbox"/> CD57 <input type="checkbox"/> NKp46 <input type="checkbox"/> NKG2D <input type="checkbox"/> NKG2A <input type="checkbox"/> CD57/NKp46/NKG2D/NKG2A/gzmB <input type="checkbox"/> PD1 <input type="checkbox"/> LAG3 <input type="checkbox"/> TIM3 <input type="checkbox"/> CD57/PD1/LAG3/TIM3/GzmB
Linfocitos T CD4 de memoria en sangre periférica (variable numérica 0-100)
Linfocitos T CD4+ en sangre periférica (variable numérica 0-100)
TCRb diversity
Composición de microbiota de heces y vías respiratorias.
Niveles en sangre periférica de: <input type="checkbox"/> Citrulina <input type="checkbox"/> Ac anticitrulina <input type="checkbox"/> Zonulina <input type="checkbox"/> Endotoxina

Tabla 5.- Variables relacionadas con el seguimiento.

Tabla 5.- Variables relacionadas con el seguimiento:
Tiempo hasta Respuesta ICI (meses): Fecha Respuesta ICI-Fecha Inicio ICI
Duración de Respuesta ICI (meses): Fecha Progresión- Fecha Respuesta ICI
Progresión: Si o No
Tiempo hasta Progresión (meses): Fecha Progresión ICI - Fecha Inicio ICI
Muerte: Sí o No
Tiempo hasta Muerte (meses): Fecha Fallecimiento - Fecha Inicio ICI

Tabla 6.- Características basales de los pacientes.

Tabla 6.- Características basales de los pacientes	N (55)	%
Edad (mediana)	65 (62,64-67,39)	
Sexo		
<input type="checkbox"/> Hombre	39	70.9%
<input type="checkbox"/> Mujer	16	29.1%
Raza		
<input type="checkbox"/> Caucásica	55	100%
Hábito tabáquico		
<input type="checkbox"/> Actual o exfumador	53	96.4%
<input type="checkbox"/> Nunca fumador	2	3.6%
Índice de masa corporal		
<input type="checkbox"/> <30 kg/m ²	46	83.6%
<input type="checkbox"/> >30 kg/m ²	9	16.4%
ECOG		
<input type="checkbox"/> 0	36	65.5%
<input type="checkbox"/> 1	19	34.5%
Clasificación histológica		
<input type="checkbox"/> Carcinoma células escamosas	22	40%
<input type="checkbox"/> Adenocarcinoma	33	60%
Estadio		
<input type="checkbox"/> III	14	25.5%
<input type="checkbox"/> IV	41	74.5%
Indicación de tratamiento		
<input type="checkbox"/> Enfermedad localmente avanzada	14	25.5%
<input type="checkbox"/> Primera línea	18	32,7%
<input type="checkbox"/> Sucesivas líneas	23	41.8%
Expresión de PD-L1		
<input type="checkbox"/> <1%	10	18.2%
<input type="checkbox"/> 1-49%	21	38.2%
<input type="checkbox"/> >50%	16	29.1%
<input type="checkbox"/> Desconocido	8	14.5%
Tipo de inmunoterapia		
<input type="checkbox"/> Pembrolizumab	21	38.2%
<input type="checkbox"/> Atezolizumab	18	32.7%
<input type="checkbox"/> Durvalumab	14	25.5%
<input type="checkbox"/> Nivolumab	2	3.6%

Mejor respuesta		
<input type="checkbox"/> Completa	10	18.2%
<input type="checkbox"/> Parcial	13	23.6%
<input type="checkbox"/> Enfermedad estable	12	21.8%
<input type="checkbox"/> Progresión	15	27.3%
<input type="checkbox"/> No evaluable	5	9.1%
Tratamiento antibiótico		
<input type="checkbox"/> Sí	28	50.9%
<input type="checkbox"/> No	27	49.1%
Momento de uso de ATB		
<input type="checkbox"/> 2 meses antes - 1 mes tras inicio ICI	22	40%
<input type="checkbox"/> >1 mes tras inicio ICI	33	60%
Tratamiento con corticoides		
<input type="checkbox"/> Sí	32	58.2%
<input type="checkbox"/> No	23	41.8%
Momento de uso de corticoides		
<input type="checkbox"/> 2 meses antes hasta primer ciclo de ICI	9	28.1%
<input type="checkbox"/> Tras primer ciclo de ICI	23	71.9%