



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

**ITM**

**“LA FIRMA ESPECTRAL DEL CÁNCER DE  
MAMA EN EL RANGO UV – VISIBLE”**

OPCIÓN  
**TESIS PROFESIONAL**

PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE:  
**INGENIERO BIOMÉDICO**

PRESENTA:  
**IX BALLOTE JESÚS ADRIÁN**

MÉRIDA, YUCATÁN

2019





"2019 Año del Caudillo del Sur Emiliano Zapata"

**Anexo III**

**FORMATO DE LIBERACIÓN DEL PROYECTO PARA LA TITULACIÓN INTEGRAL**

Mérida; Yuc., **8 de Abril de 2019.**

**M.C. DARVIN PEREZ SOSA.**  
**JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES.**  
**PRESENTE**

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

a) Nombre del Estudiante	IX BALLOTE JESÚS ADRIÁN
b) Carrera	INGENIERÍA BIOMÉDICA
c) N° de Control	E14080948
d) Nombre del Proyecto	LA FIRMA ESPECTRAL DEL CÁNCER DE MAMA EN EL RANGO UV-VISIBLE
d) Producto	TESIS PROFESIONAL

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

**ATENTAMENTE**

Excelencia en Educación Tecnológica®

**ING. JOSÉ FIDEL RODRÍGUEZ HUERTA.**  
**ENCARGADO DEL DEPTO. DE ELÉCTRICA ELECTRÓNICA.**



<b>ASESOR</b> 	<b>REVISOR</b> 	<b>REVISOR</b> 
Doctor en Ciencias en la especialidad de Astrofísica Gustavo Alonso Martínez Escalante	Maestra en Tecnología Educativa María Margarita Álvarez Cervera	Maestro en Ciencias en Ingeniería Bioquímica Gabriela Noemi Moreno Novelo





## AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS



Un proyecto de investigación no se puede hacer solo, y este en particular me ha dejado grandes enseñanzas tanto profesionales como personales. Por todo esto y por mucho más les dedico unas palabras a quienes me ayudaron a cumplir esta meta tan importante.

A mis asesores:

Al Dr. Gustavo Alonso Martínez Escalante por haber confiado en mis capacidades para poder recomendarme al INAOE, estar pendiente del proceso hasta que era oficialmente residente en ese instituto y por darle continuidad al proyecto siendo mi asesor interno. Sin duda no estaría en donde estoy ahora sino fuese por usted.

Al Dr. Edgar Castillo Domínguez por aceptarme como residente, por todo el tiempo invertido en esas videollamadas y almuerzos explicando pacientemente algunos procedimientos, así como despejando las dudas que iba teniendo a pesar de la diferencia horaria. Por ser uno de mis asesores externos y enseñarme tanto en tan poco tiempo.

A la Dra. Paola Maycotte González por toda la amabilidad brindada a lo largo de todo el proyecto explicando con paciencia cada procedimiento y volver a explicarlo si no lo entendía, el haber estado pendiente de todos los avances dedicando parte de su tiempo no solo para dar consejos del cómo mejorar el proyecto sino también por las clases de cáncer explicando a detalle todo lo necesario para mi proyecto y muchas cosas más.

A la M.T.E. Margarita Álvarez Cervera y a la M.C. Gabriela Moreno Novelo por brindar parte de su tiempo a la revisión del documento.

A todos mis compañeros del laboratorio de Biología Celular II y Biotecnología por todos los consejos, asesoría en los procedimientos y apoyo técnico durante toda mi estancia.

También me gustaría agradecer al Instituto Tecnológico de Mérida por la oportunidad que dan a los estudiantes de realizar la residencia profesional fuera de Mérida. Al Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE) por recibir alumnos de otras áreas. Y al Centro de Investigación Biomédica de Oriente por los espacios y equipos brindados para realizar el proyecto, en especial al laboratorio de Biología Celular II.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

Después de cuatro años de estar en un salón de clases y medio año de realiza el proyecto que a continuación se presenta, hoy es el día en el que puedo agradecer a algunos de los que han formado parte de este camino.

A mis padres Ligia y Luis, quienes me han apoyado a lo largo de todos estos años y a pesar de haberme ido a medio país de distancia, por sus sabios consejos, dedicación y amor. Por estar siempre que los necesito y ser mi punto de apoyo de todo lo que he logrado.

A mis hermanos Mercy y Tony, por su apoyo incondicional y comprensión durante mi desarrollo profesional haciendo que siempre quiera ir más allá, esforzarme más.

A todos aquellos profesores que han marcado un antes y un después a lo largo, no solo de la licenciatura, sino de toda mi vida compartiendo un poco de todo su conocimiento. En especial al Ing. Jesús (Chuy) Aguilar Aréchiga, gracias a su pasión tan contagiosa por las matemáticas es que he llegado a una ingeniería.

A mis compañeros del planetario de Cozumel, en donde reavivé mi gusto por la astronomía y a mis compañeros de la Sociedad Astronómica UADY a quienes también agradezco tantas aventuras juntos. Siendo estos dos grupos, en donde considero dio inicio mi gusto por esta línea de investigación, más específicamente a lo que yo llamo: la unión de dos mundos. En donde pude unir mi gusto por la astronomía con la ingeniería biomédica.

Agradezco nuevamente a mis asesores la Dra. Paola Maycotte, el Dr. Gustavo Martínez y el Dr. Edgar Castillo porque no solo me enseñaron académicamente, sino también compartieron grandes momentos personales conmigo.

Finalmente agradezco a mis compañeros de laboratorio por su gran amistad brindada en todo este tiempo, los nombro en orden alfabético: Alam Delgado, Alín García, Arely Rosas, Guadalupe Rojas, Israel Cotzomi, José Benito, Lily Sarmiento y Rosario Sánchez.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1 EL CÁNCER DE MAMA .....	11
2.2 MÉTODOS ACTUALES PARA LA DETECCIÓN DEL CÁNCER DE MAMA .....	26
2.3 MÉTODOS EMERGENTES PARA LA DETECCIÓN DE CÁNCER DE MAMA.....	38
3. JUSTIFICACIÓN .....	44
4. HIPÓTESIS.....	45
5. OBJETIVOS.....	45
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	45
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
6. METODOLOGÍA.....	46
CARACTERIZACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO.....	46
CULTIVO DE LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA.....	47
ESTIMACIÓN DE LA CONFLUENCIA CELULAR ANTES DE LA LECTURA ESPECTRAL.....	48
LECTURA DEL ESPECTRO DE LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA.....	49
PROCESAMIENTO COMPUTACIONAL DE LAS SEÑALES ESPECTRALES.....	50
ANÁLISIS DE LAS DIFERENCIAS ESPECTRALES DE LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA SEGÚN SUS CARACTERÍSTICAS DE MALIGNIDAD .....	58
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	61
7.1. CARACTERIZACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO.....	61
7.2. ELABORACIÓN DE UN PROGRAMA INFORMÁTICO QUE PERMITA ANALIZAR LAS MEDICIONES ESPECTRALES DE LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA.....	64
7.3. LECTURA DEL ESPECTRO DE LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA.....	68
7.4. ANÁLISIS DE LAS DIFERENCIAS ESPECTRALES DE LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA SEGÚN SUS CARACTERÍSTICAS DE MALIGNIDAD.....	70
8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	81
8.1. CONCLUSIONES.....	81
8.2. PERSPECTIVAS.....	81
9. ANEXOS.....	82
9.1 ANEXO 1: REACTIVOS .....	82
9.2 ANEXO 2: MEDIOS DE CULTIVOS.....	83
10. REFERENCIAS.....	85

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ANATOMÍA DE LA MAMA FEMENINA.....	11
FIGURA 2. CÉLULAS DE LOS CONDUCTOS Y LÓBULOS DE LA MAMA. ....	12
FIGURA 3. CARACTERÍSTICAS ESPECIALES DEL EPITELIO.....	13
FIGURA 4. HISTORIA NATURAL DEL CÁNCER DUCTAL DE MAMA. ....	14
FIGURA 5. CLASIFICACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL CÁNCER DE MAMA. ....	20
FIGURA 6. SEIS PASOS DE LA AUTOEXPLORACIÓN MAMARIA. ....	23
FIGURA 7. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UN MASTÓGRAFO. ....	27
FIGURA 8. ESQUEMA DE FUNCIONAMIENTO DE UN TRANSDUCTOR DE ULTRASONIDO.....	29
FIGURA 9. ESQUEMA DE FUNCIONAMIENTO DE UN TOMÓGRAFO DE ANILLO COMPLETO.....	30
FIGURA 10. RESUMEN DE LA FÍSICA SUBYACENTE A LA TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES (PET). ....	32
FIGURA 11. EVENTO DE VERDADERA COINCIDENCIA PARA UN SISTEMA PET DE ANILLO COMPLETO. ....	33
FIGURA 12. ÁTOMOS DE HIDRÓGENO EN LA RESONANCIA MAGNÉTICA. ....	35
FIGURA 13. PRECESIÓN DE LOS ÁTOMOS DE HIDRÓGENO.....	35
FIGURA 14. ARREGLO DE ELECTRODOS EMPLEADO EN LA DETECCIÓN DE BIOPOTENCIALES. ....	42
FIGURA 15. DISTRIBUCIÓN DE LAS LÍNEAS CELULARES Y SUS RESPECTIVOS MEDIOS DE CULTIVO EN UNA PLACA DE CULTIVO DE 12 POZOS.....	47
FIGURA 16. PROGRAMA "CARACTERIZACIÓN": PARTE 1.....	50
FIGURA 17. PROGRAMA "CARACTERIZACIÓN": PARTE 2.....	51
FIGURA 18. PROGRAMA "CARACTERIZACIÓN": PARTE 3.....	51
FIGURA 19. PROGRAMA "CARACTERIZACIÓN": PARTE 4.....	52
FIGURA 20. PROGRAMA "CARACTERIZACIÓN": PARTE 5.....	52
FIGURA 21. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 1.....	53
FIGURA 22. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 2.....	53
FIGURA 23. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 3.....	54
FIGURA 24. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 4.....	54
FIGURA 25. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 5.....	55
FIGURA 26. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 6.....	55
FIGURA 27. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 7.....	56
FIGURA 28. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 8.....	56
FIGURA 29. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 9.....	57
FIGURA 30. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 10.....	57
FIGURA 31. PROGRAMA "BREASTCANCER": PARTE 11.....	57
FIGURA 32. EJEMPLO DE ANÁLISIS POR LONGITUD DE ONDA: PARTE 1.....	58
FIGURA 33. EJEMPLO DE ANÁLISIS POR LONGITUD DE ONDA: PARTE 2.....	58
FIGURA 34. EJEMPLO DE INTRODUCCIÓN DE VALORES AL SOFTWARE DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	60
FIGURA 35. EJEMPLO DE RESULTADOS DE LA PRUEBA ESTADÍSTICA ANOVA DE UNA VÍA.....	60

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. DESIGNACIONES DEL TUMOR PRIMARIO (T).....	16
TABLA 2. DESIGNACIONES CLÍNICAS DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES (N). ....	17
TABLA 3. DESIGNACIONES DE METÁSTASIS A DISTANCIA (M). ....	18
TABLA 4. ETAPAS ANATÓMICAS/GRUPOS PRONÓSTICO DEL CÁNCER DE MAMA. ....	18
TABLA 5. FACTORES DE RIESGO ESTABLECIDOS Y PROBABLES PARA EL CÁNCER DE MAMA.....	22
TABLA 6. COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE DIFERENTES TÉCNICAS DE DETECCIÓN DEL CÁNCER DE MAMA.....	37
TABLA 7. MEDICIONES DE CARACTERIZACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO. ....	46
TABLA 8. MEDIOS DE CULTIVO RESPECTO A CADA LÍNEA CELULAR. ....	47
TABLA 9. NÚMERO DE CÉLULAS SEMBRADAS POR LÍNEA CELULAR. ....	48
TABLA 10. NÚMERO TOTAL DE MEDICIONES ESPECTRALES POR LÍNEA CELULAR.....	49
TABLA 11. NÚMERO TOTAL DE MEDICIONES ESPECTRALES POR MEDIO DE CULTIVO.....	50

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1. CURVAS DE CALIBRACIÓN. ....	63
GRÁFICA 2. COMPARACIÓN ENTRE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN. ....	68
GRÁFICA 3. COMPARACIÓN ENTRE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO. ....	69
GRÁFICA 4. COMPARACIÓN ENTRE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE ORIGEN MURINO Y HUMANO. ....	69
GRÁFICA 5. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 290 NM. ....	72
GRÁFICA 6. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 340 NM. ....	73
GRÁFICA 7. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 375 NM. ....	74
GRÁFICA 8. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 404 NM. ....	74
GRÁFICA 9. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 445 NM. ....	75
GRÁFICA 10. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 450 NM. ....	75
GRÁFICA 11. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE HUMANO A 568 NM. ....	76
GRÁFICA 12. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 290 NM.....	77
GRÁFICA 13. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 340 NM.....	77
GRÁFICA 14. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 375 NM.....	78
GRÁFICA 15. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 404 NM.....	79
GRÁFICA 16. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 445 NM.....	79
GRÁFICA 17. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 450 NM.....	80
GRÁFICA 18. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN A 568 NM.....	80

## Introducción

El cáncer es, en realidad, un conjunto de enfermedades causada por daños en el ADN o la información genética de las células. Esta enfermedad puede iniciar en casi cualquier parte del cuerpo, el cual está formado por trillones de células [1].

En la célula se llevan a cabo innumerables procesos intra e intercelulares, algunos de los cuales están involucrados en el mantenimiento de la viabilidad celular. Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita, cuando estas células normales envejecen o se dañan, mueren, y células nuevas las reemplazan [1].

No obstante, la pérdida o alteración en la señalización que le permite a la célula conocer su estado de homeostasis puede desencadenar la disminución de procesos de vital importancia [1], llegando a causar un descontrol en la proliferación celular, evadiendo supresores de crecimiento, resistiendo la muerte celular, adquiriendo inmunidad replicativa e induciendo la angiogénesis, siendo éstas algunas de las principales características del cáncer [2]. Por tanto, el proceso de regulación homeostática celular se anula, dando lugar a células cada vez más anormales, causando que las células viejas o dañadas que deberían morir sobrevivan y provocando que se formen nuevas células cuando éstas no son necesarias. Los procesos anteriormente mencionados dan inicio a la transformación celular que precede al cáncer. Las células transformadas pueden dividirse indefinidamente, llegando a generar masas celulares, las cuales se denominan tumores [1].

Derivado de la importancia de una detección temprana de esta enfermedad para obtener un tratamiento oportuno, así como de la creciente población femenina con diagnóstico de cáncer de mama [3], surge la necesidad del desarrollo de métodos de detección más sensibles. Valiéndose de lo anterior, la física atómica y nuclear jugaron un papel importante durante el siglo XX, desarrollando múltiples instrumentos con el fin de obtener un diagnóstico médico apropiado con los mínimos riesgos posibles [4]. La mayoría de estas técnicas se han desarrollado independiente del uso que se les pueda dar; sin embargo, han resultado ser beneficiosas para alcanzar dicho objetivo [4], [5] y [6].

Dentro de este vasto campo de investigación de la física aplicada a la medicina, también llamada física médica [7], destaca por sus alcances y relevancia los métodos de radiodiagnóstico, recayendo la utilidad de sus imágenes en el hecho de que éstas representan diferentes propiedades de los tejidos, ya sea por la concentración de sustancias radiactivas (medicina nuclear), o bien, por su poder de atenuación (rayos X) [8].

Entre las técnicas desarrolladas hasta la fecha, destacan los métodos de detección modernos, los cuales van desde la mastografía (rayos x) hasta la resonancia magnética, pasando por el ultrasonido y el examen clínico [9], y algunos más se encuentran en vías de desarrollo [10]. Estos estudios solamente funcionan para aportar información básica del cáncer, estando destinados únicamente a sugerir la presencia de una masa anormal en el tejido, su tamaño y características generales. A pesar de ello, no van más allá de una detección simple sin categorización alguna que sugiera el tratamiento a seguir, el tipo de tumor detectado o su grado de malignidad.

En este sentido, este proyecto se enfoca en la caracterización físico-biológica de líneas celulares de cáncer de mama *in vitro*, con la finalidad de detectar algunas de las macromoléculas potencialmente presentes en ellas, así como evaluar la posibilidad de diferenciar entre el subtipo de cáncer al que pertenece y/o su grado de malignidad en el rango electromagnético comprendido entre los 280 nm – 700 nm. Los resultados de este proyecto permitirán en un futuro, contribuir, mediante el desarrollo de nuevos instrumentos, a satisfacer las demandas de los sistemas de salud, tanto públicos como privados, en el ámbito de la oncología mamaria.

Este proyecto se llevó a cabo mediante una colaboración entre el Centro de Investigación Biomédica de Oriente (CIBIOR), perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE) y el Instituto Tecnológico de Mérida.

# 1. Marco teórico

## 2.1 El cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad en la que se desarrollan células malignas en los tejidos de este órgano. La mama se compone de lóbulos y lobulillos conectados mediante conductos, y esta enfermedad afecta a una o ambas, de las estructuras mencionadas [3]. La glándula mamaria contiene 15 – 25 conductos lactíferos localizados en el pezón. Éstos se ramifican en ductos más pequeños y finalizan en la unidad lobular ductal terminal (lóbulo), que está compuesta por un ducto terminal y varios pequeños ductulos (o acinos) [11] (Figura 1).

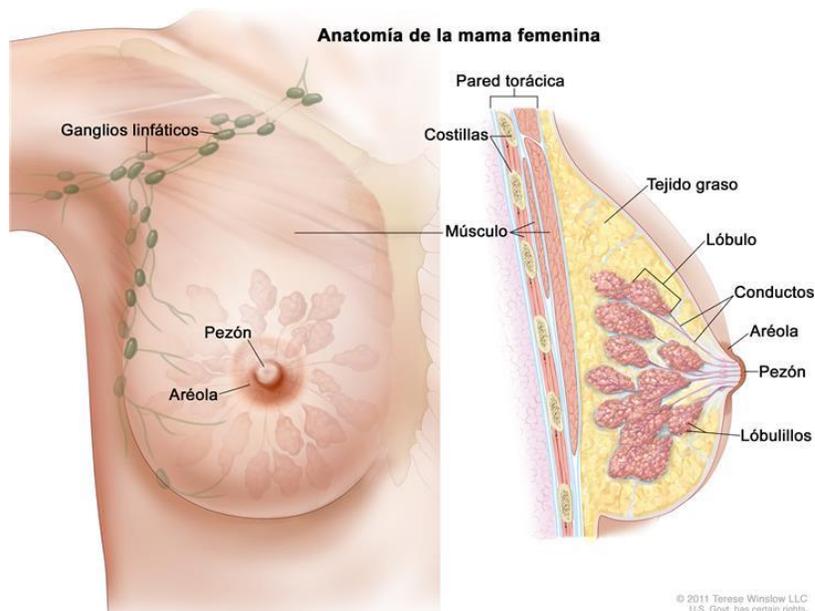
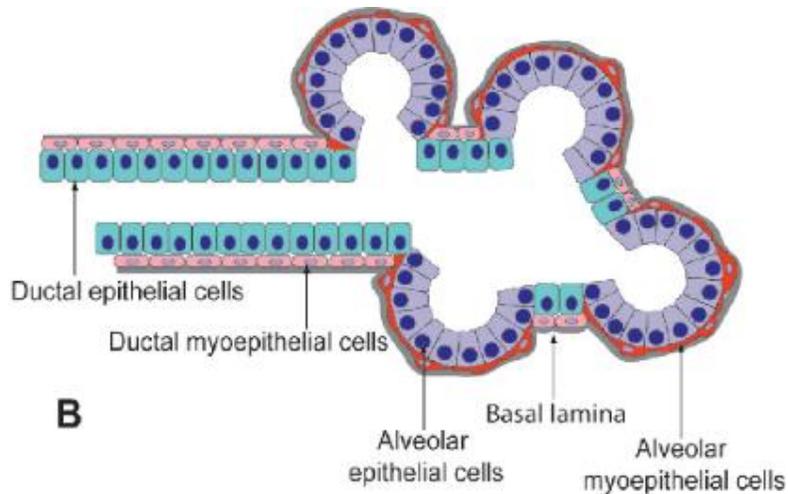


Figura 1. Anatomía de la mama femenina. Este órgano se encuentra conformado por conductos lactíferos que terminan en lóbulos.

Tomado de:

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/mama>

A su vez, los lóbulos y conductos están conformados de tejido epitelial dividido en dos capas de células: una capa de células luminales, que es responsable de la síntesis y la secreción de los componentes de la leche, y una capa de células mioepiteliales [12], como se presenta en la Figura 2.



*Figura 2. Células de los conductos y lóbulos de la mama. Una capa de células epiteliales recubre los ductos y lóbulos de la glándula mamaria.*

*Modificado de: [12].*

## **Tejido epitelial**

El epitelio es el tejido configurado por una o varias capas de células estrechamente unidas entre sí, formando láminas muy compactas, las cuales recubren todas las superficies expuestas del organismo; asimismo constituyen el revestimiento interno de las cavidades, órganos, conductos del cuerpo y la piel [13]. Los tejidos epiteliales normales están estructurados de manera similar: debajo de las capas de células epiteliales en cada uno de estos tejidos se encuentra una membrana basal (también llamada lámina basal); la cual separa las células epiteliales de la capa subyacente de las células de tejido conectivo de soporte, denominada estroma [14] (Figura 3).

Los epitelios son de especial interés debido a que engendran los cánceres humanos más comunes: los carcinomas. Entre los carcinomas se incluyen los tumores que surgen de las capas de células epiteliales, como es el caso del cáncer de mama o carcinoma mamario [14]. A su vez, los carcinomas se dividen en dos grupos: los carcinomas de células escamosas, los cuales surgen de las células epiteliales que forman capas para sellar alguna cavidad o el canal que alinean y para proteger las poblaciones de células subyacentes, y los adenocarcinomas, que son tumores provenientes de células especializadas que secretan sustancias en conductos o cavidades que recubren. El cáncer de mama pertenece al segundo grupo [14].

## Special Characteristics of Epithelia

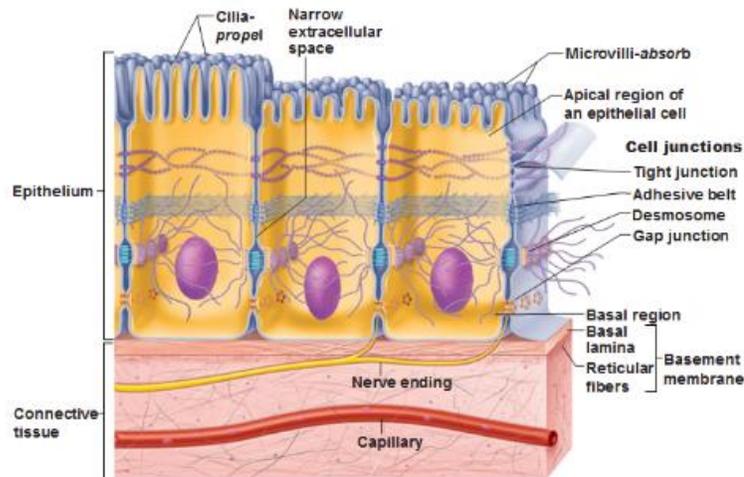


Figura 3. Características especiales del epitelio. El tejido epitelial cubre una superficie corporal o recubre una cavidad corporal y está presente en casi todas las glándulas.

Tomado de: <https://antranik.org/basics-of-epithelial-tissue/>

## Historia natural del cáncer de mama

El cáncer se debe a fallas en los mecanismos que controlan el crecimiento y la proliferación celular. Durante el desarrollo normal y a través de la vida adulta, intrincados sistemas de control genéticos regulan el balance entre el nacimiento y la muerte celular en respuesta a señales de crecimiento, de inhibición del crecimiento y de muerte [15].

La historia natural del cáncer de mama implica la progresión de esta enfermedad durante largos periodos a partir de ciertas lesiones benignas preexistentes, comenzando con una hiperproliferación en alguno de los ductos mamarios, con una evolución posterior a carcinomas *in situ* e invasivos, y finalmente a una enfermedad metastásica, como se presenta en la Figura 4 [16] - [17]. La progresión del carcinoma mamario se ha visto como un proceso de varios pasos, abarcando cambios progresivos que parten del tejido epitelial normal seguido de una hiperplasia sin atipia, es decir, una presencia alta de células normales [18] - [19].

Después, se encuentran las llamadas lesiones premalignas: hiperplasia ductal atípica (ADH), hiperplasia lobular atípica (ALH), carcinoma ductal *in situ* (DCIS) y carcinoma lobular *in situ* (LCIS) [17].

Se denomina hiperplasia atípica a la alta presencia de células y que, además, comienzan a adquirir un aspecto anormal (atípico). Por otro lado, el carcinoma *in situ*, indica la presencia de demasiadas células que presentan características cancerosas, pero todavía se encuentran confinadas al interior del conducto [19].

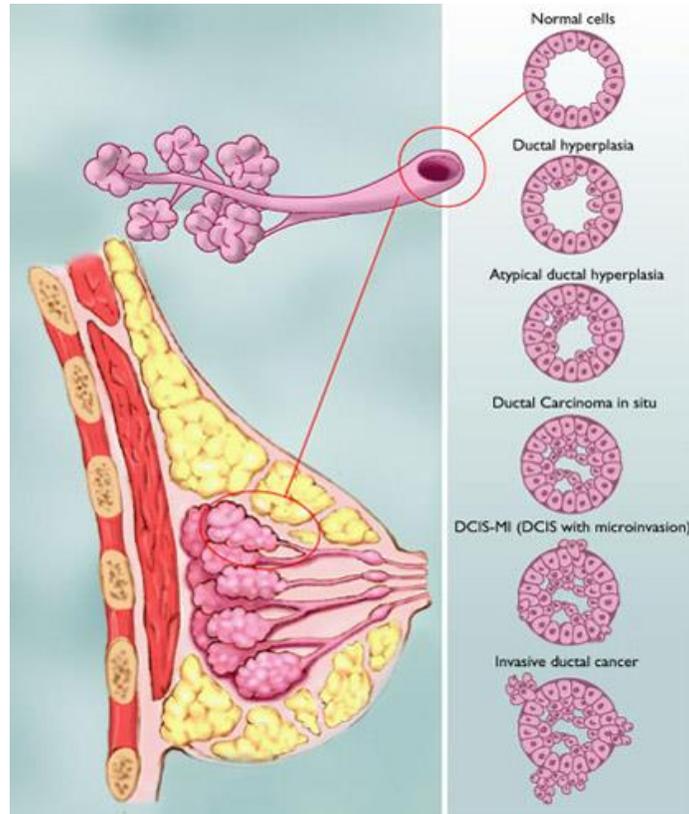


Figura 4. Historia natural del cáncer ductal de mama. El carcinoma mamario se desarrolla a través de diversos pasos subsecuente que van de una alta presencia de células normales, las cuales van adquiriendo un aspecto atípico dentro del conducto mamario, hasta salir de este para invadir y hacer metástasis.

Tomado de:

<https://www.breastcancer.org/es/sintomas/tipos/cdis/diagnostico>

En los carcinomas *in situ*, las células mioepiteliales están alteradas de manera epigenética y fenotípica, por lo cual su número disminuye potencialmente debido a la degradación de la membrana basal. Al mismo tiempo, aumenta el número de fibroblastos estromales, miofibroblastos, linfocitos y células endoteliales [16].

Existen muchos tipos de lesiones benignas en el seno humano y sólo unas pocas parecen tener un potencial premaligno significativo. Sin embargo, todas estas lesiones poseen algunas propiedades malignas, como una pérdida relativa del control del crecimiento, pero carecen de la capacidad de invadir y hacer metástasis y, en este sentido, son denominadas premalignas [17].

No obstante, la pérdida de células mioepiteliales y de la membrana basal da como resultado carcinomas invasivos, en los que las células tumorales pueden invadir los tejidos circundantes y pueden migrar a órganos distantes, lo que finalmente conduce a metástasis [16].

## **Estadificación**

La extensión o la etapa del cáncer en el momento del diagnóstico es un factor clave que define el pronóstico y es un elemento crítico para determinar el tratamiento adecuado en función de la experiencia y los resultados de grupos de pacientes anteriores con una etapa similar [20].

Además, es necesario realizar una estadificación precisa para evaluar los resultados de los tratamientos y los ensayos clínicos, facilitar el intercambio de información entre los centros de tratamiento y servir de base para la investigación clínica traslacional del cáncer. A nivel nacional e internacional, el acuerdo sobre la clasificación de los casos de cáncer proporciona un método para transmitir claramente la experiencia clínica a otros sin ambigüedad [20].

Existen diversos sistemas de estadificación para llevar a cabo dicha tarea, sin embargo el más útil clínicamente es el sistema de metástasis del nodo tumoral (TNM) mantenido en colaboración por el American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la Unión Internacional para el Control del Cáncer (UICC) [20]. El sistema TNM clasifica los cánceres por el tamaño y la extensión del tumor primario (T), la afectación de los ganglios linfáticos regionales (N) y la presencia o ausencia de metástasis a distancia (M), complementados en los últimos años por factores de pronóstico no anatómicos cuidadosamente seleccionados [20]. Para fines prácticos, en esta tesis solamente se presentarán los pronósticos anatómicos.

Con respecto a la determinación del tamaño original de un tumor primario (T), se puede medir en función de los hallazgos clínicos (exploración física y modalidades de imagen como mastografía, ecografía y resonancia magnética) y hallazgos patológicos (mediciones generales y microscópicas) [20].

El tamaño del tumor debe ser medido al más cercano milímetro. Si el tamaño del tumor es ligeramente menor o mayor que un valor de corte para una clasificación T dada se recomienda que el tamaño se redondee a la lectura milimétrica más cercana al valor de corte (Tablas 1-3) [20]. Una vez definida cada designación (T, N y M) con sus respectivas categorías, este sistema clasifica y agrupa según las características clínicas y patológicas del tumor, como se presenta en la Tabla 4 [20].

**Tabla 1. Designaciones del tumor primario (T). [20]**

<b>Categoría</b>	<b>Significado</b>
<b>TX</b>	Tumor primario no puede ser evaluado.
<b>T0</b>	No hay evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	Carcinoma <i>in situ</i> .
<b>Tis (DCIS)</b>	Carcinoma ductal <i>in situ</i> .
<b>Tis (LCIS)</b>	Carcinoma lobular <i>in situ</i> .
<b>Tis (Paget's)</b>	Enfermedad de Paget del pezón.
<b>T1</b>	Tumor $\leq 20$ mm en su mayor dimensión.
<b>T1mi</b>	Tumor $\leq 1$ mm en su mayor dimensión.
<b>T1a</b>	Tumor $> 1$ mm pero $\leq 5$ mm en su mayor dimensión.
<b>T1b</b>	Tumor $> 5$ mm pero $\leq 10$ mm en su mayor dimensión.
<b>T1c</b>	Tumor $> 10$ mm pero $\leq 20$ mm en su mayor dimensión.
<b>T2</b>	Tumor $> 20$ mm pero $\leq 50$ mm en su mayor dimensión.
<b>T3</b>	Tumor $> 50$ mm en su mayor dimensión.
<b>T4</b>	Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica y/o a la piel (ulceración o nódulos cutáneos).
<b>Nota: La invasión de la dermis sola no califica como T4.</b>	
<b>T4a</b>	Extensión a la pared torácica, sin incluir solo la adherencia/invasión del músculo pectoral.
<b>T4b</b>	Ulceración y/o nódulos satélites ipsilaterales y/o edema (incluido el peau d'orange) de la piel.
<b>T4c</b>	T4a y T4b.
<b>T4d</b>	Carcinoma inflamatorio.

**Tabla 2. Designaciones clínicas de los ganglios linfáticos regionales (N). [20]**

<b>Categoría</b>	<b>Significado</b>
<b>NX</b>	Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados.
<b>N0</b>	No hay metástasis en los ganglios linfáticos regionales.
<b>N1</b>	Metástasis a nivel ipsilateral móvil I, II ganglio(s) linfático(s) axilar(es).
<b>N2</b>	Metástasis en los ganglios linfáticos ipsilaterales del nivel I, II que están clínicamente fijos o enmarañados; o en ganglios mamaros internos ipsilaterales detectados clínicamente en ausencia de metástasis de ganglios linfáticos axilares clínicamente evidentes.
<b>N2a</b>	Metástasis en los nódulos linfáticos ipsilaterales nivel I, II fijados entre sí (enmarañados) o en otras estructuras.
<b>N2b</b>	Metástasis solo en ganglios mamaros internos ipsilaterales detectados clínicamente y en ausencia de metástasis en ganglios linfáticos axilares de nivel I, II clínicamente evidentes
<b>N3</b>	Metástasis en los ganglios linfáticos infraclaviculares (axilares de nivel III) ipsilaterales con o sin afectación ganglionar axilar de nivel I, II; o en ganglios linfáticos mamaros internos ipsilaterales clínicamente detectados con metástasis en ganglios linfáticos axilares de nivel I, II clínicamente evidentes; o metástasis en los ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales con o sin afectación de los ganglios linfáticos mamaros internos o axilares.
<b>N3a</b>	Metástasis en los ganglios linfáticos infraclaviculares ipsilaterales.
<b>N3b</b>	Metástasis en los ganglios linfáticos mamaros internos ipsilaterales y ganglios linfáticos axilares.
<b>N3c</b>	Metástasis en los ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.

**Tabla 3. Designaciones de metástasis a distancia (M). [20]**

<b>Categoría</b>	<b>Significado</b>
<b>M0</b>	No hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis a distancia.
<b>cM0(i+)</b>	No hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis a distancia, pero depósitos de células tumorales son detectados molecular o microscópicamente en sangre circulante, médula ósea u otro tejido nodal no regional que no sea mayor de 0.2 mm en un paciente sin síntomas o signos de metástasis.
<b>M1</b>	Metástasis detectables distantes según lo determinado por los medios clínicos y radiográficos clásicos y/o histológicamente comprobado más de 0.2 mm.

**Tabla 4. Etapas anatómicas/grupos pronóstico del cáncer de mama. [20]**

<b>Etapa</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1*	N0	M0
<b>IB</b>	T0	N1mi**	M0
	T1*	N1mi**	M0
<b>IIA</b>	T0	N1***	M0
	T1*	N1***	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
<b>IIIB</b>	Cualquier T	N3	M0
<b>IV</b>	Cualquier T	Cualquier N	M1

\*T1 incluye T1mi [20].

\*\*N1mi forma parte de la clasificación patológica de N (no se muestra en este documento). Denota micrometástasis (mayores de 0.2 mm y/o más de 200 células, pero ninguna mayor de 2.0 mm) [20].

\*\*\* Los tumores T0 y T1 con micrometástasis nodales solo se excluyen de la Etapa IIA y se clasifican en la Etapa IB [20].

## **Clasificación inmunohistoquímica**

A pesar del perfil clínico, histopatológico o por estadio semejante, los tumores pueden tener marcadas diferencias entre las respuestas (clínica y pronóstica del carcinoma) que se cree que son debidas a factores moleculares. Los avances en las técnicas biológicas moleculares han permitido la clasificación molecular simplificada del cáncer de mama con un panel de biomarcadores por inmunohistoquímica (IHQ) [21].

El perfil inmunohistoquímico del cáncer de mama depende de si expresan (+) o no expresan (-) los biomarcadores por IHQ más conocidos para su clasificación, como el receptor de estrógeno (RE), el receptor de progesterona (RP) y el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2), de esta manera es posible agruparlos, como se presenta en la Figura 5. Los primeros dos biomarcadores (RE y RP) provienen de un grupo más general denominado receptores hormonales (RH) [21].

Cabe destacar que el subtipo Luminal B se divide, a su vez, en dos grupos que toman en cuenta la presencia del HER2 [22]:

- Luminal B con HER2- (RE+/RP- o bajo con HER2-).
- Luminal B con HER2+ (RE+/cualquier RP con HER2+).

De esta forma quedan conformados los cinco subtipos del cáncer de mama presentados en [21], [22] y [23]: (1) Luminal A, (2) Luminal B/HER2-, (3) Luminal B/HER2+, (4) HER2+ y (5) Triple Negativo (TN). Este último subtipo, el TN, tiene como característica primordial la falta de expresión de los tres receptores mencionados, de ahí su nombre [21].

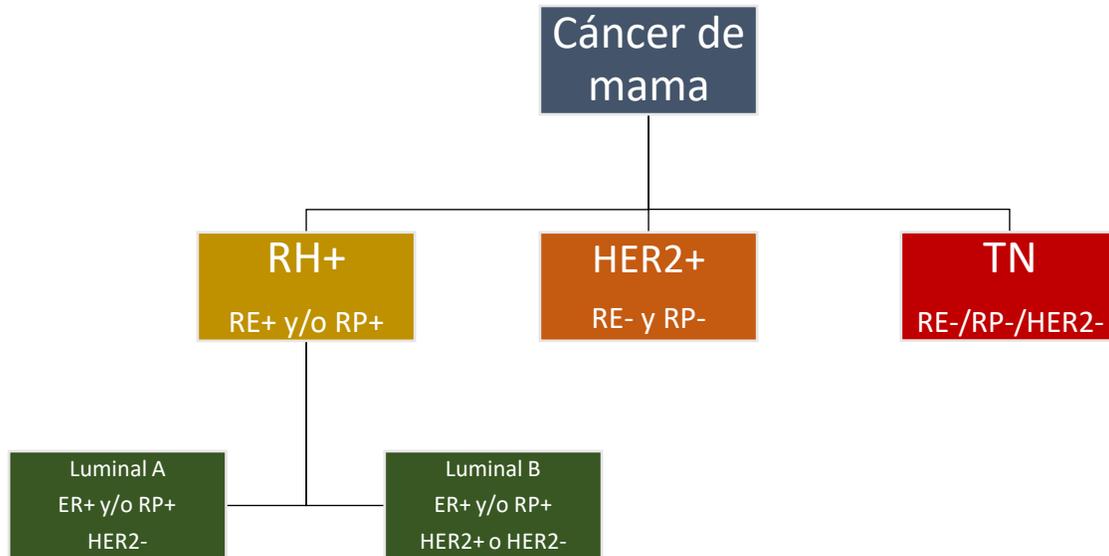


Figura 5. Clasificación inmunohistoquímica del cáncer de mama. El perfil inmunohistoquímico del cáncer de mama se compone de cinco subtipos, los cuales dependen de la presencia (+) o ausencia (-) de biomarcadores como el receptor a estrógenos (RE), el receptor de progesterona (RP) y el factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2).

Tomado de: [21], [22] y [23].

## Factores de riesgo

El factor de riesgo más importante para sufrir de carcinoma de mama es ser mujer, la relación de cáncer de mama entre hombres y mujeres es aproximadamente de 100 a 1 [3]. Además, se sabe que la incidencia de esta enfermedad se incrementa con la edad, duplicándose aproximadamente cada 10 años hasta la menopausia [24].

En la misma línea, el carcinoma de mama en mujeres mexicanas ocurre, en el 45.5% de los casos, antes de los 50 años, siendo el grupo de edad más frecuentemente afectado el comprendido entre los 40 – 49 años. Esto contrasta con las mujeres de los EE. UU., en donde la edad media a la que se presenta el cáncer de mama es de 63 años, así como con las mujeres de los países de Europa occidental, donde tres cuartas partes de los casos se presentan en mujeres posmenopáusicas [25].

El cáncer de mama se asocia con el estado hormonal, y la evidencia disponible indica que el periodo de exposición a estrógenos es un factor crítico de la carcinogénesis en mama [3]. Las mujeres que comienzan a menstruar a edades tempranas o que tienen una menopausia tardía, tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama [24].

De esta manera, y como se indica en la Tabla 5, una menarca temprana, una menopausia tardía, la nuliparidad y una edad avanzada al momento del primer embarazo, aumentan la probabilidad de desarrollar cáncer de mama durante toda la vida [24]. No obstante, en [26] se señala que el primer embarazo y la lactancia antes de los 25 años induce la diferenciación terminal de las células mamarias y tiene un efecto protector contra el cáncer.

Además, la incidencia ajustada por edad y la mortalidad por cáncer de mama varían hasta en un factor de cinco entre diversos países. La diferencia entre el Lejano Oriente y otros países occidentales está disminuyendo, pero todavía es cinco veces mayor. Los estudios de migrantes de Japón a Hawái muestran que las tasas de cáncer de mama en los migrantes asumen la tasa del país anfitrión después de una o dos generaciones, lo que indica que los factores ambientales tienen una mayor importancia que los factores genéticos [24].

A pesar de ser una enfermedad que daña la información genética de las células, el cáncer de mama sólo presenta evidencia de historia familiar en el 15% de los casos [1], [3]. Además de la historia familiar, las mutaciones genéticas BRCA1 y BRCA2 (en aproximadamente una de cada mil mujeres), polimorfismos genéticos asociados a la síntesis de estrógenos y su metabolismo, son factores que determinan la prevalencia de cáncer mamario en una población [3]. De esta manera, el riesgo para la mujer con antecedentes familiares en primera línea (madre, hermana, hija) es 2 – 3 veces mayor que en la población sin antecedentes familiares [3].

Asimismo, las mujeres con hiperplasia epitelial atípica grave tienen un riesgo de cuatro a cinco veces mayor de desarrollar cáncer mamario que las mujeres que no muestran cambios proliferativos en su mama. Si las mujeres presentan este cambio proliferativo de su seno y además tienen antecedentes familiares de cáncer de mama en primera línea, su riesgo se incrementa nueve veces [24].

**Tabla 5. Factores de riesgo establecidos y probables para el cáncer de mama. [24]**

<b>Factor</b>	<b>Riesgo relativo</b>	<b>Grupo de alto riesgo</b>
<b>Edad</b>	>10	Mayores edades
<b>Localización geográfica</b>	5	Países desarrollados
<b>Edad de la menarca</b>	3	Menarca antes de los 11 años
<b>Edad de la menopausia</b>	2	Menopausia después de los 54 años
<b>Edad del primer embarazo a término</b>	3	Primer hijo después de los 35 años
<b>Historia familiar</b>	≥2	Cáncer de mama antes de la menopausia en familiar de primer grado
<b>Antecedentes de enfermedades benignas</b>	4-5	Hiperplasia atípica
<b>Cáncer en la otra mama</b>	>4	
<b>Grupo socio – económico</b>	2	Grupos I y II (altos)
<b>Dieta</b>	1.5	Alta ingesta de grasas saturadas
<b>Peso corporal:</b>		
<b>Premenopáusica</b>	0.7	Índice de masa corporal >35
<b>Postmenopáusica</b>	2	Índice de masa corporal >35
<b>Consumo de alcohol</b>	1.3	Ingesta excesiva
<b>Exposición a radiación ionizante</b>	3	Exposición anormal en mujeres adolescentes
<b>Ingesta de hormonas:</b>		
<b>Contraceptivos orales</b>	1.24	Uso frecuente
<b>Terapia hormonal de reemplazo</b>	1.35	Uso por más de 10 años
<b>Dietilestilbestrol</b>	2	Uso durante el embarazo

## Métodos clínicos para la detección del cáncer de mama

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la educación sobre el cáncer de mama dirigida a sensibilizar a las mujeres sobre la importancia de conocer las características normales de sus mamas y demandar atención médica si se descubre alguna anomalía [27].

En México, la NOM-041-SSA2-2011 [27], establece tres tipos de intervenciones específicas para la detección del cáncer de mama, que van dirigidos a la población femenina de acuerdo con su grupo de edad o vulnerabilidad, éstos son:

1. **Autoexploración:** Es una técnica de detección del cáncer mamario llevada a cabo mediante una serie de pasos basados en la observación y palpación que hace la mujer en sus propias mamas (Figura 6) [3].

En México [27], la autoexploración se recomienda a partir de los 20 años, sin indicar la frecuencia con la que se debe realizar.



Figura 6. Seis pasos de la autoexploración mamaria. La técnica de autoexploración consiste en la observación y palpación que realizan las mujeres a sus propios senos.

Tomado de: [http://www.tocate.org/6\\_pasos.php](http://www.tocate.org/6_pasos.php).

No obstante, la Asociación Estadounidense de Cáncer (ACA) recomienda la autoexploración de la glándula mamaria de forma mensual a todas las mujeres a partir de la menarca, sobre todo en las mayores de 20 años [3].

Normalmente, la autoexploración se emplea para el diagnóstico temprano de la enfermedad, con el fin de motivar la búsqueda de atención médica [27]. Incluso, en [28] se concluye que las mujeres que realizan la autoexploración de mama son capaces de detectar lesiones de, cuando menos, 1 cm y de hasta 0.5 cm una vez que han recibido capacitación.

2. Examen clínico: El primer paso del examen clínico es el obtener una historia clínica completa, y ésta debe incluir antecedentes importantes tales como el estado hormonal y la historia familiar de cáncer de mama [3].

Dado que se considera como una técnica de detección para el diagnóstico temprano del carcinoma de mama, el examen clínico debe ser practicado de forma anual, a partir de los 25 años por personal de salud capacitado en la exploración de las mamas [27]. Asimismo, el examen clínico debe incluir una exploración física en que se observará la configuración general y se palparán los senos revisando también axilas y pezones [3]. Esta técnica es similar a la autoexploración, con la diferencia de que se lleva a cabo por personal médico o de enfermería capacitado [27]. Se ha encontrado que la exploración física de la mama permite una detección de hasta un 50% de lesiones no vistas en mastografías, con un valor predictivo positivo de 73% y negativo de 87% [3], [29]. Por esta razón, el examen clínico se considera importante en el diagnóstico del cáncer de mama palpable [29].

3. Mastografía: Éste se ha convertido en el estandarte de oro de la detección del cáncer de mama. Una mastografía de escrutinio busca visualizar nódulos no palpables (menores a 0.5 cm), calcificaciones, asimetrías en la densidad mamaria y/o distorsión de la arquitectura de la glándula [3]. Los nódulos son objetos que aparecen en las mastografías con densidad media y alta, se confunden con el tejido glandular y sus contornos son indicadores de malignidad. Por otro lado, las calcificaciones son acumulaciones cristalinas de calcio, de

tamaños de cientos de micras, por lo cual nunca son palpables por su reducido tamaño; su agrupación y morfología es indicador de malignidad. Sólo la mastografía es capaz de detectar las calcificaciones [3]. No obstante, la imagen mamográfica sólo permite visualizar estos indicadores, mientras que la evaluación de severidad de la lesión dependerá únicamente del radiólogo basándose en las características de la imagen [3].

Con base en lo anterior y con el fin de estandarizar la evaluación de riesgos y el control de calidad para las mastografías, así como el proporcionar uniformidad en los informes radiológicos, el Colegio Estadounidense de Radiología (ACR) elaboró un sistema de datos y reportes llamado BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System) [3].

Debido a que la mastografía es empleada para la identificación en fase preclínica del carcinoma mamario, en México [27] se recomienda la mastografía de tamizaje en mujeres aparentemente sanas entre los 40 y 69 años, cada dos años. El resultado de este estudio debe reportarse de acuerdo con la última clasificación de BIRADS disponible [27]. El BIRADS clasifica los estudios en siete categorías bien definidas (desde un estudio “normal”, que sólo requiere de seguimiento al cabo de un año, hasta uno “francamente maligno” que requiere biopsia) y se sugiere su manejo posterior [3].

Cabe destacar que la mastografía de tamizaje no se recomienda en mujeres menores de 40 años [27], debido a la alta sensibilidad de la glándula mamaria a la carcinogénesis asociada a la radiación a edades tempranas [30]. Además de presentar ciertas limitaciones en el análisis del tejido mamario denso al punto de llegar a enmascarar un tumor subyacente [31] y que se ha sugerido que la radiación continua por la mastografía podría incluso incrementar el riesgo de desarrollar cáncer de mama [32]

Además de estos tres métodos de detección recomendados por la NOM-041 [27], existe otro estudio de imagen comúnmente usado, el cual es empleado clínicamente como una herramienta de detección de cáncer de mama complementaria a la mastografía: el ultrasonido o ecografía [31].

4. Ultrasonido: La ecografía juega un papel específico en el procedimiento de diagnóstico, ya que es particularmente útil en la diferenciación entre masas quísticas y sólidas. Igualmente, es más sensible que las otras modalidades en el diagnóstico de la aparición de una enfermedad mamaria [29].

Este estudio se usa con más frecuencia para evaluar masas palpables y no palpables que se han detectado durante la mastografía. Incluso, la ecografía puede mostrar tumores malignos que no son visibles en la mastografía debido al tejido denso circundante [33]. Además, se ha convertido en la principal modalidad de imagen de mama entre mujeres jóvenes, pacientes embarazadas o lactantes [33]. Asimismo, se indica en pacientes con mastitis o abscesos, implantes mamarios y como guía de procedimientos intervencionistas [27].

A pesar de lo anterior, el diagnóstico precoz del cáncer con ultrasonido es todavía muy difícil debido a las limitaciones de resolución geométrica y al hecho de que las microcalcificaciones no se pueden visualizar. Solamente el 60% de los tumores de la mama con un diámetro entre 6 mm y 10 mm pueden ser correctamente diagnosticados con ultrasonido [29], dependiendo únicamente de la pericia del médico radiólogo.

## **2.2 Métodos actuales para la detección del cáncer de mama**

Las técnicas de detección del cáncer son de alta importancia, ya que pueden ayudar a identificar la presencia de la masa tumoral en un estadio temprano. Cuando se detecta tejido anormal o cáncer de forma temprana u oportuna, puede ser más fácil tratarlo e incluso curarlo [1].

### **Mastografía**

La mastografía es un diagrama de sombras de rayos X de la glándula mamaria obtenida mediante un mastógrafo, el cual consiste básicamente en un tubo de rayos X y un receptor de imagen montados en lados opuestos de un conjunto mecánico o gantry que puede girarse para lograr la proyección radiográfica deseada, como se presenta en la Figura 7 [34].

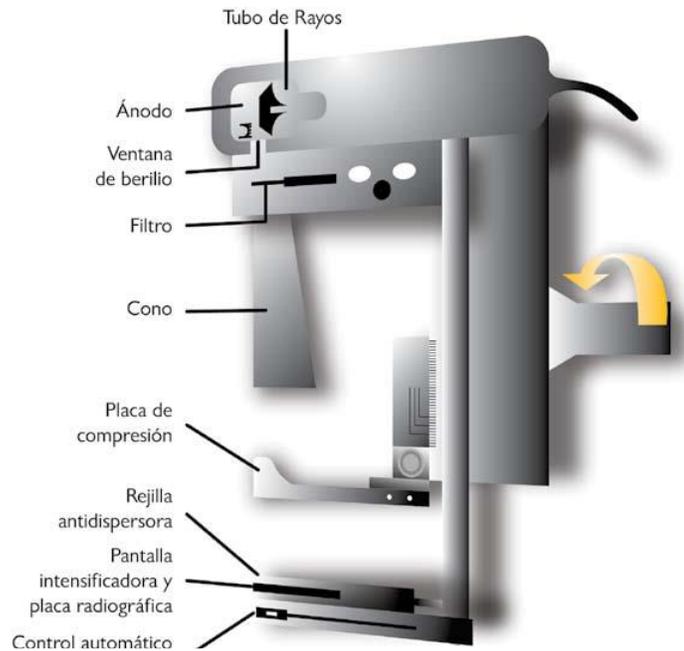


Figura 7. Diagrama esquemático de un mastógrafo. El mastógrafo convencional utiliza película radiográfica como receptor de imagen. En los equipos digitales, se emplea un detector electrónico.

Tomado de: [3].

El mastógrafo está diseñado para permitir un fácil examen del seno desde una variedad de direcciones. Se coloca una rejilla antidispersión entre el soporte del pecho y el receptor de imagen, aplicando una compresión firme en el seno utilizando una placa de compresión de plástico [35].

La imagen se forma cuando la radiación que sale del tubo de rayos X pasa a través de un filtro metálico, el cual deja pasar un pequeño haz de luz casi puntual. Estos rayos transmitidos irradian el seno, el cual se encuentra comprimido, para posteriormente incidir en una “cuadrícula” de antidispersión y luego golpean el receptor de imagen (la placa radiográfica en un mastógrafo convencional o el detector electrónico en un equipo digital) y allí se forma una imagen latente que es hecha visible por un proceso químico (equipo analógico con película) o electrónico (digital) [3], [34].

La compresión del seno hace que los diferentes tejidos se extiendan, minimizando la superposición de diferentes planos y, por lo tanto, mejorando la visibilidad de las estructuras de la mama. Además, la compresión disminuye la proporción de radiación dispersada, así como la distancia hasta el receptor de imagen y de esta manera reduce la falta de nitidez geométrica [34].

La imagen obtenida es el resultado de la atenuación diferencial de los rayos X a lo largo de los caminos que pasan a través de las estructuras de la mama [34]. Por otro lado, la información tridimensional de la ubicación de la lesión se logra gracias a la obtención de dos proyecciones para cada mama: una proyección cráneo – caudal y una proyección medio – lateral – oblicua [3].

A pesar del uso estandarizado de esta técnica de detección, la mama representa un verdadero reto para la obtención de su imagen radiológica debido a que está constituida por tejidos muy similares entre sí y porque las lesiones buscadas por el radiólogo como indicadores de la posible presencia de un tumor son muy pequeñas o muy parecidas al tejido normal [3].

### **Ultrasonido**

El sonido, en cualquier descripción, es simplemente la transferencia de energía mecánica desde una fuente vibrante a través de un medio [36]. A su vez, en sentido estricto, el ultrasonido es simplemente cualquier onda de sonido cuya frecuencia está por encima del límite de la audición humana, que generalmente se considera que es de 20 kHz [34].

Hace mucho tiempo se reconoció que los tejidos del cuerpo no son homogéneos y que las señales enviadas a ellos, como los pulsos de sonido de alta frecuencia, son reflejadas y dispersadas por esos tejidos [34]. En esta línea, el ultrasonido de diagnóstico utiliza el principio de eco de pulso para construir una imagen bidimensional de estructuras anatómicas [36].

Un transductor de ultrasonido contiene materiales piezoeléctricos dentro de la cara de este, los cuales se contraen o expanden cuando se aplica un voltaje a través de ellos [36]. De esta manera, un transductor piezoeléctrico convierte una señal eléctrica oscilante en una onda acústica, y viceversa [34]. Un pulso de sonido que sale del transductor viajará hacia el paciente hasta que encuentre una interfaz “acústica”. En tal interfaz, una proporción de la energía del sonido se refleja de nuevo al transductor y se detecta este flujo de ecos de retorno desde múltiples objetivos que se reflejan y dispersan a varias profundidades dentro del tejido (Figura 8) [36].

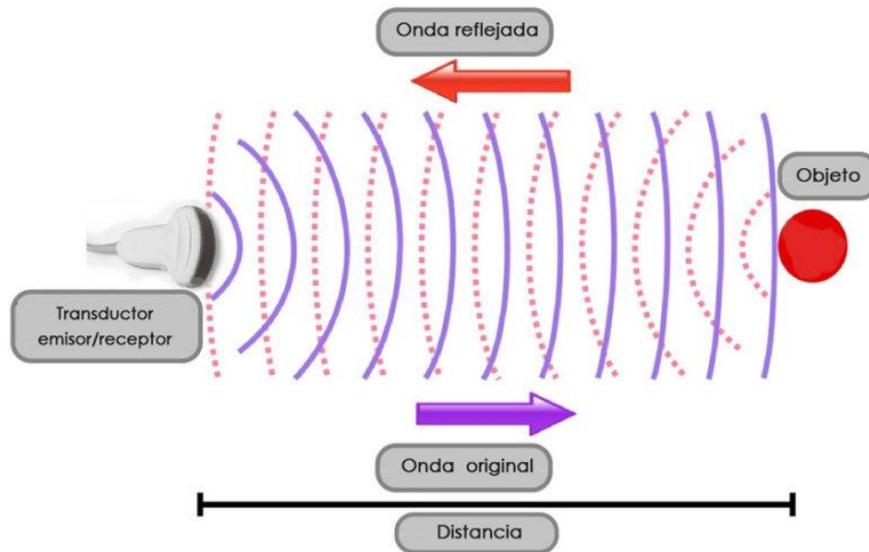


Figura 8. Esquema de funcionamiento de un transductor de ultrasonido. Los cristales piezoeléctricos dentro del transductor emiten una vibración u onda sonora, la cual será rebotada por los tejidos según sus características, composición y distancia al transductor.

Tomado de:

<https://pilarmanchon.es/2017/08/16/como-funciona-un-equipo-de-ecografia/>

La energía mecánica transportada por cada eco se convierte en energía eléctrica por los cristales piezoeléctricos dentro del transductor. A medida que la onda de presión de un eco de retorno golpea la superficie del transductor, se registra un voltaje. La magnitud de este voltaje se relaciona directamente con la cantidad de energía transportada por el eco de retorno y determina el nivel de brillo almacenado desde esta ubicación. Si se conoce la velocidad del sonido y se mide el tiempo necesario para que el eco regrese, se puede calcular la profundidad de la interfaz reflectante [36].

En términos simples, estos valores se almacenan en la memoria de la computadora del equipo de ultrasonido como única “línea de escaneo” de información; los valores de voltaje se utilizan para determinar los niveles de brillo asignados a los puntos en línea vertical en la imagen para representar las interfaces a las profundidades correspondientes en el paciente. Al disparar pulsos de sonido en secuencias desde múltiples cristales adyacentes a través de la cara del transductor, se pueden generar numerosas líneas de exploración contiguas y se genera un “marco” de información de brillo único para representar una sección transversal anatómica bidimensional [36].

En el contexto de las imágenes del cuerpo humano, dado que la frecuencia y la longitud de onda (y, por lo tanto, la resolución) están relacionadas de manera inversa, la

frecuencia de sonido más baja utilizada es de alrededor de 1 MHz, con una tendencia constante hacia las frecuencias más altas para obtener una mejor resolución. La resolución axial es aproximadamente de una longitud de onda, y en 1 MHz, la longitud de onda es de 1.5 mm en la mayoría de los tejidos blandos, por lo que se debe ir a 1.5 MHz para alcanzar una resolución de 1 mm [34].

La atenuación de las señales ultrasónicas aumenta con la frecuencia en los tejidos blandos, por lo que se debe hacer una compensación entre la profundidad de penetración que debe lograrse para una aplicación particular y la frecuencia más alta que se puede usar [34].

### **Tomografía computarizada**

La tomografía computarizada de rayos X (TC) es una técnica de imagen médica que produce imágenes de planos transaxiales a través del cuerpo humano [37].

A diferencia de una radiografía convencional, que utiliza un tubo fijo de rayos X, un escáner de TC adquiere las proyecciones electrónicamente utilizando una serie lineal de detectores de estado sólido y una fuente motorizada de rayos X que gira alrededor del paciente gracias a una abertura en el interior del gantry (Figura 9) [37], [38].

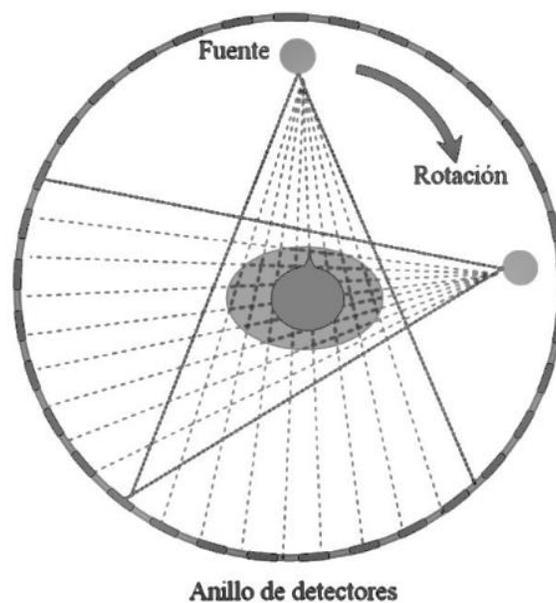


Figura 9. Esquema de funcionamiento de un tomógrafo de anillo completo. Sólo la fuente de rayos X es rotada a través de un anillo de detectores estacionario; las proyecciones son también en forma de abanico.

Modificado de: [39].

Durante un escaneo por TC, el paciente permanece recostado en una cama que se mueve lentamente a través del gantry, mientras que el tubo de rayos X gira alrededor del paciente, disparando haces de rayos X estrechos (de 1 a 10 mm) a través del cuerpo. Cuando los rayos X salen del paciente, son captados por los detectores y transmitidos a una computadora [37], [38].

La tarea fundamental de los sistemas de TC es hacer un número extremadamente grande (aproximadamente 500,000) de mediciones altamente precisas de transmisión de rayos X a través del paciente en una geometría controlada con precisión [34].

A diferencia del detector de rayos X usado en radiografía (película), los detectores de rayos X en un escáner de TC no producen directamente una imagen [37]. Cada vez que la fuente de rayos X completa toda una rotación, la computadora del TC reconstruye matemáticamente las mediciones del corte elegido realizadas desde muchas direcciones diferentes. Cuando se completa un corte, se almacena la imagen y la cama motorizada se mueve incrementalmente hacia adelante en el gantry. El proceso de escaneo por rayos X se repite para producir otro corte de imagen hasta recolectar el número deseado de cortes [37], [38].

Las imágenes resultantes son “mapas” tomográficos del coeficiente de atenuación lineal de rayos X [34]. Dicho coeficiente refleja la habilidad de un material para detener fotones, y es directamente proporcional al número atómico del material y su densidad, mientras que se relaciona inversamente con la energía [39].

### **Tomografía por emisión de positrones**

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una tecnología de imagen nuclear, no invasiva y altamente sensible que puede generar imágenes por radionúclidos mediante el uso de trazadores radiomarcados que se inyectan en dosis no farmacológicas [40] – [41].

PET es ideal para el monitoreo de eventos celulares/moleculares en una etapa temprana del curso de una enfermedad, así como durante la terapia farmacológica o de radiación. Además, se puede utilizar para información pronóstica e imagen para la recurrencia de la enfermedad [40].

PET puede considerarse como una cámara que puede tomar imágenes de un tema de interés y requiere un tiempo de exposición de unos pocos segundos a varios minutos. La cámara no capta la luz visible, sino imágenes de rayos gamma de alta energía provenientes de isótopos (también llamados radionúclidos) de vida corta (con vidas medias que en la actualidad van de 2 a 110 minutos) [40] - [42].

Hay un gran número de radionúclidos emisores de positrones disponibles, la mayoría de los cuales son producidos por aceleradores. Algunos de los radionúclidos emisores de positrones (electrones con carga positiva) usados con mayor frecuencia para aplicaciones biológicas son precisamente aquellos elementos que se encuentran comúnmente en las moléculas de interés biológico, como el oxígeno, el nitrógeno y el carbono. Por lo tanto, en teoría, cualquier molécula biológica puede marcarse con un emisor de positrones mediante sustitución directa, dando como resultado un compuesto marcado con propiedades bioquímicas virtualmente idénticas al compuesto nativo [41].

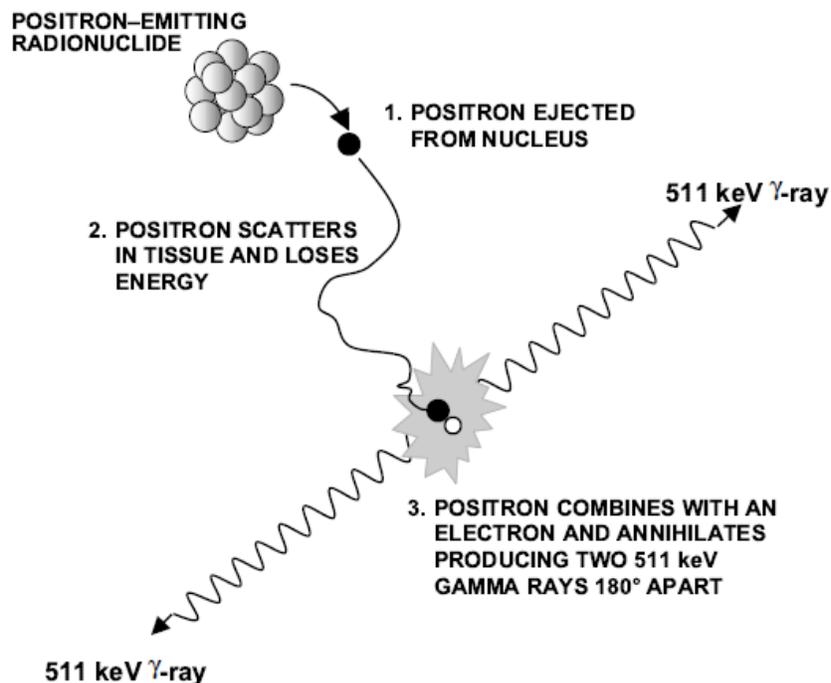
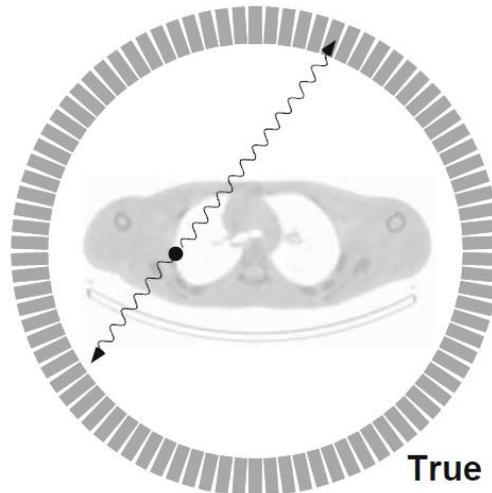


Figura 10. Resumen de la física subyacente a la tomografía por emisión de positrones (PET). Un radionúclido emisor de positrones expulsa un positrón del núcleo a medida que se descompone. El positrón viaja una corta distancia en el tejido (generalmente unas décimas de mm), perdiendo energía a través de las interacciones con los átomos. Una vez que haya alcanzado las energías térmicas, el positrón se combinará con un electrón en el tejido y se aniquilará, produciendo simultáneamente dos rayos gamma de 511 keV que se emiten con una separación de 180°.

Tomado de: [41].

Al ser inestables, los isótopos se desintegran a través de la emisión de positrones desde su núcleo, los cuales colisionan con un electrón cercano luego de recorrer una corta distancia en un tejido (unos pocos milímetros) y luego son aniquilados entre sí para producir energía en forma de rayos gamma de 511 keV, que se emiten en direcciones separadas por 180°, como se presenta en la Figura 10 [40] - [41] y [43]. Estos rayos gamma de alta energía tienen una longitud de trayectoria promedio de aproximadamente 10 cm en el tejido antes de que se dispersen o absorban y, por lo tanto, tienen una alta probabilidad de escapar del cuerpo. Si ambos rayos gamma pueden detectarse externamente y localizarse en el espacio, esto forma un evento de “coincidencia” válido y determina una línea que pasa a través del objeto que intersecta la posición en la que tuvo lugar la aniquilación electrón – positrón (Figura 11) [41].



*Figura 11. Evento de verdadera coincidencia para un sistema PET de anillo completo. Una verdadera coincidencia es un evento que se deriva de una aniquilación de positrones y electrones. Los dos fotones de aniquilación llegan a los detectores en lados opuestos del tomógrafo sin interactuar significativamente con los átomos circundantes y se registran dentro de la ventana de tiempo de coincidencia.*

*Modificado de: [44].*

Una exploración PET consiste en la recopilación de un gran número de estos eventos de coincidencia. Usando métodos de reconstrucción matemática y factores de corrección apropiados para fenómenos como la atenuación de rayos gamma y la dispersión, es posible calcular imágenes de corte transversal tridimensionales que pueden ser reconstruidas por una computadora para mostrar la concentración y la ubicación del marcador de interés, lo cual es ideal para la obtención de imágenes preclínicas y clínicas de la biología del cáncer, en contraste con los enfoques anatómicos [40] – [41] y [44].

## Imagen de Resonancia Magnética

La Resonancia Magnética (RM) explota la existencia de un magnetismo nuclear inducido en el paciente utilizando las propiedades magnéticas naturales del cuerpo para producir imágenes detalladas desde cualquier parte de este debido a su alto contenido de agua [34], [45]. Para fines de obtención de imágenes, la RM utiliza imanes fuertes y señales de radiofrecuencia de baja energía para recopilar información de ciertos núcleos atómicos [46].

Todos los núcleos atómicos consisten en protones y neutrones, con una carga neta positiva. Ciertos núcleos atómicos, como el núcleo de hidrógeno,  $^1\text{H}$ , o el núcleo de fósforo,  $^{31}\text{P}$ , poseen una propiedad conocida como "spin", que depende del número de protones. Esto puede concebirse como el núcleo girando alrededor de su propio eje, aunque esta es una analogía matemática. El núcleo en sí no gira en el sentido clásico, pero en virtud de sus partes constituyentes induce un momento magnético, generando un campo magnético local con los polos norte y sur. La descripción de la mecánica cuántica de este imán dipolar es análoga a la mecánica clásica de los objetos giratorios. El dipolo en sí es análogo a una barra magnética, con los polos magnéticos alineados a lo largo de su eje de rotación [47].

De lo anterior, los materiales con un número impar de protones o neutrones, como el hidrógeno, poseen un momento magnético nuclear débil pero observable [34]. El núcleo de hidrógeno (un solo protón) se utiliza debido a su abundancia en agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) y grasa, constituyendo aproximadamente el 60% del peso corporal [43], [45].

En circunstancias normales, el momento magnético de los protones de hidrógeno en el cuerpo se encuentran alineados al azar, sin embargo, cuando el cuerpo se coloca en un campo magnético estático, como un escáner de RM, todos los ejes de los protones se alinean, como se presenta en la Figura 12. Esta alineación uniforme crea un vector magnético orientado a lo largo del eje del escáner de RM. El momento magnético del átomo gira a su alrededor como un diminuto giroscopio en la frecuencia de Larmor (Figura 13), que es directamente proporcional a la intensidad del campo magnético, el cual generalmente oscila entre 0.5 T y 1.5 T [43], [45].

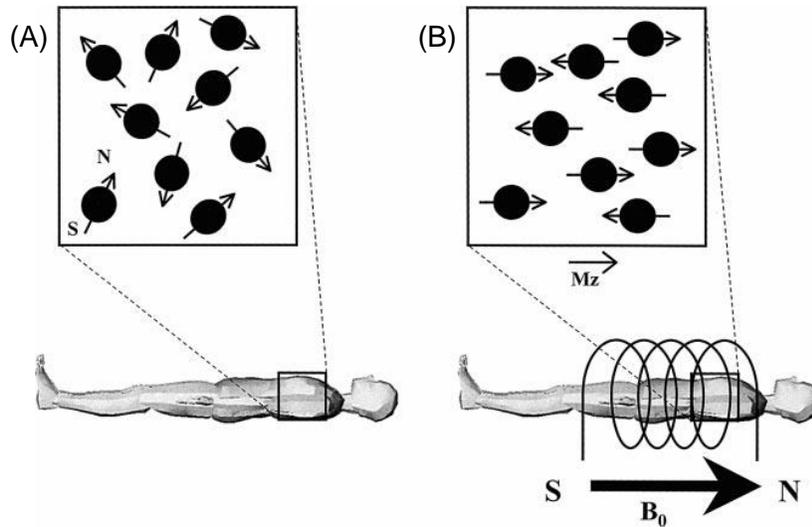


Figura 12. Átomos de hidrógeno en la resonancia magnética. (A) Sin un campo magnético, los momentos magnéticos de los núcleos se distribuyen al azar y, por lo tanto, el factor de magnetización neta es cero. (B) Cuando hay un fuerte campo magnético externo, los núcleos giratorios se alinean en paralelo o antiparalelo al campo externo con algunos más paralelos que antiparalelo. Esto resulta en un vector de magnetización neta paralelo al campo magnético externo.

Tomado de: [46].

Para obtener imágenes, se necesita un campo de rotación de radiofrecuencia (RF) en un plano perpendicular al campo estático, provocando que el vector magnético se desvíe. La frecuencia de este campo es idéntica a la frecuencia de Larmor, induciendo que los núcleos de hidrógeno resuenen y una vez que el átomo se excita (aumenta la precesión), el campo aplicado se apaga y el momento magnético original decae al equilibrio y emite una señal (también en onda de radio). Es esta señal la que se utiliza para crear las imágenes de RM [43], [45].

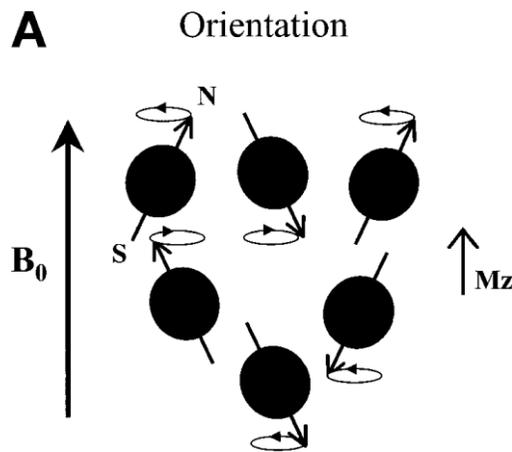


Figura 13. Precesión de los átomos de hidrógeno. Con más detalle, los núcleos individuales giran alrededor de sus propios ejes y se bambolean alrededor de la dirección del campo magnético externo.

Modificado de: [46].

Las bobinas receptoras se colocan alrededor de la parte del cuerpo en cuestión para actuar como antenas para mejorar la detección de la señal emitida. La intensidad de la señal recibida luego se grafica en una escala de grises y se construyen imágenes se sección transversal. Cabe destacar que se pueden usar múltiples pulsos de radiofrecuencia transmitidos en secuencia para enfatizar tejidos particulares o anomalías. Se produce énfasis diferente porque los tejidos distintos se relajan a diferentes velocidades cuando se apaga el pulso de RF transmitido [45].

### **Comparación del rendimiento de diferentes técnicas de detección del cáncer de mama**

Hoy en día la técnica estándar para la detección del cáncer de mama es la mastografía, demostrando ser eficaz para detectar carcinomas mamarios tanto clínicamente ocultos como palpables. No obstante, se ha demostrado que incluso esta técnica de detección puede pasar por alto una pequeña cantidad de neoplasias, llegando a presentar un índice de fracaso que va de un 4% - 34% [10], [48]. Además, la radiación ionizante puede representar un riesgo para la salud e incluso aumentar las posibilidades de desarrollar cáncer [30], [49], [50].

Con respecto a la auto exploración y al examen clínico, los otros dos métodos de detección recomendados en México [27], el pronóstico no es más alentador, ya que en [28] se concluye que las mujeres son capaces de detectar lesiones de, al menos 1 cm y de hasta 0.5 cm una vez que han recibido capacitación. Esto puede parecer alentador, sin embargo si se toma en cuenta que una célula cancerosa se duplica cada 100 – 300 días y que una neoplasia de mama de 1 cm realiza cerca de 30 duplicaciones antes de alcanzar ese tamaño, se sugiere que un tumor de ese tamaño tiene, como mínimo, siete años de evolución [3]. En consecuencia, la mayor parte de las mujeres correspondieron a estadios avanzados del tumor [51].

Técnicas de detección alternativas como el ultrasonido, presentan una tasa de falsos negativos del 17% [48]. Por otro lado, la RM a pesar de demostrar una alta sensibilidad, que compensa su alto costo, carece de especificidad en el diagnóstico del cáncer de mama, lo que puede llevar a un diagnóstico excesivo [10], [52], [53]. En la Tabla 6 se presentan los resultados de la comparación entre distintos métodos de detección [48].

**Tabla 6. Comparación del rendimiento de diferentes técnicas de detección del cáncer de mama.**

Tomado de: [48].

<b>Modalidad</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Valor Predictivo Positivo</b>	<b>Exactitud</b>
<b>Mastografía</b>	67.8% (120/177)	75% (61/81)	85.7% (120/140)	70.2% (181/258)
<b>Mastografía y examen clínico</b>	77.4% (137/177)	72% (58/81)	85.6% (137/160)	75.6% (195/258)
<b>Examen clínico</b>	50.3% (89/177)	92% (75/81)	94% (89/95)	63.6% (164/258)
<b>Ultrasonido</b>	83.0% (147/177)	34% (28/81)	73.5% (147/200)	67.8% (175/258)
<b>Mastografía y ultrasonido</b>	91.5% (162/177)	23% (19/81)	72.3% (162/224)	70.2% (181/258)
<b>Mastografía, examen clínico y ultrasonido</b>	93.2% (165/177)	22% (18/81)	72.4% (165/228)	70.9% (183/258)
<b>Resonancia magnética (RM)</b>	94.4% (167/177)	26% (21/81)	73.6% (167/227)	72.9% (188/258)
<b>Mastografía, examen clínico y RM</b>	99.4% (176/177)	7% (6/81)	70.1% (176/251)	70.5% (182/258)

La Tabla 6 evalúa cuatro parámetros de las modalidades de detección:

1. Sensibilidad: Proporción de tumores malignos detectados con respecto al número total de pacientes con tumores malignos [10].
2. Especificidad: Proporción de tumores benignos clasificados correctamente con respecto al número total de pacientes con tumores benignos [10].
3. Valor predictivo positivo: Proporción del número de pacientes diagnosticados correctamente para tener tumores malignos con respecto a la suma del total de pacientes con tumores malignos correctamente diagnosticados más el total de pacientes con tumores benignos incorrectamente diagnosticados como malignos [10].

4. Precisión: Proporción del número de pacientes diagnosticados correctamente, ya sea que tengan tumores benignos o malignos, con respecto al número total de pacientes [10].

La modalidad que presenta una mayor sensibilidad es una combinación entre la mastografía, el examen clínico y la RM con el 99.4%. Sin embargo, en este caso la especificidad se redujo a solamente un 7%. La precisión máxima de cualquier modalidad fue del 75.6%, es decir, uno de cada cuatro diagnósticos es incorrecto [48].

Por lo tanto, una combinación de las modalidades de detección actuales no es suficiente para mejorar la precisión, reducir el costo, aumentar la seguridad y reducir la incomodidad de la detección del cáncer de mama [10].

### **2.3 Métodos emergentes para la detección de cáncer de mama**

En los últimos años, las limitaciones mencionadas anteriormente han motivado a los investigadores a desarrollar nuevas técnicas de detección alternativas sustancialmente deferentes a las actuales. En particular, las técnicas de detección electromagnética (EM) han estado recibiendo un interés creciente [10].

La diferencia óptica no es sorprendente porque los tejidos cancerosos manifiestan cambios arquitectónicos significativos a nivel celular y subcelular, y los componentes celulares que causan la dispersión elástica tienen dimensiones típicamente del orden de longitudes de onda visibles a casi infrarrojo. Algunos tumores están asociados con la vascularización, donde la sangre causa un aumento de la absorción de luz. El uso de agentes de contraste óptico también puede ser explotado para mejorar el contraste óptico entre tejidos normales y anormales. Debido a que la información óptica está determinada por las conformaciones moleculares de los tejidos biológicos, se espera que las imágenes ópticas proporcionen firmas sensibles para la detección y el control tempranos del cáncer [43].

#### **Imagen de Microondas**

Las imágenes de microondas del cáncer de mama han recibido una gran atención últimamente. La principal motivación fue la hipótesis de que las propiedades eléctricas,

como la permitividad y la conductividad, de los tumores malignos del tejido tisular difieren significativamente de las del tejido mamario normal. En [54] se determinó que la permitividad eléctrica del tumor es de cinco veces mayor a la del tejido mamario normal circundante, mientras que la conductividad es hasta 10 veces mayor. Por lo tanto, cuando se ejerce una onda incidente, el tejido canceroso se dispersará de manera diferente, lo que indica su presencia [10].

Además, las frecuencias de microondas son no ionizantes y muestran una penetración razonable en el tejido mamario, aunque con una resolución de moderada a baja. En las imágenes de microondas, los sensores son las antenas transmisora y receptora. Las antenas transmisoras iluminan el seno con señales de microondas y las antenas receptoras recogen las señales esparcidas desde el seno. Las imágenes de microondas han empleado pocos ensayos clínicos y se ha podido detectar tumores con un tamaño mínimo de entre 5 mm y 10 mm, con una precisión preliminar del 80% al 90% [10], [55].

### **Tomografía de Impedancia Eléctrica**

El escaneo de impedancia eléctrica es una técnica de imágenes *in vivo* no invasiva que se basa en los diferentes valores de conductividad eléctrica y capacitancia de los tejidos malignos y normales [56]. En la tomografía de impedancia eléctrica (EIT), se crea una reconstrucción 2D o 3D de la impedancia de la mama en el rango de frecuencia de 100 Hz a 1 MHz. Este es el rango de frecuencia más bajo que se ha empleado en la técnica de imágenes de microondas [10].

Para fines de la adquisición de la señal, los electrodos de superficie más comúnmente empleados son los de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) [57], o bien, un conjunto de electrodos radiotransparentes [58]. Debido a que dichos sensores están en contacto directo con el seno, los experimentos EIT se pueden realizar de dos maneras que son fundamentalmente equivalentes. Se puede aplicar una corriente a los electrodos, midiendo los voltajes resultantes, en cuyo caso se calcula la reconstrucción en términos del mapa de Neumann a Dirichlet (NtD). Alternativamente, se puede aplicar un voltaje y medir las corrientes resultantes, en cuyo caso se considera el mapa de Dirichlet a Neumann (DtN) [59].

Mediante la aplicación de algoritmos de reconstrucción adecuados, la impedancia de la mama podría reconstruirse utilizando las corrientes aplicadas y los voltajes medidos. Debido a las diferencias entre la permitividad y la conductividad del tejido canceroso y sano en el rango de frecuencia inferior a 1 MHz, las regiones tumorales tienen diferentes impedancias complejas en comparación con el tejido sano circundante [10].

### **Tomografía de Óptica Difusa**

La tomografía de óptica difusa (DOT) en el infrarrojo cercano (NIR) es una modalidad de imagen emergente con una aplicación potencial en radiología, se define como el uso de la luz para obtener imágenes de las propiedades ópticas del interior de la mama. En comparación con otras modalidades de detección de cáncer de mama, la DOT usa longitudes de onda en el rango NIR, que van de ~ 650 nm a 1,000 nm. La absorción de la luz en estas longitudes de onda es mínima, lo que permite una penetración suficiente del tejido (hasta 15 cm) en la imagen mamaria. El diámetro típico de los senos varía entre los 5 cm y 10 cm, por lo que la imagen DOT en senos de mayor tamaño podría presentar errores [10], [60]. La DOT normalmente muestra un tamaño mínimo de detección de 5 mm – 10 mm, con una precisión del 85% - 90% [55].

En la mastografía, los fotones de rayos X incidentes viajan a través del seno en línea recta; sin embargo, en la DOT, los fotones NIR experimentan dispersión múltiple a medida que se propagan a través del seno. La longitud media del trayecto es del orden de 1 mm en DOT, por lo tanto, dentro de unos pocos milímetros, las direcciones de los fotones son aleatorias similares a las partículas de difusión. En este rango de frecuencia, la propagación de la luz a través del tejido biológico se puede aproximar con una precisión razonable utilizando la ecuación de difusión, dando el nombre de tomografía de óptica difusa [10].

En la DOT, las propiedades ópticas de los tejidos biológicos, principalmente la absorción y los coeficientes de dispersión, se reconstruyen en diferentes lugares del seno. El coeficiente de absorción en cada píxel surge de la suma de la absorción de los diferentes cromóforos o colorantes en cada píxel. Por lo tanto, la concentración de cada cromóforo en cada píxel se puede reconstruir utilizando el coeficiente de absorción [10].

Los principales cromóforos reconstruidos a partir del coeficiente de absorción son la oxihemoglobina, desoxihemoglobina y el agua. La hemoglobina es el principal portador de oxígeno en la sangre. Es por ello por lo que, una concentración elevada de hemoglobina oxidada o desoxidada, indicada en el coeficiente de absorción, implica un aumento en la vasculatura de la sangre asociada con la angiogénesis de un tumor maligno, es decir, la dependencia de las células cancerosas a un suministro adecuado de oxígeno y nutrientes. Debido a la elevada actividad de los tumores malignos, su demanda de oxígeno generalmente excede el suministro disponible. Por lo tanto, la presencia de una región con bajos niveles de saturación de oxígeno sugiere la presencia de tejido canceroso, así como su actividad metabólica y su nivel de angiogénesis [10], [61].

### **Radiometría de Microondas**

La radiometría es una técnica pasiva, la cual consiste en medir la energía EM considerada radiación térmica, que es emitida por el propio cuerpo humano de forma natural. Cualquier cuerpo sobre el cual cae radiación EM puede transmitir, absorber o reflejar toda la radiación o energía incidente. En esta línea, el cuerpo humano emite radiación térmica a frecuencias de microondas, lo cual permite dirigir la radiometría a la detección temprana y al diagnóstico del cáncer de mama [62].

Como se mencionó anteriormente, los tumores requieren de un suministro de oxígeno continuo que satisfacen por medio de la angiogénesis, esto a su vez aumenta la perfusión sanguínea del tumor provocando un aumento en su temperatura, de 1 °C a 3 °C, con respecto al tejido circundante [61] – [63].

En radiometría de microondas, el sensor es una antena que detecta la radiación emitida. Esta antena se puede colocar directamente en el seno o lejos del seno, por lo tanto, la radiometría de microondas puede ser una técnica de contacto o sin contacto. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la antena se coloca en contacto directo con la mama para mejorar la sensibilidad y reducir el desajuste causado por la capa de aire entre la antena y la mama [10].

## Detección de Biopotenciales

También conocida como prueba de biocampo, se basa en el análisis de los potenciales eléctricos generados por la división celular rápida e irregular asociada con el cáncer. Además, la medición de biopotenciales no es invasiva y no expone al paciente a la radiación ionizante [64], [65], [66].

Las células epiteliales normales se encuentran polarizadas eléctricamente por un gradiente iónico a través de la membrana celular. A medida que las células epiteliales se dividen, aumenta el transporte de iones (principalmente  $K^+$  y  $Na^+$ ) a través de la membrana celular, lo que resulta en una despolarización eléctrica. Cuando las células epiteliales en ciertas áreas de la mama se dividen más rápidamente, como durante la carcinogénesis, se produce una zona de despolarización relativa que puede producir un potencial eléctrico diferencial en la superficie de la piel. Estos diferenciales, que se transmiten a la superficie mamaria mediante la conducción del volumen, se pueden medir utilizando una serie de sensores y dispositivos de medición especialmente diseñados que se colocan en los senos (Figura 14) [64], [65].

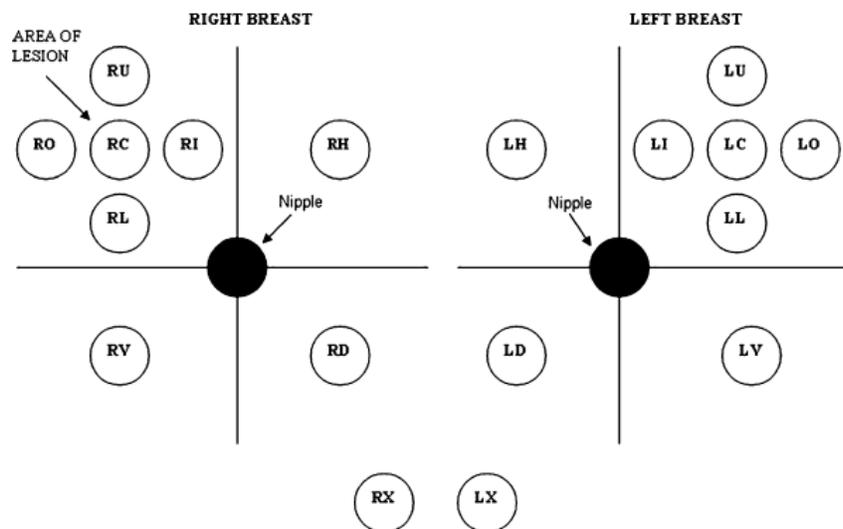


Figura 14. Arreglo de electrodos empleado en la detección de biopotenciales. Ejemplo de la disposición de sensores utilizada en el paciente durante la prueba del sistema de diagnóstico de biocampo, asumiendo que la lesión sospechosa está en el cuadrante superior externo (centro derecho) del seno derecho.

Tomado de: [65].

Cabe destacar que los electrodos empleados para la detección del cáncer de mama han sido optimizados, así como la crema conductora para compensar el cloruro de sodio de la piel [10].

## Detección Biomagnética

La detección biomagnética se realiza empleando un dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID) [67], [68], [69]. Dicho dispositivo, es capaz de detectar la actividad magnética espontánea causada por los movimientos iónicos a través de la membrana plasmática de cualquier tejido vivo, incluido el seno femenino, a pesar de ser extremadamente débil (es aproximadamente  $10^{-8}$  del campo magnético de la Tierra que es equivalente a  $50 \mu\text{T}$ ) [67].

Por otro lado, en [68] se sugiere el uso de nanopartículas inyectables recubiertas con agentes que se unan específicamente a ciertos tipos de células o estructuras internas (se sobreexpresan para estos objetos), las cuales serían libres de circular por el cuerpo sin aglomerarse hasta que encuentran su objetivo. Estas nanopartículas magnéticas con características especiales (las partículas más comúnmente usadas contienen magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) o maghemita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ )) se comportan como partículas paramagnéticas libres en una solución sin atraerse entre sí, pero cuando se aplica un campo externo, sus grandes momentos ferromagnéticos intrínsecos les permiten polarizarse fácilmente.

En este punto, se alinean con el campo y muestran un campo típico de material ferromagnético. Cuando el campo se apaga, las nanopartículas exhiben un campo magnético en descomposición, el campo de remanencia. La magnitud del campo de remanencia depende en gran medida de las características magnéticas y la distribución de los diámetros de las nanopartículas. Se puede aprovechar este comportamiento para obtener imágenes *in vivo* de cáncer, tumores u otras dianas fisiológicas específicas [68].

## 2. Justificación

Según el Global Cancer Observatory [70], el carcinoma mamario causa más de 600,000 muertes anuales a nivel mundial. Además, más de dos millones de mujeres son diagnosticadas con esta enfermedad en todo el mundo cada año, estableciendo como uno de los más grandes retos para los sistemas de salud a su detección para un tratamiento oportuno.

Actualmente, en México, la NOM – 041 – SSA2 - 2011 [27] determina tres tipos de intervención específica para la detección de cáncer de mama: la autoexploración, el examen clínico y la mastografía. Además, esta misma norma [27], establece al ultrasonido y a la resonancia magnética como estudios de imagen adicionales para el seguimiento de la enfermedad, según la edad y la disponibilidad del recurso.

El uso conjunto de los diferentes métodos de detección mencionados aumentan la probabilidad de un diagnóstico oportuno. Al respecto, en [10] se sugiere que la mastografía y el examen clínico sean la mejor combinación con un 75.6% de exactitud. Lo anterior significa que aproximadamente uno de cada cuatro diagnósticos de cáncer de mama realizado utilizando estas dos técnicas es incorrecto. Por lo tanto, es necesario encontrar métodos de detección más exactos y sensibles que permitan reducir el costo y la seguridad del diagnóstico, así como reducir la incomodidad durante la detección del cáncer de mama [10].

Con el fin de estudiar alternativas más eficientes para el diagnóstico temprano del carcinoma mamario, esta investigación se ha enfocado en la posibilidad de utilizar la radiación electromagnética en el rango UV-Visible, una parte del espectro que no se ha estudiado con anterioridad en ningún otro tipo de cáncer, para identificar componentes intracelulares de células cancerosas que permitan diferenciarlas de células sanas.

### **3. Hipótesis**

Las líneas celulares de cáncer de mama absorben de forma diferente una onda incidente en el rango de los 280 nm – 700 nm, con respecto a las líneas celulares epiteliales mamarias no tumorigénicas, de acuerdo con sus características de malignidad.

### **4. Objetivos**

#### **4.1. Objetivo General**

Evaluar la factibilidad de detectar cambios espectrales en el rango electromagnético comprendido entre 280 nm y 700 nm en líneas celulares de cáncer de mama, según su grado de malignidad.

#### **4.2. Objetivos Específicos**

- Caracterizar el espectrofotómetro para conocer las variaciones propias del instrumento.
- Elaborar un programa informático que permita analizar las mediciones espectrales de las líneas celulares de cáncer de mama.
- Comparar las diferencias espectrales de las líneas celulares de cáncer de mama según sus características de malignidad.
- Analizar las diferencias espectrales entre distintas líneas celulares de cáncer de mama.

## 5. Metodología

En el presente apartado se explica el diseño experimental abordando el procedimiento empleado, desde la caracterización del espectrofotómetro para determinar su correcto funcionamiento, pasando por el cultivo celular hasta que lleguen a una confluencia deseada de entre 70% - 90%, la cual se confirma por medio del equipo IncuCyte ZOOM®, para posteriormente llevar a cabo el análisis espectral de las líneas celulares en el lector de microplacas Synergy™ 4, resultados que se analizarán por medio del software MATLAB® R2015a para finalmente realizar un análisis estadístico ANOVA de una vía con ayuda del software GraphPad Prism 8.

### **Caracterización del espectrofotómetro.**

Como primer paso para obtener una caracterización confiable del espectrofotómetro a emplear, el cual es el lector de microplacas Synergy™ 4, se realizaron diversas mediciones en condiciones diferentes, señaladas en la Tabla 7.

**Tabla 7. Mediciones de caracterización del espectrofotómetro.**

<b>Modalidad</b>	<b>Número total de mediciones</b>
<b>Vacío (sin placa de cultivo dentro del equipo)</b>	36
<b>Placa de cultivo con tapa</b>	32
<b>Placa de cultivo sin tapa</b>	21
<b>Placa de cultivo con tapa y 1 ml de medio de cultivo</b>	20
<b>Placa de cultivo sin tapa y 1 ml de medio de cultivo.</b>	15

Después, y tomando en cuenta la temperatura señalada por el espectrofotómetro al inicio de cada medición de la placa de cultivo, se llevó a cabo un análisis de las diferencias en absorbancia de la modalidad “Placa de cultivo sin tapa y 1 ml de medio de cultivo”, la cual fue la empleada durante el desarrollo del proyecto.

Este análisis se llevó a cabo con el fin de valorar el funcionamiento del espectrofotómetro, de manera que sean consistentes las mediciones según el tipo y cantidad de los materiales introducidos para la lectura espectral. De esta manera es posible compensar el error instrumental del experimento.

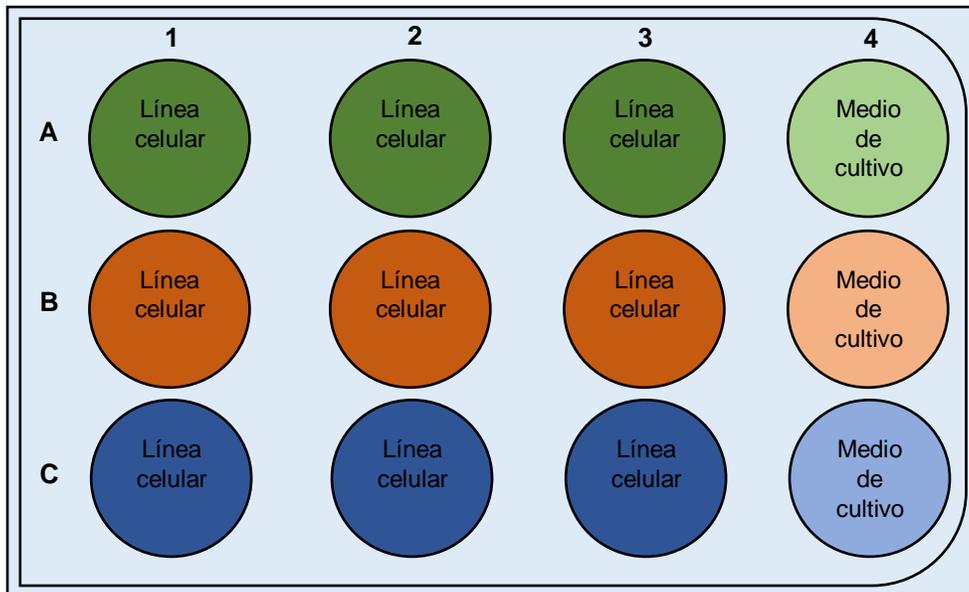
## Cultivo de las líneas celulares de cáncer de mama.

Las líneas celulares se cultivaron en condiciones estándar (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) [71] en cajas de cultivo celular Corning™ de 25 cm<sup>2</sup>, cada una con su medio de cultivo correspondiente presentado en la Tabla 8.

**Tabla 8. Medios de cultivo respecto a cada línea celular.**

<b>Línea celular</b>	<b>Medio de Cultivo</b>
<b>MCF-10A</b>	DMEM/HAM'S F12 con Suero de Caballo
<b>MCF-7</b>	Minimum Essential Medium (MEM)
<b>BT-549</b>	Roswell Park Memorial Institute (RPMI)
<b>MDA-MB-468 y MDA-MB-231</b>	DMEM/HAM'S F12 con Suero Bovino Fetal
<b>EpH4-Ev y BMEK-DD</b>	DMEM con Suero de Ternera Fetal
<b>67NR, 66CL4 Y 4T1</b>	DMEM con Suero Bovino Fetal

A continuación, se realizó la siembra de cada una de las líneas celulares en placas de cultivo celular de fondo plano Corning™ Costar™ de 12 pozos. Por cada línea celular se destinaron tres pozos para la siembra de células con medio de cultivo y un pozo solamente para el medio de cultivo que fungirá como blanco en el análisis de los datos, como se muestra en la Figura 15.



*Figura 15. Distribución de las líneas celulares y sus respectivos medios de cultivo en una placa de cultivo de 12 pozos.*

Además, se sembró una cantidad de células distinta según la línea celular y la velocidad de duplicación de estas (Tabla 9), para obtener una confluencia (proporción de células con respecto al área total del pozo de cultivo) de entre 70% y 90% en el centro del pozo correspondiente en un tiempo máximo de 48 h.

**Tabla 9. Número de células sembradas por línea celular.**

<b>Línea celular</b>	<b>Subtipo de cáncer</b> <i>[72], [73], [74], [75], [76]</i>	<b>Cantidad de células sembradas</b>
<b>MCF-10A</b>	Células epiteliales no tumorigénicas de humano	150,000
<b>MCF-7</b>	Positivo a receptores de estrógenos (ER+):	200,000
<b>BT-549</b>	Triple negativo (TN)	100,000
<b>MDA-MB-468</b>	Triple negativo (TN)	100,000
<b>MDA-MB-231</b>	Triple negativo (TN)	120,000
<b>EpH4-Ev</b>	Células epiteliales no tumorigénicas de ratón	100,000
<b>BMEK-DD</b>	-	100,000
<b>67NR</b>	Triple negativo (TN)	80,000
<b>66CL4</b>	Triple negativo (TN)	90,000
<b>4T1</b>	Triple negativo (TN)	80,000

En el Anexo 1 se presentan los reactivos empleados para la elaboración de los medios de cultivo de las líneas celulares, mientras que en el Anexo 2 se presentan las sustancias agregadas por cada 100 ml de medio de cultivo según el requerimiento celular.

### **Estimación de la confluencia celular antes de la lectura espectral.**

Antes de realizar este paso, se cambia el medio de cultivo a cada uno de los pozos que vayan a ser leídos en el espectrofotómetro, de forma que las secreciones que hayan tenido las células durante este tiempo sean removidas y no afecten en las lecturas del espectrofotómetro. Para validar que la confluencia se encuentra entre los rangos mencionados anteriormente, se le tomó una fotografía a cada uno de los pozos que contienen células por medio del sistema de análisis de células en un sistema IncuCyte ZOOM®. Cada pozo cuenta con un total de tres fotografías, las cuales posteriormente se analizaron con el software IncuCyte ZOOM y se determinó la confluencia exacta de cada pozo que sería leído a continuación.

## **Lectura del espectro de las líneas celulares de cáncer de mama.**

Para esta actividad, se tomó en cuenta la teoría de instrumentos, por lo cual, después de encender por completo el lector de microplacas Synergy™ 4, este se dejó en espera durante 30 minutos antes de iniciar con las lecturas espectrales de las líneas celulares. Las placas de cultivo celular de fondo plano Corning™ Costar™ de 12 pozos fueron retiradas de la incubadora y llevadas al espectrofotómetro un par de minutos antes de finalizar el tiempo de espera.

Posteriormente, la placa de cultivo celular de fondo plano Corning™ Costar™ de 12 pozos se coloca en el lector de microplacas Synergy™ 4 de tal forma que el pozo A1 se encuentre en la parte superior izquierda. Seguidamente se selecciona el tipo de escaneo elaborado previamente, el cual leerá entre las longitudes de onda de 250 nm – 700 nm a pasos de 1 nm, se retira la tapa y se toma la temperatura a la cual inicia el escaneo.

El escaneo de cada placa de cultivo celular de fondo plano Corning™ Costar™ de 12 pozos se realiza tres veces, es decir, por cada experimento independiente (N de 1) se realizan tres mediciones a cada pozo. El total de mediciones por línea celular se muestra en la Tabla 10.

**Tabla 10. Número total de mediciones espectrales por línea celular.**

<b>Línea celular</b>	<b>Total de mediciones</b>
<b>MCF-10A</b>	16
<b>MCF-7</b>	18
<b>BT-549</b>	18
<b>MDA-MB-468</b>	18
<b>MDA-MB-231</b>	18
<b>Eph4-Ev</b>	18
<b>BMEK-DD</b>	18
<b>67NR</b>	18
<b>66CL4</b>	18
<b>4T1</b>	18

Para los medios de cultivo se tuvo una mayor variación debido a que se cultivaron líneas celulares que usan el mismo medio de cultivo y mientras que otras no son las únicas en usar un medio de cultivo determinado, como se presenta en la Tabla 11.

**Tabla 11. Número total de mediciones espectrales por medio de cultivo.**

<b>Medio de cultivo</b>	<b>Total de mediciones</b>
<b>Medio F12 con Suero de Caballo</b>	8
<b>Medio MEM</b>	6
<b>Medio RPMI</b>	9
<b>Medio F12 con Suero Bovino Fetal</b>	15
<b>Medio DMEM con Suero de Ternera Fetal</b>	12
<b>Medio DMEM con Suero Bovino Fetal</b>	18

### Procesamiento computacional de las señales espectrales.

Para realizar el análisis de los datos recabados por el lector de microplacas Synergy™ 4, estos se pasaron a archivos CSV UTF – 8 (delimitado por comas) (\*.csv), esto para el software MATLAB® R2015a lo pueda reconocer como archivo de texto.

Primeramente fue necesario realizar el programa de la caracterización del espectrofotómetro, según las modalidades presentadas en la Tabla 6. Cada uno de los archivos fueron divididos según la modalidad de la medición, los cuales serían importados al programa por medio de variables globales, como se muestra en la Figura 16. Además, se inicializa una variable con las longitudes de onda a analizar.

```

1 - clear
2 - clc
3
4 - %CARACTERIZACIÓN DEL LECTRO DE MICROPLACAS SYNERGY 4 (BIOTEK)
5
6 - %MODALIDADES DE CARACTERIZACIÓN
7 - Ax=importdata('VACIO.csv'); %N DE 3
8 - Bx=importdata('CAJA_CT.csv'); %N DE 4
9 - Cx=importdata('CAJA_ST.csv'); %N DE 2
10 - Dx=importdata('VOLUMEN.csv'); %N DE 2
11 - Ex=importdata('F12.csv'); %N DE 6
12
13 - wave=Ax.data(:,1); %MATRIZ DE LONGITUDES DE ONDA
14

```

Figura 16. Programa "Caracterización": Parte 1.

Posteriormente, se adquieren los datos de los archivos colocándolas en una matriz, para poder determinar el número de filas y columnas respectivas según el total de experimentos independientes realizadas a cada una de las modalidades. Después se obtiene el promedio de las mediciones de cada longitud de onda (Figura 17).

```

14
15          %ADQUISICIÓN DE DATOS
16 - A=Ax.data(:, :);          %LECTURAS DEL ESPECTROFOTÓMETRO SIN PLACA DENTRO
17 - [a1,a2]=size(A);        %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ DEL ESPECTROFOTÓMETRO SIN PLACA
18 - a3=mean(A(:, 2:a2), 2); %PROMEDIO DEL ESPECTROFOTÓMETRO SIN PLACA
19
20 - B=Bx.data(:, :);          %LECTURAS DE LA PLACA CON LA TAPA
21 - [b1,b2]=size(B);        %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA PLACA CON LA TAPA
22 - b3=mean(B(:, 2:b2), 2); %PROMEDIO DEL MEDIO DE LA PLACA CON LA TAPA
23
24 - C=Cx.data(:, :);          %MEDIO DE LA PLACA SIN LA TAPA
25 - [c1,c2]=size(C);        %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA PLACA SIN LA TAPA
26 - c3=mean(C(:, 2:c2), 2); %PROMEDIO DEL MEDIO DE LA PLACA SIN LA TAPA
27
28 - D=Dx.data(:, :);          %MEDIO DE 1ML DE MEDIO F12 CON LA TAPA
29 - [d1,d2]=size(D);        %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE 1ML DE MEDIO F12 SON LA TAPA
30 - d3=mean(D(:, 2:d2), 2); %PROMEDIO DE 1ML DE MEDIO F12 CON LA TAPA
31
32 - E=Ex.data(:, :);          %MEDIO DE 1ML DE MEDIO F12 SIN LA TAPA
33 - [e1,e2]=size(E);        %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE 1ML DE MEDIO F12 SIN LA TAPA
34 - e3=mean(E(:, 2:e2), 2); %PROMEDIO DE 1ML DE MEDIO F12 SIN LA TAPA
35

```

Figura 17. Programa "Caracterización": Parte 2.

Seguidamente, en la Figura 18, se inicializaron dos matrices de ceros para cada modalidad; la primera para la desviación estándar que sería empleada para determinar la confiabilidad de las mediciones, mientras que la segunda matriz son los datos recabados de las mediciones, sin las longitudes de onda.

```

35
36          %ANÁLISIS ESPECTRAL
37
38 - a4=zeros();              %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR SIN PLACA
39 - A1=zeros(a1, a2-1);     %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO SIN PLACA
40
41 - b4=zeros();              %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PLACA CON LA TAPA
42 - B1=zeros(b1, b2-1);     %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE LA PLACA CON LA TAPA
43
44 - c4=zeros();              %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PLACA SIN LA TAPA
45 - C1=zeros(c1, c2-1);     %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE LA PLACA SIN LA TAPA
46
47 - d4=zeros();              %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE 1ML DE MEDIO F12 CON LA TAPA
48 - D1=zeros(d1, d2-1);     %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE 1ML DE MEDIO F12 CON LA TAPA
49
50 - e4=zeros();              %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE 1ML DE MEDIO F12 SIN LA TAPA
51 - E1=zeros(e1, e2-1);     %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE 1ML DE MEDIO F12 SIN LA TAPA
52

```

Figura 18. Programa "Caracterización": Parte 3.

De esta última matriz se obtienen los datos para realizar la desviación estándar a las mediciones espectrales con respecto a cada longitud de onda (Figura 19).

```

52
53 - for k=1:a1
54 -     a4(k)=std(A1(k,1:a2-1));           %DESVIACIÓN ESTÁNDAR SIN PLACA
55 -     b4(k)=std(B1(k,1:b2-1));           %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PLACA CON LA TAPA
56 -     c4(k)=std(C1(k,1:c2-1));           %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PLACA SIN LA TAPA
57 -     d4(k)=std(D1(k,1:d2-1));           %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE 1ML DE MEDIO F12 CON LA TAPA
58 -     e4(k)=std(E1(k,1:e2-1));           %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE 1ML DE MEDIO F12 SIN LA TAPA
59 - end
60

```

Figura 19. Programa "Caracterización": Parte 4.

Finalmente, para la caracterización del espectrofotómetro, en la Figura 20 se muestra el procedimiento de graficación de las mediciones espectrales según las modalidades señaladas con anterioridad, así como sus respectivas desviaciones estándar. Además, se delimitaron los rangos de graficación, las leyendas de los ejes (horizontal y vertical) y una cuadrícula para mejor orientación.

```

60
61 - plot(wave,a3,'r',wave,b3,'g',wave,c3,'b',wave,d3,'k',wave,e3,'m','LineWidth',2),...
62 -     legend('Vacio','Plástico con tapa','Plástico sin tapa','Medio de cultivo con tapa',...
63 -         'Medio de cultivo sin tapa');
64 -     title('Curvas de calibración');
65
66 - plot(wave,a3,'r',wave,a4,'r.',wave,b3,'g',wave,b4,'g.',wave,c3,'b',...
67 -     wave,c4,'b.',wave,d3,'k',wave,d4,'k.',wave,e3,'m',wave,e4,'m.','LineWidth',2),...
68 -     legend('Vacio','DesvEst Vacio','Plástico con tapa','DesvEst Plástico con Tapa',...
69 -         'Plástico sin tapa','DesvEst Plástico sin tapa','Medio de cultivo con tapa',...
70 -         'DesvEst Medio de cultivo con tapa','Medio de cultivo sin tapa','DesvEst Medio de cultivo sin tapa');
71 -     title('Curvas de calibración con desviación estándar');
72
73 - grid on
74 - grid minor
75 - xlabel('Longitud de onda [nm]');
76 - ylabel('Intensidad [arb]');
77 - axis([280 700 0 3.5])

```

Figura 20. Programa "Caracterización": Parte 5.

Con respecto al análisis espectral de las líneas celulares de cáncer de mama, se realizó un segundo programa, en el cual se lleva a cabo un procedimiento similar, aunque con un número mayor de variables globales correspondientes con el total de líneas celulares de cáncer de mama de origen humano y de origen murino; así como sus respectivos medios de cultivo.

Así como en la caracterización del sistema se realizaron las acciones anteriores, para el proceso de sintonía se requiere realizar acciones similares para poder encontrar los valores del controlador, como se muestra en las Figuras 21 y 22.

```

1 - clear
2 - clc
3
4   %FIRMA ESPECTRAL DEL CÁNCER DE MAMA EN EL RANGO UV - VISIBLE
5
6       %CÁNCER DE MAMA DE RATÓN
7       %MEDIOS DE CULTIVO
8 - Ax=importdata('DMEM_STF.csv');           %N DE 4 SIN TAPA
9 - Bx=importdata('DMEM_SBF.csv');           %N DE 6 SIN TAPA
10
11      %LÍNEAS CELULARES
12 - Cx=importdata('EPH4EV.csv');            %N DE 2 SIN TAPA
13 - Dx=importdata('BMEKDD.csv');            %N DE 2 SIN TAPA
14 - Ex=importdata('67NR.csv');              %N DE 2 SIN TAPA
15 - Fx=importdata('66CL4.csv');             %N DE 2 SIN TAPA
16 - Gx=importdata('4T1.csv');               %N DE 2 SIN TAPA
17

```

Figura 21. Programa "BreastCancer": Parte 1.

```

17
18      %CÁNCER DE MAMA DE HUMANO
19      %MEDIOS DE CULTIVO
20 - Hx=importdata('F12_10A.csv');           %N DE 2 SIN TAPA
21 - Ix=importdata('MEM.csv');               %N DE 2 SIN TAPA
22 - Jx=importdata('RPMI.csv');              %N DE 3 SIN TAPA
23 - Kx=importdata('F12.csv');               %N DE 6 SIN TAPA
24
25      %LÍNEAS CELULARES
26 - Lx=importdata('MCF10A.csv');            %N DE 2 SIN TAPA
27 - Mx=importdata('MCF7.csv');              %N DE 2 SIN TAPA
28 - Nx=importdata('BT549.csv');             %N DE 2 SIN TAPA
29 - Ox=importdata('MDAMB468.csv');          %N DE 2 SIN TAPA
30 - Px=importdata('MDAMB231.csv');          %N DE 2 SIN TAPA
31
32 - wave=Ax.data(:,1);                       %MATRIZ DE LONGITUDES DE ONDA
33

```

Figura 22. Programa "BreastCancer": Parte 2.

Posteriormente, se inicializan variables globales para obtener los datos recabados de las lecturas de los medios de cultivos empleados para el cultivo de las líneas celulares de cáncer de mama y son colocados cada uno en una matriz (Figura 23).

Además, en esta misma Figura 23, se aprecia que, para cada medio de cultivo son determinados tanto el número de filas y columnas de su respectiva matriz, así como el promedio de las mediciones espectrales para cada longitud de onda analizada.

```

34      %MEDIOS DE CULTIVO
35
36 -   A=Ax.data(:,2:13);           %MEDIO DE CULTIVO DMEM_STF
37 -   [a1,a2]=size(A);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ DEL MEDIO DE CULTIVO
38 -   a3=mean(A(:,2:a2),2);      %PROMEDIO DEL MEDIO DE CULTIVO + PLÁSTICO
39
40 -   B=Bx.data(:,:);           %MEDIO DE CULTIVO DMEM_SBF
41 -   [b1,b2]=size(B);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ DEL MEDIO DE CULTIVO
42 -   b3=mean(B(:,2:b2),2);      %PROMEDIO DEL MEDIO DE CULTIVO + PLÁSTICO
43
44 -   H=Hx.data(:,:);           %MEDIO DE CULTIVO F12_10A
45 -   [h1,h2]=size(H);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
46 -   h3=mean(H(:,2:h2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
47
48 -   I=Ix.data(:,:);           %MEDIO DE CULTIVO MEM
49 -   [i1,i2]=size(I);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
50 -   i3=mean(I(:,2:i2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
51
52 -   J=Jx.data(:,:);           %MEDIO DE CULTIVO RPMI
53 -   [j1,j2]=size(J);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
54 -   j3=mean(J(:,2:j2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
55
56 -   K=Kx.data(:,:);           %MEDIO DE CULTIVO F12
57 -   [k1,k2]=size(K);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
58 -   k3=mean(K(:,2:k2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO

```

Figura 23. Programa "BreastCancer": Parte 3.

Este último procedimiento es también empleado para las líneas celulares de cáncer de mama de origen murino (Figura 24) y de origen humano (Figura 25).

```

59      %CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN
60
61
62 -   C=Cx.data(:,:);           %LÍNEA CELULAR EPH4-EV
63 -   [c1,c2]=size(C);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
64 -   c3=mean(C(:,2:c2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
65
66 -   D=Dx.data(:,:);           %LÍNEA CELULAR B-MEK-DD
67 -   [d1,d2]=size(D);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
68 -   d3=mean(D(:,2:d2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
69
70 -   E=Ex.data(:,:);           %LÍNEA CELULAR 67NR
71 -   [e1,e2]=size(E);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
72 -   e3=mean(E(:,2:e2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
73
74 -   F=Fx.data(:,:);           %LÍNEA CELULAR 66CL4
75 -   [f1,f2]=size(F);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
76 -   f3=mean(F(:,2:f2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
77
78 -   G=Gx.data(:,:);           %LÍNEA CELULAR 4T1
79 -   [g1,g2]=size(G);           %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
80 -   g3=mean(G(:,2:g2),2);      %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
81

```

Figura 24. Programa "BreastCancer": Parte 4.

A continuación, en la Figura 26, se inicializaron dos matrices de ceros para cada línea celular; la primera es para la desviación estándar que sería empleada para determinar la confiabilidad de las mediciones, mientras que la segunda matriz son los datos recabados de las mediciones, sin las longitudes de onda.

```

81
82 - L=Lx.data(:, :); %LÍNEA CELULAR MCF-10A
83 - [l1,l2]=size(L); %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
84 - l3=mean(L(:,2:l2),2); %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
85
86 - M=Mx.data(:, :); %LÍNEA CELULAR MCF7
87 - [m1,m2]=size(M); %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
88 - m3=mean(M(:,2:m2),2); %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
89
90 - N=Nx.data(:, :); %LÍNEA CELULAR BT-549
91 - [n1,n2]=size(N); %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
92 - n3=mean(N(:,2:n2),2); %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
93
94 - O=Ox.data(:, :); %LÍNEA CELULAR MDA-MB-468
95 - [o1,o2]=size(O); %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
96 - o3=mean(O(:,2:o2),2); %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
97
98 - P=Px.data(:, :); %LÍNEA CELULAR MDA-MB-231
99 - [p1,p2]=size(P); %NÚMERO DE FILAS Y COLUMNAS DE LA MATRIZ
100 - p3=mean(P(:,2:p2),2); %PROMEDIO DE CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO
101

```

Figura 25. Programa "BreastCancer": Parte 5.

```

102 %ANÁLISIS ESPECTRAL
103
104 - c4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS EPH4-EV
105 - C1=zeros(c1,c2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS EPH4-EV
106
107 - d4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS B-MEK-DD
108 - D1=zeros(d1,d2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS B-MEK-DD
109
110 - e4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS 67NR
111 - E1=zeros(e1,e2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS 67NR
112
113 - f4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS 66CL4
114 - F1=zeros(f1,f2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS 66CL4
115
116 - g4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS 4T1
117 - G1=zeros(g1,g2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS 4T1
118
119 - l4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MCF-10A
120 - L1=zeros(l1,l2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS MCF-10A
121
122 - m4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MCF7
123 - M1=zeros(m1,m2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS MCF7
124
125 - n4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS BT-549
126 - N1=zeros(n1,n2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS BT-549
127
128 - o4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MDA-MB-468
129 - O1=zeros(o1,o2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS MDA-MB-468
130
131 - p4=zeros(); %MATRIZ DE CEROS PARA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MDA-MB-231
132 - P1=zeros(p1,p2-1); %MATRIZ DE CEROS PARA ESPECTRO DE CÉLULAS MDA-MB-231

```

Figura 26. Programa "BreastCancer": Parte 6.

Una vez realizado lo anterior y se obtuvieron las mediciones espectrales en el programa, es necesario eliminar la influencia tanto del poliestireno (material del que se encuentran elaboradas las placas de cultivo celular de fondo plano Corning™ Costar™ de 12 pozos), así como del medio de cultivo respectivo de cada línea celular.

De lo anterior, se determina lo mostrado en la Figura 27, procedimiento que resta cada una de las lecturas realizadas a los pozos de cada línea celular que contiene poliestireno, células y el medio de cultivo respectivo. Cabe destacar que la línea celular MCF-10A tiene un menor número de mediciones, por lo cual se le colocó en un ciclo diferente al resto de las líneas celulares, quienes comparten el mismo número de lecturas espectrales.

```

133
134 -   for j=2:12
135 -       L1(:,j-1)=(L(:,j))-h3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) MCF-10A
136 -   end
137
138 -   for j=2:d2
139 -       C1(:,j-1)=(C(:,j))-a3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) EPH4-EV
140 -       D1(:,j-1)=(D(:,j))-a3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) B-MEK-DD
141 -       E1(:,j-1)=(E(:,j))-b3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) 67NR
142 -       F1(:,j-1)=(F(:,j))-b3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) 66CL4
143 -       G1(:,j-1)=(G(:,j))-b3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) 4T1
144 -       M1(:,j-1)=(M(:,j))-i3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) MCF7
145 -       N1(:,j-1)=(N(:,j))-j3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) BT-549
146 -       O1(:,j-1)=(O(:,j))-k3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) MDA-MB-468
147 -       P1(:,j-1)=(P(:,j))-k3;           %(CÉLULAS+MEDIO+PLÁSTICO)-(MEDIO+PLÁSTICO) MDA-MB-231
148 -   end
149

```

Figura 27. Programa "BreastCancer": Parte 7.

Retomando una de las matrices de ceros inicializada anteriormente, ahora será empleada para la obtención de la desviación estándar de las mediciones espectrales de cada una de las líneas celulares de cáncer de mama (Figura 28).

```

149
150 -   for k=1:421
151 -       c4(k)=std(C1(k,1:c2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS EP-H4EV
152 -       d4(k)=std(D1(k,1:d2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS B-MEK-DD
153 -       e4(k)=std(E1(k,1:e2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS 67NR
154 -       f4(k)=std(F1(k,1:f2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS 66CL4
155 -       g4(k)=std(G1(k,1:g2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS 4T1
156 -       l4(k)=std(L1(k,1:l2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MCF-10A
157 -       m4(k)=std(M1(k,1:m2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MCF7
158 -       n4(k)=std(N1(k,1:n2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS BT-549
159 -       o4(k)=std(O1(k,1:o2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MDA-MB-468
160 -       p4(k)=std(P1(k,1:p2-1));         %DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CÉLULAS MDA-MB-231
161 -   end
162

```

Figura 28. Programa "BreastCancer": Parte 8.

A continuación, se grafican tanto de las mediciones espectrales de cáncer de mama de origen murino y de origen humano, por separado y sin las desviaciones estándar respectivas de cada línea celular, como se muestra en la Figura 29. Cada una de color diferente y en orden ascendente con respecto a su grado de malignidad.

```

162
163 - plot(wave,mean(C1,2),'r',wave,mean(D1,2),'g',wave,mean(E1,2),'b',wave,mean(F1,2),'c',...
164 -     wave,mean(G1,2),'m','LineWidth',2),legend('EPH4-EV','B-MEK-DD',...
165 -     '67NR','66CL4','4T1'); %RATÓN
166 - title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de ratón');
167
168 - plot(wave,mean(L1,2),'r',wave,mean(M1,2),'g',wave,mean(N1,2),'b',wave,...
169 -     mean(O1,2),'c',wave,mean(P1,2),'m','LineWidth',2),legend('MCF10A',...
170 -     'MCF7','BT-549','MDA-MB-468','MDA-MB-231'); %HUMANO
171 - title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de humano');
172

```

Figura 29. Programa "BreastCancer": Parte 9.

Seguidamente, se grafican, por separado, las líneas celulares de cáncer de mama de origen murino y humano, con sus respectivas desviaciones estándar (Figura 30). Cada una de color diferente y en orden ascendente con respecto a su grado de malignidad.

```

172
173 - plot(wave,mean(C1,2),'r',wave,c4','r.',wave,mean(D1,2),'g',wave,d4','g.',...
174 -     wave,mean(E1,2),'b',wave,e4','b.',wave,mean(F1,2),'c',wave,f4','c.',...
175 -     wave,mean(G1,2),'m',wave,g4','m.','LineWidth',2),legend('EPH4-EV',...
176 -     'DesvEst EPH4-EV','B-MEK-DD','DesvEst B-MEK-DD','67NR','DesvEst 67NR',...
177 -     '66CL4','DesvEst 66CL4','4T1','DesvEst 4T1'); %RATÓN
178 - title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de ratón con desviaciones estándar');
179
180 - plot(wave,mean(L1,2),'r',wave,l4','r.',wave,mean(M1,2),'g',wave,m4','g.',...
181 -     wave,mean(N1,2),'b',wave,n4','b.',wave,mean(O1,2),'c',wave,o4','c.',...
182 -     wave,mean(P1,2),'m',wave,p4','m.','LineWidth',2),...
183 -     legend('MCF-10A','DesvEst MCF-10A','MCF-7','DesvEst MCF-7','BT-549',...
184 -     'DesvEst BT-549','MDA-MB-468','DesvEst MDA-MB-468','MDA-MB-231','DesvEst MDA-MB-231'); %HUMANO
185 - title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de humano con desviaciones estándar');
186

```

Figura 30. Programa "BreastCancer": Parte 10.

Finalmente y para obtener una mejor comparación entre las líneas celulares de cáncer de mama de ambas especies (ratón y humano), se graficaron las mediciones espectrales de todas las líneas celulares en una misma gráfica, como se muestra en la Figura 31.

```

186
187 - plot(wave,mean(C1,2),'r',wave,mean(D1,2),'g',wave,mean(E1,2),'b',wave,mean(F1,2),'c',...
188 -     wave,mean(G1,2),'m',wave,mean(L1,2),'r.',wave,mean(M1,2),'g.',wave,mean(N1,2),'b.',...
189 -     wave,mean(O1,2),'c.',wave,mean(P1,2),'m.','LineWidth',2),...
190 -     legend('EPH4-EV','B-MEK-DD','67NR','66CL4','4T1','MCF-10A','MCF-7','BT-549',...
191 -     'MDA-MB-468','MDA-MB-231'); %TODAS LAS LÍNEAS CELULARES
192 - title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama');
193
194 - grid on
195 - grid minor
196 - xlabel('Longitud de onda [nm]');
197 - ylabel('Intensidad [arb]');
198 - axis([280 700 -0.01 0.15])

```

Figura 31. Programa "BreastCancer": Parte 11.

## Análisis de las diferencias espectrales de las líneas celulares de cáncer de mama según sus características de malignidad

Después, y como parte del análisis espectral, se realizó una hoja de cálculo con el fin de obtener el promedio de las mediciones de cada una de las líneas celulares de cáncer de mama en longitudes de onda de interés (290 nm, 340 nm, 375 nm, 404 nm, 445 nm, 450 nm y 568 nm) [77] – [78], así como las desviaciones estándar de las mismas.

Para realizar lo anterior, se llevó a cabo un procedimiento similar al planteado en el programa informático presentado, en el cual se obtuvieron los promedios de los medios de cultivo respectivos de cada una de las siete longitudes de onda a analizar, así como el de las mediciones de cada línea celular. De esta forma se realiza la resta del medio de cultivo a las células con el respectivo medio, para dejar solamente las mediciones de las células y poder llevar a cabo el análisis cuantitativo (Figuras 32 y 33).

Línea Celular	Estatus	Promedio MC	$\lambda$ (nm)	Absorbancias									
EPH4 - EV	Original	2.101083333	290	2.194	2.187	2.212	2.198	2.193	2.222	2.198	2.199	2.22	2.135
	Solo Células			0.09291667	0.08591667	0.11091667	0.09691667	0.09191667	0.12091667	0.09691667	0.09791667	0.11891667	0.03391667
BMEK - DD	Original	2.101083333	290	2.008	2.135	2.201	2.007	2.138	2.206	2.014	2.143	2.208	2.165
	Solo Células			-0.09308333	0.03391667	0.09991667	-0.09408333	0.03691667	0.10491667	-0.08708333	0.04191667	0.10691667	0.06391667
67NR	Original	1.646111111	290	1.708	1.71	1.718	1.711	1.712	1.726	1.723	1.722	1.732	1.691
	Solo Células			0.06188889	0.06388889	0.07188889	0.06488889	0.06588889	0.07988889	0.07688889	0.07588889	0.08588889	0.04488889
66CL4	Original	1.646111111	290	1.704	1.704	1.74	1.708	1.712	1.741	1.716	1.719	1.753	1.608
	Solo Células			0.05788889	0.05788889	0.09388889	0.06188889	0.06588889	0.09488889	0.06988889	0.07288889	0.10688889	-0.03811111
4T1	Original	1.646111111	290	1.673	1.73	1.701	1.675	1.734	1.707	1.685	1.743	1.714	1.639
	Solo Células			0.02688889	0.08388889	0.05488889	0.02888889	0.08788889	0.06088889	0.03888889	0.09688889	0.06788889	-0.00711111

Figura 32. Ejemplo de análisis por longitud de onda: Parte 1.

										Promedio Total	Desviación estándar	Línea celular	290 nm	DesEst
2.267	2.249	2.152	2.287	2.267	2.162	2.293	2.269	2.216888889	0.046328607	EPH4 - EV	0.11580556	0.04632861		
0.16591667	0.14791667	0.05091667	0.18591667	0.16591667	0.06091667	0.19191667	0.16791667	0.115805556	0.046328607	BMEK - DD	0.05630556	0.07326434		
2.211	2.2	2.172	2.219	2.208	2.172	2.221	2.205	2.157388889	0.073264339	67NR	0.06216667	0.01961933		
0.10991667	0.09891667	0.07091667	0.11791667	0.10691667	0.07091667	0.11991667	0.10391667	0.056305556	0.073264339	66CL4	0.02583333	0.05325463		
1.704	1.657	1.709	1.72	1.678	1.72	1.726	1.682	1.708277778	0.019619335	4T1	0.02088889	0.04706066		
0.05788889	0.01088889	0.06288889	0.07388889	0.03188889	0.07388889	0.07988889	0.03588889	0.062166667	0.019619335					
1.612	1.621	1.615	1.622	1.629	1.625	1.629	1.637	1.671944444	0.053254629					
-0.03411111	-0.02511111	-0.03111111	-0.02411111	-0.01711111	-0.02111111	-0.01711111	-0.00911111	0.025833333	0.053254629					
1.611	1.595	1.646	1.637	1.602	1.654	1.645	1.615	1.667	0.047060662					
-0.03511111	-0.05111111	-0.00011111	-0.00911111	-0.04411111	0.00788889	-0.00111111	-0.03111111	0.020888889	0.047060662					

Figura 33. Ejemplo de análisis por longitud de onda: Parte 2.

Finalmente, el análisis estadístico se llevó a cabo por medio del software GraphPad Prism 8, en el cual se introdujeron los datos de cada una de las longitudes de área a analizar (Figura 34) mencionadas antes, para posteriormente realizar una prueba estadística ANOVA de una vía, además de un método de comparaciones múltiples, los cuales nos proporcionan los datos presentados en la Figura 35. Estos nos indican el nivel de significancia con respecto a la línea celular de control, así como el valor p ajustado, con un control del 95% de confianza.

El análisis de varianza (ANOVA) de una vía realiza una comparación de una variable cuantitativa entre varios grupos; sin embargo, cuando una prueba ANOVA tiene resultados significativos, no informa que pares de grupos experimentales (en este caso líneas celulares de cáncer de mama) son diferentes, por lo cual es necesario emplear métodos de comparaciones múltiples que permitan estimar el grado de diferencia entre los grupos.

Para este proyecto se empleó el método de Dunnett, el cual se basa en la comparación de la media aritmética de cada grupo con una media aritmética de control, esta última corresponde, en este caso, a la línea celular de control respectiva para compararla con las demás líneas celulares.

Esta prueba tiene en cuenta la dispersión de todos los grupos. Esto le da un valor más preciso para la dispersión (escuadra media de residuos) que se refleja en más grados de libertad. Esto le da a la prueba más poder para detectar diferencias, y solo tiene sentido cuando acepta el supuesto de que todos los datos se muestrean de poblaciones con la misma desviación estándar, incluso si las medias son diferentes [79].

Con este método, es posible calcular los valores de P ajustados por multiplicidad para esta prueba y también se puede calcular un intervalo de confianza para la diferencia entre las medias. En este caso se contempló un intervalo del 95% de confianza, por lo que se puede estar seguro de que el 95% de que todos los intervalos contienen el verdadero valor de la población [79].

Un valor de P ajustado por multiplicidad es el nivel de significación familiar en el que esa comparación en particular apenas se consideraría estadísticamente significativa, es decir, establecer el umbral de importancia, para toda la familia de comparaciones, a cualquier valor que desee [79]. En este caso se establece que, dado el intervalo del 95% de confianza, el umbral de P se fija en 0.05.

En otras palabras, si el valor de P ajustado es igual o menor a 0.05 (95% de confianza) se dice que los grupos (líneas celulares de cáncer de mama) tienen “diferencias estadísticamente significativas”. Mientras más pequeño el valor de P ajustado, es mayor la diferencia entre las líneas celulares en la longitud de onda estudiada.

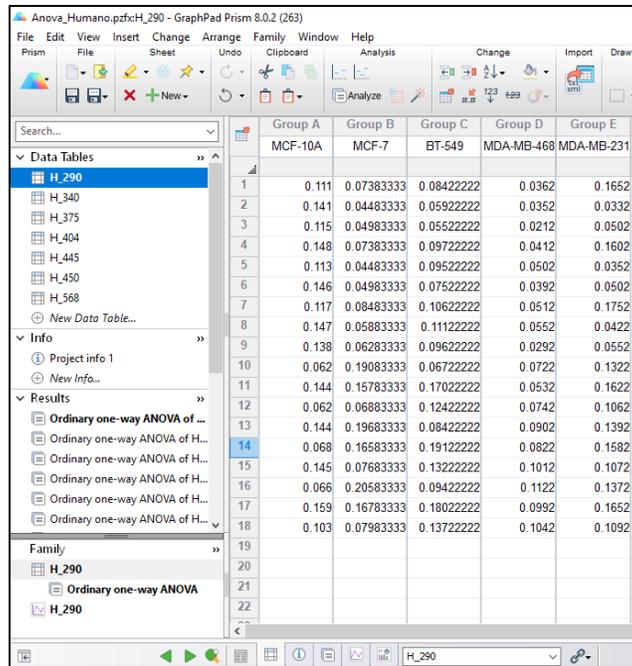


Figura 34. Ejemplo de introducción de valores al software de análisis estadístico.

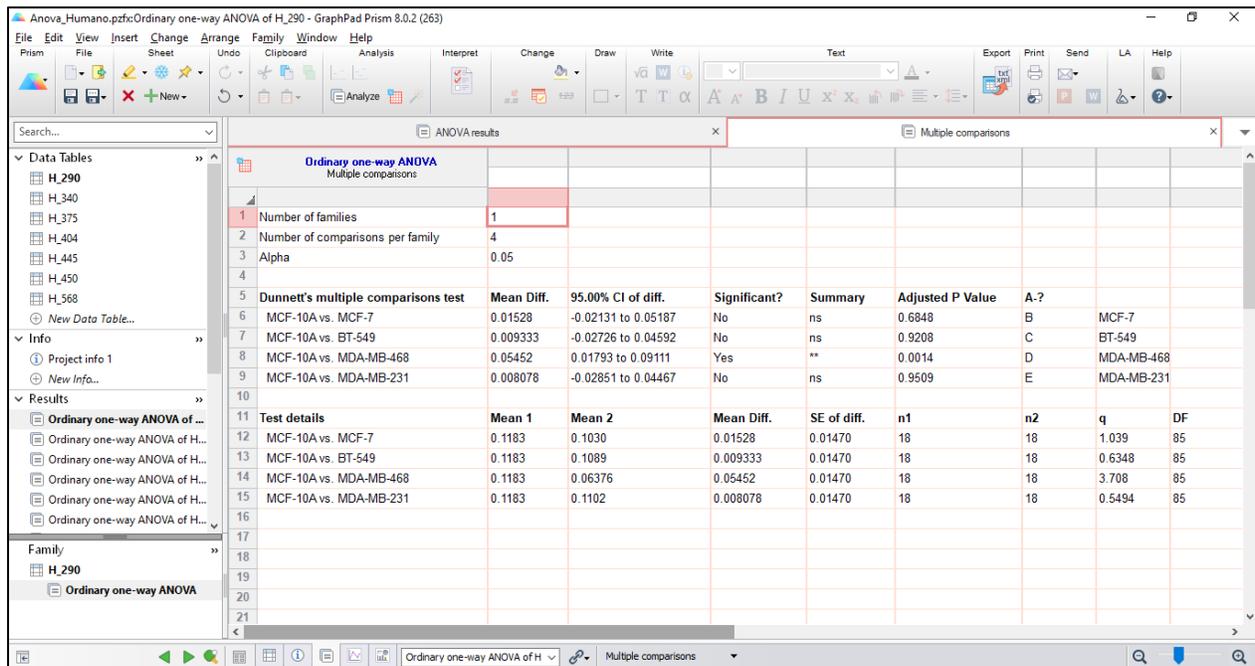


Figura 35. Ejemplo de resultados de la prueba estadística ANOVA de una vía.

Es importante señalar que los datos mostrados en la Figura 35 son los empleados para determinar la diferencia estadísticamente significativa entre líneas celulares, las cuales son presentadas en las Gráficas 5 – 18.

## 6. Resultados y discusión

### 6.1. Caracterización del espectrofotómetro.

Para cumplir con los objetivos planteados al inicio de esta investigación, el primer punto que se llevó a cabo fue la caracterización del espectrofotómetro empleado, el lector de microplacas Synergy™ 4, lo cual permite el conocimiento del error instrumental que se presentaría a lo largo del proyecto.

Para una correcta caracterización del espectrofotómetro, fue necesario hacer lecturas bajo diferentes condiciones y modalidades, las cuales fueron presentadas anteriormente en la Tabla 3.

Debido a lo anterior, se elaboró un programa informático que permitiese obtener la información recabada por el lector de microplacas Synergy™ 4, con el fin de procesar esta información para producir las gráficas espectrales de todas las modalidades previamente mencionadas. Este programa es presentado a continuación.

```
%CARACTERIZACIÓN DEL LECTOR DE MICROPLACAS SYNERGY 4 (BIOTEK)
%MODALIDADES DE CARACTERIZACIÓN
Ax=importdata('VACIO.csv');      %N DE 3
Bx=importdata('CAJA_CT.csv');    %N DE 4
Cx=importdata('CAJA_ST.csv');    %N DE 2
Dx=importdata('VOLUMEN.csv');    %N DE 2
Ex=importdata('F12.csv');        %N DE 6

wave=Ax.data(:,1);              %MATRIZ DE LONGITUDES DE ONDA

%ADQUISICIÓN DE DATOS

A=Ax.data(:,:);                %lecturas del espectrofotómetro sin placa dentro
[a1,a2]=size(A);                %número de filas y columnas de la matriz del espectrofotómetro sin placa
a3=mean(A(:,2:a2),2);           %promedio del espectrofotómetro sin placa

B=Bx.data(:,:);                %lecturas de la placa con la tapa
[b1,b2]=size(B);                %número de filas y columnas de la placa con la tapa
b3=mean(B(:,2:b2),2);           %promedio del medio de la placa con la tapa

C=Cx.data(:,:);                %medio de la placa sin la tapa
[c1,c2]=size(C);                %número de filas y columnas de la placa sin la tapa
c3=mean(C(:,2:c2),2);           %promedio del medio de la placa sin la tapa
D=Dx.data(:,:);                %medio de 1ml de medio F12 con la tapa
[d1,d2]=size(D);                %número de filas y columnas de 1ml de medio F12 son la tapa
d3=mean(D(:,2:d2),2);           %promedio de 1ml de medio F12 con la tapa
```

```

E=Ex.data(:,:);           %medio de 1ml de medio F12 sin la tapa
[e1,e2]=size(E);         %número de filas y columnas de 1ml de medio F12 sin la tapa
e3=mean(E(:,2:e2),2);    %promedio de 1ml de medio F12 sin la tapa

```

### %ANÁLISIS ESPECTRAL

```

a4=zeros();              %matriz de ceros para desviación estándar sin placa
A1=zeros(a1,a2-1);      %matriz de ceros para espectro sin placa

b4=zeros();              %matriz de ceros para desviación estándar de la placa con la tapa
B1=zeros(b1,b2-1);      %matriz de ceros para espectro de la placa con la tapa

c4=zeros();              %matriz de ceros para desviación estándar de la placa sin la tapa
C1=zeros(c1,c2-1);      %matriz de ceros para espectro de la placa sin la tapa

d4=zeros();              %matriz de ceros para desviación estándar de 1ml de medio F12 con la tapa
D1=zeros(d1,d2-1);      %matriz de ceros para espectro de 1ml de medio F12 con la tapa

e4=zeros();              %matriz de ceros para desviación estándar de 1ml de medio F12 sin la tapa
E1=zeros(e1,e2-1);      %matriz de ceros para espectro de 1ml de medio F12 sin la tapa

```

```

for k=1:a1
    a4(k)=std(A1(k,1:a2-1));    %desviación estándar sin placa
    b4(k)=std(B1(k,1:b2-1));    %desviación estándar de la placa con la tapa
    c4(k)=std(C1(k,1:c2-1));    %desviación estándar de la placa sin la tapa
    d4(k)=std(D1(k,1:d2-1));    %desviación estándar de 1ml de medio F12 con la tapa
    e4(k)=std(E1(k,1:e2-1));    %desviación estándar de 1ml de medio F12 sin la tapa
end

```

end

```

plot(wave,a3,'r',wave,b3,'g',wave,c3,'b',wave,d3,'k',wave,e3,'m','LineWidth',2), legend
('Vacio','Plástico con tapa','Plástico sin tapa','Medio de cultivo con tapa','Medio de cultivo
sin tapa');
title('Curvas de calibración');

```

```

plot(wave,a3,'r',wave,a4,'r.',wave,b3,'g',wave,b4,'g.',wave,c3,'b',wave,c4,'b.',wave,d3,'k',wave,
d4,'k.',wave,e3,'m',wave,e4,'m.','LineWidth',2), legend('Vacio','DesvEst Vacio','Plástico
con tapa','DesvEst Plástico con Tapa','Plástico sin tapa','DesvEst Plástico sin tapa','Medio
de cultivo con tapa','DesvEst Medio de cultivo con tapa','Medio de cultivo sin
tapa','DesvEst Medio de cultivo sin tapa');
title('Curvas de calibración con desviación estándar');

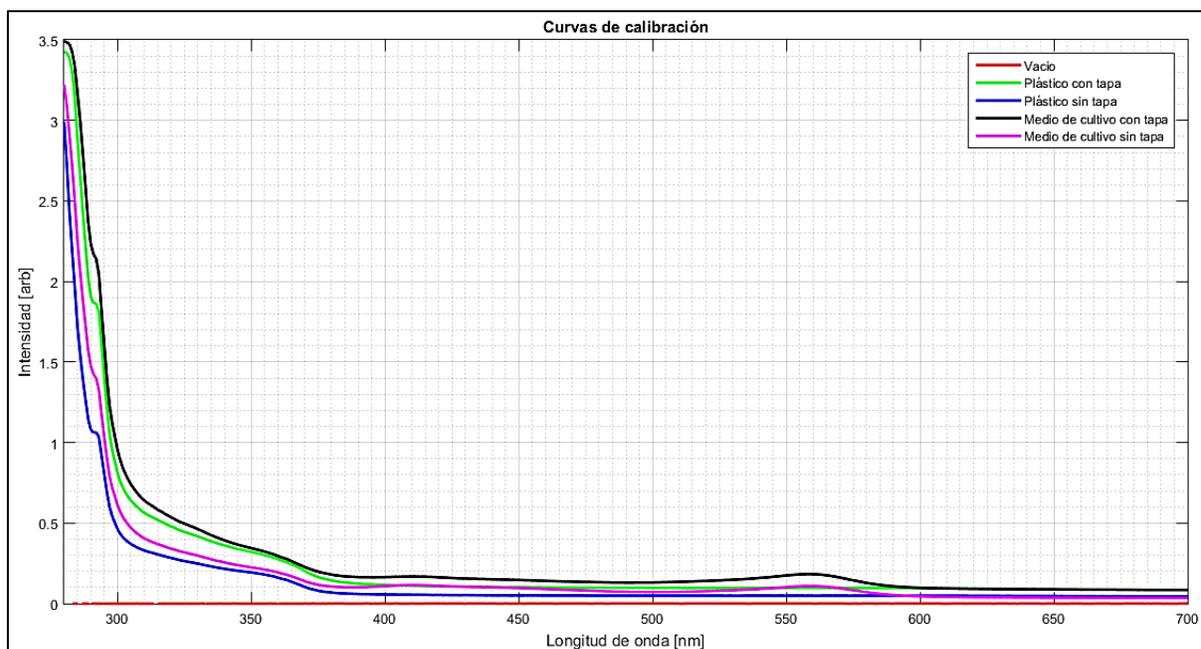
```

```

grid on
grid minor
xlabel('Longitud de onda [nm]');
ylabel('Intensidad [arb]');
axis ([280 700 0 3.5])

```

Del programa informático anterior, se obtienen las curvas de calibración presentadas en la Gráfica 1.



Gráfica 1. Curvas de calibración. Lecturas espectrales de las diversas modalidades de medición, llevadas a cabo para determinar el correcto registro de la absorbancia de la luz al pasar por diferentes medios como el plástico (poliestireno), un medio de cultivo empleado en el crecimiento celular, así como la medición sin alguna placa de cultivo dentro del equipo (vacío).

De la gráfica anterior se puede observar que desde el rango de los 280 nm – 380 nm existe una absorbancia significativa, la cual es provocada por el propio poliestireno de las placas de cultivo celular de fondo plano Corning™ Costar™ de 12 pozos en las cuales fueron sembradas las células de cáncer de mama.

Además, en el rango entre los 400 nm – 450 nm se observa una ligera absorbancia. Así mismo, en los rangos entre 520 nm – 590 nm también es apreciable una absorbancia aún mayor a la anterior. Ambas absorbancias se registran en las placas de cultivo que contienen medio de cultivo en su interior, mientras que en las placas de cultivo vacías no se presentan estas absorbancias, por lo tanto, se sugiere que en ambos rangos, el causante de estas absorbancias sería el medio de cultivo.

Además, se observó que las placas de cultivo, al ser expuestas al medio ambiente después de haber estado en la incubadora, generaban una condensación acuosa en la tapa, lo cual generaba alteraciones en las mediciones, por lo cual se optó por hacer las mediciones sin ésta.

## 6.2. Elaboración de un programa informático que permita analizar las mediciones espectrales de las líneas celulares de cáncer de mama.

Con el fin de poder realizar un análisis más preciso, se llevó a cabo un programa informático que permite adquirir todas las lecturas realizadas con el lector de microplacas Synergy™ 4, además de obtener la desviación estándar y el promedio de las mediciones de los experimentos independientes. Para este propósito, fue necesaria el procesamiento de los datos recabados por medio del software llamado MATLAB® R2015a, a continuación se presenta el programa informático elaborado.

```
%FIRMA ESPECTRAL DEL CÁNCER DE MAMA EN EL RANGO UV - VISIBLE
```

```
%CÁNCER DE MAMA DE RATÓN
```

```
%MEDIOS DE CULTIVO
```

```
Ax=importdata('DMEM_STF.csv');           %N DE 4 SIN TAPA  
Bx=importdata('DMEM_SBF.csv');           %N DE 6 SIN TAPA
```

```
%LÍNEAS CELULARES
```

```
Cx=importdata('EPH4EV.csv');             %N DE 2 SIN TAPA  
Dx=importdata('BMEKDD.csv');             %N DE 2 SIN TAPA  
Ex=importdata('67NR.csv');               %N DE 2 SIN TAPA  
Fx=importdata('66CL4.csv');              %N DE 2 SIN TAPA  
Gx=importdata('4T1.csv');                 %N DE 2 SIN TAPA
```

```
%CÁNCER DE MAMA DE HUMANO
```

```
%MEDIOS DE CULTIVO
```

```
Hx=importdata('F12_10A.csv');            %N DE 2 SIN TAPA  
Ix=importdata('MEM.csv');                 %N DE 2 SIN TAPA  
Jx=importdata('RPMI.csv');               %N DE 3 SIN TAPA  
Kx=importdata('F12.csv');                 %N DE 6 SIN TAPA
```

```
%LÍNEAS CELULARES
```

```
Lx=importdata('MCF10A.csv');              %N DE 2 SIN TAPA  
Mx=importdata('MCF7.csv');                %N DE 2 SIN TAPA  
Nx=importdata('BT549.csv');               %N DE 2 SIN TAPA  
Ox=importdata('MDAMB468.csv');            %N DE 2 SIN TAPA  
Px=importdata('MDAMB231.csv');            %N DE 2 SIN TAPA
```

```
wave=Ax.data(:,1);                         %MATRIZ DE LONGITUDES DE ONDA
```

## %MEDIOS DE CULTIVO

```
A=Ax.data(:,2:13); %medio de cultivo DMEM_STF
[a1,a2]=size(A); %número de filas y columnas de la matriz del medio de cultivo
a3=mean(A(:,2:a2),2); %promedio del medio de cultivo + plástico
```

```
B=Bx.data(:,:); %medio de cultivo DMEM_SBF
[b1,b2]=size(B); %número de filas y columnas de la matriz del medio de cultivo
b3=mean(B(:,2:b2),2); %promedio del medio de cultivo + plástico
```

```
H=Hx.data(:,:); %medio de cultivo F12_10A
[h1,h2]=size(H); %número de filas y columnas de la matriz
h3=mean(H(:,2:h2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
I=Ix.data(:,:); %medio de cultivo MEM
[i1,i2]=size(I); %número de filas y columnas de la matriz
i3=mean(I(:,2:i2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
J=Jx.data(:,:); %medio de cultivo RPMI
[j1,j2]=size(J); %número de filas y columnas de la matriz
j3=mean(J(:,2:j2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
K=Kx.data(:,:); %medio de cultivo F12
[k1,k2]=size(K); %número de filas y columnas de la matriz
k3=mean(K(:,2:k2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

## %CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA DE RATÓN

```
C=Cx.data(:,:); %línea celular EPH4-EV
[c1,c2]=size(C); %número de filas y columnas de la matriz
c3=mean(C(:,2:c2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
D=Dx.data(:,:); %línea celular B-MEK-DD
[d1,d2]=size(D); %número de filas y columnas de la matriz
d3=mean(D(:,2:d2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
E=Ex.data(:,:); %línea celular 67NR
[e1,e2]=size(E); %número de filas y columnas de la matriz
e3=mean(E(:,2:e2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
F=Fx.data(:,:); %línea celular 66CL4
[f1,f2]=size(F); %número de filas y columnas de la matriz
f3=mean(F(:,2:f2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
G=Gx.data(:,:); %línea celular 4T1
[g1,g2]=size(G); %número de filas y columnas de la matriz
g3=mean(G(:,2:g2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
L=Lx.data(:,:); %línea celular MCF-10A
[l1,l2]=size(L); %número de filas y columnas de la matriz
l3=mean(L(:,2:l2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
M=Mx.data(:,:); %línea celular MCF7
[m1,m2]=size(M); %número de filas y columnas de la matriz
m3=mean(M(:,2:m2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
N=Nx.data(:,:); %línea celular BT-549
[n1,n2]=size(N); %número de filas y columnas de la matriz
n3=mean(N(:,2:n2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
O=Ox.data(:,:); %línea celular MDA-MB-468
[o1,o2]=size(O); %número de filas y columnas de la matriz
o3=mean(O(:,2:o2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

```
P=Px.data(:,:); %línea celular MDA-MB-231
[p1,p2]=size(P); %número de filas y columnas de la matriz
p3=mean(P(:,2:p2),2); %promedio de células + medio + plástico
```

### %ANÁLISIS ESPECTRAL

```
c4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células EPH4-EV
C1=zeros(c1,c2-1); %matriz de ceros para espectro de células EPH4-EV
```

```
d4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células B-MEK-DD
D1=zeros(d1,d2-1); %matriz de ceros para espectro de células B-MEK-DD
```

```
e4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células 67NR
E1=zeros(e1,e2-1); %matriz de ceros para espectro de células 67NR
```

```
f4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células 66CL4
F1=zeros(f1,f2-1); %matriz de ceros para espectro de células 66CL4
```

```
g4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células 4T1
G1=zeros(g1,g2-1); %matriz de ceros para espectro de células 4T1
```

```
l4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células MCF-10A
L1=zeros(l1,l2-1); %matriz de ceros para espectro de células MCF-10A
```

```
m4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células MCF7
M1=zeros(m1,m2-1); %matriz de ceros para espectro de células MCF7
```

```
n4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células BT-549
N1=zeros(n1,n2-1); %matriz de ceros para espectro de células BT-549
```

```
o4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células MDA-MB-468
O1=zeros(o1,o2-1); %matriz de ceros para espectro de células MDA-MB-468
```

```
p4=zeros(); %matriz de ceros para desviación estándar de células MDA-MB-231
P1=zeros(p1,p2-1); %matriz de ceros para espectro de células MDA-MB-231
```

```
for j=2:l2
    L1(:,j-1)=(L(:,j))-h3; % (células + medio + plástico) - (medio + plástico) MCF-10A
end
```

```

for j=2:d2
    C1(:,j-1)=(C(:,j))-a3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) EPH4-EV
    D1(:,j-1)=(D(:,j))-a3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) B-MEK-DD
    E1(:,j-1)=(E(:,j))-b3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) 67NR
    F1(:,j-1)=(F(:,j))-b3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) 66CL4
    G1(:,j-1)=(G(:,j))-b3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) 4T1
    M1(:,j-1)=(M(:,j))-i3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) MCF7
    N1(:,j-1)=(N(:,j))-j3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) BT-549
    O1(:,j-1)=(O(:,j))-k3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) MDA-MB-468
    P1(:,j-1)=(P(:,j))-k3; %(células + medio + plástico) - (medio + plástico) MDA-MB-231
end
end

```

```

for k=1:421
    c4(k)=std(C1(k,1:c2-1)); %desviación estándar de células EP-H4EV
    d4(k)=std(D1(k,1:d2-1)); %desviación estándar de células B-MEK-DD
    e4(k)=std(E1(k,1:e2-1)); %desviación estándar de células 67NR
    f4(k)=std(F1(k,1:f2-1)); %desviación estándar de células 66CL4
    g4(k)=std(G1(k,1:g2-1)); %desviación estándar de células 4T1
    l4(k)=std(L1(k,1:l2-1)); %desviación estándar de células MCF-10A
    m4(k)=std(M1(k,1:m2-1)); %desviación estándar de células MCF7
    n4(k)=std(N1(k,1:n2-1)); %desviación estándar de células BT-549
    o4(k)=std(O1(k,1:o2-1)); %desviación estándar de células MDA-MB-468
    p4(k)=std(P1(k,1:p2-1)); %desviación estándar de células MDA-MB-231
end
end

```

```

plot(wave,mean(C1,2),'r',wave,mean(D1,2),'g',wave,mean(E1,2),'b',wave,mean(F1,2),'c',...
     wave,mean(G1,2),'m','LineWidth',2),
legend('EPH4-EV','B-MEK-DD','67NR','66CL4','4T1'); %RATÓN
title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de ratón');

```

```

plot(wave,mean(L1,2),'r',wave,mean(M1,2),'g',wave,mean(N1,2),'b',wave,mean(O1,2),'c',...
     wave,mean(P1,2),'m','LineWidth',2),
legend('MCF10A','MCF7','BT-549','MDA-MB-468','MDA-MB-231'); %HUMANO
title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de humano');

```

```

plot(wave,mean(C1,2),'r',wave,c4,'r',wave,mean(D1,2),'g',wave,d4,'g',...
     wave,mean(E1,2),'b',wave,e4,'b',wave,mean(F1,2),'c',wave,f4,'c',...
     wave,mean(G1,2),'m',wave,g4,'m','LineWidth',2),
legend('EPH4-EV','DesvEst EPH4-EV','B-MEK-DD','DesvEst B-MEK-DD','67NR','DesvEst
67NR','66CL4','DesvEst 66CL4','4T1','DesvEst 4T1'); %RATÓN
title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de ratón con desviaciones
estándar');

```

```

plot(wave,mean(L1,2),'r',wave,l4,'r',wave,mean(M1,2),'g',wave,m4,'g',...
     wave,mean(N1,2),'b',wave,n4,'b',wave,mean(O1,2),'c',wave,o4,'c',...
     wave,mean(P1,2),'m',wave,p4,'m','LineWidth',2),...
legend('MCF-10A','DesvEst MCF-10A','MCF-7','DesvEst MCF-7','BT-549',...
'DesvEst BT-549','MDA-MB-468','DesvEst MDA-MB-468','MDA-MB-231','DesvEst MDA-MB-
231'); %HUMANO

```

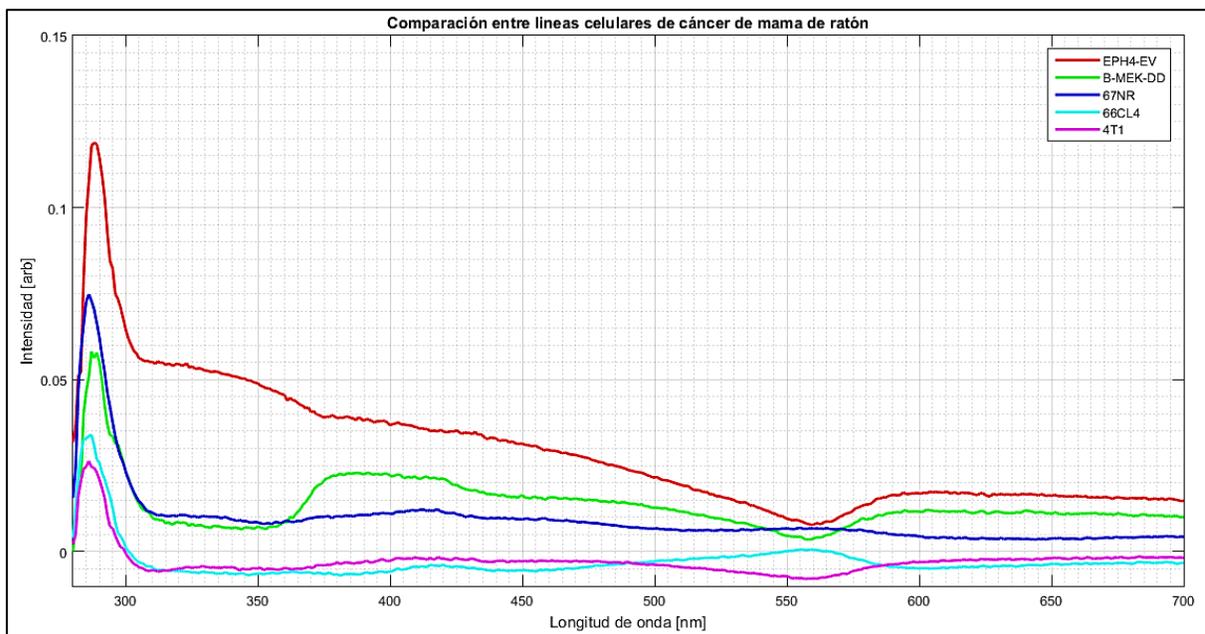
```
title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de humano con desviaciones estándar');
```

```
plot(wave,mean(C1,2),'r',wave,mean(D1,2),'g',wave,mean(E1,2),'b',wave,mean(F1,2),'c',...
      wave,mean(G1,2),'m',wave,mean(L1,2),'r',wave,mean(M1,2),'g',wave,mean(N1,2),'b',...
      wave,mean(O1,2),'c',wave,mean(P1,2),'m','LineWidth',2),...
legend('EPH4-EV','B-MEK-DD','67NR','66CL4','4T1','MCF-10A','MCF-7','BT-549',...
      'MDA-MB-468','MDA-MB-231'); %TODAS LAS LÍNEAS CELULARES
title('Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama');
```

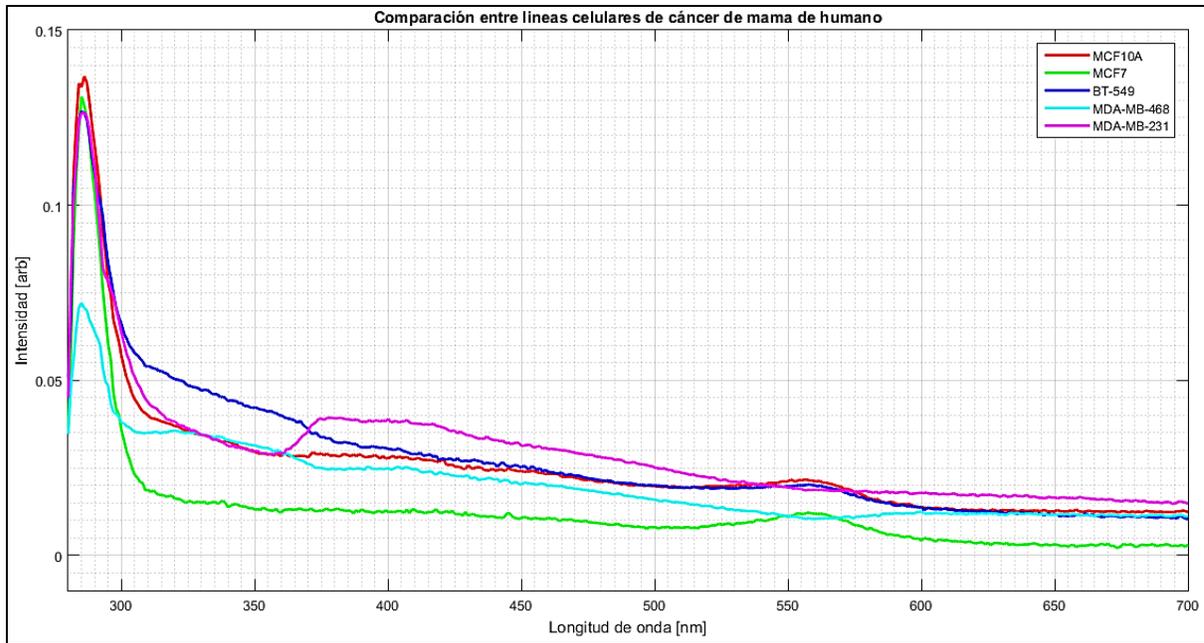
```
grid on
grid minor
xlabel('Longitud de onda [nm]');
ylabel('Intensidad [arb]');
axis([280 700 -0.01 0.15])
```

### 6.3. Lectura del espectro de las líneas celulares de cáncer de mama.

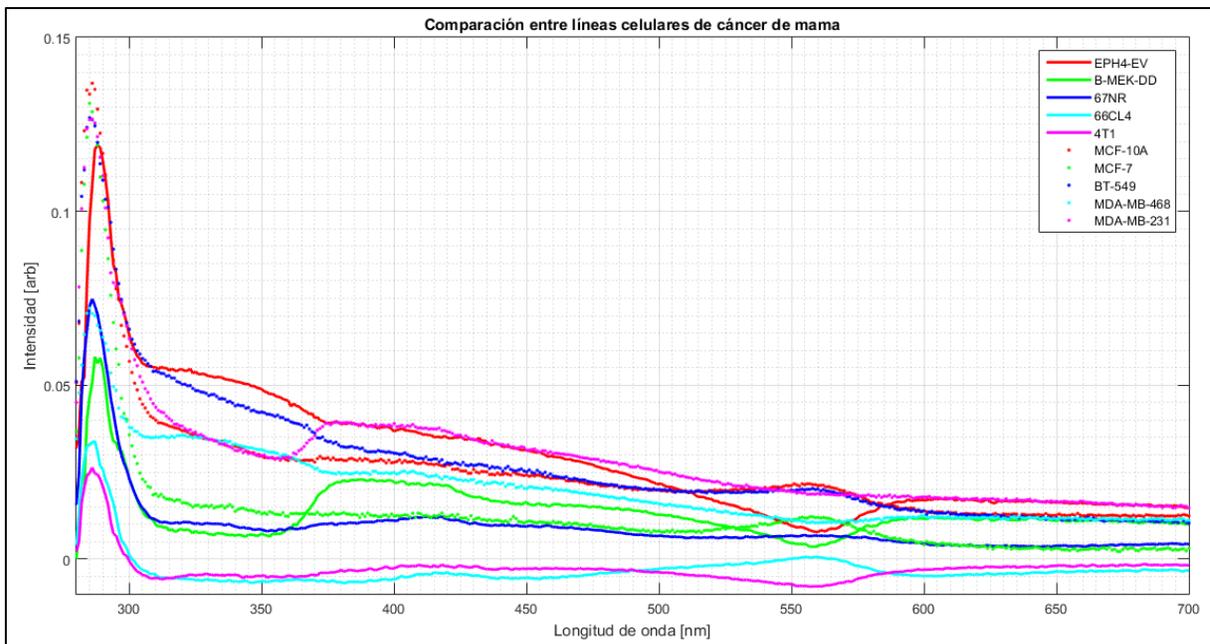
Con ayuda del programa informático presentado en el apartado anterior se lograron obtener dos figuras, las cuales muestran el espectro de las líneas celulares de cáncer de mama de origen murino (Gráfica 2) y de origen humano (Gráfica 3). Mientras que en la Gráfica 4 se presentan las 10 líneas celulares, tomando en cuenta que las señaladas como líneas continuas son de origen murino, mientras que las marcadas como punteadas de origen humano.



Gráfica 2. Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de ratón. La invasividad de las líneas celulares de arriba hacia abajo en la etiqueta de las gráficas: 1) Células sanas (Eph4EV); 2) Células poco invasivas (B-MEK-DD); 3) Células no invasivas (67NR); 4) Células que hacen metástasis en el pulmón (66CL4); 5) Células que hacen metástasis en pulmón, cerebro, hígado, hueso, ganglio linfático, sangre, abdomen (4T1) [81], [76].



Gráfica 3. Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de humano. El subtipo de cáncer de las líneas celulares que se enlistan de arriba hacia abajo en la etiqueta de las gráficas: 1) Células epiteliales normales (MCF10A); 2) Células epiteliales positivas a receptoras de estrógenos (MCF7); 3),4) y 5) Células triple negativo (BT-549, MDA-MB-468, MDA-MB-231) [72], [73], [74], [75].



Gráfica 4. Comparación entre líneas celulares de cáncer de mama de origen murino y humano. Las líneas celulares de cáncer de mama murino se presentan con una línea continua, mientras que las de origen humano se muestran con una línea punteada. Ambos grupos de líneas celulares (murino y humano) se enlistan en orden ascendente con respecto al grado de malignidad de cada especie.

Cabe destacar que los resultados obtenidos se encuentran basados en un criterio aritmético, es decir, sólo se toma en cuenta una resta aritmética de los componentes involucrados en la lectura espectrofotométrica menos todo aquello que no sean células (medio de cultivo y plástico de poliestireno), pero se sabe que una resta así de simple podría carecer de rigor y por lo tanto no se obtendrían resultados concluyentes. No obstante, los resultados obtenidos por medio del lector de microplacas Synergy™ 4 no son despreciables, porque brindan evidencia de la existencia de posibles diferencias espectrales con una desviación estándar aceptable.

De las gráficas anteriores, se comparó y se encontró que entre las diferentes líneas celulares, se pueden apreciar cuatro rangos diferentes de interés, estos son:

- 280 nm – 300 nm.
- 301 nm – 370 nm.
- 371 nm – 400 nm.
- 526 nm – 600 nm.

Sin embargo, es necesario el refinamiento de estas mediciones por medio de mayor cantidad de experimentos independientes para disminuir la desviación estándar.

#### **6.4. Análisis de las diferencias espectrales de las líneas celulares de cáncer de mama según sus características de malignidad.**

Las características espectrales de las moléculas biológicas como los aminoácidos, proteínas, coenzimas y grupos prostéticos nos permiten identificarlos mediante sus espectros de absorción, así como cuantificarlos en el rango espectral correspondiente a sus máximos de absorbancia. Diversas alteraciones metabólicas se han asociado al proceso tumorigénico [2], por lo que el análisis de biomoléculas mediante sus espectros de absorción podría correlacionar con las características biológicas o metabólicas del tumor. Por tanto, el análisis *in vitro* de las líneas celulares de cáncer de mama podría brindar información importante para la identificación de una posible correlación con el subtipo del cáncer y/o su grado de malignidad. En este trabajo se evaluó la factibilidad de encontrar cambios asociados a las características de malignidad en diversas líneas celulares a través de la absorbancia presentada en el rango UV – Visible del espectro electromagnético, siendo el UV el rango en donde las biomoléculas presentan una mayor absorbancia [77], [78], [80].

El diagnóstico de cáncer de mama puede realizarse a través de diversos métodos de detección tales como la autoexploración, examen clínico, mastografía, resonancia magnética, entre otros [27]. No obstante, cuando se busca la determinación del grado de malignidad de un tumor, las principales técnicas de detección de cáncer de mama carecen de la exactitud necesaria para obtener un resultado confiable [10], es decir, depende de la capacidad del personal médico encargado de la determinación del grado de malignidad, con la ayuda de una biopsia practicada por un médico patólogo.

En este trabajo se realizó un estudio espectrofotométrico con 10 líneas celulares de cáncer de mama (cinco de origen humano y cinco de origen murino), se realizó dicha elección tomando en cuenta los subtipos de cáncer al que pertenecen, con el fin de obtener una idea general del comportamiento espectral de estas líneas celulares con respecto a sus características de malignidad.

Con base en el hecho de que el medio intracelular contiene diversas moléculas biológicas, tales como aminoácidos, azúcares y nucleótidos, los cuales, a su vez, presentan espectros de absorción en parte del rango electromagnético comprendido por el UV y el visible [77], el análisis de las líneas celulares de cáncer de mama se enfocó en dicho rango.

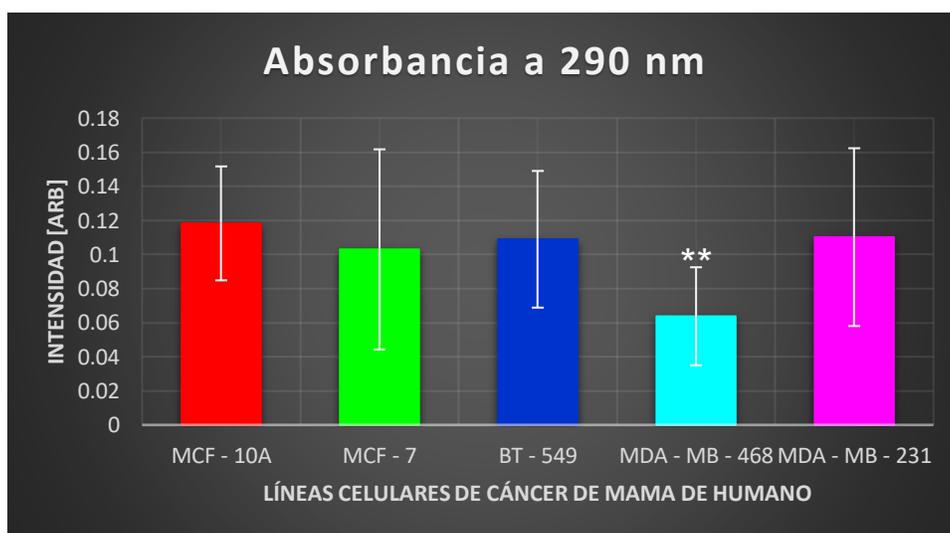
De lo anterior, se sugiere que el análisis espectral de estas líneas celulares puede presentar una buena sensibilidad en el UV cercano, así como en ciertas longitudes de onda del rango visible, con el fin de detectar posibles cambios en los niveles de concentración de dichos compuestos biológicos, siendo ésta un área de interés para el estudio del cáncer de mama debido a una atribución de color según la longitud de onda absorbida [78] y de la cantidad de instrumentos que trabajan en este rango del espectro electromagnético.

Con base en lo anterior, se realizó un análisis en las longitudes de onda promedio en donde se registran las máximas absorbancias de estos compuestos biológicos, los cuales se muestran en las gráficas 5 – 11 para las líneas celulares de origen humano, mientras que para las de origen murino, se muestran en las gráficas 12 – 18.

Cabe destacar que, debido a la resolución máxima de 1 nm del espectrómetro empleado en este proyecto, se debió realizar un ajuste en dos de las longitudes de onda en la que los aminoácidos presentan mayor absorción en el rango visible [77], dicho ajuste se realizó a las longitudes de onda de 403.7 nm y 568.3 nm, redondeando estos números a 403 nm y 568 nm respectivamente.

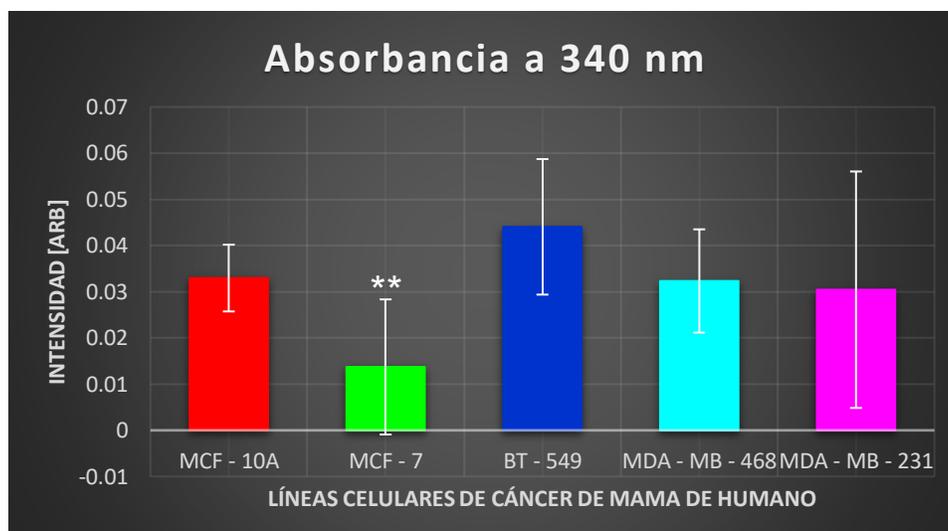
A continuación, se presentan las estadísticas para las longitudes de onda de interés, las cuales se obtuvieron únicamente con dos experimentos independientes ( $n=2$ ). Los autores están conscientes de que esto no representa un resultado estadísticamente válido, debido a que el mínimo de experimentos independientes para validar un experimento es de tres, sin embargo, esto representa una aproximación a los resultados que se obtendrían con experimentos futuros.

Como se puede observar en la Gráfica 5, sólo la línea celular MDA-MB-468 presentó una diferencia significativa en las absorbancias, sin embargo, no se puede relacionar con el subtipo de cáncer de mama al que pertenece, debido a que las otras dos líneas celulares triple negativo (TN), BT-549 y MDA-MB-231, no presentaron una tendencia similar a disminuir su absorción en esta longitud de onda.



Gráfica 5. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 290 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular MCF-10A. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0014$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.

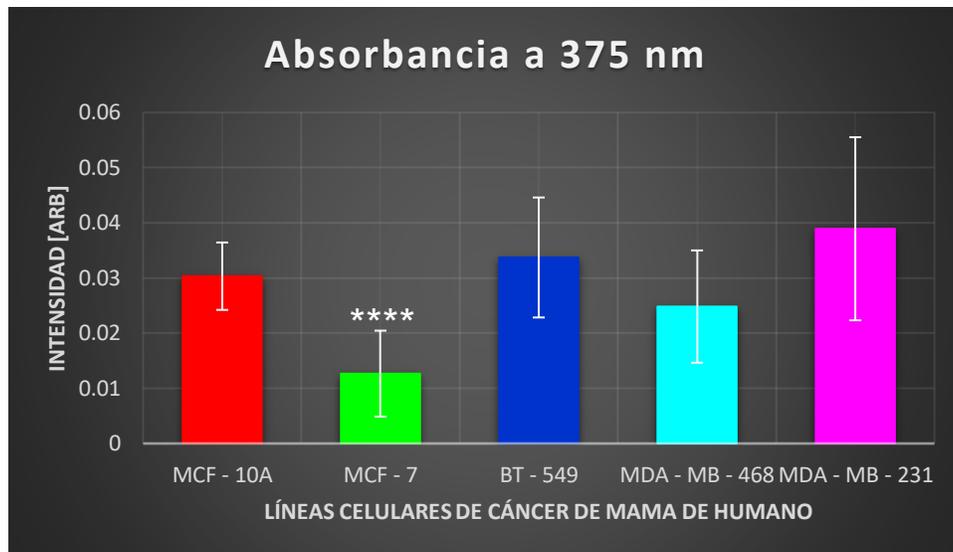
Por su parte, la longitud de onda de 340 nm, representado en la Gráfica 6, se observó una tendencia a disminuir la absorbancia de la línea celular MCF-7. Dado que las coenzimas NADH y NADPH, ambas en su forma reducida, presentaron un máximo de absorción a esta longitud de onda [78], deberá estudiarse una posible diferencia de concentración de las coenzimas o el estado de óxido-reducción de éstas en futuros experimentos.



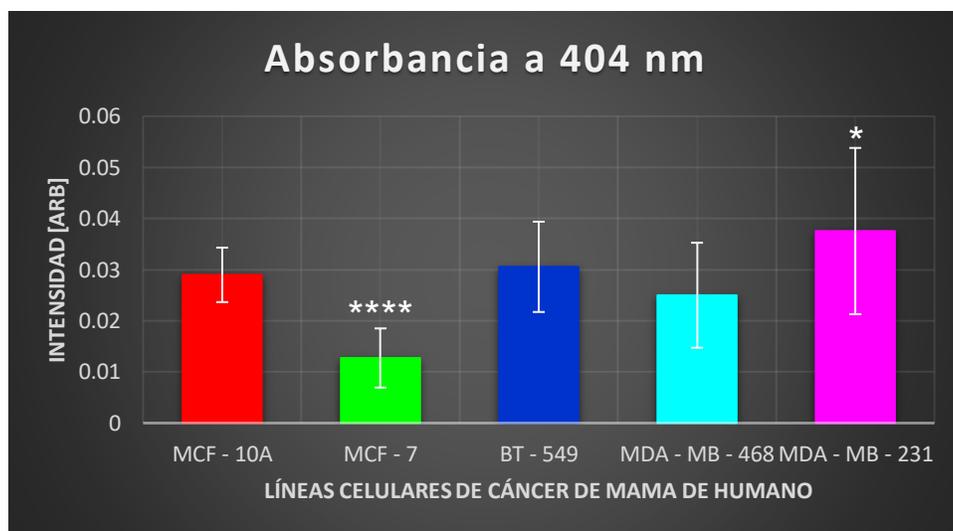
Gráfica 6. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 340 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular MCF-10A. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0018$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.

Así mismo, la absorbancia de la línea celular MCF-7 presentó una tendencia a disminuir en la longitud de onda de 375 nm (Gráfica 7), lo cual es importante debido a que es una de las longitudes de onda donde se encuentra el pico de absorción de los nucleótidos de flavina: flavín adenín dinucleótido (FMN) y flavín mononucleótido (FAD) [78], por lo cual se propone una baja concentración de estos en las líneas celulares positivas a receptores de estrógenos (ER+).

De las absorbancias registradas en la Gráfica 8, a 404 nm, nuevamente la ER+ se encontró con una tendencia a disminuir, lo cual, en este caso puede ser debido a una baja concentración de aminoácidos detectables en esta longitud de onda [77]. Además, la línea celular MDA-MB-231 presentó una tendencia a aumentar dicha concentración, aunque no se puede correlacionar con el subtipo de cáncer TN, ya que las otras dos líneas celulares TN no presentaron esta tendencia.

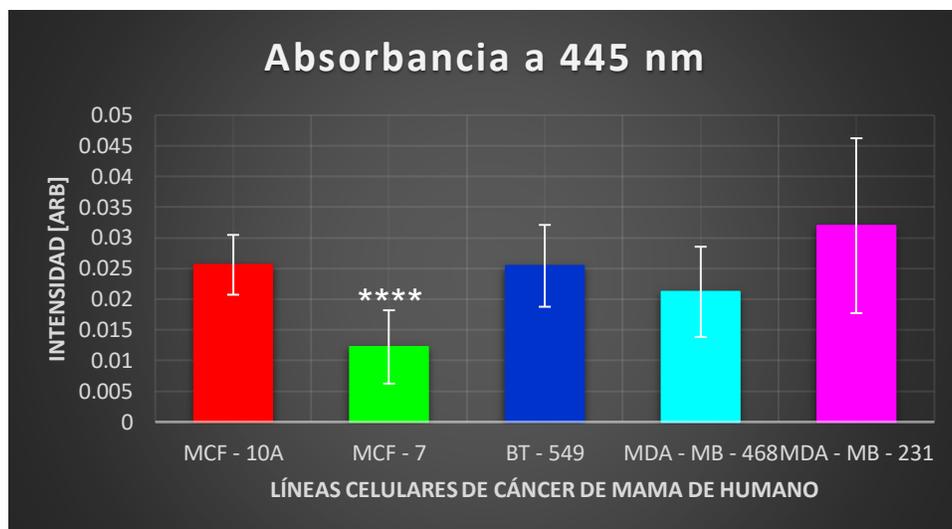


Gráfica 7. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 375 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular MCF-10A. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.

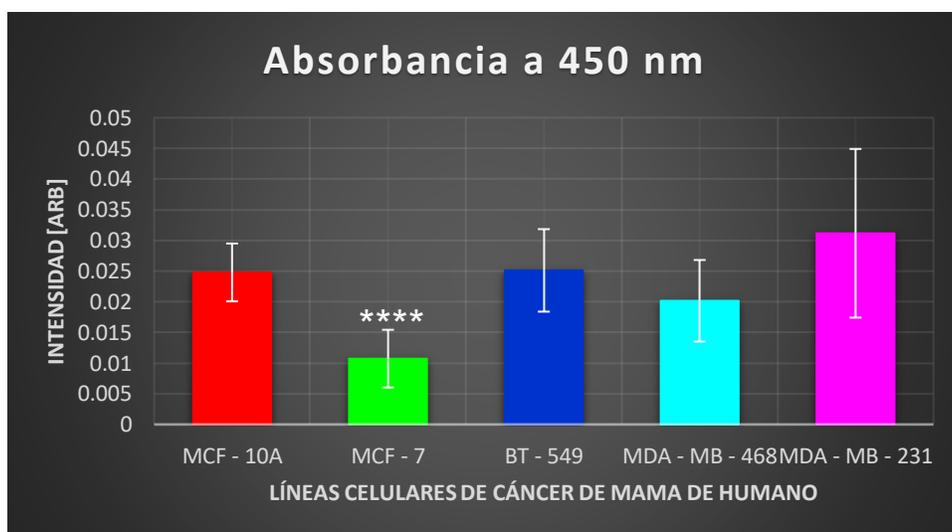


Gráfica 8. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 404 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular MCF-10A. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$  (MCF-7) y  $p = 0.0434$  (MDA-MB-231),  $n=2$ . Anova de una vía.

Del mismo modo, en las gráficas 9 y 10, la línea celular MCF-7 (ER+), mostró una absorbancia con tendencia a disminuir en comparación con la línea celular MCF-10A, las cuales son células epiteliales normales de mama. Al igual que en la longitud de onda de 375 nm, en 445 nm y 450 nm, lo anterior sugiere menores concentraciones de FMN y FAD [78].

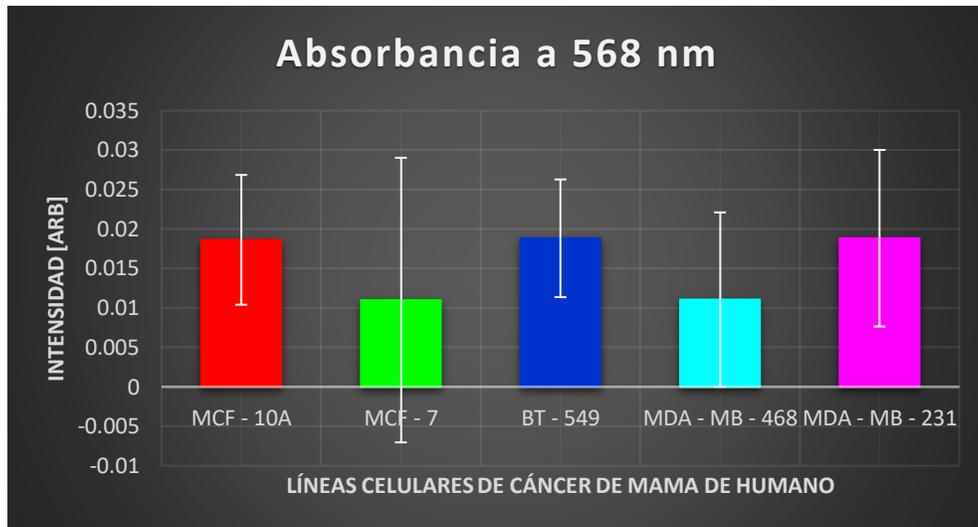


Gráfica 9. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 445 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular MCF-10A. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.



Gráfica 10. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 450 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular MCF-10A. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.

Finalmente, en la longitud de onda de 568 nm (Gráfica 11), no se presentaron posibles cambios de la concentración de aminoácidos presentes en las líneas celulares. Aunque se observa una tendencia a disminuir, la absorbancia en las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-468, no es estadísticamente significativa, por lo que a esta longitud de onda no se encontró correlación alguna con respecto al subtipo de cáncer al que pertenece y/o su característica de malignidad.

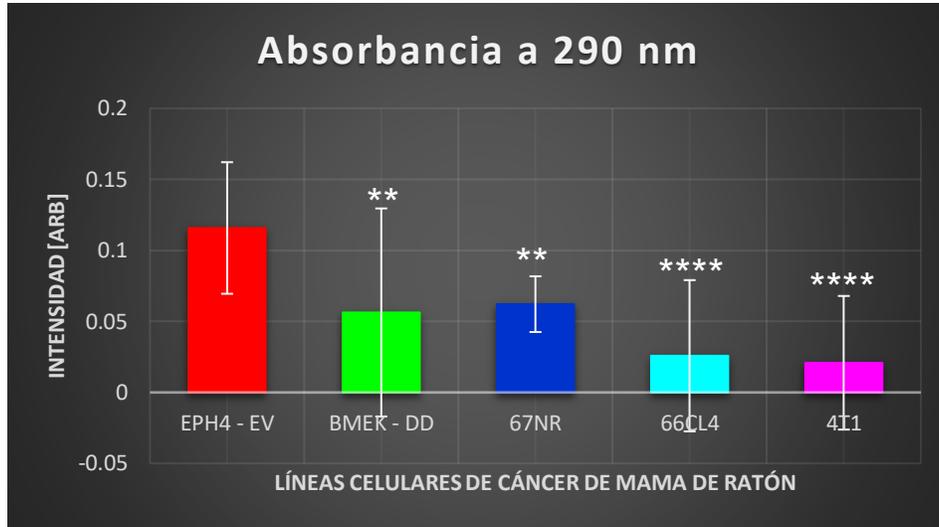


Gráfica 11. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de humano a 568 nm. No se encuentran diferencias estadísticamente significativas.

A continuación, se realiza el análisis de las mismas longitudes de onda presentadas anteriormente, pero ahora en las líneas celulares de cáncer de mama de ratón. Como se podrá observar en las gráficas 12 – 18, se refleja claramente una tendencia a disminuir la absorción de izquierda a derecha.

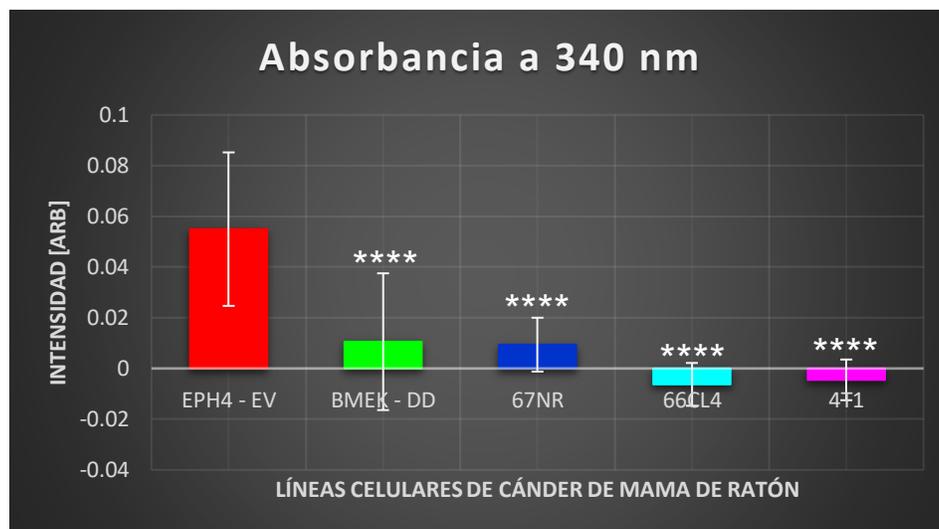
En el caso de las células de ratón, se utilizó como control la línea celular EpH4 – EV, por tratarse de células epiteliales mamarias normales de ratón [81]. A su vez, esta misma línea celular, al ser modificada por la proteína cinasa MEK1 constitutivamente activa, adquiere características de malignidad y se vuelve levemente metastásica [81]. Por su parte, la línea celular 67NR tiene la capacidad de formar tumores, pero no de hacer metástasis; la 66CL4 sólo hace metástasis a pulmón; y la 4T1 hace metástasis a pulmón, hueso, ganglios linfáticos, sangre, abdomen, etc. [76].

Por lo tanto, en la longitud de onda de 290 nm presentada en la Gráfica 12, se observó una tendencia a disminuir la absorción en relación con la capacidad metastásica de las líneas celulares, de tal manera que a mayor metástasis existe una menor absorción, sugiriendo diferencias en la concentración de moléculas que absorben en este rango, como los aminoácidos [77], presentes en el interior de las células.



Gráfica 12. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 290 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0027$  (BMEK-DD),  $p=0.0079$  (67NR),  $p<0.0001$  (66CL4 y 4T1),  $n=2$ . Anova de una vía.

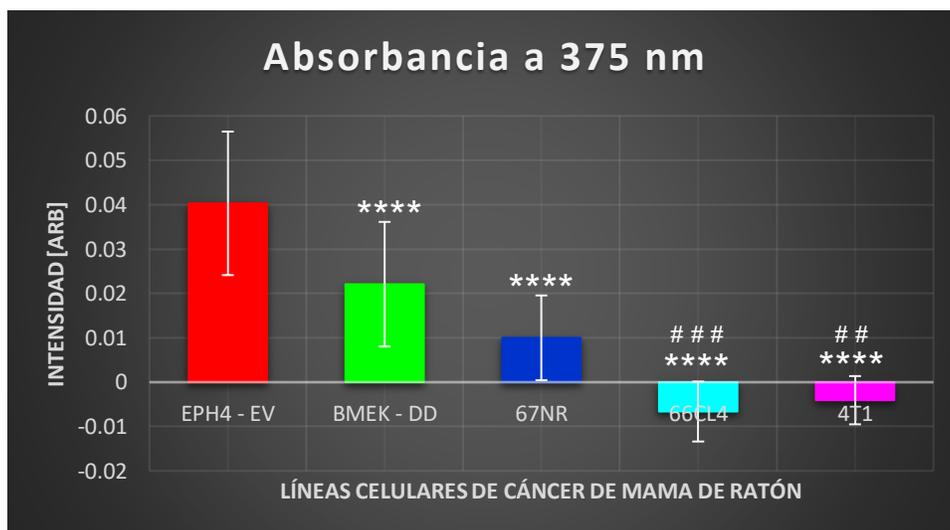
Por otro lado, en la Gráfica 13 se observó un comportamiento diferente a 340 nm. En las líneas celulares TN, las líneas celulares que no presentan características metastásicas presentaron una absorbancia positiva (67NR), contrario a las células que si presentan dicha característica (66CL4 y 4T1), quienes indican una absorbancia negativa. Sugerimos que estos cambios de absorbancia se deban a cambios en la concentración de moléculas que absorben en este rango, como las coenzimas NADH y NADPH [78].



Gráfica 13. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 340 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p<0.0001$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.

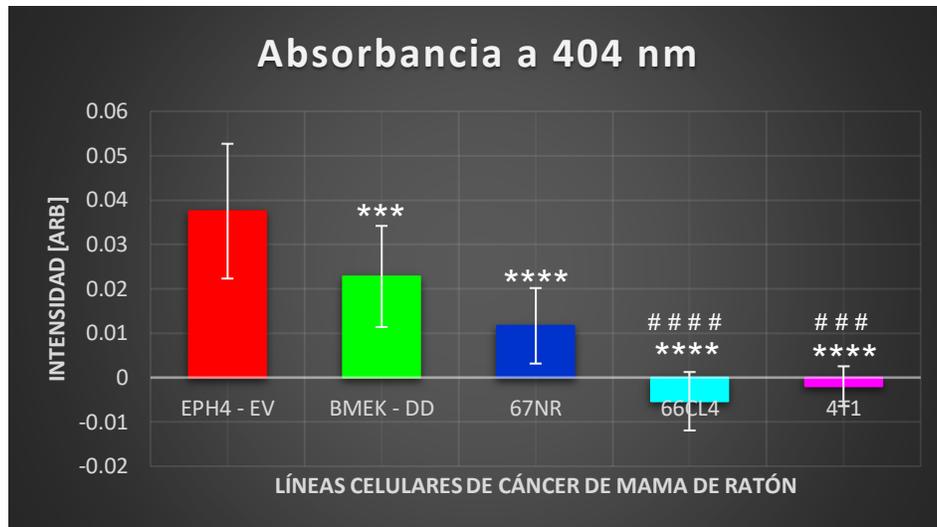
Es importante aclarar que, a pesar de ser ligeramente metastásica [81], la línea celular BMEK-DD solamente es una modificación de la línea celular EPH4-EV, por lo cual no se esperan cambios importantes en la de concentración de las coenzimas mencionadas.

Así mismo, a 375 nm (Gráfica 14), se puede observar un comportamiento similar a la longitud de onda anteriormente analizada, aunque en esta ocasión posiblemente debida a la concentración de los nucleótidos de flavina (FMN y FAD) [78]. Además, se observa en ambas longitudes de onda, dentro de las líneas celulares triple negativo metastásicas (66L4 y 4T1), una tendencia a aumentar su absorción a mayor capacidad metastásica, denotando diferencias estadísticas con respecto a la línea celular tumorigénica no metastásica (67NR).



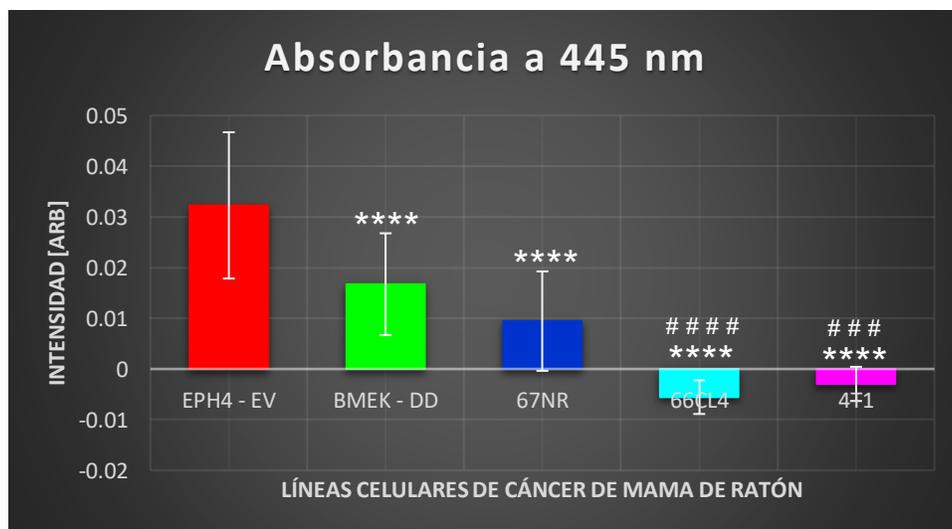
Gráfica 14. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 375 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$ ,  $n=2$ . El símbolo (#) representa la comparación con la línea celular 67NR. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0001$  (66CL4) y  $p=0.0011$  (4T1),  $n=2$ . Anova de una vía.

En la Gráfica 15 se aprecia el análisis a 404 nm, en donde se presentó el mismo comportamiento que en las dos últimas longitudes de onda anteriores, a pesar de ser el rango en donde se identifican algunos aminoácidos [77].

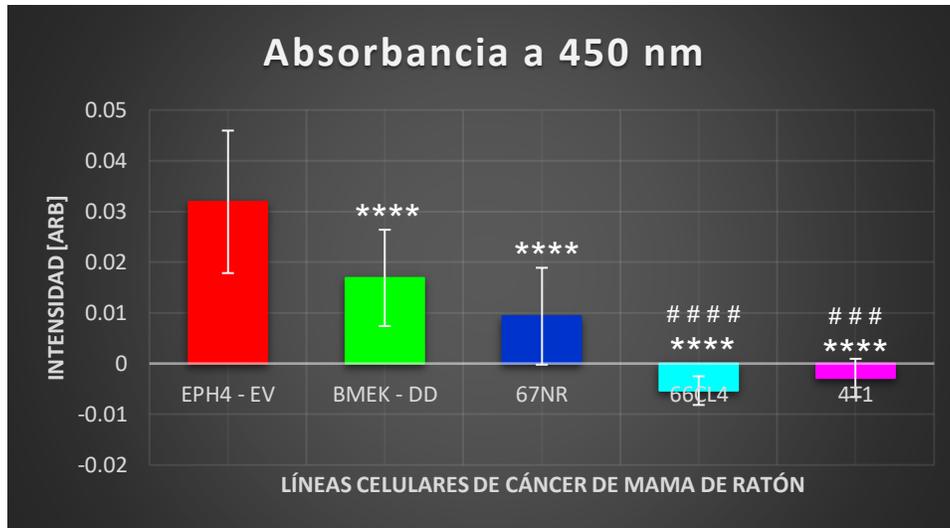


Gráfica 15. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 404 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0001$  (BMEK-DD) y  $p<0.0001$  (67NR, 66CL4, 4T1),  $n=2$ . El símbolo (#) representa la comparación con la línea celular 67NR. Datos mostrados con error estándar donde  $p<0.0001$  (66CL4) y  $p=0.0004$  (4T1),  $n=2$ . Anova de una vía.

Siguiendo con el comportamiento demostrado a 375 nm (Gráfica 14), tanto a 445 nm como a 450 nm (Gráficas 16 y 17), todas siendo longitudes de onda en donde se presenta absorción de los nucleótidos de flavina FMN y FAD [78], las líneas celulares TN no metastásicas tienen una absorbancia positiva, no así las TN metastásicas. Además, estas últimas presentan una tendencia a aumentar su absorción a mayor capacidad metastásica.

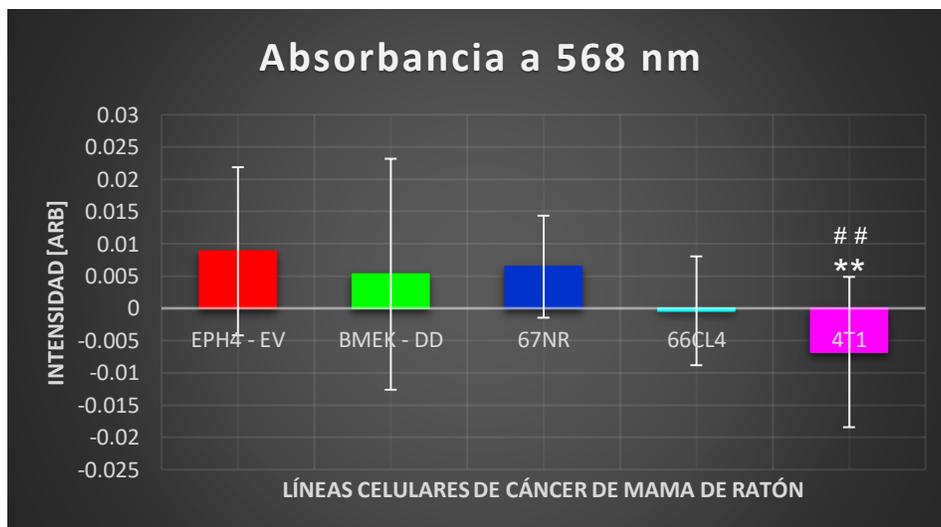


Gráfica 16. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 445 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p<0.0001$ ,  $n=2$ . El símbolo (#) representa la comparación con la línea celular 67NR. Datos mostrados con error estándar donde  $p<0.0001$  (66CL4) y  $p=0.0005$  (4T1),  $n=2$ . Anova de una vía.



Gráfica 17. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 450 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$ ,  $n=2$ . El símbolo (#) representa la comparación con la línea celular 67NR. Datos mostrados con error estándar donde  $p < 0.0001$  (66CL4) y  $p=0.0004$  (4T1),  $n=2$ . Anova de una vía.

Finalmente, en la longitud de onda de 568 nm (Gráfica 18), se observó una tendencia a disminuir la absorción en relación con la capacidad metastásica de las líneas celulares, de tal manera que se sugiere que a mayor capacidad metastásica existe una menor concentración de moléculas que absorben en ese rango, como los aminoácidos [77], aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas, a excepción de la que se presenta en la línea celular 4T1.



Gráfica 18. Análisis espectral de líneas celulares de cáncer de mama de ratón a 568 nm. El símbolo (\*) representa la comparación con la línea celular EPH4-EV. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0011$ ,  $n=2$ . El símbolo (#) representa la comparación con la línea celular 67NR. Datos mostrados con error estándar donde  $p=0.0067$ ,  $n=2$ . Anova de una vía.

## **7. Conclusiones y perspectivas**

### **7.1. Conclusiones**

- Se sugiere que la absorbancia de las líneas celulares de cáncer de mama positivas a receptores de estrógenos (ER+), de origen humano, es menor con respecto a las células epiteliales de mama no tumorigénicas en longitudes de onda dentro del rango UV-A y el visible.
- El comportamiento de las líneas celulares de cáncer de mama triple negativo de origen murino sugiere que a mayor capacidad metastásica existe una menor absorción en el rango UV-B y en el rango Verde – Amarillo del visible.
- Para las líneas celulares de cáncer de mama triple negativo de origen murino, se sugiere que, desde el rango UV-A hasta las longitudes de onda correspondientes con el color azul del visible, la característica de metástasis se presenta como una absorbancia negativa a diferencia de las no metastásicas.

### **7.2. Perspectivas**

- Realizar una mayor cantidad de mediciones espectrales, así como realizar compensaciones por temperatura para disminuir las desviaciones entre diferentes mediciones.
- Emplear un espectrofotómetro con una mayor resolución espectral.
- Extender el rango de longitudes de onda analizadas en el ultravioleta (UV).
- Emplear materiales que no absorban las longitudes de onda en las que se lleven a cabo las mediciones espectrales.

## 8. Anexos

### 9.1 Anexo 1: Reactivos

*Reactivos empleados en medios de cultivo.*

<b>Reactivos</b>	<b>Marca</b>
<b>DMEM/HAM'S F12</b>	Caisson Laboratories, Inc.
<b>Minimum Essential Medium (MEM)</b>	Caisson Laboratories, Inc.
<b>Roswell Park Memorial Institute (RPMI)</b>	Caisson Laboratories, Inc.
<b>Medio DMEM</b>	Caisson Laboratories, Inc.
<b>Suero de caballo</b>	Biowest®
<b>EGF</b>	Peptotech
<b>Hidrocortisona</b>	Sigma
<b>Toxina Colérica</b>	Sigma
<b>Insulina</b>	Sigma - Aldrich
<b>Penicilina/Estreptomicina</b>	Sigma - Aldrich
<b>Suero Bovino Fetal</b>	Biowest®
<b>Suero de Ternera Fetal</b>	Biowest®
<b>Bicarbonato de Sodio</b>	Caisson Laboratories, Inc.

## 9.2 Anexo 2: Medios de cultivos

### *Medio de cultivo para la línea celular MCF-10A.*

<b>Sustancias</b>	<b>Volumen</b>
<b>Medio DMEM/HAM'S F12</b>	100 ml
<b>Suero de caballo</b>	5 ml
<b>EGF 100 µg/ml stock</b>	20 µl
<b>Hidro cortisona</b>	50 µl
<b>Toxina Colérica</b>	10 µl
<b>Insulina</b>	100 µl
<b>Penicilina/Estreptomicina</b>	1 ml

### *Medio de cultivo para la línea celular MCF-7*

<b>Sustancias</b>	<b>Volumen</b>
<b>Medio MEM</b>	100 ml
<b>Suero Bovino Fetal</b>	10%
<b>Penicilina/Estreptomicina 1%</b>	1 ml
<b>Insulina 0.1%</b>	100 µl

### *Medio de cultivo para la línea celular BT-549.*

<b>Sustancias</b>	<b>Volumen</b>
<b>Medio RPMI</b>	100 ml
<b>Suero Bovino Fetal</b>	10%
<b>Insulina 0.2 U/ml</b>	74 µl
<b>Penicilina/Estreptomicina 1%</b>	1 ml

**Medio de cultivo para la línea celular MDA-MB-468 y MDA-MB-231.**

<b>Sustancias</b>	<b>Volumen</b>
<b>Medio DMEM/HAM'S F12</b>	100 ml
<b>Suero Bovino Fetal</b>	10%
<b>Penicilina/Estreptomicina 1%</b>	1 ml

**Medio de cultivo para la línea celular Eph4-Ev y BMEK-DD.**

<b>Sustancias</b>	<b>Volumen</b>
<b>Medio DMEM</b>	100 ml
<b>Suero de Ternera Fetal</b>	10%
<b>Penicilina/Estreptomicina 1%</b>	1 ml

**Medio de cultivo para las líneas celulares 67NR, 66CL4 y 4T1.**

<b>Sustancias</b>	<b>Volumen</b>
<b>Medio DMEM</b>	100 ml
<b>Suero Bovino Fetal</b>	10%
<b>Penicilina/Estreptomicina 1%</b>	1 ml

## 9. Referencias

- [1] National Cancer Institute, «NIH,» 09 febrero 2015. [En línea]. Available: [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov). [Último acceso: 05 diciembre 2018].
- [2] D. Hanahan y R. A. Weinberg, «The Hallmarks of Cancer,» *Cell Press*, vol. 100, pp. 57 - 70, 2000.
- [3] M. E. Brandan y Y. V. Navarro, «Detección del Cáncer de Mama: Estado de la Mamografía en México,» *Cancerología*, vol. 1, nº 3, pp. 147 - 162, 2006.
- [4] F. Ballester y J. M. Udías, «Física Nuclear y Medicina,» *Revista Española de Física*, vol. 22, nº 1, pp. 29 - 36, 2008.
- [5] R. H. Gold, L. W. Bassett y B. E. Widoff, «Highlights from the History of Mammography,» *RadioGraphics*, vol. 10, pp. 1111 - 1131, 1990.
- [6] J. Woo, «A short History of the development of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology,» [En línea]. Available: <http://www.ob-ultrasound.net/history1.html>. [Último acceso: 25 enero 2019].
- [7] International Organization for Medical Physics, «IOMP,» [En línea]. Available: <http://www.iomp.org/?q=node/76>. [Último acceso: 09 diciembre 2018].
- [8] M. Rodríguez, «Física Médica,» de *Fronteras de la Física en el Siglo XXI*, México, D.F., Coplt-arXives, 2013, pp. 359 - 383.
- [9] A. Ariza, *Introducción a la Ingeniería Biomédica*, Universidad Pontificia Bolivariana, 2009.
- [10] A. M. Hassan y M. El-Shenawee, «Review of Electromagnetic Techniques for Breast Cancer Detection,» *IEEE REVIEWS IN BIOMEDICAL ENGINEERING*, vol. 4, pp. 103-118, 2011.
- [11] eurocytology, «eurocytology,» [En línea]. Available: <https://www.eurocytology.eu/es/course/346>. [Último acceso: 13 febrero 2019].
- [12] M. Sopel, «The myoepithelial cell: its role in normalmammary glands and breast cancer,» *Vía Médica*, vol. 69, nº 1, pp. 1 - 14, 2010.
- [13] Escuela de Osteopatía de Madrid, «Histología,» [En línea]. Available: <https://www.escuelaosteopatiamadrid.com/wp-content/uploads/2016/06/apuntesnopr.pdf>. [Último acceso: 14 febrero 2019].
- [14] R. A. Weinberg, *The Biology of Cancer*, New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, 2014.
- [15] H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, S. L. Zipursky y J. Darnell, *Biología Celular y Molecular*, Colombia: Médica Panamericana, 2005.

- [16] K. Polyak, «Breast cancer: origins and evolution,» *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 117, nº 11, pp. 3155 - 3163, 2007.
- [17] D. Allred, S. K. Mohsin y S. A. W. Fuqua, «Histological and biological evolution of human premalignant breast disease,» *Endocrine-Related Cancer*, vol. 8, pp. 47 - 61, 2001.
- [18] P. T. Simpson, J. S. Reis-Filho, T. Gale y S. R. Lakhani, «Molecular evolution of breast cancer,» *Journal of Pathology*, vol. 205, pp. 248 - 254, 2005.
- [19] Breastcancer, «Breastcancer,» 17 septiembre 2012. [En línea]. Available: <https://www.breastcancer.org/es/sintomas/tipos/cdis/diagnostico>. [Último acceso: 14 febrero 2019].
- [20] American Joint Committee On Cancer, *AJCC Cancer Staging Manual*, Chicago: Springer, 2010.
- [21] N. Ramírez-Torres, P. Maycotte-González y R. Rivas-Ruíz, «Evaluación de la clasificación molecular por inmunohistoquímica en cáncer de mama avanzado tratado con epirubicina y docetaxel: diferencias clínicas, patológicas, terapéuticas y pronósticas,» *Gac Mex Oncol*, vol. 17, pp. 15 - 27, 2018.
- [22] A. Goldhirsch, E. P. Winer, A. S. Coates, R. D. Gelber, M. Piccart-Gebhart, B. Thürlimann y S. H. J., «Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013,» *Annals of Oncology*, vol. 24, pp. 2206 - 2223, 2013.
- [23] L. A. Carey, C. M. Perou, C. A. Livasy, L. G. Dressler, D. Cowan, K. Conway, G. Karaca, M. A. Troester, C. K. Tse, S. Edmiston, S. L. Deming, J. Geradts, M. C. U. Cheang y T. O. Nielsen, «Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study,» *American Medical Association*, vol. 295, nº 21, pp. 2492 - 2502, 2006.
- [24] K. McPherson, C. M. Steel y J. M. Dixon, «ABC of Breast Diseases Breast cancer—epidemiology, risk factors, and genetics,» *BMJ*, vol. 321, pp. 624 - 628, 2000.
- [25] S. Rodríguez-Cuevas, C. G. Macías, D. Franceschi y S. Labastida, «Breast Carcinoma Presents a Decade Earlier in Mexican Women than in Women in the United States or European Countries.,» *American Cancer Society*, vol. 91, nº 4, pp. 863 - 868, 2001.
- [26] A. L. Calderón Garcidueñas, F. U. Parás Barrientos, L. Cárdenas Ibarra, J. F. González Guerrero, E. Villarreal, T. Staines Boone y H. A. Barrera Saldaña, «Risk factors of breast cancer in Mexican women,» *Salud Pública de México*, vol. 42, nº 1, pp. 26 - 33, 2000.
- [27] Secretaría de Salud, «NOM-041-SSA2-2011,» 9 junio 2011. [En línea]. Available: [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/equipoMedico/normas/NOM\\_041\\_SSA2\\_2011.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/equipoMedico/normas/NOM_041_SSA2_2011.pdf). [Último acceso: 30 octubre 2018].

- [28] D. Ortega-Altamirano, L. López-Carrillo y M. López-Cervantes, «Estrategias para la enseñanza del autoexamen del seno a mujeres en edad reproductiva,» *salud pública de méxico*, vol. 42, nº 1, pp. 17 - 25, 2000.
- [29] P. A. van Dam, M. L. A. Van Goethem, E. Kersschot, J. Vervliet, I. B. M. Van den Beyver, A. De Schepper y P. Buytaert, «Palpable Solid Breast Masses Retrospective Single and Multimodality Evaluation of 201 Lesions,» *Radiology*, vol. 166, pp. 435 - 439, 1988.
- [30] C. M. Ronckers, C. A. Erdmann y C. E. Land, «Radiation and breast cancer: a review of current evidence,» *Breast Cancer Res*, vol. 7, nº 1, pp. 21 - 32, 2004.
- [31] J. Geisel, M. Raghu y R. Hooley, «The Role of US in Breast Cancer Screening: The Case For and Against Ultrasound,» vol. 39, nº 1, pp. 25 - 34, 2018.
- [32] R. M. Ali, A. England, C. E. Mercer, A. Tootell y P. Hogg, «Calculating Individual Lifetime Effective Risk from Initial Mean Glandular Dose Arising from the First Screening Mammogram,» *Journal of Medical Imaging and Radiation Sciences*, vol. 49, pp. 406 - 413, 2018.
- [33] P. B. Gordon, «Ultrasound for breast cancer screening and staging,» *Radiol Clin N Am*, vol. 40, nº 3, pp. 431 - 441, 2002.
- [34] J. D. Bronzino, *The Biomedical Engineering Handbook: Medical Devices and Systems*, Florida: Taylor & Francis Group, LLC, 2006.
- [35] D. R. Dance, «Physical Principles of Mammography,» de *Physics for Medical Imaging Applications*, Springer, 2007, pp. 355 - 365.
- [36] H. Venables, «How does ultrasound work?,» *Ultrasound*, vol. 19, nº 1, pp. 44 - 49, 2011.
- [37] G. Michael, «X-ray computed tomography,» *Phys. Educ.*, vol. 36, nº 6, pp. 442 - 451, 2001.
- [38] National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering , «NIH,» julio 2013. [En línea]. Available: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/computed-tomography-ct>. [Último acceso: 20 febrero 2019].
- [39] J. C. Ramírez Giraldo, C. Arboleda Clavijo y C. H. McCollough, «Tomografía computarizada por rayos X: fundamentos y actualidad,» *Revista Ingeniería Biomédica*, vol. 2, nº 4, pp. 13 - 31, 2008.
- [40] S. S. Gambhir, «Molecular imaging of cancer with positron emission tomography,» *NATURE REVIEWS*, vol. 2, pp. 683 - 693, 2002.
- [41] S. R. Cherry, «Fundamentals of Positron Emission Tomography and Applications in Preclinical Drug Development,» *J Clin Pharmacol*, vol. 41, pp. 482 - 491, 2001.
- [42] Intercollegiate Standing Committee on Nuclear Medicine, *Positron emission tomography: A strategy for provision in the UK*, Great Britain: Sarum ColourView Group, Salisbury, Wiltshire, 2003.

- [43] J. D. Enderle, S. M. Blanchard y J. D. Bronzino, *Introduction to Biomedical Engineering*, San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.
- [44] D. L. Bailey, D. W. Townsend, P. E. Valk y M. N. Maisey, *Positron Emission Tomography*, Singapore: Springer, 2005.
- [45] A. Berger, «How Does the Magnetic Resonance Imaging Works?,» *BMJ*, vol. 324, p. 35, 2002.
- [46] R.-J. M. van Geuns, P. A. Wielopolski, H. G. de Bruin, B. J. Rensing, P. M. van Ooijen, M. Hulshoff, M. Oudkerk y P. J. de Feyter, «Basic Principles of Magnetic Resonance Imaging,» *Progress in Cardiovascular Diseases*, vol. 42, nº 2, pp. 149 - 156, 1999.
- [47] V. P. Grover, J. M. Tognarelli, M. M. Crossey, I. J. Cox, S. D. Taylor-Robinson y M. J. McPhail, «Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians,» *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, vol. 5, nº 3, pp. 246 - 255, 2015.
- [48] W. A. Berg, L. Gutierrez, M. S. NessAiver, W. B. Carter, M. Bhargavan, R. S. Lewis y O. B. Ioffe, «Diagnostic Accuracy of Mammography, Clinical Examination, US, and MR Imaging in Preoperative Assessment of Breast Cancer,» *Radiology*, vol. 233, nº 3, pp. 830 - 849, 2004.
- [49] P. T. Huynb, A. M. Jarolimek y S. Daye, «The False - negative Mammogram,» *RadioGraphics*, vol. 18, nº 5, pp. 1137 - 1154, 1998.
- [50] A. Berrington de González y S. Darby, «Risk of cancer from diagnostic X-rays: estimates for the UK and 14 other countries,» *Lancet*, vol. 363, nº 9406, pp. 345 - 351, 2004.
- [51] L. López-Carrillo, L. Torres-Sánchez, M. López-Cervantes y C. Rueda-Neria, «Identificación de Lesiones Mamarias Malignas en México,» *Salud Pública México*, vol. 43, nº 3, pp. 199-202, 2001.
- [52] S. G. Orel y M. D. Schnall, «MR Imaging of the Breast for the Detection, Diagnosis, and Staging of Breast Cancer,» *Radiology*, vol. 220, nº 1, pp. 13 - 30, 2001.
- [53] D. M. Ikeda, D. R. Baker y B. L. Daniel, «Magnetic Resonance Imaging of Breast Cancer: Clinical Indications and Breast MRI Reporting System,» *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 12, pp. 975 - 983, 2000.
- [54] E. C. Fear, S. C. Hagness, P. M. Meaney, M. Okoniewski y M. A. Stuchly, «Enhancing breast tumor detection with near-field imaging,» *IEEE microwave magazine*, vol. 3, nº 1, pp. 48 - 56, 2002.
- [55] S. P. Poplack, T. D. Tosteson, W. A. Wells, B. W. Pogue, P. M. Meaney, A. Hartov, C. A. Kogel, S. K. Soho, J. J. Gibson y K. D. Paulsen, «Electromagnetic Breast Imaging: Results of a Pilot Study in Women with Abnormal Mammograms,» *Radiology*, vol. 243, nº 2, pp. 350 - 359, 2007.
- [56] E. Y. K. Ng, S. V. Sree, K. H. Ng y G. Kaw, «The Use of Tissue Electrical Characteristics for Breast Cancer Detection: A Perspective Review,» *Technology in Cancer Research and Treatment*, vol. 7, nº 4, pp. 295 - 308, 2008.

- [57] T. E. Kerner, K. D. Paulsen, A. Hartov, S. K. Soho y S. P. Poplack, «Electrical Impedance Spectroscopy of the Breast: Clinical Imaging Results in 26 Subjects,» *IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING*, vol. 21, nº 6, pp. 638 - 645, 2002.
- [58] T.-J. Kao, G. J. Saulnier, H. Xia, C. Tamma, J. C. Newell y D. Isaacson, «A compensated radiolucent electrode array for combined EIT and mammography,» *Physiol. Meas.*, vol. 28, nº 7, pp. S291 - S299, 2007.
- [59] G. Boverman, D. Isaacson, G. J. Saulnier y J. C. Newell, «Methods for Compensating for Variable Electrode Contact in EIT,» *IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING*, vol. 56, nº 12, pp. 2762 - 2772, 2009.
- [60] S. van de Ven, S. Elias, A. Wiethoff, M. van der Voort, A. Leproux, T. Nielsen, B. Brendel, L. Bakker, M. van der Mark, W. Mali y P. Luijten, «Diffuse Optical Tomography of the Breast: Initial Validation in Benign Cysts,» *Mol Imaging Biol*, vol. 11, nº 2, pp. 64 - 70, 2009.
- [61] N. Nishida, H. Yano, T. Nishida, T. Kamura y M. Kojiro, «Angiogenesis in Cancer,» *Vascular Health and Risk Management*, vol. 2, nº 3, pp. 213 - 219, 2006.
- [62] K. L. CARR, «Microwave Radiometry: Its Importance to the Detection of Cancer,» *IEEE TRANSACTIONS ON MICROWAVE THEORY AND TECHNIQUES*, vol. 37, nº 12, pp. 1862 - 1869, 1989.
- [63] F. Bardati y S. Iudicello, «Modeling the Visibility of Breast Malignancy by a Microwave Radiometer,» *IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING*, vol. 55, nº 1, pp. 214 - 221, 2008.
- [64] M. Faupel, D. Vanel, V. Barth, R. Davies, I. S. Fentiman, R. Holland, J. L. Lamarque, V. Sacchini y I. Schreer, «Electropotential evaluation as a new technique for diagnosis breast lesions,» *European Journal of Radiology*, vol. 24, pp. 33 - 38, 1997.
- [65] V. S. Subbhuraam, E. Y. K. Ng, G. Kaw, R. Acharya y B. K. Chong, «Evaluation of the Efficiency of Biofield Diagnostic System in Breast Cancer Detection Using Clinical Study Results and Classifiers,» *J Med Syst*, vol. 36, pp. 15 - 24, 2012.
- [66] J. Cuzick, R. Holland, V. Barth, R. Davies, M. Faupel, I. Fentiman, H. J. Frischbier, J. L. LaMarque, M. Merson, V. Sacchini, D. Vanel y U. Veronesi, «Electropotential measurements as a new diagnostic modality for breast cancer,» *THE LANCET*, vol. 352, pp. 359 - 363, 1998.
- [67] P. Anastasiadis, P. Anninos y E. Sivridis, «Biomagnetic activity in breast lesions,» *The breast*, vol. 3, pp. 177 - 180, 1994.
- [68] E. R. Flynn y H. C. Bryant, «A biomagnetic system for in vivo cancer imaging,» *Phys. Med. Biol.*, vol. 50, nº 6, pp. 1273 - 1293, 2005.
- [69] P. A. Anninos, G. Anogianakis, K. Lehnertz, C. Pantev y M. Moke, «Biomagnetic measurements using squids,» *Int J Neurosci*, vol. 37, pp. 149 - 168, 1987.

- [70] International Agency for Research on Cancer, «Global Cancer Observatory,» World Health Organization, septiembre 2018. [En línea]. Available: <https://gco.iarc.fr/>. [Último acceso: 29 octubre 2018].
- [71] invitrogen, CELL CULTURE BASICS.
- [72] K. M. Imbalzano, I. Tatarkova, A. N. Imbalzano y J. A. Nickerson, «Increasingly transformed MCF-10A cells have a progressively tumor-like phenotype in three-dimensional basement membrane culture,» *Cancer Cell International*, vol. 9, nº 1, 2009.
- [73] D. L. Holliday y V. Speirs, «Choosing the right cell line for breast cancer research,» *Breast Cancer Research*, vol. 13, nº 4, 2011.
- [74] A. DE LIMA MOTA, A. F. EVANGELISTA, T. MACEDO, R. OLIVEIRA, C. SCAPULATEMPO-NETO, R. A. D. C. VIEIRA y M. M. CHIQUITELLI MARQUES, «Molecular characterization of breast cancer cell lines by clinical immunohistochemical markers by clinical immunohistochemical markers,» *ONCOLOGY LETTERS*, vol. 13, pp. 4708 - 4712, 2017.
- [75] C. R. Tate, L. V. Rhodes, H. C. Segar, J. L. Driver, F. N. Pounder, M. E. Burow y B. M. Collins-Burow, «Targeting triple-negative breast cancer cells with the histone deacetylase inhibitor panobinostat,» *Breast Cancer Research*, vol. 14, nº 3, 2012.
- [76] Y. Lou, O. Preobrazhenska, U. a. d. Keller, M. Sutcliffe, L. Barclay, P. C. McDonald, C. Roskelley, C. M. Overall y S. Dedhar, «Epithelial–Mesenchymal Transition (EMT) Is Not Sufficient for Spontaneous Murine Breast Cancer Metastasis,» *DEVELOPMENTAL DYNAMICS*, vol. 237, pp. 2755 - 2768, 2008.
- [77] D. I. Seracu, «The Study of UV and VIS Absorption Spectra of the Complexes of Amino Acids with Ninhydrin,» *Analytical Letters*, vol. 20, nº 9, pp. 1417 - 1428, 1987.
- [78] R. Koplík, «Advanced strategies in food analysis, UV/VIS spectrometry».
- [79] GraphPad Software, Inc., «GraphPad,» [En línea]. Available: [https://www.graphpad.com/guides/prism/7/statistics/index.htm?stat\\_multiplicity\\_adjusted\\_p\\_values.htm](https://www.graphpad.com/guides/prism/7/statistics/index.htm?stat_multiplicity_adjusted_p_values.htm). [Último acceso: 28 abril 2019].
- [80] L. Kaijanen, M. Paakkunainen, S. Pietarinen, E. Jernström y S.-P. Reinikainen, «Ultraviolet Detection of Monosaccharides: Multiple Wavelength Strategy to Evaluate Results after Capillary Zone Electrophoretic Separation,» *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 10, pp. 2950 - 2961, 2015.
- [81] J. Pinkas y P. Leder, «MEK1 Signaling Mediates Transformation and Metastasis of Eph4 Mammary Epithelial Cells Independent of an Epithelial to Mesenchymal Transition,» *CANCER RESEARCH*, vol. 62, pp. 4781 - 4790, 2002.