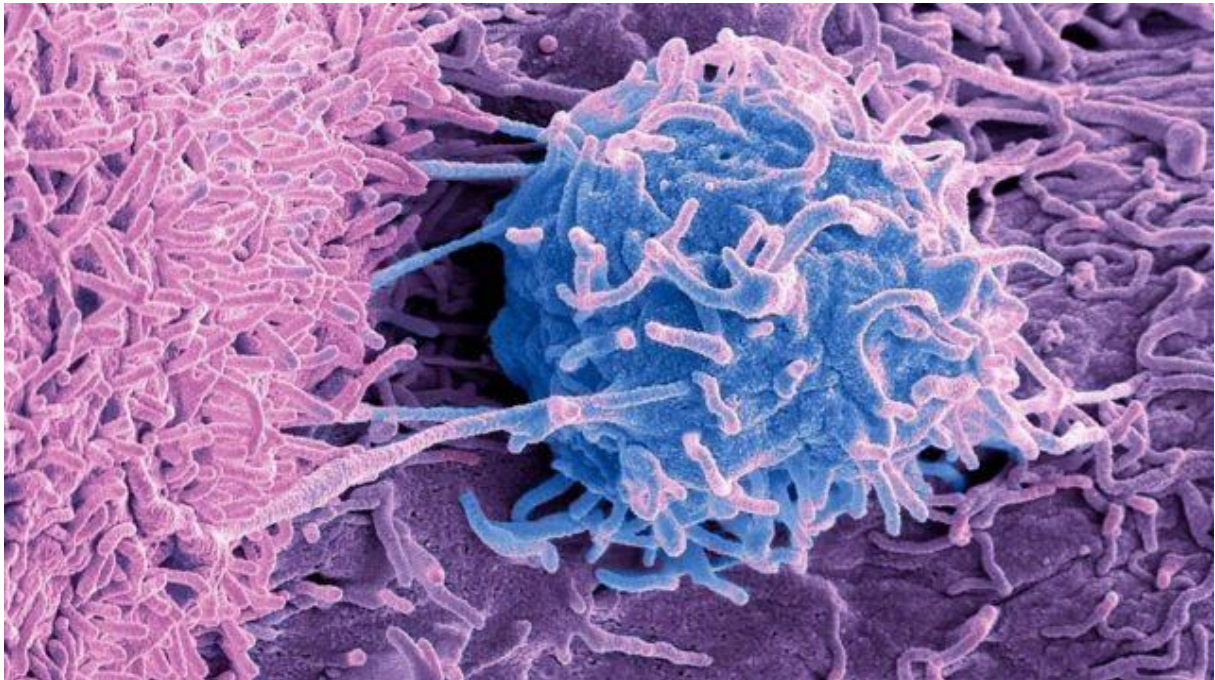




Sección de Biología
Universidad de La Laguna

Influencia de la microbiota intratumoral en la progresión del cáncer de mama.

Impact of the intratumoral microbiota on the breast cancer progression.



Cáncer: el misterio de los microbios que viven dentro de los tumores (Roberta Anghelleanu, BBC Future, 6 julio 2023)

Trabajo de Fin de Grado
VICTORIA ANTÓN QUINTERO

Tutorizado por:
Dr. Juan Ramón Hernández Fernaud y
Dr. Fernando Perestelo Rodríguez

Grado en Biología.
Julio 2023

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	1
Objetivos.....	2
El cáncer.....	2
Incidencia del cáncer.....	6
El cáncer de mama.....	8
La microbiota.....	11
La microbiota en el cáncer.....	13
Microbiota gastrointestinal en el cáncer de mama.....	16
Microbiota del tejido mamario y su relación con el cáncer de mama.....	17
Microbiota intratumoral en el tumor de mama.....	19
La microbiota intratumoral y metástasis, en el cáncer de mama.....	20
Conclusiones:.....	24
Conclusions:.....	24
Bibliografía.....	25

Resumen.

El cáncer es una enfermedad no transmisible que, bajo un mismo nombre, agrupa múltiples enfermedades con características moleculares únicas. Tanto a nivel nacional como en Canarias, el tumor de mama es el más prevalente entre las mujeres. Normalmente, este tipo de carcinomas surgen del tejido glandular o ductal y pueden ser clasificados según sus características moleculares. La progresión de los tumores depende de la convergencia de múltiples factores alterantes del microambiente y, entre ellos, la microbiota toma cada vez más relevancia. En este sentido, la progresión del tumor de mama está íntimamente relacionada con la microbiota gastrointestinal debido a su papel regulador sobre los mensajeros inmunológicos y el metabolismo hormonal. La relación del cáncer de mama con las bacterias es aún más estrecha, puesto que se han detectado consorcios de bacterias intracelulares específicas para los tumores de mama. Estas son capaces de facilitar la metástasis de las células tumorales que colonizan, mediante un mecanismo de bloqueo de la proteína ROCK, cuya respuesta es desencadenada por el estrés durante la migración en el sistema circulatorio. Actualmente, el diagnóstico y tratamiento de los tumores de mama se basan exclusivamente en sus aspectos moleculares. Sin embargo, esta revisión pone de manifiesto que la progresión tumoral y la respuesta a los tratamientos es dependiente de las bacterias asociadas. Por lo tanto, considerar las bacterias intratumorales como un elemento de diagnóstico más nos podría ayudar a mejorar los tratamientos y la supervivencia de los pacientes.

Abstract.

Cancer is a non-transmissible disease which, under the same name, includes several disorders with similar molecular characteristics. Both nationally and in the Canary Islands, breast cancer is the most common type of cancer among women. These types of carcinomas usually originate from the glandular or ductal tissue and can be classified according to their molecular characteristics. The progression of tumours depends on the convergence of multiple alternating factors of the microenvironment, among which the microbiota is gathering increasingly relevance. In this sense, breast tumour progression is intimately linked to the gastrointestinal microbiota because of its regulatory role on immune messengers and hormonal metabolism. The relationship between breast cancer and the microbiome is even closer, as some consortia of specific intracellular bacteria have been identified in breast tumours. These are

capable of facilitating the metastasis of the tumour cells they colonise by blocking ROCK protein, whose response is triggered by the stress caused during the migration in the circulatory system. Currently, the diagnosis and treatment of breast tumours are based solely on their molecular characteristics. However, this review shows that tumour progression and response to treatment depend on the associated bacteria. Therefore, considering intratumoral bacteria as another diagnostic element could help us improve treatment and patient survival.

Objetivos.

La microbiota humana es la responsable de mantener la homeostasis de diferentes funciones vitales en el huésped. Sin embargo, también se ha relacionado con la evolución y empeoramiento de estados patológicos como el cáncer. En base a esta relación microbiota-cáncer, proponemos como objetivo general del presente trabajo el estudio bibliográfico de sus aspectos moleculares, en concreto en el cáncer de mama.

Para la consecución de este, se abordarán como objetivos específicos los siguientes:

1. Conocer los aspectos generales del cáncer.
2. Conocer los detalles moleculares del cáncer de mama.
3. Conocer la microbiota y su relación con la salud y la enfermedad.
4. Conocer la relación de la microbiota y el cáncer de mama.

El cáncer.

El cáncer es una enfermedad no transmisible donde la regulación celular falla a distintos niveles, causando daños al organismo. Esta enfermedad comienza con la tumorigénesis o neoplasia, un proceso por el que las células proliferan independientemente de los factores de regulación del crecimiento, por lo que se dividen exponencialmente hasta formar una masa denominada tumor. El cáncer suele desencadenarse por la combinación de mutaciones genéticas hereditarias y/o aleatorias provocadas por factores ambientales o sustancias carcinogénicas. (Anisman & Kusnecov, 2022a; Bisoyi, 2022; Carlberg & Velleuer, 2021). Los genes afectados por estas mutaciones y que, como resultado, promueven la aparición del cáncer se denominan oncogenes. Por el contrario, también existen genes que evitan la formación del tumor, denominados supresores. (Carlberg & Velleuer, 2021). Una vez el estado tumoral se ha iniciado progresa a través de varias etapas (Fig. 1), que se resumen secuencialmente y tomando

como ejemplo un tumor sólido en: hiperplasia, displasia, formación del carcinoma *in situ*, transformación a un carcinoma invasivo, y metástasis (Bisoyi, 2022; Carlberg & Velleuer, 2021). En cada una de estas etapas se van acumulando alteraciones genéticas en las células, de modo que:

1. En la hiperplasia nos encontramos en condiciones preneoplásicas, momento en el que las células se comienzan a dividir incontrolablemente pero aún no se distinguen de las normales.
2. En la displasia las células pasan a ser cancerosas, por lo que aumenta su número y tamaño y se desorganizan en el tejido.
3. Las células neoplásicas abarcan una mayor área en el tejido y comienzan a perder su función original, adoptando características similares a las células embrionarias, es decir, se vuelven anaplásicas. De esta manera, se forma el carcinoma localizado o tumor primario.
4. El carcinoma se vuelve invasivo, adquiriendo la cualidad de romper la membrana basal del tejido e invadir los tejidos adyacentes.
5. Por último, en la metástasis, las células cancerosas escapan del tumor primario y migran a través del sistema circulatorio hacia otros órganos, donde pueden formar un tumor secundario.

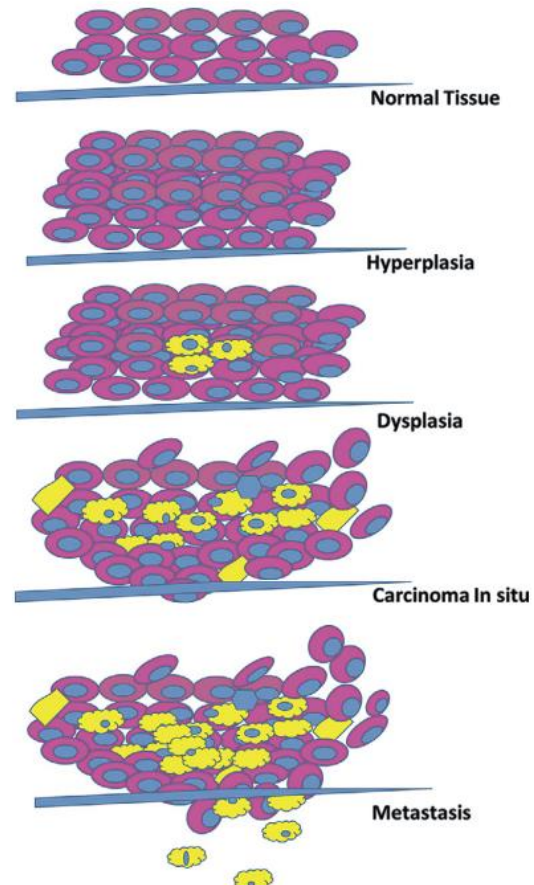


Figura 1. Etapas en la tumorigénesis, donde se diferencian las células neoplásicas en amarillo. Extraído de Bisoyi, 2022.

Además de los descritos previamente, algunos autores distinguen una fase adicional, relevante desde el punto de vista clínico y la eficacia de los tratamientos, en la que el tumor primario o secundario pasa de ser vulnerable a terapia, a ser un cáncer resistente a fármacos y distintos tratamientos, comprometiendo así la supervivencia del paciente (Carlberg & Velleuer, 2021).

A pesar del aparente desorden molecular de las células tumorales, su evolución depende de múltiples factores orquestados organizadamente y presentes en el microambiente tumoral (TME, de sus siglas en inglés “tumour microenvironment”) (Hanahan, 2022). Los elementos que definen la progresión tumoral, afectando al desarrollo y a la extensión del cáncer, son bien conocidos y han sido sometidos periódicamente a revisión, pasando de los 6 que se describieron inicialmente en el año 2000 (Hanahan & Weinberg, 2000) a los 14 que se reconocen actualmente (Fig. 2) (Hanahan, 2022). A estos elementos se les conoce como sellos de identidad tumoral (del inglés “Hallmarks”) e incluyen tanto las capacidades adquiridas por las células neoplásicas como las características preexistentes en un individuo que son favorables a la evolución tumoral (Anisman & Kusnecov, 2022a; Hanahan, 2022). Entre los nuevos factores de identidad tumoral emergentes podemos encontrar a los microbiomas polimórficos, resaltando el papel de los microorganismos tanto en el efecto protector o perjudicial en el origen, desarrollo, metástasis y respuesta frente a terapia del cáncer.

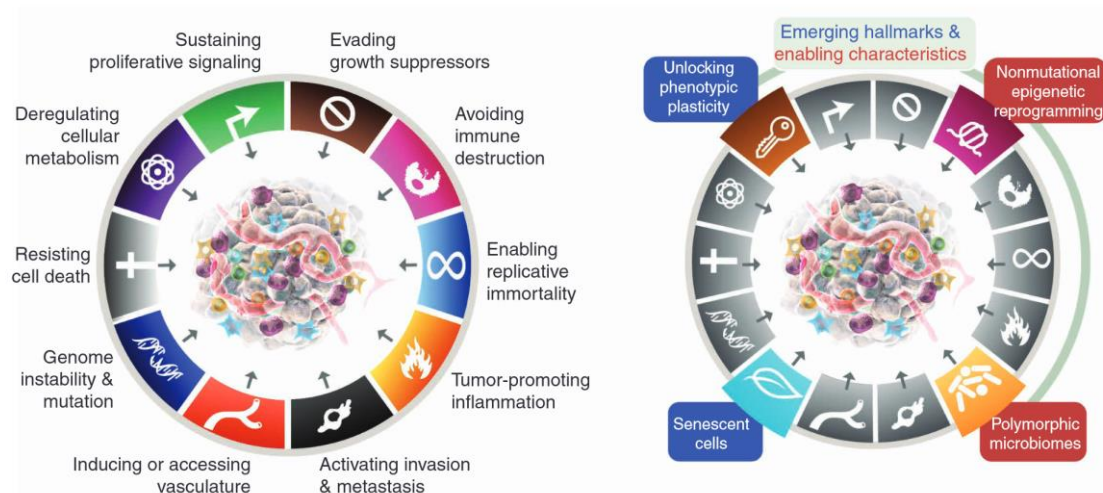
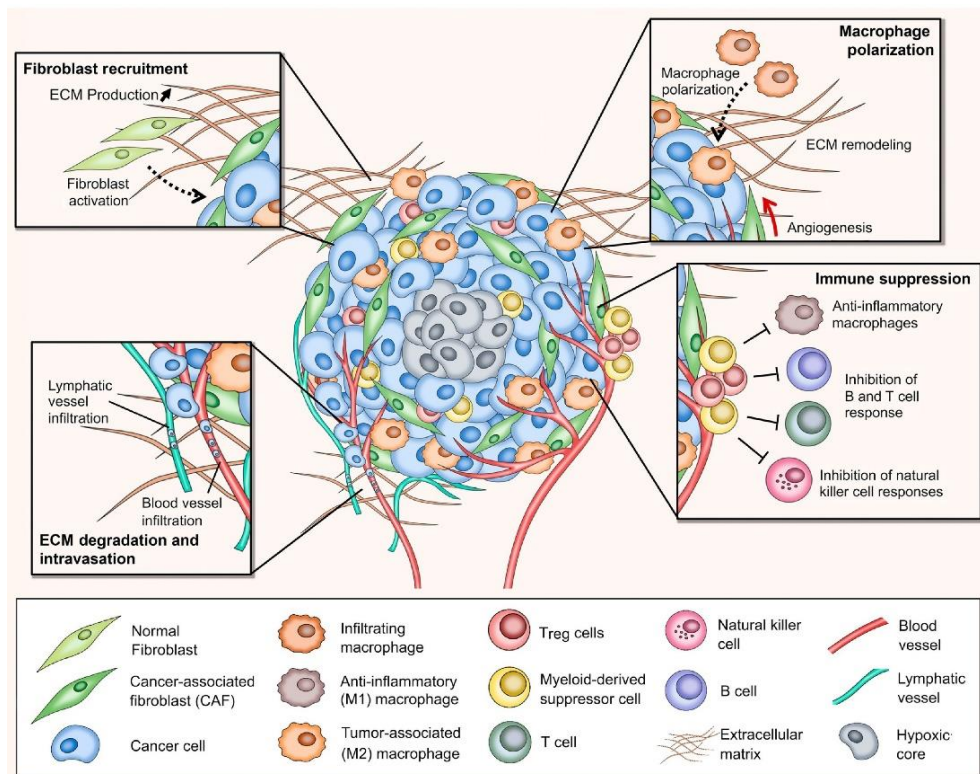


Figura 2. Sellos de identidad tumoral. El esquema de la izquierda representa las 10 cualidades tumorales básicas y el esquema de la derecha añade 4 nuevas características emergentes. Extraído de Hanahan, 2022,

Por tanto, a los componentes básicos del TME como el parénquima (las células cancerosas), el estroma compuesto por diferentes tipos celulares (células inmunes, fibroblastos, células endoteliales y células mesenquimales, entre otras) y la matriz extracelular (Anisman & Kusnecov, 2022a; Bisoyi, 2022; Carlberg & Velleuer, 2021), debemos añadir a los microorganismos, y en particular, a las bacterias (Liviyatan et al., 2020). Cada uno de estos componentes determinará la evolución tumoral, regulando procesos moleculares fundamentales que actúan conjuntamente para remodelar la matriz extracelular, angiogénesis, metástasis y respuesta inmune (Fig. 3).



Trends in Cancer

Figura 3. Esquema del microambiente tumoral mostrando los diferentes tipos celulares y los principales procesos como el reclutamiento de fibroblastos, polarización de los fibroblastos, supresión del sistema inmune y la remodelación de la matriz extracelular (ECM). La abreviatura Treg significa “célula T reguladora”. Extraído de Rodrigues et al., 2021

Teniendo en cuenta todos los factores que impactan sobre la evolución tumoral y la gran diversidad de comportamientos posibles, podemos decir que el término cáncer agrupa múltiples enfermedades bajo un único nombre. Por tanto, resulta fundamental, para su correcto diagnóstico y tratamiento, identificar con precisión a qué tipo de enfermedad nos enfrentamos. De este modo, considerando cualidades básicas como el crecimiento y la agresividad del tumor, podemos clasificar tumores benignos y malignos. Los primeros permanecen localizados en su punto de origen y no suelen suponer riesgo grave para el paciente. Los segundos son capaces de infiltrarse, invadir y destruir las células o tejidos adyacentes, o incluso llegar a propagarse a otros órganos del cuerpo, proceso conocido como metástasis. Siendo los tumores metastáticos los más preocupantes, por ser los más agresivos y de peor pronóstico para la supervivencia del paciente. Por su importancia, los tumores malignos deben ser identificados con precisión y pueden clasificarse según el tejido que afecten, la morfología celular, la diferenciación celular, la tasa de crecimiento, el alcance de su progresión, su nivel de agresividad (la invasión local y la metástasis) e incluso por subtipos de cáncer y sus correspondientes fases de evolución (Anisman & Kusnecov, 2022a). Atendiendo al tipo de células de los que surgen, los tipos

tumorales más significativos son los siguientes: a) carcinomas que se originan a partir de células epiteliales, b) blastomas originados a partir de células o tejidos embrionarios inmaduros, c) sarcomas originados a partir del tejido conectivo, d) leucemias y linfomas que surgen del sistema linfático (Anisman & Kusnecov, 2022; Carlberg & Velleuer, 2021).

Complementariamente, el estudio de los niveles de las proteínas, genes y metabolitos, comparando el tejido sano y el tumoral, se emplea para definir la huella molecular que describe y diagnostica, de forma precisa, la enfermedad (Fig. 4) (Bisoyi, 2022). A estos elementos moleculares se les denomina biomarcadores tumorales y su medición, por métodos poco invasivos, nos permite predecir, diagnosticar y pronosticar el cáncer en estadios tempranos, donde los tratamientos son altamente eficaces y la supervivencia de los pacientes incrementa (Tappia & Ramjiawan, 2023). Sin embargo, los biomarcadores tumorales individualmente no suelen presentar alta especificidad, por lo que el diagnóstico de precisión requiere emplear una combinación de ellos para definir la enfermedad (Li et al., 2022).

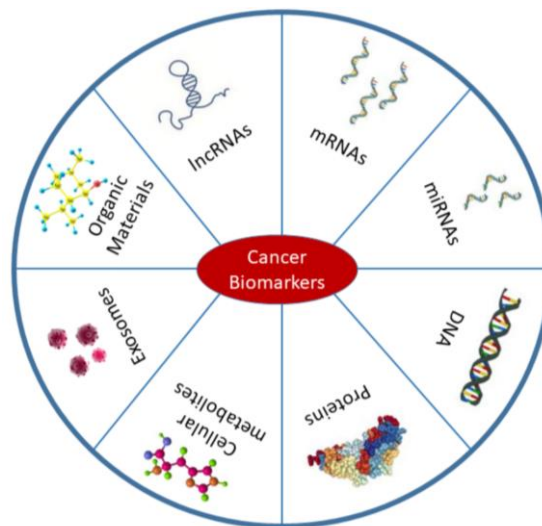


Figura 4. Biomarcadores tumorales. Los biomarcadores (proteínas, material genómico y metabolitos) se suelen encontrar en los fluidos corporales y tejidos tumorales. Tomado de Khan et al., 2022

Incidencia del cáncer.

A pesar de que el cáncer ha convivido con nosotros desde hace miles de años, con casos encontrados en fósiles de mujeres desde el Neolítico en adelante (como momias en Perú y el antiguo Egipto, informes médicos antiguos, etc.) (Bisoyi, 2022) y de que muchas enfermedades no transmisibles están bajo control gracias a los avances médicos, esta enfermedad sigue siendo objetivo de investigación para lograr combatirlo de manera efectiva. Efectivamente, en las últimas décadas, las enfermedades no transmisibles han adquirido una gran relevancia, siendo el cáncer la segunda causa de muerte a nivel mundial, después de las enfermedades

cardiovasculares. Actualmente, casi la mitad de las muertes registradas están relacionadas con estas dos enfermedades. En 2019, se registraron más de 10 millones de fallecimientos debido al cáncer a nivel global (Hannah Ritchie et al., 2018) y se estima que una de cada dos personas en el mundo recibirá un diagnóstico de cáncer en algún momento de su vida (Carlberg & Velleuer, 2021). En España, según los datos recopilados por la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC, <https://observatorio.contraelcancer.es/>), se ha observado un aumento en la incidencia de esta enfermedad en los últimos años (Fig. 5), aunque afortunadamente la tasa de mortalidad no ha variado significativamente. En 2022 se registraron más de 290,000 casos, siendo el cáncer colorrectal, de próstata y de mama los más frecuentes en primer, segundo y tercer lugar, respectivamente (Fig. 6). Sin embargo, al analizar exclusivamente los casos de cáncer en mujeres, destaca ampliamente el cáncer de mama, seguido por el cáncer colorrectal con la mitad de las incidencias. Además, se estima que en los próximos 20 años esta cifra de incidencias aumentará aún más, alcanzando los 375,000 casos (AECC, 2023). En particular, en las Islas Canarias comparado con el resto del territorio nacional, se ha observado una prevalencia similar de los tipos de cáncer. En el año 2022, ha incrementado la incidencia del cáncer en más de 12.000 casos, lo que plantea un desafío sanitario adicional para la región en la lucha contra el cáncer. (AECC, 2023).

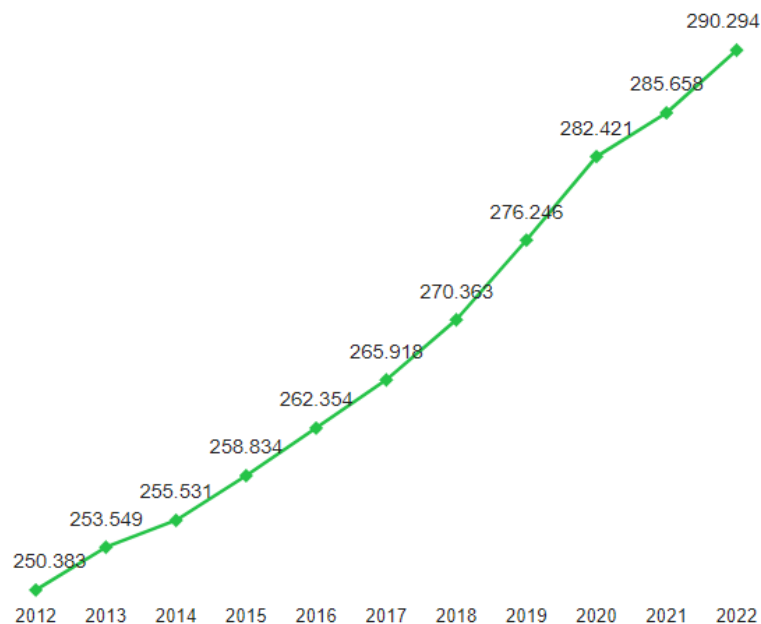


Figura 5. Evolución de los casos de cáncer en España en los últimos 11 años. Extraído del observatorio de la AECC en <https://observatorio.contraelcancer.es/explora/dimensiones-del-cancer>

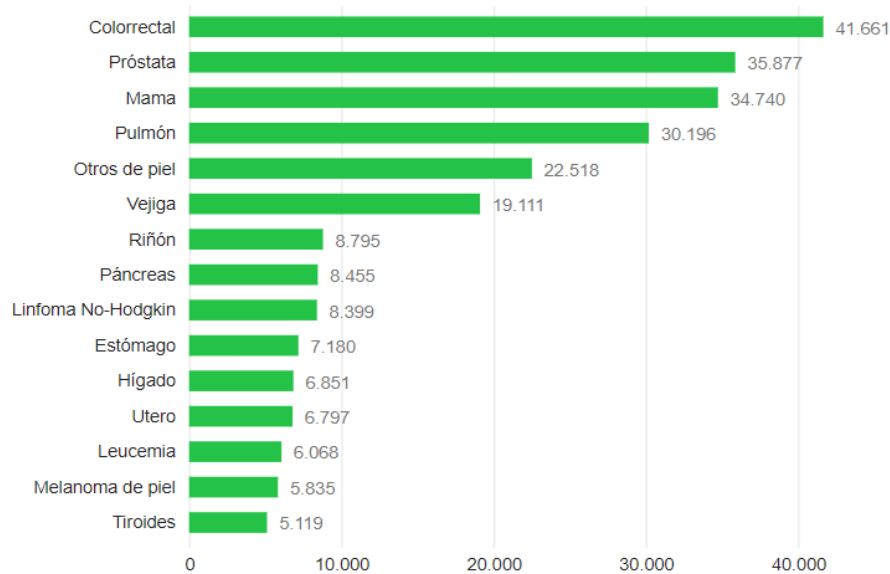


Figura 6. Ranking de los nuevos casos según el tipo de cáncer. Extraído del observatorio de la AECC en <https://observatorio.contraelcancer.es/explora/dimensiones-del-cancer>

El cáncer de mama.

El cáncer de mama es una enfermedad que se origina en las células de los tejidos mamarios, siendo el tipo de cáncer más común entre las mujeres, aunque también puede afectar a los hombres con mucha menor frecuencia. La localización principal del cáncer de mama es en uno o los dos senos, específicamente en los tejidos glandulares (cáncer lobulillar) y los conductos de la leche (cáncer ductal; Fig. 7). La mayoría de los tumores malignos de mama son carcinomas y se pueden clasificar entre carcinomas *in situ* e invasivos o infiltrantes. Los carcinomas *in situ* se caracterizan porque las células neoplásicas no traspasan la membrana basal, mientras que los carcinomas invasivos sí lo hacen, lo que les otorga la capacidad de metastatizar. A su vez, los carcinomas invasivos se subdividen en carcinomas ductales, que se originan en el epitelio ductal mamario, y carcinomas lobulillares, que surgen del epitelio de los lóbulos y ductos terminales de la mama (es decir, de la unión ductolobulillar). Por lo general, los carcinomas *in situ* son precursores de los invasivos, especialmente en el caso de los tumores ductales (Fernández et al., 2021; Kietzman et al., 2017).

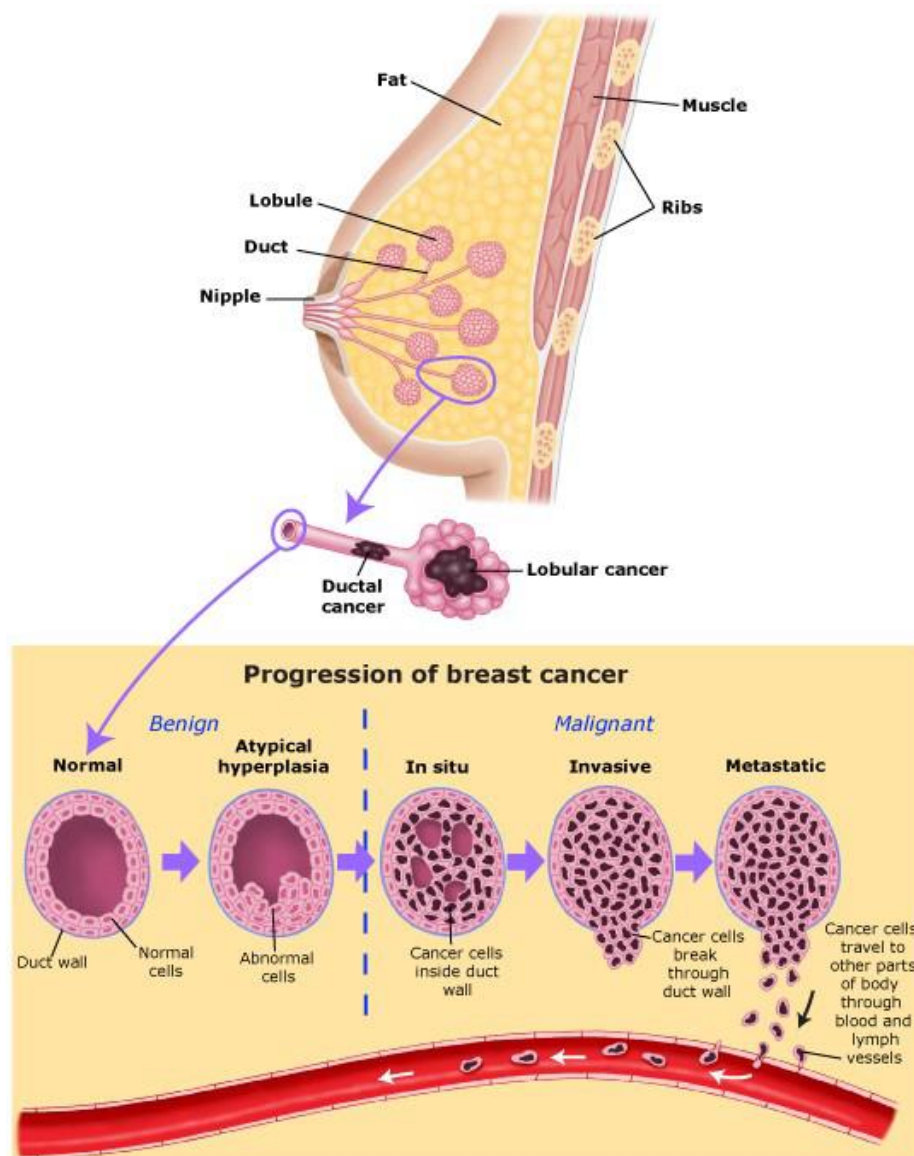


Figura 7. Esquema de los diferentes tipos de cáncer de mama. El esquema superior representa un esquema anatómico de la mama resaltando la presencia del cáncer de mama ductal y lobular. El esquema inferior representa la progresión del cáncer de mama desde la hiperplasia a la metástasis. Tomado de la web <https://www.saintjohnscancer.org/breast/breast-cancer/types-of-breast-cancer/>.

En términos de su clasificación molecular e histológica, el cáncer de mama se categoriza en tres grupos principales (Barzaman et al., 2020; Fernández et al., 2021; Kietzman et al., 2017):

- a) Tumores luminales que expresan receptores de estrógeno (ER+) o de progesterona (PR+).
- b) Tumores que expresan receptores del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2+).

- c) Tumores basales o triple negativos (TNBC), que no expresan ninguno de los receptores anteriores (ER-, PR-, HER2-).

Esta clasificación simplificada puede ser mucho más compleja, pues es posible profundizar acorde a diferencias moleculares adicionales, como puede ser la presencia de mutaciones en el oncogén p53, y que alterarán el pronóstico del paciente (Barzaman et al., 2020; Fernández et al., 2021; Mir, Aisha, & Mehraj, 2022). Además, existen otras muchas diferencias significativas entre los subtipos tumorales como su tendencia a la metástasis hacia órganos específicos. Por ejemplo, el cáncer luminal metastatiza preferentemente a los huesos, mientras que el HER2+ y el TNBC tienen preferencia por los pulmones e hígado (Patel et al., 2022). En general podemos resumir que los tipos de cáncer de mama más comunes son los luminales, pero el TNBC es especialmente relevante, debido a ser altamente agresivo (Fernández et al., 2021).

El mecanismo exacto de inicio y progresión del cáncer de mama aún no se comprende completamente, pero se han propuesto dos hipótesis principales para explicar su origen (Barzaman et al., 2020; Kietzman et al., 2017; Mir, Aisha, & Sofi, 2022) (Fig. 8):

- Teoría de la célula madre cancerosa:** se postula que una única célula madre, habiendo sufrido todas las alteraciones genéticas y epigenéticas que conducen a la enfermedad, tiene la capacidad de originar todos los subtipos de cáncer de mama.
- Teoría estocástica:** cada subtipo de cáncer se origina a partir de una célula madre independiente, como resultado de distintas alteraciones genéticas. Estas alteraciones se acumulan en células mamarias individuales, dando lugar a la formación del tumor correspondiente.

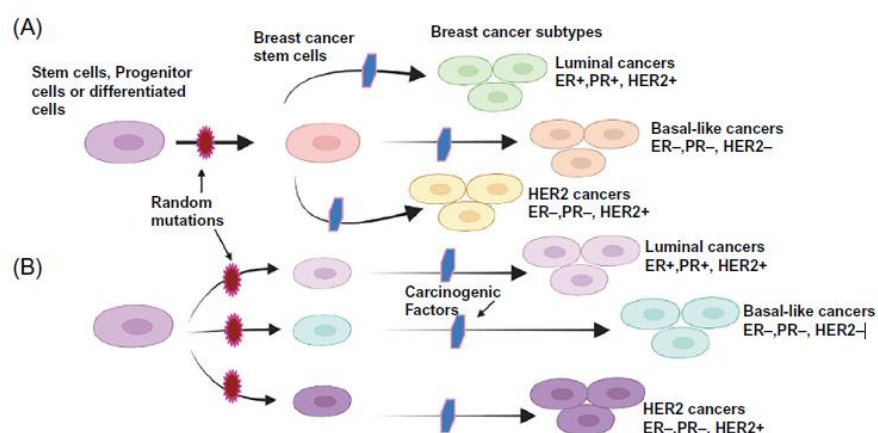


Figura 8. Modelos para las hipótesis del origen de tumores en cáncer de mama. A) Teoría de la célula madre, B) teoría estocástica. Extraída de Mir et al., 2022.

En cualquiera de los dos modelos, las células madre cancerosas desempeñan un papel importante en varios aspectos del desarrollo del cáncer, debido a su capacidad de autorrenovación después de haber experimentado una transformación neoplásica. La presencia de un gran número de células madre de mama cancerosas (BCSC, por sus siglas en inglés) se asocia con una alta agresividad tumoral, pues interactúan con el TME afectando a la proliferación, tumorigénesis, metástasis y resistencia del tumor a diferentes tratamientos, como la quimioterapia y radioterapia (Barzaman et al., 2020; Kietzman et al., 2017; Mir, Aisha, & Sofi, 2022). Además, la presencia de células tumorales circulantes, en los ganglios linfáticos cercanos al tejido mamario, es un pronóstico crítico en la metástasis del cáncer. En estos casos, el tumor puede expandirse a otros órganos y formar tumores secundarios con sus propias características. Por ejemplo, al comparar el TME del tumor primario, el del ganglio linfático y tumor secundario invadidos, se observan diferencias significativas en su composición, pudiendo jugar un papel relevante en la eficacia de las terapias unificadas y diseñadas bajo un solo contexto tumoral (Mir, Aisha, Sofi, et al., 2022).

La microbiota.

La microbiota humana, compuesta por millones de bacterias, virus, hongos y otros microorganismos, vive en una relación simbiótica mutualista en diferentes partes del cuerpo. Esta relación es tan intensa que tanto el contenido genómico como la abundancia de la microbiota humana supera por mucho al de sus huéspedes. En cuanto a su función, desempeña un papel fundamental en la salud humana a diferentes niveles, por ejemplo, regulando el metabolismo, la absorción de nutrientes en el intestino, los niveles hormonales, la activación del sistema inmune, etc. Por el contrario, en los casos de disbiosis o desequilibrio de la microbiota, el riesgo de padecer diversas afecciones incrementa sustancialmente, llegando a considerarse en muchos casos a los microorganismos de la microbiota normal como una terapia sanatoria (Alanna Collen, 2019; Anisman & Kusnecov, 2022b; Tannock, 2017).

La microbiota más estudiada es la gastrointestinal, tanto por su facilidad de estudio como su abundancia. Se analiza a través de muestras de heces, colonoscopia y biopsias, lo cual supone su principal limitación, pues aportan información únicamente de las bacterias del colon. Sin embargo, se asume que las especies encontradas a lo largo del tracto digestivo no difieren mucho, siendo los principales filos identificados *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia* (Alanna Collen, 2019; Anisman & Kusnecov, 2022b). Nos

obstante, la composición microbiana específica varía entre individuos, y esto se debe a varios factores como la dieta, la edad, la rutina de sueño, la medicación, etc. (Anisman & Kusnecov, 2022b). Consecuentemente, la efectividad de las bacterias, y a veces su función, también varía entre individuos. Por ejemplo, al colon llegan nutrientes no digeribles directamente por el humano, de modo que sólo las bacterias son capaces de procesarlos y permitir su absorción por el hospedador. La disbiosis intestinal disminuye la calidad de la nutrición humana e incluso promueve enfermedades inflamatorias y alergias alimentarias (Anisman & Kusnecov, 2022b; Tannock, 2017). También, a esta microbiota, se han asociado funciones más complejas de interacción con células humanas, como el caso de bacterias que son capaces de reforzar el sistema inmune mediante la activación de células dendríticas o la mejora en la respuesta de algunas células inmunes (Matson et al., 2021; Fig. 9).

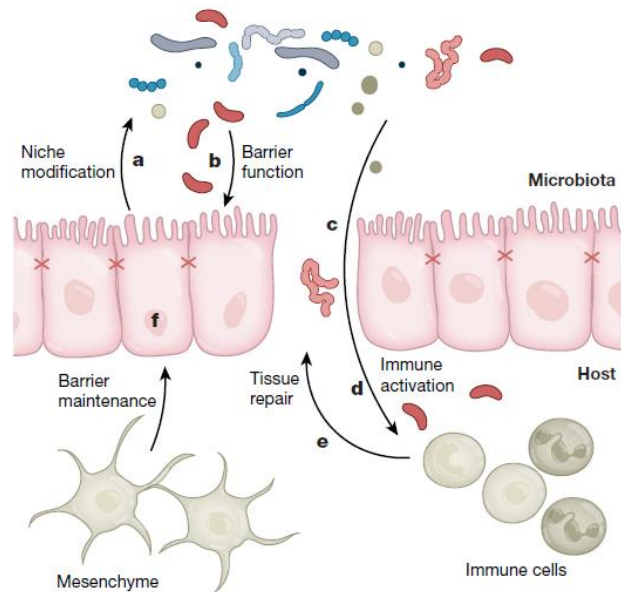


Figura 9. Relación entre la microbiota gastrointestinal y la barrera intestinal (a y b), así como con el sistema inmune (c, d y e). Extraído de Janney et al. (2020).

Otros órganos y aparatos, además del digestivo, presentan microbiotas que cumplen funciones diversas y especializadas (Anisman & Kusnecov, 2022b; Nejman et al., 2020). Por ejemplo, existe una correlación entre la composición de la microbiota en diferentes partes del cuerpo y la regulación de la salud mental, donde la disbiosis puede derivar en enfermedades como la demencia o depresión (Alanna Collen, 2019; Anisman & Kusnecov, 2022b). Del mismo modo, se han relacionado determinados perfiles bacterianos con la predisposición a padecer obesidad o enfermedades cardiovasculares (Alanna Collen, 2019; Anisman & Kusnecov, 2022b; Janney et al., 2020). Otras disbiosis de la piel coinciden con patologías inflamatorias o infecciones crónicas (Bay & Ring, 2022). Con todo lo expuesto, no es de extrañar que el microbioma también se relacione con alteraciones endocrinas e inmunes que desencadenan en patologías inflamatorias graves y en cáncer, o alteren su evolución (Alanna Collen, 2019; Anisman & Kusnecov, 2022b; Matson et al., 2021; Sepich-Poore et al., 2021).

Debido al gran número de procesos fisiológicos en los que participan las bacterias, así como a la variedad en su composición y función entre individuos y tejidos es difícil concluir qué constituye una “microbiota sana” y, por tanto, determinar su mecanismo de acción no es sencillo. No obstante, sí que algunos géneros bacterianos se han asociado a beneficios en la salud humana, como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Saccharomyces*, al igual que se relacionan otros géneros como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Neisseria* con efectos negativos. (Alanna Collen, 2019; Anisman & Kusnecov, 2022b; Mangalam & Ochoa-Repáraz, 2020; Tannock, 2017)

La microbiota en el cáncer.

La microbiota desempeña un papel crucial en nuestra salud y, a lo largo de la última década, se han descubierto múltiples evidencias que conectan la composición y función de la microbiota con el desarrollo del cáncer e incluso con la efectividad de las terapias antitumorales. Como cabría esperar, las primeras relaciones se establecieron entre la disbiosis gastrointestinal y el cáncer de colon, donde *Helicobacter pylori*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis* y cepas de *Escherichia coli* son los principales protagonistas (Anisman & Kusnecov, 2022c; Gori et al., 2019). Además, otras investigaciones han encontrado relaciones parecidas entre la microbiota y otros tipos de cáncer como el de hígado, riñón o mama, poniendo en evidencia el impacto de los microorganismos en múltiples patologías (Alanna Collen, 2019; Alizadehmohajer et al., 2020; Anisman & Kusnecov, 2022c; Gori et al., 2019)

La relación entre microorganismos y enfermedad es tan estrecha que incluso los microbios se emplean como biomarcadores en el diagnóstico del cáncer, aprovechando las diferencias encontradas en la microbiota entre individuos sanos, pacientes y supervivientes de la enfermedad. Además, se emplean como pronóstico de curación durante los tratamientos anticancerígenos, puesto que existen diferencias en la microbiota entre los pacientes que responden a ciertas terapias y los que no (Alizadehmohajer et al., 2020; Anisman & Kusnecov, 2022c; Gori et al., 2019). Por ejemplo, en el cáncer de colon se suele detectar gran abundancia de *F. nucleatum* durante las fases tempranas, siendo recompensable su identificación en pacientes con predisposición a este cáncer y predecir así la aparición de la patología (Anisman & Kusnecov, 2022c)

La actividad de los microorganismos sobre la progresión tumoral la podemos encontrar de forma directa sobre las células tumorales o indirecta afectando otros factores extra-

tumorales. En este último caso, quizás la actividad más conocida es la influencia de los microorganismos sobre la eficacia de los tratamientos, donde algunas bacterias son capaces de metabolizar las drogas antitumorales, influyendo tanto a su efectividad como a la vulnerabilidad del paciente ante efectos secundarios (Anisman & Kusnecov, 2022c; Gori et al., 2019; Patel et al., 2022). Por ejemplo, una proporción elevada de *E. coli*, bacteria capaz de degradar el antitumoral gemcitabina, provoca que el tumor aparentemente resista a la terapia, dando una falsa clínica (Gori et al., 2019; Patel et al., 2022). Por otra parte, esta misma bacteria metaboliza el irinotecán, un inhibidor de la replicación de ADN utilizado en fases avanzadas del cáncer, cuyo producto final es una toxina que provoca diarreas a largo plazo. En estos casos, el antitumoral debe ser administrado junto con el inhibidor de la actividad *E. coli*, para suprimir este efecto secundario indeseado (Gori et al., 2019; Patel et al., 2022). En otros casos, drogas antitumorales como el cisplatino poseen un doble efecto, siendo además antibióticos. Su administración induce disbiosis gastrointestinal que deriva en la pérdida de la integridad de la barrera mucosa, ocasionando otras patologías infecciosas. En estos casos, el tratamiento antitumoral se asocia a la restauración de la microbiota natural mediante prebióticos, probióticos o por trasplante de microbiota fecal sana (Gori et al., 2019).

En otros casos, la actividad de los microorganismos actúa directamente sobre las células tumorales. Por ejemplo, en los casos de disbiosis en la microbiota gastrointestinal, las bacterias o sus toxinas pueden penetrar al riego sanguíneo e influenciar el origen y desarrollo del cáncer mediante distintos mecanismos como: daño directo al ADN, producción de metabolitos carcinógenos o protectores, estimulación de la división o muertes celular, o por inhibición del sistema inmune (Fig. 10) (Alizadehmohajer et al., 2020; Gori et al., 2019). En más detalle, el daño directo al ADN es provocado por los propios mecanismos que presentan algunas bacterias para modificar el ADN del huésped, lo cual deriva erróneamente en mutaciones cancerosas. Los mecanismos moleculares involucran la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), que inducen tumorigénesis, o a la síntesis de toxinas bacterianas que pueden alterar el ADN o nuevamente la síntesis de ROS en la célula tumoral. Por ejemplo, *B. fragilis* libera una toxina carcinógena de su mismo nombre que inhibe la E-cadherina facilitando la transición de las células tumorales epiteliales hacia mesenquimáticas, promoviendo la proliferación e invasión de los tejidos circundantes (Alizadehmohajer et al., 2020; Gori et al., 2019). Además, los microorganismos pueden producir compuestos carcinógenos o protectores, normalmente asociado al tipo de fermentación que lleve a cabo la microbiota gastrointestinal. Por ejemplo,

la fermentación proteica deriva en compuestos N-nitrosos, amoníaco y poliaminas, los cuales producen inflamación y estimulan la producción de ROS, promoviendo la tumorigénesis. Por el contrario, la fermentación bacteriana de la fibra vegetal produce ácidos grasos de cadena corta (SCFAs), como el butirato, que otorgan efecto antitumoral por ser antiinflamatorios y tener actividad antioxidante (Anisman & Kusnecov, 2022c; Gori et al., 2019; Janney et al., 2020; Patel et al., 2022). Como mencionamos inicialmente, los microbios también pueden estimular la división y muerte celular mediante cambios en las rutas de señalización o por producción de toxinas. Por ejemplo, la microbiota gastrointestinal produce las ciclomodulinas, un grupo de toxinas bacterianas que pueden ser tanto estimuladoras como inhibidoras de la proliferación celular. Otro caso es el de *H. pylori*, que inyecta el gen A asociado a citotoxina (CagA) y activa la ruta de la β -catenina, la cual se acumula en el núcleo celular activando la expresión del gen Wnt, el cual está ligado al control del ciclo celular, diferenciación y migración en la mayoría de los tumores humanos (Gnad et al., 2010; Gori et al., 2019). Finalmente, las bacterias pueden inhibir el sistema inmune del huésped a través de varios mecanismos que, en general, derivan en una inflamación no regulada y en la estimulación de la proliferación celular (Alizadehmohajer et al., 2020; Gori et al., 2019; Janney et al., 2020). Por ejemplo, *F. nucleatum* inhibe la actividad citotóxica de las células del sistema inmune asesinas naturales (NK) y de linfocitos T, permitiendo a las células tumorales evadir al sistema inmune (Anisman & Kusnecov, 2022c; Gori et al., 2019).

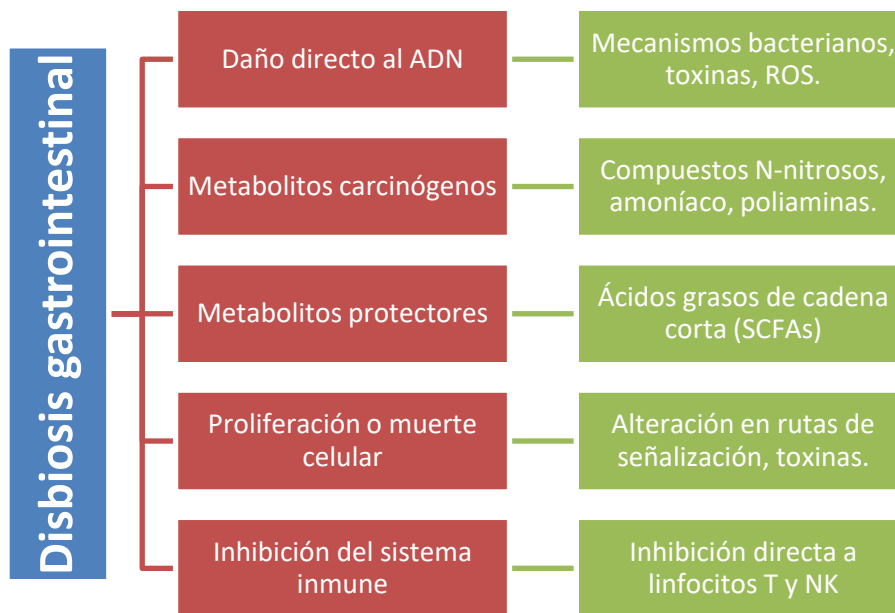


Figura 10. Efectos de la disbiosis gastrointestinal sobre la progresión tumoral

Microbiota gastrointestinal en el cáncer de mama

Los datos que hemos presentado hasta ahora ponen de manifiesto la importancia de la microbiota gastrointestinal en la modulación de los tumores. Sin embargo, durante mucho tiempo, no se encontraron evidencias de esta relación con tumores más distantes, como el de mama. Los primeros indicios del impacto de la microbiota sobre el cáncer de mama surgieron al establecer una múltiple correlación entre los hábitos del individuo (dieta, ejercicio, etc.), biodiversidad bacteriana de la microbiota y la progresión de los tumores de mama. A partir de este momento, las investigaciones identificaron diversos mecanismos moleculares basados en metabolitos derivados de la digestión, toxinas, mensajeros inmunológicos y alteraciones en el metabolismo hormonal que afectaban directamente a la evolución del cáncer de mama (Fig. 11) (An et al., 2023; Anisman & Kusnecov, 2022c; Eslami-S et al., 2020; Kwa et al., 2016).

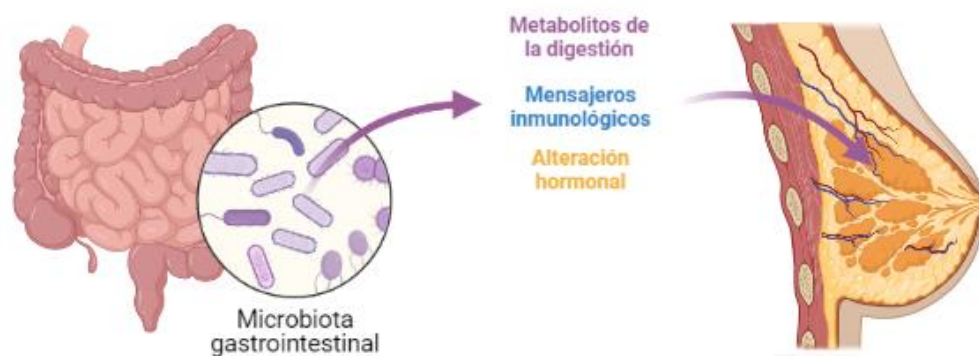


Figura 11. Efecto la microbiota gastrointestinal sobre el desarrollo en el tumor de mama. Creado a través de BioRender.com

En el caso de los metabolitos derivados de la digestión, el aminoácido lisina puede ser degradado a cadaverina, por enzimas humanas y mayormente bacterianas, la cual reduce la metástasis del cáncer de mama (Kovács et al., 2019). Y, como mencionamos anteriormente, algunos SCFAs como el propionato, acetato o butirato, derivados de la digestión de fibras vegetales en el colon, también puede tener efecto sobre el cáncer de mama, pero en este caso un tanto particular, ya que puede tener efecto tanto positivo como negativo para su progresión, alterando la invasión (Eslami-S et al., 2020). Otras bacterias cuya abundancia se correlaciona con la progresión del cáncer de mama, son las capaces de secretar toxinas alterantes. Es el caso de *B. fragilis* enterotoxigénica (ETBF) cuya toxina (BFT, siglas de “*Bacteroides fragilis* toxin”) viaja desde el tracto gastrointestinal hasta el tejido mamario, para incrementar la progresión tumoral y la metástasis (Parida et al., 2021). Por último, abordaremos las alteraciones bacterianas del metabolismo hormonal debido a la importancia, ya descrita, que poseen las

hormonas en el cáncer de mama. Por ejemplo, niveles elevados de estrógenos en mujeres postmenopáusicas correlaciona con mayor riesgo de padecer cáncer de mama. Estos niveles elevados se pueden alcanzar por la presencia de *Blautia sp.*, puesto que es capaz de incrementar la concentración total de estrógenos. En el caso particular de *B. producta*, metaboliza un derivado de las ligninas, las enteroligninas, para dar lugar a fitoestrógenos, cuya estructura se asemeja a la de los estrógenos humanos, uniéndose a los mismo receptores y, por tanto, emulando un incremento en los niveles hormonales y la progresión tumoral (Kwa et al., 2016; Luu et al., 2017).

Microbiota del tejido mamario y su relación con el cáncer de mama.

Al igual que en otros tejidos, la mama posee su microbiota característica, en la que dominan 7 filos de bacterias, ordenados desde el más abundante al menos: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Verrucomicrobia* y *Fusobacteria* (Banerjee et al., 2021; Urbaniak et al., 2014). Algunos de los taxones de estos filos no son exclusivos de la mama y se pueden encontrar asociados a otras localizaciones, por ejemplo, *Lactobacillus* y *Prevotella* se encuentra en el epitelio vaginal y *Fusobacterium* y *Streptococcus* están presentes en la microbiota oral. Sin embargo, al igual que en el tracto gastrointestinal y otros órganos, la composición microbiana varía entre individuos, especialmente en términos de abundancia de grupos concretos (Tzeng et al., 2021; Urbaniak et al., 2014). Pero lo que resulta interesante es que las proporciones de abundancia de la microbiota se alteran de forma específica (Fig. 12), respondiendo a la presencia de tumores, definiendo de esta forma el estado patológico (Eslami-S et al., 2020). De hecho, cada vez se obtienen más evidencias que asocian alteraciones en la microbiota mamaria y el riesgo de padecer cáncer de mama. Un ejemplo de esto fue el estudio de Xuan y colaboradores (2014), donde observaron que 8 taxones de la microbiota mamaria disminuyeron y 3 aumentaron en el subtipo tumoral ER+. Y, a lo largo de la progresión tumoral, la carga bacteriana total disminuía (Xuan et al., 2014). Curiosamente, este hallazgo contradice a Nejman y colaboradores (2020), que afirma que la carga bacteriana incrementa en el tejido canceroso mamario comparado con el sano. Esto podría deberse a los distintos porcentajes de grasa y fibrosis en el tejido mamario asociados al riesgo de padecer cáncer y que influyen a la abundancia de los diferentes filos bacterianos. Por ejemplo, existe alto porcentaje de grasa y bajo porcentaje de fibrosis en tumores malignos, mientras que ocurre a la inversa en los tumores benignos. A su vez,

correlacionaba con la proporción bacteriana, de modo que en tejidos malignos hay mayor abundancia de *Firmicutes*, *Clostridium* y *Staphylococcus*, mientras que en los tejidos benignos se observaron más *Spirochaeta* y *Proteobacteria* (Hieken et al., 2022). Incluso se han observado diferencias en la composición microbiana, tanto en variabilidad como abundancia, entre los subtipos de cáncer de mama, posibilitando el diagnóstico o predicción terapéutica en base a los perfiles microbianos (Banerjee et al., 2021).

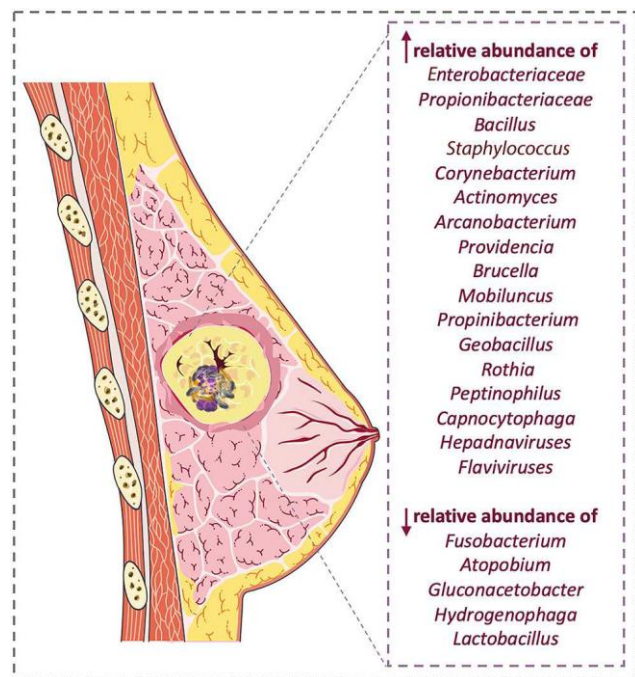


Figura 12. Abundancia relativa de la microbiota mamaria tumoral, respecto al tejido sano. Extraído de Eslami-S et al. (2020).

Como ya hemos descrito, la microbiota posee múltiples funciones y su alteración, bajo condiciones patológicas, nos hace prever una alteración de los mecanismos moleculares que regula. De hecho, la microbiota mamaria tumoral altera genes involucrados en la inmunidad y la regulación de las citoquinas, modulando la interacción con el sistema inmune, su desregulación y procesos inflamatorios que afectan a múltiples procesos cancerosos y su progresión (Tzeng et al., 2021).

En conclusión, la microbiota mamaria se altera bajo condiciones patológicas y además influye sobre la progresión tumoral (Eslami-S et al., 2020). Sin embargo, esta relación establece una comunicación célula-célula que contrasta con la nueva localización funcional de las bacterias de la microbiota mamaria tumoral. En trabajos recientes, se han descrito bacterias de la microbiota mamaria que se localizan intracelular y específicamente en los tumores. Esta relación sorprendente se ha mantenido esquivada hasta que recientemente se han publicado los géneros bacterianos involucrados y algunos de los mecanismos moleculares asociados, los cuales desarrollaremos en el siguiente apartado (Fu et al., 2022; Nejman et al., 2020).

Microbiota intratumoral en el tumor de mama.

Las bacterias se han relacionado con los tumores desde hace años, aunque sólo recientemente se ha publicado una lista exhaustiva de bacterias, de localización intracelular, asociadas al cáncer (Fu et al., 2022; Nejman et al., 2020). Posiblemente facilitado por los avances tecnológicos, es sólo ahora cuando hemos sido capaces de detectar e identificar unas pocas bacterias intratumorales, empleando la secuenciación del ADN bacteriano e inmunohistoquímica (anticuerpos contra lipopolisacáridos (LPS) para Gram – y contra ácido lipoteicoico (LTA) para Gram +). De forma general, los resultados confirmaron las observaciones previas donde existe una mayor carga bacteriana en los tumores de mama comparado con los tejidos normales, y que la composición bacteriana en el tejido mamario, tanto saludable como tumoral, está constituida por los filos *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* y *Fusobacteria*, principalmente. También observaron diferencias en la frecuencia de algunos taxones bacterianos entre distintos subtipos de cáncer de mama (entre ER+, PR+ y HER2+). Por ejemplo, en tumores ER+ se encontraron taxones enriquecidos, que presentan rutas metabólicas como la detoxificación de arseniato y la biosíntesis de micotiol. Esto puede ser un mecanismo de supervivencia por parte de las bacterias en un aumento con estrés oxidativo, el cual está incrementado en tumores ER+.

Empleando cultivos de las células tumorales de mama, los autores encontraron 3 filos de bacterias intratumorales vivas, empleando marcaje con fluorescencia de D-alanina, el precursor del peptidoglicano: *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Actinobacteria* (Fig. 13). Estos resultados fueron corroborados empleando LPS y LTA fluorescente, microscopía electrónica e hibridación fluorescente *in situ* (FISH) por otros autores (Fig. 14) (Fu et al., 2022).

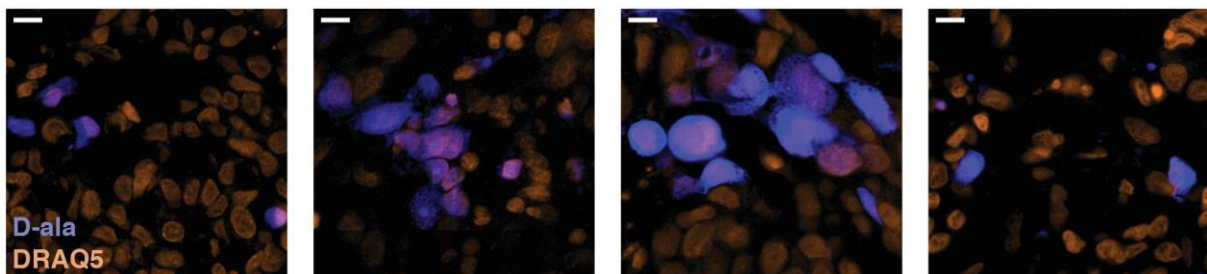


Figura 13. Imágenes de fluorescencia para 4 BT, donde se observa en azul la fluorescencia de la D-alanina en células tumorales debido a su metabolismo por parte de bacterias intracelulares. Extraído de Nejman et al., 2020.

Entre las bacterias intratumorales destacaron los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*, todas ellas integrantes de la microbiota natural de la mama. En estos experimentos se demostró que estas bacterias estaban vivas en el interior celular, pues sobreviven a la presencia de antibióticos impermeables a la membrana celular (ampicilina y gentamicina) y mueren con doxiciclina, el cual penetra al interior celular.

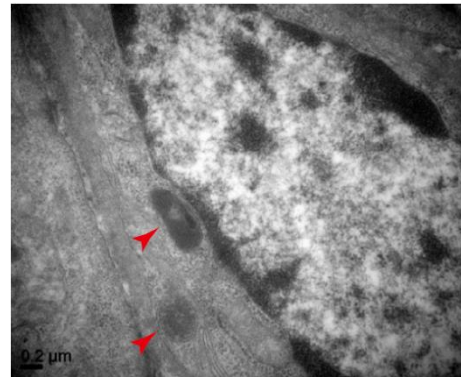


Figura 14. Imagen de microscopía electrónica de una célula cancerosa de mama, donde se señalan con flechas rojas las bacterias intracelulares en la región perinuclear. Extraído de Fu et al., 2022

La microbiota intratumoral y metástasis, en el cáncer de mama.

Hasta el momento hemos descrito el impacto de la microbiota en la progresión tumoral e incluso la presencia de bacterias intratumorales, pero son Fu y colaboradores (2022) los que describen un fenotipo tumoral asociado a las bacterias intratumorales. En este estudio demostraron, empleando una combinación de antibióticos, permeables y no permeables a la membrana celular (ATBx por sus siglas en inglés), que la supervivencia de las bacterias intratumorales correlacionaba con la presencia de metástasis pulmonar, a partir del cáncer de mama primario (Fig. 15). Concluyendo que la microbiota intratumoral tiene un papel relevante en la metástasis del cáncer de mama, pero no afecta al crecimiento del tumor primario. Este resultado lo confirmaron empleando marcaje fluorescente con sondas de ARN ribosómico 16S (técnica FISH), observando un mayor número de bacterias intracelulares en el foco de la metástasis pulmonar comparado con los tejidos adyacentes (Fig. 16). Esta observación fue extensiva también a las células tumorales circulantes, donde la mayoría también presentó bacterias intratumorales.

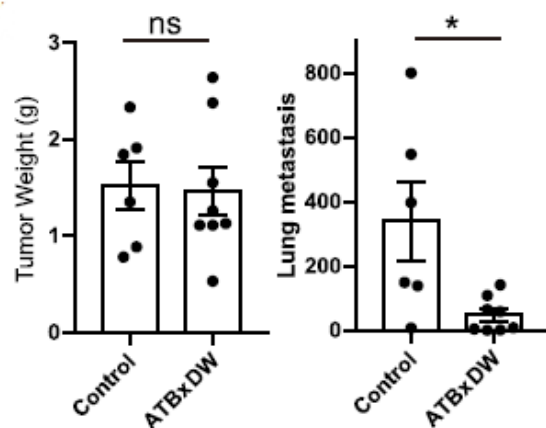


Figura 15. Resultados en el crecimiento tumoral (izq.) y metástasis (dcha.) comparando los tumores con microbiota intratumoral (Control) y sin ella (ATBx-DW). Extraído de Fu et al. (2022).

Posteriormente, los autores analizaron la frecuencia de las especies bacterianas intratumorales presentes en las células metastáticas, identificando 4 géneros predominantes: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Enterococcus*. En los siguientes experimentos emplearon la especie bacteriana *S. xylosus*, expresando la proteína verde fluorescente (GFP, por sus siglas en inglés), para facilitar su trazabilidad. Los resultados confirmaron que las células tumorales, colonizadas por la bacteria, se encontraron tanto en el tumor primario como en los núcleos metastáticos. Esto nos indica, una vez más, que las células tumorales colonizadas por la bacteria son más eficientes metastatizando. Realizaron experimentos similares con otras especies bacterianas como *S. xylosus*, *L. animalis*, *S. cuniculi* y *E. faecalis* observando un fenotipo similar, excepto para *E. faecalis* (Fig. 17). Esta diferencia se debe a que dicha bacteria no fue capaz de colonizar las células tumorales y, por lo tanto, no alteró el fenotipo metastático.

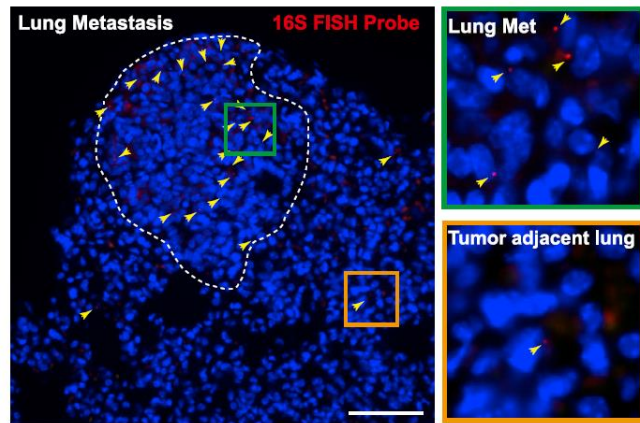


Figura 16. FISH 16S sobre el tejido pulmonar metastatizado para comprobar la presencia de bacteria intracelular. La zona punteada es el tumor secundario y el resto es el tejido adyacente. Se indican con flechas amarillas las bacterias. Extraído de Fu et al. (2022).

Los resultados confirmaron que las células tumorales, colonizadas por la bacteria, se encontraron tanto en el tumor primario como en los núcleos metastáticos. Esto nos indica, una vez más, que las células tumorales colonizadas por la bacteria son más eficientes metastatizando. Realizaron experimentos similares con otras especies bacterianas como *S. xylosus*, *L. animalis*, *S. cuniculi* y *E. faecalis* observando un fenotipo similar, excepto para *E. faecalis* (Fig. 17). Esta diferencia se debe a que dicha bacteria no fue capaz de colonizar las células tumorales y, por lo tanto, no alteró el fenotipo metastático.

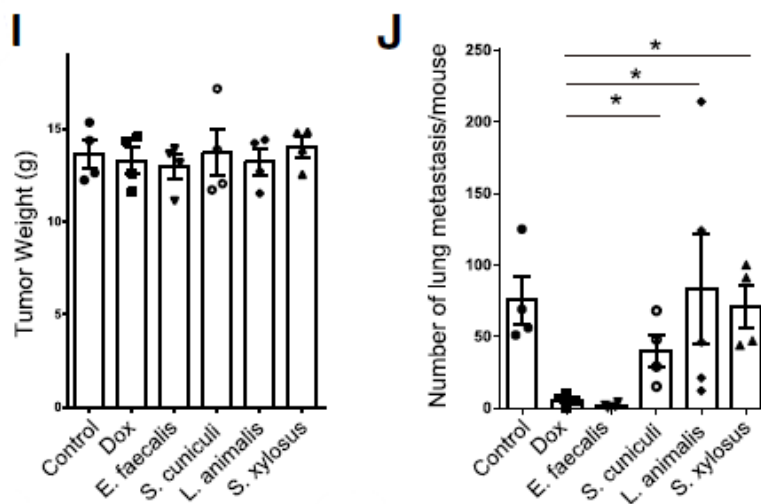


Figura 17. Resultados en el crecimiento tumoral (I) y la metástasis (J) en ratones tratados con células tumorales con distintas bacterias. Extraído de Fu et al. (2022).

En los experimentos finales, los autores investigan el mecanismo molecular asociado al incremento de metástasis de las células colonizadas por las bacterias. Observan que las células metastáticas, conteniendo las bacterias, poseen una activación reducida de la respuesta a estrés del citoesqueleto. Esta respuesta está asociada al estrés mecánico que sufren las células tumorales metastáticas al moverse en un fluido, como es la sangre. En los experimentos donde simulaban condiciones similares a las del riego sanguíneo, observaron que las células colonizadas por bacterias no sólo sobrevivían más en comparación con las no colonizadas, sino que además tenían mayor capacidad de adherencia y extensión. Esto indica que las bacterias alteran de alguna manera las cualidades del citoesqueleto de la célula, aportando a la célula mayor resistencia al estrés circulatorio. Si este estrés es continuado en el tiempo, mediante la activación de la ruta Rho-ROCK, la célula activa la apoptosis y muere. En más detalle, el estrés mecánico hace que RhoA (un tipo de GTPasa de la familia Rho, asociada con la organización de las fibras de estrés en el citoesqueleto celular) active la quinasa ROCK, la cual fosforila la enzima MLC, y esta promueve el flujo de calcio hacia el citoplasma por canales iónicos, provocando así la contracción de las fibras del citoesqueleto. Esta contracción, sostenida en el tiempo, hace que la célula sufra de un mayor estrés mecánico y que ROCK termine desencadenando la apoptosis. Finalmente, los experimentos finales demostraron que las bacterias intracelulares inhiben la quinasa ROCK, lo cual evita la contracción de las fibras de estrés y permite la reorganización del citoesqueleto adaptando la célula a la fuerza de fluido, de modo que sobrevive en su viaje por el riego sanguíneo. De este modo, se detectó que *S. xylosum*, *L. animalis* y *S. cuniculi* disminuyen la contracción del citoesqueleto, aumentando la supervivencia de las células tumorales en el sistema circulatorio, así como la metástasis al tejido pulmonar (Fig. 18).

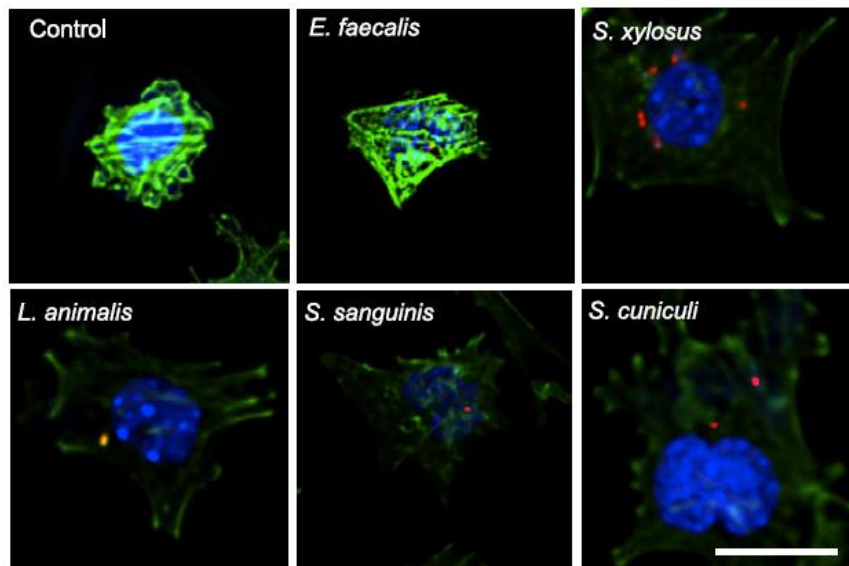


Figura 18. Imágenes de fluorescencia con tinción de las fibras de factina con faloidina (verde) y de las bacterias con vancomicina (rojo). En azul se tiñe el núcleo (DAPI). Extraído de Fu et al. (2022).

En conclusión, las bacterias intratumorales *S. xyloso*, *S. sanguinis*, *S. cuniculi* y *L. animalis* en el cáncer de mama, facilitan la metástasis reduciendo el estrés del citoesqueleto de la célula tumoral al viajar en un medio líquido. Esto lo consiguen inactivando la quinasa ROCK, evitando de este modo la apoptosis de la célula tumoral (Fig. 19).

Con todo, las bacterias de la microbiota y las intratumorales son inequívocamente importantes para predecir la evolución tumoral y el resultado de los tratamientos. Por lo tanto, la adición de la identificación de las bacterias asociadas a los tumores de mama, podrían ofrecer un diagnóstico más completo que conlleve a un tratamiento más personalizado y un aumento de la supervivencia.

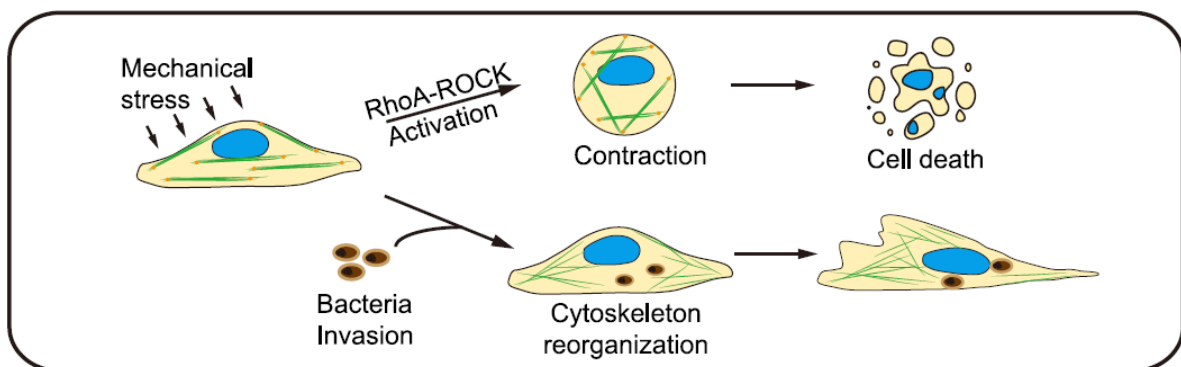


Figura 19. Modelo del incremento de la metástasis de la célula tumoral de mama colonizada por bacterias intratumorales. Las bacterias intratumorales inhiben la activación de la vía RhoA-ROCK, escapando así la célula tumoral a la apoptosis e incrementado la eficacia de la metástasis. Extraído de Fu et al. (2022).

Conclusiones:

1. El cáncer es una enfermedad no transmisible donde el control de la proliferación celular falla a varios niveles. La causa principal son daños genéticos provocados por un amplio rango de factores tanto intrínsecos como extrínsecos a las células tumorales.
2. La incidencia del cáncer sigue en aumento, y se estima que esta tendencia continuará incluso durante los próximos años. Siendo la principal causa de muerte mundial junto a las enfermedades cardiovasculares.
3. El cáncer de mama es el tumor más común entre las mujeres y suele presentarse en forma de carcinoma. Existen varios subtipos clasificados en los hormono-dependientes: ER+, PR+, HER2+, y hormona-independientes o TNBC. Los tumores TNBC son los más agresivos y poseen mayor probabilidad de metastatizar.
4. Los microorganismos han surgido como un factor de impacto en la evolución tumoral, afectando a cómo entendemos el cáncer y su tratamiento.
5. La microbiota gastrointestinal influye en numerosos procesos fisiológicos, manteniendo la homeostasis de sus huéspedes. Además, en el contexto del cáncer, la microbiota puede influir en el inicio y desarrollo tumoral, así como afectar a la posterior terapia.
6. El tejido mamario presenta una microbiota específica beneficiosa para el huésped. Algunas de estas bacterias colonizan intracelularmente y de forma específica las células tumorales de la mama.
7. Las bacterias intracelulares de los tumores de mama favorecen la metástasis mediante la supresión del estrés del citoesqueleto, por inhibición de la proteína ROCK, permitiendo así a las células tumorales sobrevivir a la fuerza de fluido a la que son sometidas cuando migran por el sistema circulatorio.

Conclusions:

1. Cancer is a non-transmissible disease in which the control of cell proliferation fails at several levels. The main cause is genetic damage induced by various agents, both intrinsic and extrinsic.
2. The incidence of cancer is still increasing and is expected to continue to do so in the coming years. Together with cardiovascular disease, cancer is the leading cause of death worldwide.

3. Breast cancer is the most common type of tumour, and it is often presented as a carcinoma. There are several subtypes, divided into hormone-dependent, ER+, PR+ and HER2+, and hormone-independent or TNBC. TNBC tumours are the most aggressive and have greater chance of spreading.
4. Microorganisms have emerged as an influential factor cancer evolution, which has changed the way we understand cancer and its treatment.
5. The gastrointestinal microbiota influences many physiological processes, maintaining its host homeostasis. Furthermore, the microbiota can influence the tumour initiation, development, and subsequent therapy.
6. Breast tissue has a specific beneficial microbiota for its host. Some of these bacteria colonise intracellular and specifically breast tumour cells.
7. Intracellular bacteria in breast tumours facilitate metastasis by suppressing cytoskeletal stress, through blockage of the ROCK protein, thus allowing tumour cells to survive the fluid forces present in the circulatory system as they migrate.

Bibliografía

- AECC. (2023, junio 20). *Dimensiones del cáncer*.
<https://observatorio.contraelcancer.es/explora/dimensiones-del-cancer>
- Alanna Collen. (2019). *10% Humanos* (1.^a ed.). RBA Libros.
- Alizadehmohajer, N., Shojaeifar, S., Nedaeinia, R., Esparvarinha, M., Mohammadi, F., Ferns, G. A., Ghayour-Mobarhan, M., Manian, M., & Balouchi, A. (2020). Association between the microbiota and women's cancers – Cause or consequences? En *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 127). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110203>
- An, J., Yang, J., Kwon, H., Lim, W., Kim, Y. K., & Moon, B. I. (2023). Prediction of breast cancer using blood microbiome and identification of foods for breast cancer prevention. *Scientific reports*, 13(1), 5110. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32227-x>
- Anisman, H., & Kusnecov, A. W. (2022a). Cancer biology and pathology. En *Cancer* (pp. 1-37). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91904-3.00004-5>
- Anisman, H., & Kusnecov, A. W. (2022b). Microbiota and health. En *Cancer* (pp. 69-92). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91904-3.00003-3>
- Anisman, H., & Kusnecov, A. W. (2022c). Microbiota in relation to cancer. En *Cancer* (pp. 279-309). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91904-3.00007-0>

- Banerjee, S., Wei, Z., Tian, T., Bose, D., Shih, N. N. C., Feldman, M. D., Khoury, T., De Michele, A., & Robertson, E. S. (2021). Prognostic correlations with the microbiome of breast cancer subtypes. *Cell Death and Disease*, 12(9). <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04092-x>
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., & Farahmand, L. (2020). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. En *International Immunopharmacology* (Vol. 84). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106535>
- Bay, L., & Ring, H. C. (2022). Human skin microbiota in health and disease: The cutaneous communities' interplay in equilibrium and dysbiosis. En *APMIS* (Vol. 130, Número 12, pp. 706-718). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/apm.13201>
- Bisoyi, P. (2022). A brief tour guide to cancer disease. En *Understanding Cancer: From Basics to Therapeutics* (pp. 1-20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99883-3.00006-8>
- Carlberg, C., & Velleuer, E. (2021). Introduction to Cancer. En *Cancer Biology: How Science Works* (pp. 1-16). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-75699-4_1
- Catania, L. J. (2022). Cancer. En *The Paradox of the Immune System* (pp. 151-180). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-95187-6.00004-2>
- Eslami-S, Z., Majidzadeh-A, K., Halvaei, S., Babapirali, F., & Esmaeili, R. (2020). Microbiome and Breast Cancer: New Role for an Ancient Population. En *Frontiers in Oncology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00120>
- Fernández, J. Á., Palacios Ozores, P., Cebey López, V., Mosquera, A. C., & López López, R. (2021). Cáncer de mama. En *Medicine* (Vol. 13, Número 27).
- Fu, A., Yao, B., Dong, T., Chen, Y., Yao, J., Liu, Y., Li, H., Bai, H., Liu, X., Zhang, Y., Wang, C., Guo, Y., Li, N., & Cai, S. (2022). Tumor-resident intracellular microbiota promotes metastatic colonization in breast cancer. *Cell*, 185(8), 1356-1372.e26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.02.027>
- Gnad, T., Feoktistova, M., Leverkus, M., Lendeckel, U., & Naumann, M. (2010). Helicobacter pylori-induced activation of β -catenin involves low density lipoprotein receptor-related protein 6 and Dishevelled. *Molecular Cancer*, 9. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-31>
- Gori, S., Inno, A., Belluomini, L., Bocus, P., Bisoffi, Z., Russo, A., & Arcaro, G. (2019). Gut microbiota and cancer: How gut microbiota modulates activity, efficacy and toxicity of antitumoral therapy. En *Critical Reviews in Oncology/Hematology* (Vol. 143, pp. 139-147). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.09.003>

- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. En *Cancer Discovery* (Vol. 12, Número 1, pp. 31-46). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer Review evolve progressively from normalcy via a series of pre. En *Cell* (Vol. 100).
- Hannah Ritchie, Fiona Spooner, & Max Roser. (2018). Causes of death. *Our World in Data*. <https://ourworldindata.org/causes-of-death>
- Hieken, T. J., Chen, J., Chen, B., Johnson, S., Hoskin, T. L., Degnim, A. C., Walther-Antonio, M. R., & Chia, N. (2022). The breast tissue microbiome, stroma, immune cells and breast cancer. *Neoplasia (United States)*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2022.100786>
- Janney, A., Powrie, F., & Mann, E. H. (2020). Host–microbiota maladaptation in colorectal cancer. En *Nature* (Vol. 585, Número 7826, pp. 509-517). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2729-3>
- Khan, M. Z. I., Tam, S. Y., & Law, H. K. W. (2022). Advances in High Throughput Proteomics Profiling in Establishing Potential Biomarkers for Gastrointestinal Cancer. En *Cells* (Vol. 11, Número 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells11060973>
- Kietzman, W., Riegel, A. T., & Ory, V. (2017). Early-Stage Progression of Breast Cancer. En *Breast Cancer - From Biology to Medicine*. InTech. <https://doi.org/10.5772/65633>
- Kovács, T., Mikó, E., Vida, A., Sebő, É., Toth, J., Csonka, T., Boratkó, A., Ujlaki, G., Lente, G., Kovács, P., Tóth, D., Árkosy, P., Kiss, B., Méhes, G., Goedert, J. J., & Bai, P. (2019). Cadaverine, a metabolite of the microbiome, reduces breast cancer aggressiveness through trace amino acid receptors. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37664-7>
- Kwa, M., Plottel, C. S., Blaser, M. J., & Adams, S. (2016). The intestinal microbiome and estrogen receptor-positive female breast cancer. En *Journal of the National Cancer Institute* (Vol. 108, Número 8). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw029>
- Li, J., Meng, Q. H., & Ramanathan, L. V. (2022). Overview of traditional and nontraditional tumor markers. En *Cancer Biomarkers: Clinical Aspects and Laboratory Determination* (pp. 1-29). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824302-2.00004-7>
- Livyatan, I., Nejman, D., Shental, N., & Straussman, R. (2020). Characterization of the human tumor microbiome reveals tumor-type specific intra-cellular bacteria. En *OncImmunity* (Vol. 9, Número 1). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2020.1800957>

- Luu, T. H., Michel, C., Bard, J. M., Dravet, F., Nazih, H., & Bobin-Dubigeon, C. (2017). Intestinal Proportion of *Blautia* sp. is Associated with Clinical Stage and Histoprognostic Grade in Patients with Early-Stage Breast Cancer. *Nutrition and Cancer*, 69(2), 267-275. <https://doi.org/10.1080/01635581.2017.1263750>
- Mangalam, A. K., & Ochoa-Repáraz, J. (2020). Editorial: The Role of the Gut Microbiota in Health and Inflammatory Diseases. En *Frontiers in Immunology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.565305>
- Matson, V., Chervin, C. S., & Gajewski, T. F. (2021). Cancer and the Microbiome—Influence of the Commensal Microbiota on Cancer, Immune Responses, and Immunotherapy. *Gastroenterology*, 160(2), 600-613. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.11.041>
- Mir, M. A., Aisha, S., & Mehraj, U. (2022). Triple-negative breast cancer - an aggressive subtype of breast cancer. En *Combinational Therapy in Triple Negative Breast Cancer* (pp. 1-28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-96136-3.00005-4>
- Mir, M. A., Aisha, S., & Sofi, S. (2022). Introduction to various types of cancers. En *Role of Tumor Microenvironment in Breast Cancer and Targeted Therapies* (pp. 1-29). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-18696-7.00010-5>
- Mir, M. A., Aisha, S., Sofi, S., & Rasheid, S. (2022). The tumor microenvironment. En *Role of Tumor Microenvironment in Breast Cancer and Targeted Therapies* (pp. 31-58). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-18696-7.00007-5>
- Nejman, D., Livyatan, I., Fuks, G., Gavert, N., Zwang, Y., Geller, L. T., Rotter-Maskowitz, A., Weiser, R., Mallel, G., Gigi, E., Meltser, A., Douglas, G. M., Kamer, I., Gopalakrishnan, V., Dadosh, T., Levin-Zaidman, S., Avnet, S., Atlan, T., Cooper, Z. A., ... Straussman, R. (2020). The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria. En *Einav Yehuda-Shnaidman* (Vol. 18).
- Parida, S., Wu, S., Siddharth, S., Wang, G., Muniraj, N., Nagalingam, A., Hum, C., Mistriotis, P., Hao, H., Conover Talbot, C., Konstantopoulos, K., Gabrielson, K. L., Sears, C. L., & Sharma, D. (2021). A procarcinogenic colon microbe promotes breast tumorigenesis and metastatic progression and concomitantly activates notch and b-catenin axes. *Cancer Discovery*, 11(5), 1138-1157. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0537>
- Patel, M., McAllister, M., Nagaraju, R., Badran, S. S. F. Al, Edwards, J., McBain, A. J., Barriuso, J., & Aziz, O. (2022). The intestinal microbiota in colorectal cancer metastasis – Passive observer or key player? En *Critical Reviews in Oncology/Hematology* (Vol. 180). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103856>
- Rodrigues, J., Heinrich, M. A., Teixeira, L. M., & Prakash, J. (2021). 3D In Vitro Model (R)evolution: Unveiling Tumor–Stroma Interactions. En *Trends in Cancer* (Vol. 7, Número 3, pp. 249-264). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.10.009>

- Sepich-Poore, G. D., Zitvogel, L., Straussman, R., Hasty, J., Wargo, J. A., & Knight, R. (2021). The microbiome and human cancer. En *Science* (Vol. 371, Número 6536). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.abc4552>
- Tannock, G. W. (2017). Prime Facts. En *Understanding the Gut Microbiota* (pp. 7-18). John Wiley & Sons, Incorporated. <https://ebookcentral-proquest-com.accedys2.bbt.ull.es/lib/bull-ebooks/detail.action?docID=4770936>.
- Tappia, P. S., & Ramjiawan, B. (2023). Biomarkers for Early Detection of Cancer: Molecular Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5272. <https://doi.org/10.3390/ijms24065272>
- Tzeng, A., Sangwan, N., Jia, M., Liu, C. C., Keslar, K. S., Downs-Kelly, E., Fairchild, R. L., Al-Hilli, Z., Grobmyer, S. R., & Eng, C. (2021). Human breast microbiome correlates with prognostic features and immunological signatures in breast cancer. *Genome Medicine*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00874-2>
- Urbaniak, C., Cummins, J., Brackstone, M., Macklaim, J. M., Gloor, G. B., Baban, C. K., Scott, L., O'Hanlon, D. M., Burton, J. P., Francis, K. P., Tangney, M., & Reida, G. (2014). Microbiota of human breast tissue. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 3007-3014. <https://doi.org/10.1128/AEM.00242-14>
- Xuan, C., Shamonki, J. M., Chung, A., DiNome, M. L., Chung, M., Sieling, P. A., & Lee, D. J. (2014). Microbial dysbiosis is associated with human breast cancer. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083744>