



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL "DR. IGNACIO MORONES PRIETO"

Trabajo de investigación para obtener el diploma en la especialidad de Ginecología y
Obstetricia

**"IDENTIFICACIÓN DE PATRONES MATABOLÓMICOS EN ORINA EN PACIENTES
CON CÁNCER DE MAMA POSTERIOR AL TRATAMIENTO"**

Edson Artemio Rodríguez Govea

DIRECTOR CLÍNICO
DR. JOSÉ DE JESUS ZERMEÑO NAVA

DIRECTOR METODOLÓGICO
DR. FRANCISCO JAVIER PÉREZ VÁZQUEZ
DR. CÉSAR ARTURO ILIZALITURRI HERNANDEZ

FEBRERO 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”

Trabajo de investigación para obtener el diploma en la especialidad de Ginecología y
Obstetricia

**“Identificación de patrones metabólicos en orina en pacientes con cáncer de
mama posterior al tratamiento”**

Edson Artemio Rodríguez Govea

No. de CVU del CONACYT 952869; Identificador de ORCID 0000-0003-2468-6919

DIRECTOR CLÍNICO

Dr. José de Jesús Zermeño Nava
Identificador de ORCID0000-0001-6938-0716

DIRECTOR METODOLÓGICO

Dr. Francisco Javier Pérez Vázquez

Dr. César Arturo Ilizaliturri Hernández

Identificador de ORCID 0000-0001-9775-1254

SINODALES

Dr. Willy Tonatíuh Escalante Silva
Ginecología Oncológica
Presidente

Dr. Efraín Cruz Rodríguez
Ginecología Oncológica
Sinodal

Dr. Julio Castelo Ruelas
Biología de la Reproducción
Sinodal

Dra. Rosa Margarita Jiménez Esquivel
Biología de la Reproducción
Sinodal suplente

Febrero 2022





“Identificación de patrones metabólicos en orina en pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento por Edson Artemio Rodríguez Govea se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Resumen:

Objetivo: Mediante el uso de herramientas metabolómicas se busca determinar si existe un patrón en la expresión de metabolomas en orina en las pacientes que se encuentran en seguimiento, de este modo a largo plazo desarrollar una prueba para la detección de recurrencia de cáncer de mama.

Sujetos y métodos: El estudio se realizó en el departamento de Ginecología Oncológica perteneciente a la división de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” de San Luis Potosí en conjunto con el laboratorio de de la Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACyT) perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Se incluyeron pacientes con cáncer de mama de primera vez y pacientes que ya había concluido su tratamiento que cumplieron los criterios de inclusión , mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas se determinaron los metabolomas presentes en orina.

Resultados: Se incluyeron para el análisis de metabolitos 15 pacientes, se dividieron en 3 grupos de acuerdo a si había recibido o no tratamiento, se observó de acuerdo a los patrones metabolómicos una separación en grupos (PV: Primeva vez, C: En seguimiento sin uso de quimioterapia adyuvante y QT: Pacientes en seguimiento que en su abordaje se les otorgó quimioterapia adyuvante) de acuerdo a la presencia de metabolitos, esta diferencia sólo fue estadísticamente significativa entre el grupo PV y QT ($P=0.03$). Adicionalmente se evaluó el patrón expresado por 3 pacientes con diagnóstico de recurrencia, observando una separación entre grupos.

Conclusiones: De acuerdo al resultado obtenido se observa un patrón en la distribución de los compuestos encontrados en la orina de pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento el cual es diferente a las pacientes con cáncer de mama que no han recibido ningun tipo de tratamiento, sin embargo se debe de considerar con cautela este resultado debido a que se ingresó una baja cantidad de pacientes en el análisis.

Palabras clave: Breast cancer, metabolomic markers, follow up

ÍNDICE

	Página
Resumen	1
Índice	2
Lista de cuadros	4
Lista de figuras	5
Lista de abreviaturas	6
Lista de definiciones	7
Dedicatorias	9
Reconocimientos	10
Antecedentes	11
Justificación	22
Hipótesis	23
Objetivos	23
Sujetos y métodos	24
Análisis estadístico	30
Ética	31

Resultados	32
Discusión	49
Limitaciones y/o nuevas perspectivas de investigación	52
Conclusiones	52
Bibliografía	53
Anexos	57

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Cuadro de variables	10
Cuadro 2. Características clínicas e histopatológicas de pacientes con cáncer de mama primera vez y seguimiento.	33
Cuadro 3. Tipos de tratamiento otorgado	35
Cuadro 4. Datos clínicos y estudios de extensión de seguimiento en pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento.	36
Cuadro 5. Características clínicas e histopatológicas de pacientes incluidas en el análisis para la determinación del patrón metabólico.	39
Cuadro 6. Tipos de tratamiento otorgado en pacientes con determinación de patrones metabólicos.	40
Cuadro 7. Resultado de mamografía de seguimiento.....	41
Cuadro 8. Compuestos identificados con cromatografía de gases, en muestras de orina de pacientes incluidas en el análisis.....	42
Cuadro 9. Análisis PERMANOVA entre grupos de estudio.....	44
Cuadro 10. Metabolitos con mayor contribución y porcentaje de contribución por grupo	45
Cuadro 11: Metabolitos con mayor contribución a la diferencia entre grupo de primera vez y pacientes tratadas con quimioterapia adyuvante.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Tipo molecular determinado por inmunohistoquímica en pacientes con cáncer de mama en seguimiento posterior al tratamiento	34
Figura 2. Otros estudios de extensión durante el seguimiento en los últimos 12 meses	37
Figura 3. Análisis de Coordenadas Principales (PCO)	44
Figura 4. Análisis Canónico de Coordenadas Principales (CAP).....	47
Figura 5. Ubicación de muestras problema en análisis canónico de compuestos principales	49

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- **IMC:** Índice de masa corporal
- **BIRADS:** Breast Imaging Reporting and Data System
- **RE:** Receptores de estrógeno
- **RP:** Receptores de progesterona
- **HER-2:** Receptor del del factor de crecimiento humano
- **BRCA:**
- **RR:** Riesgo relativo
- **ENSANUT:** Encuesta Nacional de Salud
- **ACR:** American College of Radiology
- **TNM:** Tumor, Nódulos, Metástasis
- **AJCC:** American Joint Committe on Cancer
- **ARN:** Ácido ribonucleico
- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **PET:** Tomografía por emission de positrones.
- **VOC:** Compuestos orgánicos volátiles
- **SPME:** Microextracción en fase sólida
- **GC-MS:** Cromatografía de gases

LISTA DE DEFINICIONES

- **Cáncer de mama:** Enfermedad en la cual las células de la mama se multiplican sin control.
- **Histopatología:** Estudio histológico de los tejidos enfermos
- **Invasión Linfovascular:** Presencia de células neoplásicas en los vasos sanguíneos y/o linfáticos en el tumor.
- **Invasión perineural:** Presencia de células neoplásicas en las terminales nerviosas en proximidad del tumor.
- **Grado histológico:** Descripción de un tumor según cuán anormales se ven las células y los tejidos cancerosos.
- **Tipo Molecular:** Clasificación del cáncer de mama de acuerdo a la expresión o ausencia de receptores de estrógeno, progesterona y factor de crecimiento epidérmico Her-2.
- **Etapa clínica:** Clasificación de la extensión de la enfermedad de acuerdo a las características del tumor primario, afección a ganglios linfáticos regionales u otros órganos a distancia.
- **Mamografía:** Exploración radiográfica de las mamas de una mujer.
- **Menopausia:** Cese permanente de la menstruación, tras un periodo de doce meses consecutivos de amenorrea, sin otra causa aparente patológica
- **Recurrencia:** Presencia de enfermedad posterior a un periodo de haber concluido el tratamiento.
- **Quimioterapia:** Uso de fármacos para eliminar células cancerosas.
- **Radioterapia:** Uso de radiación de energía alta de rayos X, rayos gamma, neutrones, protones y otras fuentes para destruir células cancerosas y reducir el tamaño de los tumores
- **Terapia Biológica:** Tratamiento que estimula o inhibe sistema inmunitario o dirigido a células cancerosas específicas para eliminarlas o disminuir su proliferación.

- **Terapia endocrina:** Tratamiento que agrega, bloquea o extrae hormonas.
- **Neoadyuvante:** Uso de tratamiento farmacológico previo a una intervención quirúrgica.
- **Adyuvante:** Tratamiento adicional para el cáncer que se administra después del tratamiento primario para disminuir el riesgo de que el cáncer vuelva.
- **Cromatografía de gases:** Técnica de separación y análisis de mezclas de sustancias volátiles
- **Compuestos orgánicos volátiles:** Hidrocarburos que se presentan en estado gaseoso a la temperatura ambiente normal.

Dedicatorias

A mi familia que durante todo este camino me han brindado su apoyo y son una fuente de motivación.

A mi padre Artemio , aunque ya no esté siempre es un ejemplo por su entrega a apoyar a quien lo necesite, agradezco su apoyo y la mejor herencia que me pudo haber dado, la educación.

A mi madre Lupita , por brindarme las herramientas necesarias para concretar todas mis metas, por ser siempre el ejemplo de superación y enseñarme a ver mas allá y no quedarme en una zona de confort.

A José Adrián, por estar en todo momento y siempre creer en mí.

A mis compañeros de residencia que en este proceso se convirtieron en mis amigos dentro y fuera del hospital.

Agradecimientos:

Agradezco a mis maestros por brindarme sus conocimientos y experiencia claves en mi formación como profesional de la salud.

Al Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” que se convirtió en mi segundo hogar desde el pregrado hasta esta etapa y me ha permitido desarrollarme profesionalmente.

Al personal del Hospital por su entrega en el trabajo realizado día con día.

A mis compañeros residentes de años superiores e inferiores por su aportación a este proceso de aprendizaje.

Reconocimientos

Al personal de CIACYT claves en el desarrollo de este trabajo de investigación que a pesar de las adversidades se logró un resultado que fomentará el desarrollo de nuevos trabajos de investigación.

1. Antecedentes

El cáncer de mama es una enfermedad en la que ocurre una pérdida de la homeostasia de las células del epitelio de los conductos o lobulillos mamarios , estas células cancerosas tienen la capacidad de generar un microambiente tumoral que les permite aumentar su movilidad y así conseguir la migración celular invadiendo el estroma adyacente y subsecuentemente hacia los vasos sanguíneos y linfáticos presentando un proceso de adaptación en su trayecto y conseguir extravasación hacia órganos blanco y ganglios linfáticos para después crecer y desarrollar metástasis.(1,2)

En el 2020, de acuerdo con los reportes del GLOBOCAN 2020 el cáncer de mama causó la muerte de más de 600,000 mujeres, el 70% de estas muertes ocurrieron en países de bajos y medianos ingresos en los que el diagnóstico ocurre en etapas avanzadas asociado a los intervalos prolongados que existen para recibir atención médica caracterizado por un acceso limitado a programas de tamizaje y el tratamiento estándar, recursos físicos y humanos insuficientes para la atención clínica y un control de calidad deficiente de los servicios de salud. (3,4)

La incidencia reportada mundialmente es de 47.8 por cada 100,000 mujeres y una mortalidad de 15.3 por cada 100,000 mujeres. En México el cáncer de mama representa el 25% de todos los tipos de cáncer, siendo la causa más común de mortalidad relacionada con el cáncer en la mujer, con una incidencia de 39.5 casos por cada 100,000 mujeres y una mortalidad de 9.9 por cada 100,000 mujeres. La edad media de presentación en México es de 52 años, una década antes que en América del Norte y Europa, además en las últimas décadas ha habido un incremento en la incidencia en pacientes jóvenes de tal modo que representa la segunda causa de muerte entre las mujeres mexicanas de 30 a 54 años independientemente del estado socioeconómico. (3,5)

No existe información precisa sobre la etapa clínica en la que se realiza el diagnóstico en México al no existir un registro nacional pero de acuerdo con los análisis que existen se reporta que sólo el 10-20% se diagnostica en etapas tempranas 0 – I , en el 2003 se reportaron hasta el 75% de las pacientes con cáncer de mama en etapas clínicas

avanzadas en comparación con 37% en mujeres hispanas que viven en Estados Unidos, poniendo en evidencia las diferencias que existen en cuanto al acceso a los servicios de salud como una limitante en el tratamiento oportuno del cáncer de mama.(6)

La probabilidad de desarrollar cáncer de mama se asocia con la combinación de diferentes factores de como es la edad, siendo mayor el riesgo a mayor edad considerandose un riesgo alto a partir de los 60 años, mutaciones genéticas de los genes BRCA1 o BRCA2 o antecedente familiar de cáncer de mama en familiares de primer o segundo grado antes de los 50 años de edad sin mutaciones genéticas demostradas. Dentro de las lesiones benignas de mama, se dividen en proliferativas y no proliferativas con un riesgo relativo (RR) de 1.17 (0.94-1.47 IC: 95%) y 1.76 (1.58-1.95 IC:95%) respectivamente, en el caso de la hiperplasia atípica tanto ductal como lobulillar se reporta un RR:3.93 (3.24 - 4.76 IC:95%) y el antecedente personal de cáncer de mama se asocia con un RR:8.0. (7)

Otros factores estan asociados a la vida reproductiva destacando una menarca temprana, menopausia tardía, la nuliparidad y primer parto despues de los 30 años de edad, estos factores tienen en común que estan asociados a una exposición prolongada a ciclos menstruales. La lactancia se considera un factor protector de cáncer de mama, reportando una disminución del 4.3% del riesgo de cáncer de mama por cada 12 meses de lactancia asociado a un decremento del 7% por cada embarazo. (8,9)

Dentro de los factores de riesgo asociados al estilo de vida el índice de masa corporal elevado se asocia con incremento del riesgo de cáncer de mama en pacientes postmenopausicas, reportandose un incremento del 12% del riesgo por cada 5 kg/m², ademas se asocia a un peor pronóstico en pacientes con diagnóstico de cáncer de mama en etapas tempranas. Otros factores modificables son la actividad física que se relaciona inversamente con el riesgo de cáncer de mama y el tabaquismo y consumo de alcohol que incrementan el riesgo.(10)

En México de acuerdo a la Guía de práctica clínica para la Prevención, tamizaje y referencia oportuna de casos sospechosos de cáncer de mama en el primer nivel de atención a partir de los 20 años de edad se debe orientar para realizar adecuadamente la autoexploración mamaria además de realizar un examen clínico de mama cada 1 a 3 años y anualmente a partir de los 40 años, en cuanto a la detección de cáncer de mama no se recomienda realizar examen clínico de mama únicamente por lo que es recomendable realizar en la población general una mastografía a partir de los 40 años anualmente hasta los 49 años y posteriormente cada 1- 2 años hasta los 75 años o más de acuerdo al estado de salud. En caso de pacientes con alto riesgo de cáncer de mama se debe realizar mastografía a partir de los 30 años de edad.(8)

La Organización Mundial de la Salud recomienda una cobertura con mastografía en la población general del 70% para obtener una repercusión significativa en la mortalidad por cáncer de mama. En México de acuerdo con la ENSANUT 2012 sólo el 22% de las mujeres mexicanas entre 40-69 años informaron tener una mamografía en el último año siendo incluso la cobertura sólo del 16% en poblaciones rurales, reflejando que en México aun existen barreras para realizar una mamografía asociado a limitantes de carácter socioeconómico, actitud de la paciente, creencias, conocimiento de la mamografía y cáncer de mama, así como la disponibilidad y acceso al servicio. (11)

El tamizaje por mastografía consiste en 2 proyecciones obtenidas por rayos X estándar de cada seno, que tiene el objetivo de visualizar dentro del seno e identificar densidades, microcalcificaciones y asimetría, para ser una prueba que se utiliza en la población general el ACR (American College of Radiology) estandarizó su clasificación utilizando el sistema BI- RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) de esta manera además de clasificar adecuadamente se estimará el riesgo de cáncer de mama de acuerdo a las anomalías detectadas y el seguimiento que tendrá la paciente, además se puede utilizar ecografía cuando existe duda en la etiología de lesiones quísticas o resonancia magnética en caso de asimetría , sin embargo no se recomiendan de manera rutinaria.(12)

Como toda prueba diagnóstica puede tener limitantes asociadas a su sensibilidad y especificidad y de existir alguna lesión clínicamente sospechosa a pesar de las recomendaciones con la clasificación BI-RADS de ser alta la sospecha se justificará toma de biopsia, siendo el “Gold Standard” para el diagnóstico de cáncer de mama. (13)

La mastografía además de su utilidad en el tamizaje de cáncer de mama, se utilizará en el seguimiento de pacientes en etapa clínica I-III tratadas con cirugía conservadora de mama y radioterapia iniciando el seguimiento con mastografía entre 6 a 12 meses después de completar la radioterapia de manera anual, los hallazgos en el examen físico o en las imágenes de vigilancia justificarán un intervalo más corto entre las mastografías. (8,14)

Las pacientes con cáncer de mama presentan mejor pronóstico y probabilidad de supervivencia en comparación con otros tipos de cáncer más fatales debido a que el tejido mamario no es físicamente necesario para la supervivencia del ser humano y al ser detectado de manera temprana sin enfermedad metastásica es potencialmente curable. El cáncer de mama se puede presentar en diferentes áreas de la glándula mamaria como es los conductos, lobulillos y el tejido circundante, el tipo de cáncer de mama será determinado por el tipo de células afectada.(15)

El carcinoma es un cáncer originado en el componente epitelial de la glándula mamaria por otra parte los sarcomas representan menos del 1% de los casos de cáncer de mama es originado en el estroma. Dentro de los carcinomas hay varios tipos, en relación con el sitio primario del tumor ya sea lobulillar o ductal y su identificación tiene implicación en el pronóstico y tratamiento. Además de acuerdo a las características patológicas e invasión el cáncer de mama se clasificará en tres grupos principales: cáncer de mama in situ, invasivo y metastásico. (16)

El carcinoma ductal invasivo es el tipo más común de cáncer de mama representa el 80% de todos los casos de cáncer de mama, el carcinoma lobulillar invasivo es el segundo tipo más común representa el 10-15% de todos los casos, ambos presentan

diferentes aberraciones moleculares, genéticas, pronósticos y opciones terapéuticas distintas es por eso que se deben diferenciar entre sí. (17)

Además de la diferencia histológica, de acuerdo a los diferentes estudios de expresión genética se han identificado diferentes perfiles de expresión génica que se han agrupado en subtipos que varían significativamente en el pronóstico y los objetivos terapéuticos sobre las células cancerosas. De acuerdo a la expresión de ciertos genes se identifican los siguientes subtipos intrínsecos o moleculares:

- - Luminal A: Receptor de estrógeno (RE) y/o receptor de progesterona (RP) positivo, HER-2 negativo y niveles bajos de Ki-67, es el tipo más común, representa el 40%, son de bajo grado, con crecimiento lento, presentan buen pronóstico y el tratamiento requiere implica el uso de la terapia hormonal.
- - Luminal B: RE y/o RP positivo, HER-2 positivo o negativo, con altos niveles de Ki-67, se presentan en el 20% de los casos, son de crecimiento más rápido y el pronóstico ligeramente es peor
- - Sobreexpresión HER-2: RE y RP negativo, alta expresión de los grupos de genes HER-2, crecen más rápido que los tipos luminales y tienen peor pronóstico, se pueden tratar con terapias dirigidas hacia la proteína HER-2, representa el 10-15%.
- - Triple negativo: RE, RP y HER-2 negativo, es más común en mujeres con mutaciones del gen BRCA1 y menores de 40 años, se presenta en el 20% de los casos, es de alto grado y se comporta de manera agresiva. (18)

Con la identificación del genoma y estudios del perfil transcriptómico se ha caracterizado mejor los tipos de cáncer de mama además de su utilidad en la elaboración de paneles diagnósticos y pronósticos como Oncotype Dx 21-gene Recurrence Score, el Breast Cancer Index, el Predictor Analysis of Microarray 50, MammaPrint y el Genomic Grade Index, entre otros. (19)

La evaluación previa a instaurar un tratamiento requiere una evaluación clínica para clasificar adecuadamente a la paciente dependiendo las características que presenta,

de acuerdo al sistema TNM recomendado por el AJCC (American Joint Committee on Cancer) en el Cancer Staging Manual, 8th Edition. (20)

Posterior a esta evaluación se estadificará el cáncer de mama en 4 etapas clínicas:

- - Estadio 0: Se trata del carcinoma no invasor o carcinoma ductal in situ o enfermedad de Paget.
- - Estadio IA y IB: Involucra el carcinoma invasor con un tumor de menos de 20 mm es su diámetro mayor, sin afección linfática macroscópica.
- - Estadio IIA y IIB: Se presenta el carcinoma invasor con un tumor entre 20 - 50 mm o mayor en el estadio IIB, con afección linfática ipsilateral de 1 a 3 ganglios linfáticos en el I y II nivel axilar.
- - Estadio IIIA, IIIB, IIIC: Involucra el carcinoma invasor con un tumor que puede ser incluso menor de 20mm o mayor de 50 mm pero con afección linfática significativa incluyendo los ganglios linfáticos de la mamaria interna e infraclaviculares.
- - Estadios IV: Carcinoma invasor sin importar el tamaño tumoral, con afección linfática regional y que se ha diseminado a órganos distantes principalmente pulmón, médula ósea, hueso, hígado y cerebro. (20)

El tratamiento del cáncer de mama incluye el tratamiento de la enfermedad local con cirugía, radiación o ambas así como el uso de tratamiento sistémico con quimioterapia, terapia endocrina, terapia biológica o una combinación de éstas. La selección de una o diferentes modalidades de tratamiento se basará en diferentes factores pronósticos y predictivos como son las características clínicas y patológicas del tumor, la afección de ganglios axilares, la expresión de receptores hormonales, presencia de enfermedad metastásica, la edad, las comorbilidades y el estado menopausico además de que se considera la preferencia de la paciente. (21)

Pacientes con cáncer de mama en etapas clínicas tempranas deben de ir a cirugía inicialmente, diferentes ensayos clínicos aleatorizados han reportado que la mastectomía es equivalente a una cirugía conservadora de la mama en la que se obtienen márgenes negativos en términos de supervivencia global en pacientes en

etapa clínica I y II. Se debe considerar las contraindicaciones para la cirugía conservadora como son la incapacidad de recibir radiación, presencia de microcalcificaciones difusas o sospechosas de malignidad en mamografía e incapacidad de conseguir márgenes negativos entre otras. La mastectomía está indicada en las pacientes que no son candidatas a una cirugía conservadora. (21)

La disección de los ganglios axilares es el estándar de tratamiento para pacientes con ganglios axilares clínicamente positivos sin embargo se asocia a linfedema y otras comorbilidades, en la actualidad se recomienda realizar una biopsia con aguja fina guiada por ultrasonido para detectar metástasis a nivel axilar de ser positiva realizar disección de los niveles I y II de ganglios axilares incluir el nivel III si existe enfermedad macroscópica aparente en los niveles I y II. En caso de que sea negativa la biopsia o clínicamente no exista evidencia de afección de los ganglios axilares realizar una evaluación con la técnica de ganglio centinela. (21)

La radiación posterior a una mastectomía reduce el riesgo de recurrencia local hasta en dos tercios e incrementa la supervivencia global en un 10%, está indicada en toda paciente sometida a cirugía conservadora, en pacientes con cuatro o más ganglios positivos, márgenes quirúrgicos cercanos, tumores de >5 cm de diámetro. (21)

El tratamiento sistémico puede ser de manera neoadyuvante siendo el estándar del tratamiento en casos localmente avanzados, se utilizan taxanos y antraciclinas durante 6 a 8 ciclos con el objetivo principal de facilitar el tratamiento quirúrgico en además se identificará a los tumores quimiosensibles. En pacientes con sobreexpresión de Her2 se indica la adición de trastuzumab a la quimioterapia, en tumores hormonosensibles con baja tasa de proliferación y bajo grado nuclear utilizar terapia endocrina con inhibidores de aromatasa preferentemente. (22)

El seguimiento posterior al tratamiento tiene el objetivo de detectar recaída local, regional, sistémica o la presencia de un segundo tumor primario, como objetivos secundarios se realiza una evaluación de los efectos secundarios asociados al tratamiento o la presencia de alteraciones psicológicas además de monitorizar el apego a la terapia endocrina. (23)

De acuerdo al Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario en su Novena revisión 2021 se indica seguimiento con examen físico cada 3 a 4 meses los primeros dos años después cada 6 meses del tercer a quinto año y a partir del quinto año de manera anual, además se recomienda realizar una mamografía de manera anual. No se recomienda el uso de marcadores tumorales, ausencia de síntomas o signos sugestivos de enfermedad recurrente o metastásica no es necesario realizar estudios de laboratorio u otros estudios como radiografía de tórax, escáneos óseos , tomografía computarizada, resonancia magnética, PET o ultrasonido al no brindar ninguna ventaja en la supervivencia. (5,22)

Las recomendaciones sobre el intervalo y los estudios de extensión requeridos para el seguimiento son variables en las diferentes guías clínicas de cáncer de mama, los estudios de revisión realizados sobre esta recomendación indican que un examen físico regular y una mamografía anual son igual de efectivos que enfoques mas intensivos sin embargo se expone tambien que se deben de tomar estos resultados con cautela debido a que no se han realizado nuevos ensayos clínicos en las ultimas dos décadas en los que se incorporen las características biológicas del cáncer y otras modalidades de estudio de imagen que tienen mayor tasa de detección de enfermedad metastásica.(24)

Hasta ahora no existe una recomendación sobre el seguimiento que correlaciona con los avances que existen sobre los avances en la descripción biológica del cáncer de mama que no debe ser considerado como una enfermedad única, sino que se clasifica en al menos cuatro subtipos moleculares intrínsecos diferentes según la inmunohistoquímica que tiene repercusión en el riesgo de recurrencia y muerte por cáncer de mama por lo que se puede dar una hipótesis de que los diferentes programas de seguimiento deben variar de según el subtipo de cáncer de mama además de incluir otras intervenciones además de la exploración física y mamografía. (24)

En la actualidad existe interés en desarrollar enfoques alternativos para la detección de cáncer de manera segura, precisa, no invasiva, de alto rendimiento, fáciles de

implementar y con una sensibilidad elevada la mayoría de los métodos actuales de detección del cáncer se basan en técnicas de imagen y biopsia para confirmar la presencia de células cancerosas, siendo métodos invasivos, de costo elevado y con limitantes para su uso en campañas de detección en la población, además algunas técnicas requieren la exposición a radiación, pudiendo tener efectos secundarios, además presentan altas tasas de falsos positivos dando lugar a que los pacientes asuman riesgos con medicamentos y tratamientos innecesarios. (25)

Además se busca desarrollar métodos con los que se pueda estimar el pronóstico y la respuesta que tendrá al tratamiento como es la determinación de receptor de estrógenos, progesterona y las concentraciones de Her-2 o encontrar marcadores de recurrencia local o sistémica como es el antígeno de cáncer 15 – 3 y antígeno carcinoembrionario aunque de acuerdo a los estudios actuales carecen de especificidad. Recientemente se ha buscado determinar basándose en marcadores genéticos establecer mutaciones somáticas o de la línea germinal. (26)

Se han desarrollado diferentes modalidades de estudios para realizar perfiles tumorales basados en las características moleculares con pruebas genéticas, fenotípicas asistidas por computadora, inmunohistoquímica y microRNA en suero dando posibilidades en el abordaje del cáncer de mama. Uno de los rasgos característicos del cáncer es la repercusión en el metabolismo, en vías biológicamente relevantes alterando así el perfil de metabolitos presentes en la circulación de una paciente con cáncer de mama.(27)

La metabolómica es un área relativamente nueva, que tiene el objetivo de evaluar de manera cuantitativa y cualitativa los metabolitos resultantes de vías específicas del metabolismo celular que refleja el fenotipo resultante de la interacción de diferentes procesos que ocurren a nivel celular asociados al genoma, epigenoma, transcriptoma y proteoma.(28)

El metaboloma se establece mediante el análisis de muestras biológicas como saliva, sangre, orina, tejido y está influenciado por factores endógenos como la edad, sexo, raza, dieta, exposición a medicamentos y presencia de

enfermedades. El patrón de metabolitos refleja el entorno biológico del paciente, de la respuesta de las células a una transformación neoplásica, respuesta inflamatoria o inmunológica además presenta un comportamiento dinámico por lo que puede evaluar la trayectoria de una enfermedad y en el caso del cáncer evaluar la respuesta al tratamiento. (29)

Los metabolomas son metabolitos de pequeño peso molecular (<1000 Daltones) resultantes de procesos metabólicos celulares, tienen función en la modificación del ARN controlando y regulando así la transcripción de genes y traducción de proteínas, también se incrementa la presencia de algunos metabolomas asociados al daño oxidativo del ADN y por el metabolismo por glucólisis aeróbica favorecido por las células cancerígenas. (30)

En una revisión en la que se analizaron los avances en las últimas décadas sobre los estudios de metabolómica se encuentra que los marcadores metabólicos en tejido de cáncer de mama se diferencian con alta sensibilidad y especificidad del tejido sano, además de diferir entre los diferentes tipos moleculares de cáncer siendo diferentes en pacientes con RP+ y RP- y similares en Her2+ y Her2-. (31)

El estudio de la orina se ha utilizado para el diagnóstico de enfermedades desde la edad media de acuerdo a sus características fisicoquímicas, al ser un producto final de los procesos metabólicos se correlaciona con el estado clínico, dicha propiedad ha sido utilizada en los estudios de metabolómica identificando biomarcadores potenciales como aminoácidos, ácidos orgánicos y nucleósidos. No hay una retención importante de los metabolomas al ser de bajo peso molecular y no interactuar con las proteínas séricas, por lo que la detección de los metabolomas en orina es una herramienta potencial para caracterizar de manera cualitativa y cuantitativa el metaboloma del cáncer de mama. (32)

En el 2006, Phillips et al. informaron 5 VOC para distinguir entre mujeres con y sin cáncer de mama con una sensibilidad del 93.8% y especificidad del 84.6%. Identificaron: 2- Propanolol, 2,3-Dihidro-1-fenil-4(1H) quinazolinona, 1- Feniletanona, Heptanal, Miristato de isopropiloes decir que se trata de un grupo de marcadores y no

uno en específico En pacientes con tumores quimiosensibles se ha reportado una disminución después de la quimioterapia de aminoácidos de hasta el 30%. (33)

En otro estudio realizado en pacientes sanas, patología mamaria benigna y cáncer de mama en etapa clínica temprana y localmente avanzada se determinó el metaboloma urinario mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas además de determinar los niveles séricos del marcador tumoral CA 15 – 3. Mediante curvas de ROC con la combinación de los niveles de CA 15 – 3 y la concentración de 3 metabolomas urinarios candidatos combinados (1- Metil adenosina , 1- metil guanosina y 8-hidroxi-20 desoxiguanosina) para discriminar a pacientes con y sin cáncer de mama se reporto en el AUC una sensibilidad entre 80.15 a 91.5% y especificidad de 83.2 a 95.2%.(34)

Otros metabolitos identificados son el ácido succínico y dimetilheptanoilcarnitina, comparando pacientes sanas y con cáncer de mama se determinó una sensibilidad y especificidad de 93% y 86% respectivamente. Otros nucleósidos que se identificaron en mayor concentración en pacientes con cáncer de mama son 5-hidroxi-metil-2-desoxiuridina, 8-hidroxi-2-desoxiguanosina y succiniladenosina. (35)

El futuro de la metabolómica se ve prometedor al ser una herramienta simple y no invasiva, de acuerdo a la variación que se presente se puede distinguir entre pacientes sanos o enfermedades benignas y aquellos con algún cáncer, además pueden ser biomarcadores para la estadificación, clasificación, pronóstico y evaluación longitudinal para determinar el éxito de un tratamiento. Clínicamente se podrá utilizar la metabolómica como prueba inicial y al tener un resultado positivo para alteraciones metabólicas utilizar de manera dirigida pruebas adicionales para la detección de cáncer. (36)

2. Justificación

El cáncer de mama continua siendo la causa más comun de mortalidad relacionada con cáncer en la mujer, en países como el nuestro aún existen barreras para el realizar un diagnóstico en etapas tempranas. El cáncer de mama es un cáncer potencialmente curable cuando se detecta de manera temprana y sin evidencia de enfermedad metastásica.

Una vez confirmado el diagnóstico de cáncer mediante histopatología, se debe determinar mediante una evaluación clínica minuciosa si existe enfermedad localizada, regionalmente avanzada o metastásica, clasificando en diferentes etapas clínicas determinando el pronóstico de cada paciente.

El tratamiento dependerá de la etapa clínica al momento del diagnóstico y requiere la participación de un equipo multidisciplinario incluyendo intervenciones quirúrgicas que abarcan procedimientos conservadores o radicales, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia y hormonoterapia posterior al cual se debe dar seguimiento para valorar si no existen datos de recurrencia de la enfermedad.

El seguimiento posterior al tratamiento incluye una evaluación cada 6 meses posteriores al diagnóstico, evaluando clínicamente datos de recurrencia o recaída de la enfermedad de manera local o regional además de requerir evaluación con otros estudios como son ultrasonido, mamografía, ultrasonido de hígado y vías biliares, radiografía de tórax o gamagrama óseo.

Desde las ultima década no hay una actualización sobre las recomendaciones en el seguimiento de pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento, considerando los avances en el conocimiento de la biología del cáncer de mama y la disponibilidad de nuevos estudios de imagen es necesario individualizar el seguimiento considerando que no se trata de una enfermedad simplemente sino que de acuerdo al análisis de inmunohistoquímica se divide por lo menos en cuatro tipo moleculares con diferente sobrevida y patrón de recurrencia.

La metabolómica evalúa de manera cuantitativa y cualitativa los metabolitos resultantes del metabolismo celular entre los diferentes procesos reflejando lo que ocurre a nivel del genoma, epigenoma, transcriptoma y proteoma , estos compuestos se pueden detectar en diversas muestras biológicas como es saliva, sangre, orina y tejidos.

El análisis de compuestos orgánicos vinculados al cáncer es una estrategia diagnóstica, no invasiva para el reconocimiento, diagnóstico y monitoreo del estado de enfermedades complejas como es el cáncer de mama de manera no invasiva por lo que se puede utilizar durante el seguimiento de las pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento y de esta forma determinar si no existe recaída , recurrencia o presencia de un segundo tumor primario.

3. Pregunta de investigación:

¿Existe un patrón en la expresión de metabolomas en orina en pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento ?

4. Hipótesis

El patrón de marcadores metabolómicos de mujeres con cáncer de mama posterior al tratamiento identificará a las pacientes libres de enfermedad.

5. Objetivos

Objetivo general: Identificar patrones metabolómicos en las pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento.

Objetivos específicos:

- Identificar los patrones metabolómicos que se presentan en pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento.

Objetivos secundarios:

- Establecer una relación entre la etapa clínica de cáncer de mama y los marcadores metabólicos.
- Establecer una relación entre el tiempo de seguimiento y los marcadores metabólicos.
- Establecer si existe una diferencia en el patrón metabólico de acuerdo al tipo de tratamiento otorgado.

6. Sujetos y métodos

Se realizó este estudio desde mayo 2021 hasta Enero del 2022 en el departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” en conjunto con el laboratorio de la Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACyT) perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Se incluyeron pacientes mayores de edad con diagnóstico de cáncer de mama entre el 2011 y el 2021 que se encontraban en seguimiento posterior al tratamiento primario y adyuvante recibido en el Hospital Central (Cirugía, Quimioterapia, Radioterapia, Terapia biológica, Terapia endocrina), tenían más de 6 meses y menos de 10 años de haber recibido el tratamiento. El diagnóstico se corroboró con el resultado histopatológico de la pieza quirúrgica en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central además de la determinación de receptores de estrógeno, receptores de progesterona, Her 2 Neu y Ki67 realizado mediante inmunohistoquímica en el Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Se incluyeron pacientes en etapas clínicas tempranas y localmente avanzada (0 – III B) que aceptaron participar en el estudio, autorizando su participación con consentimiento informado.

No se incluyeron pacientes con antecedente de otra neoplasia confirmada por histopatología, con más de 10 años y menos de 6 meses de haber concluido el

tratamiento para cáncer de mama, que no contaban con reporte de histopatología o que el tratamiento primario y adyuvante hubiera sido otorgado en otra institución, tampoco se incluyeron pacientes que no aceptaron participar en el estudio.

Además se incluyeron pacientes mayores de edad con diagnóstico de cáncer de mama realizado entre mayo 2021 y enero 2022, el diagnóstico se corroboró con estudio histopatológico en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central, contaban una evaluación con el sistema BIRADS mediante mastografía o ultrasonido mamario previa al diagnóstico, se incluyeron todas las etapas clínicas, no se incluyó a las pacientes que ya hubieran iniciado algún tipo de tratamiento (quimioterapia neoadyuvante o cirugía) o que no aceptaran participar en el estudio.

A las pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se les solicitó recolectar una muestra de orina de la mañana con ayuno de por lo menos 8 horas, se obtuvo mediante micción espontánea, se recolectó la muestra en un frasco recolector estéril de 50 mL, las muestras se transportaron a 4°C bajo condiciones estandarizadas y se almacenaron a – 20°C hasta su análisis.

Se recopiló información del expediente clínico incluyendo características clínicas como la edad, peso, talla, índice de masa corporal, antecedente de enfermedades crónico degenerativas), antecedentes ginecoobstetricos (Edad de la menarquia, estado menstrual y paridad). Datos sobre el diagnóstico de cáncer de mama (Fecha, resultado de la mastografía previo al diagnóstico, resultado de histopatología de biopsia), tipo molecular de acuerdo a la expresión de receptores de estrógenos, progesterona y Her-2 (Luminal A, Luminal B, Triple Negativo, Sobreexpresión Her-2), la etapa clínica en la que se realizó el diagnóstico de cáncer de mama.

En las pacientes que recibieron tratamiento se recopiló la información sobre quimioterapia neoadyuvante , la cirugía realizada para el tumor primario (Cirugía conservadora, mastectomía simple o mastectomía radical) y para la exploración de ganglios linfáticos axilares (Ganglio centinela o disección axilar completa), del

tratamiento adyuvante se identificó a las pacientes que recibieron radioterapia, quimioterapia, terapia biológica (Trastuzumab) y terapia endocrina con Tamoxifeno o Anastrozol. Además, se obtuvo información de la consulta de seguimiento incluyendo sintomatología asociada a recurrencia, hallazgos en exploración física y la interpretación de los estudios complementarios solicitados (Mamografía, radiografía de tórax, ultrasonido de hígado y vías biliares, gammagrama óseo y otros). En el **cuadro 1** se enumeran las variables incluidas en el estudio.

Cuadro 1: Cuadro de variables

Dependiente				
Variable	Definición operacional	Variables posibles	Unidades	Tipo de Variable
Patrones químicos en orina	Compuestos identificados por CG-MS	Presencia Ausencia	N/A	Nominal
Independiente				
Variable	Definición operacional	Variables posibles	Unidades	Tipo de Variable
Edad	Tiempo que ha vivido una persona desde la fecha de nacimiento hasta la actualidad	18 a 25	Años	Continua
Índice de Masa Corporal	Relación entre el peso y la talla	12 a 50	kg/m ²	Continua
Estado reproductivo	Estado reproductivo de la mujer en relación a la última menstruación	Premenopausia Menopausia	N/A	Nominal
BIRADS	Método utilizado para interpretar estudios de imagen de la mama	BIRADS 0, BIRADS 1, BIRADS 2, BIRADS 3, BIRADS 4-A, BIRADS 4-B BIRADS 4-C, BIRADS 5 BIRADS 6	N/A	Categorica

Tipo histológico	Tipo de cáncer de mama de acuerdo al tipo de células involucradas	DUCTAL, LOBULILLAR MIXTO, MUCINOSO MEDULAR NEUROENDOCRINO PAPILAR	N/A	Nominal
Grado de diferenciación Tumoral	Cambios celulares asociados transformación neoplasica	GRADO 1 GRADO 2 GRADO 3	N/A	Categórica
Invasión linfovascular	Presencia de actividad tumoral en vasos sanguíneos	AUSENTE PRESENTE	N/A	Dicotómica
Invasión Perineural	Presencia de tumor en fibras nerviosas	AUSENTE PRESENTE	N/A	Dicotómica
Tipo Molecular	Tipo de cáncer de mama de acuerdo a la expresión de receptores hormonales y Her-2	LUMINAL A LUMINAL B HER-2 TRIPLE NEGATIVO	N/A	Nominal
Etapa clínica	Clasificación de extensión de enfermedad de acuerdo a características clínicas	0 in situ I A I B II A II B III A III B III C	N/A	Categórica
Quimioterapia neoadyuvante	Tratamiento médico que se otorga previo a tratamiento quirúrgico primario	Sí No	N/A	Dicotómica
Tratamiento quirúrgico	Tipo de procedimiento quirúrgico realizado para retirar el tumor	Cirugía conservadora Mastectomía radical	N/A	Dicotómica
Radioterapia	Uso de radiación como tratamiento para cáncer	Sí No	N/A	Dicotómica

Quimioterapia	Uso de medicamentos como tratamiento para cáncer	Sí No	N/A	Dicotómica
Terapia biológica	Uso de tratamiento biológico dirigido como tratamiento para cáncer	Sí No	N/A	Dicotómica
Terapia Endocrina	Uso de medicamentos antihormonales como tratamiento para cáncer	Sí No	N/A	Dicotómica
Otras variables				
Datos clínicos de recurrencia	Signos o síntomas asociados a recurrencia de cáncer de mama	Sí No	N/A	Dicotómica
BIRADS de seguimiento	Clasificación de estudio de imagen de la mama en pacientes que se encuentran en seguimiento después de tratamiento	BIRADS 0 BIRADS 1 BIRADS 2 BIRADS 3 BIRADS 4-A BIRADS 4-B BIRADS 4-C BIRADS 5 BIRADS 6	N/A	Categorica
Otros estudios de seguimiento	Empleo de otros estudios de extensión para el seguimiento después del tratamiento para cáncer de mama	Sí No	N/A	Dicotómica
Recurrencia	Presencia de recurrencia de cáncer posterior al tratamiento	Locoregional Sistémica	N/A	Nominal

SPME y GC-MS

Extracción de COVs

Este proceso se realizó en la Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología de la UASLP.

La extracción de los COVs (Compuestos orgánicos volátiles) se llevó a cabo mediante microextracción en fase sólida por headspace (SPME-Headspace) empleando una fibra de Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS).

Para lo anterior, las muestras de orina (2 ml) se incubaron en viales de 20 ml con NaCl al 5.5% y se sellaron herméticamente. Posteriormente, cada vial fue incubado a 45°C durante 20 minutos con una agitación continua. Una vez transcurrido este tiempo se colocó la fibra dentro del espacio de cabeza del vial a través de la septa de la tapa hermética durante un tiempo de 20 minutos mientras la muestra seguía agitándose y a una temperatura de 45 °C.

Tras la extracción, la fibra se retiró y se insertó en el inyector del GC-MS para la desorción de los COVs en el cromatógrafo de gases.

Análisis por GC-MS.

Para el análisis de los COVs, se empleó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP 6890, acoplado al detector de espectrometría de masas con impacto electrónico HP 5973. (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). La columna empleada fue una columna capilar HP-5MS (95% de metil-polisiloxano y 5% de fenilo; longitud: 60 m, diámetro: 0,25 mm y película de 0,25 µm). Se utilizó helio como gas acarreador a un flujo constante de 1 ml/min. El programa de temperatura del horno de GC fue: 60 °C durante 2 minutos inicialmente, luego se incrementó 5 °C c/minuto hasta una temperatura de 250 °C, esta temperatura se mantuvo 5 minutos, posteriormente se incrementó 15 °C cada minuto hasta alcanzar una temperatura final de 300 °C. La temperatura de la línea de transferencia fue de 280 °C. La temperatura de la fuente de ionización fue de 230 °C y el MS se escaneó en el rango de masas de 50 a 550 m/z. Los datos se procesaron en el software ChemStations (Houston, TX, USA).

Los parámetros utilizados para la SPME acoplada a la GC-MS se optimizaron previamente, incluyendo: recubrimiento de la fibra SPME, tiempo de agitación, tiempo de extracción, temperatura de agitación y extracción, y volumen de muestra.

Identificación de compuestos químicos (COVs)

La identificación de los compuestos se obtuvo del software ChemStations a través de la librería de espectrometría de masas, la cual consiste en la comparación del espectro de los compuestos desconocidos con el espectro de los compuestos conocidos en la biblioteca de espectros de masas del Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST98) tomando en cuenta aquellos que tenían un porcentaje de similitud arriba del 60%. Además, para confirmar los resultados obtenidos, datos como sinónimos, peso molecular, actividad biológica así como el espectro de masas se buscaron en las bases de datos NIST Standard Reference 69, PubChem y Human Metabolome DataBase.

7. Análisis estadístico

Análisis de características clínicas

Se creó una base de datos incluyendo las características clínicas de las pacientes en Excel 2021, para analizar las variables entre los grupos se realizó mediante programa estadístico Rstudio versión 1.4.1717. Las variables continuas se expresaron en medias o mediana con sus respectiva estándar desviación o rangos intercuartilico y comparaciones mediante pruebas estadísticas t de student o Fisher según la normalidad de los datos. Las variables discretas se expresarán en proporciones y porcentajes y se realizó comparaciones con la prueba de chi cuadrado.

Análisis estadístico multivariado.

Las variables que se analizaron por grupos de estudio fueron los metabolitos presentes en las muestras (variables categóricas nominales). Se realizó un análisis de varianza basado en permutaciones (PERMANOVA) para analizar la variación asociada de las variables dentro de los grupos de estudio (Pacientes de reciente diagnóstico (PV); pacientes sin quimioterapia adyuvante (C) y pacientes con quimioterapia adyuvante (QT)), así mismo con este análisis se comprobó si existían diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio analizados (análisis basado en distancias euclídeas y 9999 permutaciones). Posteriormente, se utilizó un análisis SIMPER (porcentajes de similitud) para cuantificar la contribución de las variables a las diferencias observadas. Además, se realizó un análisis de coordenadas principales

(PCO) para visualizar la variación natural de los datos y evaluar su consistencia con los resultados proporcionados por PERMANOVA.

Finalmente se realizó un análisis canónico de coordenadas principales (CAP) como modelo predictivo de clasificación, basado en los parámetros obtenidos a partir del análisis PERMANOVA, con este modelo generado, se obtuvieron los porcentajes de correcta clasificación general del modelo así como para cada grupo de estudio en base a las pruebas estándar de diagnóstico y seguimiento que se emplearon para la clasificación inicial de cada uno de los grupos de estudio (PV, C y QT). Los análisis univariante y multivariante se realizaron utilizando el paquete de software GraphPad Prism v.5.0 y PRIMER 7+ PERMANOVA add-software package (v7.0.13 y v1.0.6, PRIMER-E, Auckland, NZ) respectivamente.

8. Ética:

Este estudio se considera de riesgo mínimo debido a que no se realiza ninguna intervención sobre el tratamiento o seguimiento de las pacientes involucradas.

Fue aprobado por el comité de ética e investigación el día 25 de Mayo de 2021 con el registro 41-21. (Anexo 1 - 3)

Se realizó de acuerdo con lo que marca el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en su Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, Investigación de riesgo mínimo al emplear pruebas y exámenes físicos de diagnóstico utilizados de manera rutinaria.

De acuerdo con la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud en su Título Segundo, capítulo I, Artículo 14 y Artículo 21 sobre la investigación a realizar en seres humanos se utilizó el consentimiento informado de las pacientes que aceptaron ingresar al estudio o de su representante legal en caso de incapacidad el cual se explicó de manera clara y completa.

9. Resultados:

Se incluyeron en el estudio 79 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se agruparon en dos grupos: Pacientes con diagnóstico de cáncer de mama de primera vez (n=22) y pacientes en seguimiento posterior al tratamiento entre 6 meses y 10 años (n=57, de todas las pacientes se obtuvieron los datos clínicos, histopatología, inmunohistoquímica. De las pacientes que se encontraban en seguimiento también se obtuvo información sobre el tratamiento y el seguimiento. A todas las pacientes se les tomó muestra de orina en ayuno de 8 horas, la cual fue transportada y almacenada de acuerdo a los estándares establecidos.

Las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama primera vez (n=22) tenían una edad media de 50.77 ± 12.11 años, con un IMC 26.46 ± 5.24 kg/m², del estado reproductivo 12 (54.54%) premenopausicas y 10 (45.45%) en menopausia. La mayoría de las pacientes contaba con una mamografía previa al diagnóstico con hallazgos de malignidad. De acuerdo al resultado de la biopsia por las características histológicas la mayoría pertenecía al tipo Ductal, seguido del tipo Lobulillar, principalmente tumores bien diferenciados, mayoritariamente sin invasión linfocelular ni perineural. La etapa clínica al diagnóstico en que se encontraron va desde in situ hasta etapa clínica IV, concentrándose la mayor proporción en etapas clínicas tempranas.

En el grupo de pacientes en seguimiento (N=57) tenían una edad media de $52.45 + 12.14$ años, con un IMC $28.41 + 12.14$ kg/m², el estado reproductivo predominante fue la menopausia. La mayoría de las evaluaciones por mamografía previas al diagnóstico eran con hallazgos de malignidad, el tipo histológico predominante fue el tipo ductal seguido del tipo mixto, tumores con moderado grado de diferenciación sin invasión linfocelular ni perineural. Las etapas clínicas al diagnóstico van desde in situ hasta EC III B, la mayoría de este grupo se diagnóstico en etapas clínicas tempranas.

En el cuadro 2 se resumen las características de los 2 grupos incluidos en el estudio. No encontrando diferencia entre edad (P=0.8235), IMC (P=0.1416), estado reproductivo (P=0.1526), tipo histológico (0.517), grado histológico (P=0.073), invasión

linfocelular (P=0.8496) y perineural (P=0.521) ni en la etapa clínicla al diagnóstico (P=0.1861).

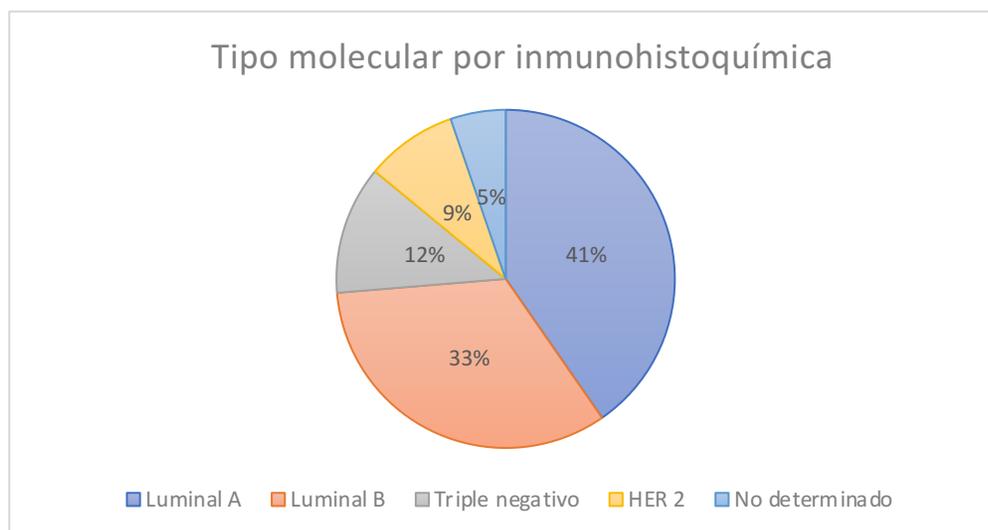
Cuadro 2: Características clínicas e histopatológicas de pacientes con cáncer de mama primera vez y seguimiento.

VARIABLES	Total N = 79	Primera vez n = 22 Median ± SD (%)	Seguimiento n = 57 Median ± SD (%)	P
EDAD (años +DE)	51.27 ± 12.06	50.77 ± 12.11	51.45 ± 12.14	0.8235 t
IMC (kg/m2 +DE)	27.87 ± 5.13	26.46 ± 5.24	28.41 ± 5.02	0.1416 t
Estado reproductivo				
Menopausica	46 (58.22%)	10 (45.45%)	36 (63.15%)	0.1526 Ch
Premenopausica	33 (41.77%)	12 (54.54%)	21 (36.84%)	
Tipo histológico				
Ductal	59 (74.68%)	16 (72.72%)	43 (75.43%)	0.5412 F
Lobulillar	6 (7.59%)	3 (13.63%)	3 (5.26%)	
Medular	1(1.26%)	0 (0.00%)	1 (1.75%)	
Mixto	9 (11.39%)	2 (9.09%)	7 (12.28%)	
Mucionosa	2 (2.5%)	0 (0.00%)	2 (3.50%)	
Neuroendocrino	1 (1.26%)	0(0.00%)	1 (1.75%)	
Papilar	1 (1.26%)	1(1.26%)	0 0.000%	
Resultados de mamografía				
Birads 0	2 (2.53%)	0 (0.00%)	2 (3.50%)	0.0176** ch
Birads 2	2 (2.53%)	1 (4.54%)	1 (1.75%)	
Birads 3	1 (1.26%)	1 (4.54%)	0 (0.00%)	
Birads 4A	16 (20.25%)	0 (0.00%)	16 (28.07%)	
Birads 4B	16 (20.25%)	5 (22.72%)	11 (19.29%)	
Birads 4C	19 (24.05%)	8 (36.36%)	11 (19.29%)	
Birdas 5	23 (29.11%)	7 (31.81%)	16 (28.07%)	
Etapa clínicla				
In situ	4 (5.06%)	0 (0.000%)	4 (7.01%)	0.1861 F
I A	16 (20.25%)	5 (22.72%)	11 (19.29%)	
IIA	26 (32.91%)	6(27.27%)	20 (35.08%)	

II B	14 (17.72%)	5 (22.72%)	9 (15.78%)	
IIIA	7 (8.86%)	1 (4.54%)	6 (10.52%)	
IIIB	7 (8.86%)	2 (9.09%)	5 (8.77%)	
IIIC	2 (2.52%)	0(0.000%)	2 (3.50%)	
IV	3 (3.797%)	3 (13.63%)	0 (0.000%)	
Grados de diferenciacion				
1	24 (32.87%)	10 (45.45%)	16 (28.07%)	0.1087 F
2	32 (43.83%)	6 (27.27%)	30 (52.63%)	
3	17 (21.51%)	6 (27.27%)	11 (19.29%)	
Invasión Linfovascular				
SI	44 (60.27%)	9 (42.85%)	20 (38.46%)	0.7282 Ch
NO	29 (39.72%)	12 (57.14%)	32 (61.53%)	
Invasión perineural				
NO	56 (76.71%)	18 (85.71%)	38 (73.07%)	0.3950 Y
SI	17 (23.28%)	3 (14.28%)	14 26.93%	

Sólo se contaba con la determinación del tipo molecular por inmunohistoquímica de las pacientes que se encontraban en seguimiento (n=57), predominando los tipos Luminales, seguido del triple negativo. (Figura 1)

Figura 1. Tipo molecular determinado por inmunohistoquímica en pacientes con cáncer de mama en seguimiento posterior al tratamiento.



En las pacientes que se encontraba en seguimiento (N=57) se obtuvo información sobre el tratamiento otorgado, en el cuadro 3 se resumen las características del tipo de tratamiento. Destacando una menor proporción de pacientes que se sometieron a quimioterapia neoadyuvante, el principal tratamiento quirúrgico que se realizó fue mastectomía radical. Sobre el tratamiento adyuvante el 52.63% de las pacientes tratadas recibió quimioterapia adyuvante, el 84.21% radioterapia adyuvante y el 63.15% con terapia hormonal (Tamoxifeno o anastrozol de acuerdo al estado reproductivo) y una menor proporción de pacientes recibió terapia biológica dirigida, asociado al tipo molecular.

Cuadro 3. Tipos de tratamiento otorgado.

	Total	Primera vez	Seguimiento
VARIABLES	N = 79	N= 22	N = 57
Cirugía			
No cirugía	22(27.84%)	22(100%)	1(1.75%)
Mastectomía radical	32(40.50%)	0(0%)	32(56.14%)
Cirugía conservadora	35(44.30%)	0(0%)	24(42.10%)
Quimioterapia neoadyuvante			
Sí	14	0(0.0%)	14(24.56%)
No	65	22(100%)	43(75.43%)
Quimioterapia adyuvante			
Sí	30	0(0%)	30(52.63%)
No	49	22(100%)	27(47.36%)
Radioterapia adyuvante			
Sí	48	0(0%)	48(84.21%)
No	31	22(100%)	9(15.78%)
Terapia biológica			
Sí	18	0(0%)	18(31.57%)
No	61	22(100%)	39(68.42%)
Terapia endocrina			
Sí	36	0(0%)	36(63.15%)
No	43	22(100%)	21(36.84%)

De los datos recolectados en la consulta se distribuyeron en dos grupos a las pacientes que se encontraban en seguimiento (n=57) : Pacientes con recurrencia (N=8) y pacientes libres de enfermedad (N=49).

El tipo de recurrencia mas común fue locoregional y 2 casos de recurrencia sistémica, el 75% de las pacientes presentaba datos clínicos de recurrencia y el resto se detectó mediante hallazgos sugestivos de malignidad en mamografía. Todas las pacientes con recurrencia contaban con mamografía reciente en la cual sólo el 50% se clasificó con hallazgos de malignidad (BIRADS 4A – 6). En el cuadro 4 se resumen las características clínicas y estudios de extensión realizados durante el seguimiento.

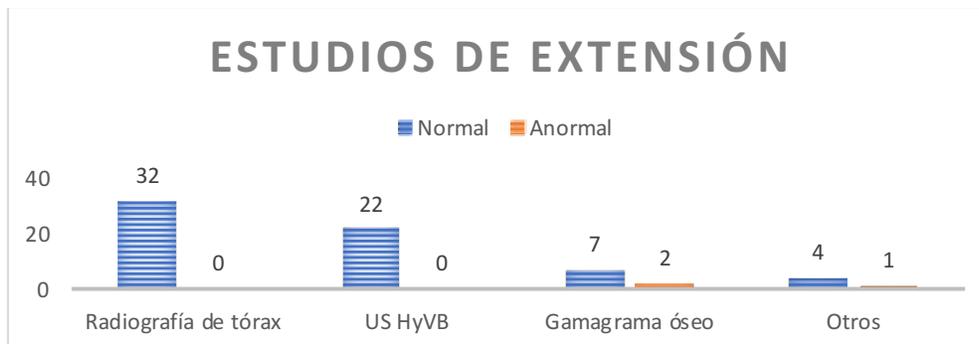
En las pacientes libres de enfermedad (n=49), el 6.2% refería sintomatología asociada a recurrencia, la mayoría contaba con mamografía de seguimiento sólo una se reportó con hallazgos altamente sugestivos de malignidad requiriendo biopsia resultando negativo a malignidad. Al 92% de las pacientes se les solicitó dentro de su seguimiento un estudio de imagen complementario distinto a la mamografía, en la Figura 2 se resumen los principales estudios solicitados diferentes a la mamografía.

Cuadro 4. Datos clínicos y estudios de extensión de seguimiento en pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento.

VARIABLES	Seguimiento N = 57 (%)	Recurrencia N= 8 (%)	Libre de enfermedad N=49 (%)
Tipo de recurrencia			
Locoregional	6 (10.52%)	6(%)	0(0%)
Sistémica	2 (3.50%)	2(%)	0(0%)
Libre de enfermedad	49(85.96%)	0 (0.0%)	49(100%)
Signos o síntomas de recurrencia			
Sí	9(15.78%)	6(75%)	3(6.12%)
No	48(84.21%)	2(25%)	46(93.87%)
Mamografía			
0	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

1	4 (7.01%)	2 (25%)	2 (4.08%)
2	34(59.64%)	1 (12.5%)	33 (67.3%)
3	8 (14.02%)	0 (0.0%)	8 (16.32%)
4A	1(1.75%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
4B	3(5.36%)	2 (25%)	1(2.04%)
4C	1(1.75%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
5	0(0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
6	1(1.75%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
No mamografía	5(8.77%)	0 (0.0%)	5 (10.20%)
Otros estudios de extensión			
Sí	52 (92.98%)	8 (100%)	44(91.80%)
No	5 (7.01%)	0 (0.0%)	5(8.16%)

Figura 2 .- Otros estudios de extensión durante el seguimiento en los últimos 12 meses.



Se observa que en el 92% de las pacientes se les solicitaron estudios de extensión diferentes a mamografía principalmente radiografía de tórax y ultrasonido de hígado y vías biliares los cuales se encontraron normales, sólo al 8% de pacientes asintomáticas no se les solicitó estudios de extensión diferente a la mamografía en su seguimiento. El uso de gamagrama de igual forma de los 9 estudios solicitados sólo 2 se reportaron anormales los cuales fueron solicitados a pacientes con síntomas.

Durante el trabajo realizado se tuvo dificultad para concretar el estudio, debido al desarrollo de medidas de prevención contra COVID-19 implementadas en el laboratorio, además de fallas en la distribución del suministro de sensores de la Nariz

Electrónica . Ante esta adversidad se implementó la determinación de patrones metabólicos mediante cromatografía de gases, se adaptó la logística para el desarrollo del proceso en el que sólo se incluyeron para el análisis 15 pacientes, en las que se pudo concretar la determinación del patrón metabólico en orina. Además se tomaron 3 pacientes adicionales del grupo de seguimiento que tenía diagnóstico de recurrencia de cáncer, corroborado por histopatología o estudio de extensión compatible con actividad tumoral, se utilizaron como “muestras problema” para validar el modelo desarrollado.

Las pacientes incluidas para el análisis (N=15) abarca pacientes con diagnóstico de cáncer de mama de primera vez (N=2) y pacientes en seguimiento (N=13). Al realizar el análisis de metabolitos en orina no se encontró diferencia en los patrones de expresión asociados al tipo histológico, molecular, etapa clínica o tiempo de seguimiento, sin embargo si se encontró una diferencia entre las pacientes que durante el abordaje multidisciplinario recibieron quimioterapia adyuvante en comparación de las pacientes que no recibieron.

Debido a estos resultados para el análisis de las características clínicas se dividió en tres grupos: Pacientes con cáncer de primera vez (PV), pacientes en seguimiento que no recibieron quimioterapia adyuvante (C) y aquellas pacientes que si recibieron quimioterapia adyuvante (QT). En el cuadro 5 se resumen las características de la población analizada.

Las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama de primera vez (n=2) tenía una edad media de 60.85 años y un IMC: 29.14 kg/m², una de ellas en menopausia y otra premenopausia, los dos tumores eran ductales entre bien y poco diferenciado sin invasión linfovascular ni perineural, las dos pacientes se encontraban en una etapa clínica avanzada (IIIB).

En las pacientes que no recibieron quimioterapia adyuvante la edad media fue de 47.50 años con un IMC de 26.52 kg/m², todas estaban en menopausia, predominantemente

el tipo histológico fue el ductal seguido de 2 casos de lobulillar y la etapa clínica principalmente fue en etapas tempranas. Las pacientes que si recibieron quimioterapia adyuvante, eran de menor edad con una media de 43.8 años, en su mayoría eran premenopausicas, todos los tumores eran tipo ductal en mayor proporcion moderadamente diferenciados, sin invasión linfovascular ni perineural, todos eran del tipo Luminal . La etapa clínica al diagnóstico de igual forma fue en etapas tempranas.

Cuadro 5.- Características clínicas e histopatológicas de pacientes incluidas en el análisis para la determinación del patrón metabólico.

Variables	Primera vez N=2 (%)	No quimioterapia adyuvante N=7 (%)	Quimioterapia adyuvante N=6 (%)	P
EDAD	60.85 ± 12.14	47.50 ± 10.60	43.83 ± 3.65	0.0194** a
IMC	29.14 ± 6.88	26.52 ± 4.77	26.51 ± 5.10	0.7100 a
Ritmo menstrual				
Regular	0 (0.00%)	1 (14.28%)	2 (33.33%)	0.723
Irregular	2 (100.0%)	6 (85.71%)	4 (66.66%)	
Estado reproductivo				
Menopausia	1 (50.00)	7 (100.00%)	2 (33.33%)	0.0256** F
Premenopausia	1 (50.00%)	0 (0.00%)	4 (66.66%)	
Tipo histologico				
Ductal	2 (100%)	5 (71.42%)	6 (100%)	0.6
Lobulillar	0 (0.00%)	2 (28.57%)	0 (0.00%)	
Etapa clinica				
In situ	0 (0.00 %)	1 (14.28%)	1 (16.66%)	0.0480** Ch
I A	0 (0.00%)	2 (28.57%)	1 (16.66%)	
IIA	0 (0.00%)	1 (14.28%)	2 (33.33%)	
II B	0 (0.00%)	1 (14.28%)	2 (33.33%)	
IIIA	0 (0.00%)	2 (28.57)	0 (0.00%)	
IIIB	2 100%	0 (0.00%)	0 (0.00%)	
Grado				
1	1 (50.00%)	3 (42.85%)	1 (16.66%)	0.6403
2	0 (0.00%)	3 (42.85%)	3 (50.00%)	
3	1 (50.00%)	1 (14.28%)	2 (33.33%)	
Invasión linfovascular				
Si	0 (0.00%)	1 (14.28%)	2 (33.33%)	0.723
No	2 (100%)	6 (85.71%)	4 (66.66%)	
Invasión perineural				

Si	0 (0.00%)	1 (14.28%)	1 (16.66%)	0.8307
No	2 (100%)	6 (85.71%)	5 (83.33%)	

** P <0.05

También se analizó el tipo de tratamiento otorgado a las pacientes sin quimioterapia adyuvante destaca que la mayoría se habían sometido a una cirugía conservadora, el 42.85% había recibido quimioterapia neoadyuvante, todas recibieron radioterapia adyuvante, sólo una paciente recibió terapia biológica dirigida y la mayoría se encontraba recibiendo terapia endocrina.

En las pacientes que si recibieron quimioterapia adyuvante también en mayor proporción se sometió a una cirugía conservadora, ninguna había recibido quimioterapia neoadyuvante, sólo una paciente no recibió radioterapia adyuvante, el 50% recibió terapia biológica dirigida y la mayoría se encontraba con terapia endocrina.

En el cuadro 6 se resumen los tipos de tratamiento otorgados en ambos grupos, sin encontrar diferencia significativa con las diferentes modalidades terapéuticas: Tipo de cirugía (Mastectomía radical vs Cirugía conservadora P=0.4054), uso de quimioterapia neoadyuvante (P=0.0678), Radioterapia adyuvante (P=0.9359), tratamiento dirigido (P=0.147) o terapia endocrina (P=1.897).

Cuadro 6 .- Tipos de tratamiento otorgado en pacientes con determinación de patrones metabolomicos.

VARIABLES	Total N = 13	No quimioterapia adyuvante N= 7 (%)	Quimioterapia adyuvante N=6 (%)	P
Cirugía				
Mastectomía radical	5(38.46%)	3(42.85%)	2(33.33%)	0.4054 F
Cirugía conservadora	8(61.53%)	4(57.15%)	4(66.66%)	
Quimioterapia neoadyuvante				
Sí	3 (23.07%)	3(42.85%)	0(0%)	0.0678 ch
No	10(76.92%)	4(57.14%)	6(100%)	

Radioterapia adyuvante				
Sí	12(92.30%)	7(100%)	5(83.33%)	0.9359 ch
No	1(7.69%)	0(0%)	1(16.66%)	
Terapia biológica				
Sí	4(30.76%)	1(14.28%)	3(50%)	0.147 ch
No	9(69.23%)	6(85.71%)	3(50%)	
Terapia endocrina				
Sí	10(76.92%)	5(71.42%)	5(83.33%)	1.897 F
No	3(23.07%)	2(42.85%)	1(16.66%)	

En la consulta de seguimiento todas las pacientes incluidas en la determinación de patrones metabólicos se encontraban asintomáticas, sin datos clínicos de recurrencia además de contar mamografía con hallazgos benignos y probablemente benignos, sin diferencia en ambos grupos (P=0.615). Cuadro 7

Cuadro 7: Resultado de mamografía de seguimiento.

VARIABLES	Total N = 13	No quimioterapia adyuvante N= 7 (%)	Quimioterapia adyuvante N=6 (%)	P
Mamografía de seguimiento				
BIRADS 2	10(76.9%)	5(71.4%)	5(83.34%)	0.615 ch
BIRADS 3	3	2(28.5%)	1(16.66%)	

Resultados de los metabolitos identificados:

En el Cuadro 8 se enlistan los compuestos identificados mediante cromatografía de gases en mayor proporción en todas las pacientes en el estudio. Para confirmar los resultados obtenidos, datos como sinónimos, peso molecular, actividad biológica así como el espectro de masas se buscaron en las bases de datos NIST Standard Reference 69, PubChem y Human Metabolome DataBase. En el Cuadro 8 se señalan con negritas los compuestos que de acuerdo a la búsqueda en las bases de datos se relacionan con alguna actividad biológica vinculada a cáncer o proliferación celular anormal.

Cuadro 8: Metabolitos identificados con cromatografía de gases, en muestras de orina de pacientes incluidas en el análisis.

METABOLITO
Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl) *
.alpha.-Pinene*
1,2,8- Trimethoxyoctane
1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-
1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.)]
1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl
2-Methyl-E-7-octadecene*
2,4-Dimethylstyrene
2,6-Dimethyl-5-methylphenylaminopyridin-3,4-dicarboximide
2H-1-Benzopyran, 7-methoxy-2,2-dimethyl
3-Hydroxymandelic acid, ethyl ester, di-TMS
3-Methylthio-quinoline*
4-Nitro-4'-chlorodiphenylsulphoxid*
5H-Naphtho[2,3-c] carbazole, 5-methyl-*
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (.+/-)-*
7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl
Benzaldehyde, 2,4-bis(trimethylsiloxy)-*
Benzene, 1-phenyl-4-(2-cyano-2-phenylethenyl)*
Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)
Benzene, 2-ethenyl-1,3-dimethyl-
Benzoic acid, 3-methyl-2-trimethylsilyloxy-, trimethylsilyl ester*
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (.+/-)-
Butanamide, 2,2,3,3,4,4,4-heptafluoro-N-[2-[(trimethylsilyloxy)-2-[4-[(trimethylsilyloxy)phenyl]ethyl]-
Butanoic acid, 1-methylpropyl este
Butanoic acid, butyl ester
Cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-,cis-
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methyl ethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.alpha.,5. beta.)]-
Cyclotetrasiloxane, hexamethyl-*
Cyclotetrasiloxane, octamethyl*
D- Limonene*
Decane*
Dodecane*
erythro-7,8-Bromochlorodisparlure*
Isobornyl acetate
Limonene*

m-cymene, 5-tert-butyl-*
Menthol
Nonane, 4,5-dimethyl-
Oxime-, methoxy-phenyl-*
p-Trimethylsilyloxyphenyl-bis(trimethylsilyloxy)ethane
Pentanoic acid, 2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl, isobutyl ester*
Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)
Phenol, bis(1,1-dimethylethyl)-
Phenol, m-tert-butyl-*
Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester*
Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester
Tetradecane*
Tetrasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7-octamethyl
Toluene*
Tridecane*
Undecane*

* Compuestos con actividad biológica vinculada a proliferación celular y/o cáncer.

A través del análisis de PCO mostrado en la figura 3, fue observado un patrón de agrupamiento de las muestras por grupo de estudio (PV, C y QT); la variabilidad total de los datos fue 60.3% explicada por el eje 1 y 2. Para verificar si realmente existía diferencia significativa en la separación observada de los grupos de estudio por el análisis de PCO, se realizó un análisis de PERMANOVA en el cual se encontró una diferencia significativa entre el grupo PV y QT ($p=0.037$) Cuadro 9, entre los demás grupos no se encontraron diferencias significativas, sin embargo se observó una tendencia de agrupación de los grupos de estudio (Ver PCO, Figura 3).

Figura 3 . Análisis de Coordenadas Principales (PCO).

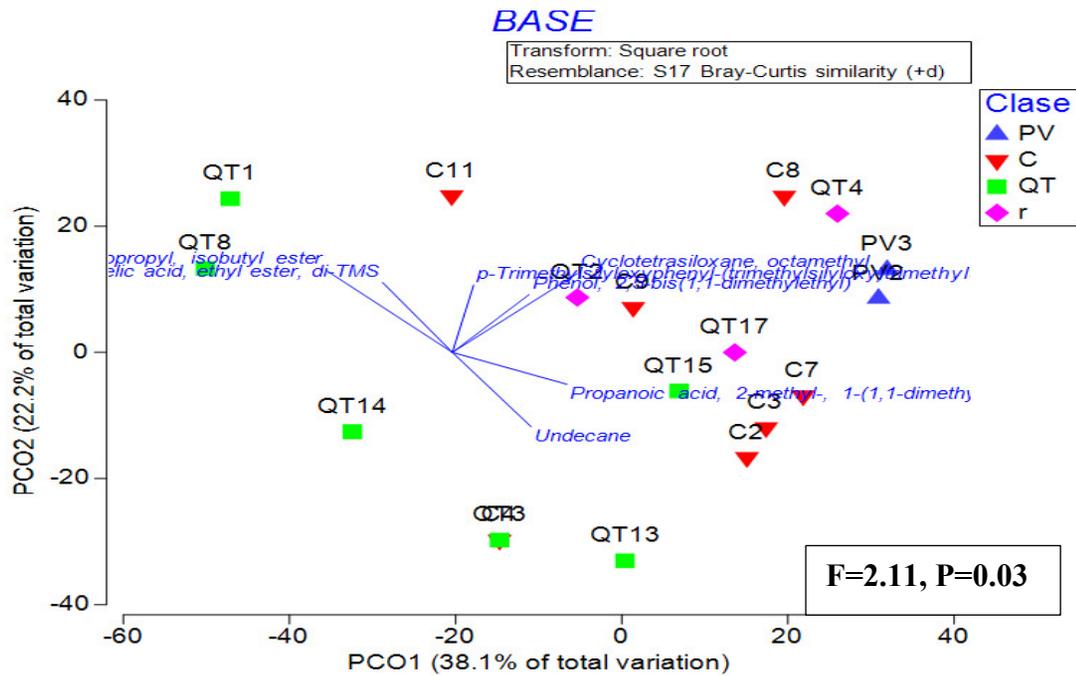


Figura 3: Los grupos de estudio son presentados como PV (triángulos azules), Pacientes C (triángulos rojos), pacientes QT (cuadros verdes), pacientes r (rombos rosas). Los vectores representan las variables que contribuyen a la variación de los datos.

Cuadro 9: Análisis PERMANOVA entre grupos de estudio

Grupos	t	Unique perms	P (MC)
PV , QT	2.0032	28	0.037**
PV, C	1.3552	36	0.147
C, QT	1.6502	657	0.07

PV: Primera vez, C: No quimioterapia adyuvante, QT: Quimioterapia adyuvante. ** <0.05 t: T student multivariada por PERMANOVA

Posteriormente a través del análisis SIMPER, se obtuvieron las variables que aportaban mayor contribución a la diferenciación entre cada grupo de estudio. En el cuadro 10 se resumen los principales metabolitos y su contribución a la diferenciación de cada grupo de estudio. Como podemos observar, los metabolitos que aportan mayor contribución al grupo PV (Primera vez) fueron: Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl), Cyclotetrasiloxane, octamethyl, Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-

dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester y Tridecano. Los metabolitos que aportan más al grupo C (Sin quimioterapia adyuvante) fueron: Cyclotetrasilaxono, octamethyl y Undecano. Y los metabolitos que contribuyen más al grupo QT (Quimioterapia adyuvante) fueron: Undecano y el ácido pentanoico, 2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl, isobutyl ester.

Cuadro 10 : Metabolitos con mayor contribución y porcentaje de contribución por grupo

Metabolito	Primera vez	No quimioterapia Adyuvante	Quimioterapia Adyuvante
Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)	20%		
Cyclotetrasiloxano, octamethyl	20%	42.35%	
Acido Propanoico , 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	20%		
Tridecano	20%		
Undecano		37.47%	45.45%
Ácido Pentanoico, 2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl, isobutyl ester			32.32%

También a través del analisis SIMPER se determinó cuales fueron los compuestos con mayor contribución en la diferencia entre los dos grupos que de acuerdo al análisis con PERMANOVA eran estadísticamente diferentes basados en la expresión de compuestos (PV y QT), los siguientes compuestos indican una diferencia de al menos el 50% entre ambos grupos, en el cuadro 11 se pueden observar los metabolitos que contribuyeron a la variación entre ambos grupos.

Cuadro 11 .- Metabolitos con mayor contribución a la diferencia entre grupo de primera vez y pacientes tratadas con quimioterapia adyuvante.

Metabolito	Abundancia Primera vez	Abundancia Quimioterapia Adyuvante	% Contribución en variación
Phenol,2,5-bis(1,1dimethylethyl)	1.00	0.00	10.14%
Tridecano	1.00	0.00	10.14%
Cyclotetrasiloxano, octamethyl	1.00	0.17	8.45%
Acido Propanoico , 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	1.00	0.33	6.77%
7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl	0.50	0.00	5.49%
Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)	0.50	0.00	5.49 %

Finalmente, en cuanto al análisis CAP (Figura 4), nuestro modelo muestra una correlación (r^2) para el eje x fue de 0.63 y para el eje y 0.02. Por otro lado, el modelo tiene una capacidad de correcta clasificación del 44.4% de acuerdo con los metabolitos analizados. A este respecto, del total de sujetos de PV, hubo una correcta clasificación del 50%; para C, del 42.8% y para QT 66.6%.

Figura 4- Análisis canónico de coordenadas principales (CAP)

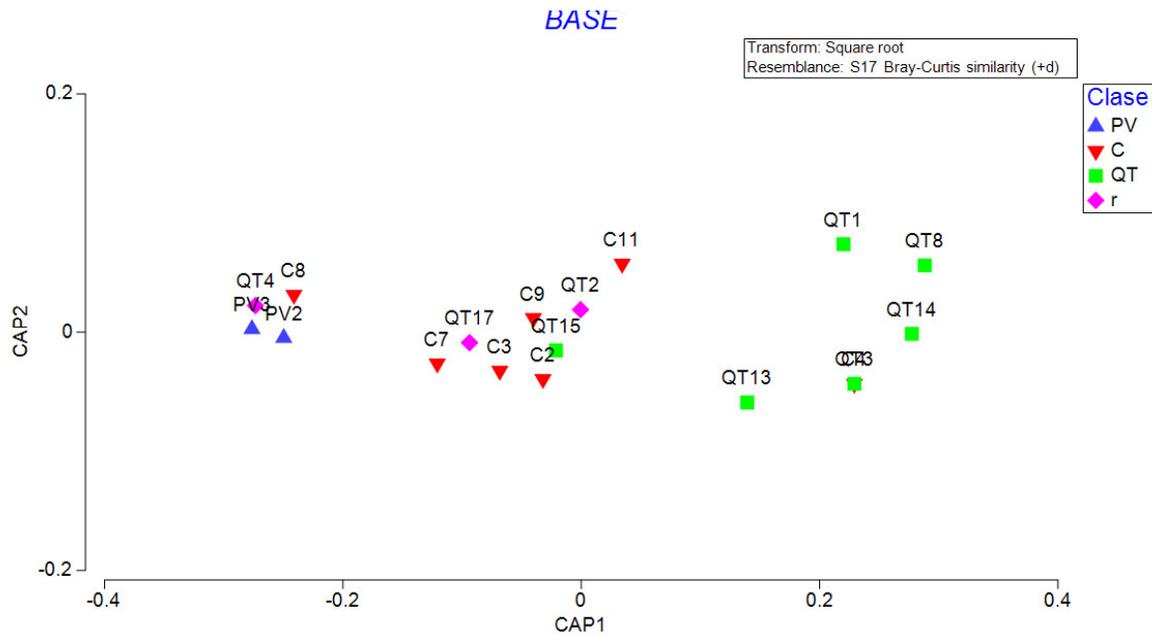


Figura 4 . Análisis Canónico de Coordenadas Principales (CAP). Muestras de pacientes PV (triángulos azules), pacientes C (triángulos rojos), pacientes QT (cuadros verdes) y pacientes r (rombos rosas)

Análisis de “Muestras problema”:

Las pacientes tomadas adicionalmente como muestra problema, todas con diagnóstico de recurrencia tienen las siguientes características clínicas:

Paciente 1: 43 años, IMC:23.73kg/m², sin enfermedades cronicodegenerativas, premenopausica, en el 2018 se realizó diagnóstico de cáncer de mama en etapa clínica IIA, tumor tipo ductal poco diferenciado, sin invasión linfovascular ni perineural, triple negativo, no recibió quimioterapia neoadyuvante, se realizó mastectomía simple con ganglio centinela posteriormente completo quimioterapia adyuvante y radioterapia adyuvante. Durante su seguimiento en Junio 2021 presentó cambios de coloración en la piel, se tomó biopsia y se confirmó presencia de carcinoma ductal infiltrante.

Paciente 2: 46 años, IMC:27.34 kg/m², con hipertensión crónica controlada, premenopausica, diagnóstico de cáncer de mama etapa clínica IIA en el 2020, un tumor tipo ductal bien diferenciado, luminal A, recibió tratamiento con mastectomía

simple y ganglio centinela posteriormente recibió quimioterapia adyuvante, no recibió radioterapia. Durante el seguimiento en Agosto 2021 presenta ganglio palpable en región axilar ipsilateral se complementa con mamografía BIRADS 6, se toma biopsia por aspiración de aguja fina reportando positivo a células neoplásicas.

Paciente 3: 58 años, IMC:22.66kg/m², sin comorbilidades, menopáusica, diagnóstico en el 2016 en etapa clínica IIA, un tumor tipo ductal moderadamente diferenciado, no contaba con determinación de tipo molecular, se sometió a mastectomía radical modificada, posteriormente completó quimioterapia y radioterapia adyuvante. En su cita de seguimiento octubre 2021 refirió dolor en región lumbar por lo que se solicitó un gammagrama óseo en el que se observaron lesiones en vértebras lumbares compatibles con actividad tumoral.

Las pacientes tomadas como muestra problema se sometieron al mismo análisis, representadas en las figuras 3 y 4 como rombos rosas, de acuerdo a la descripción previa son pacientes que habían completado su tratamiento entre el 2016 y el 2020, todas en etapa clínica IIA y dentro del tratamiento se incluyó el uso de radioterapia y quimioterapia adyuvante, por lo que se podría suponer que al presentar nuevamente actividad tumoral ocurrió un desplazamiento desde el grupo que completó su tratamiento incluyendo quimioterapia adyuvante hasta el grupo que había completado su tratamiento sin quimioterapia adyuvante o incluso al grupo de reciente diagnóstico que no tuvo ninguna intervención, en la Figura 5 se señalan las muestras problema.

Figura 5. Ubicación de muestras problema en análisis canónico de compuestos principales.

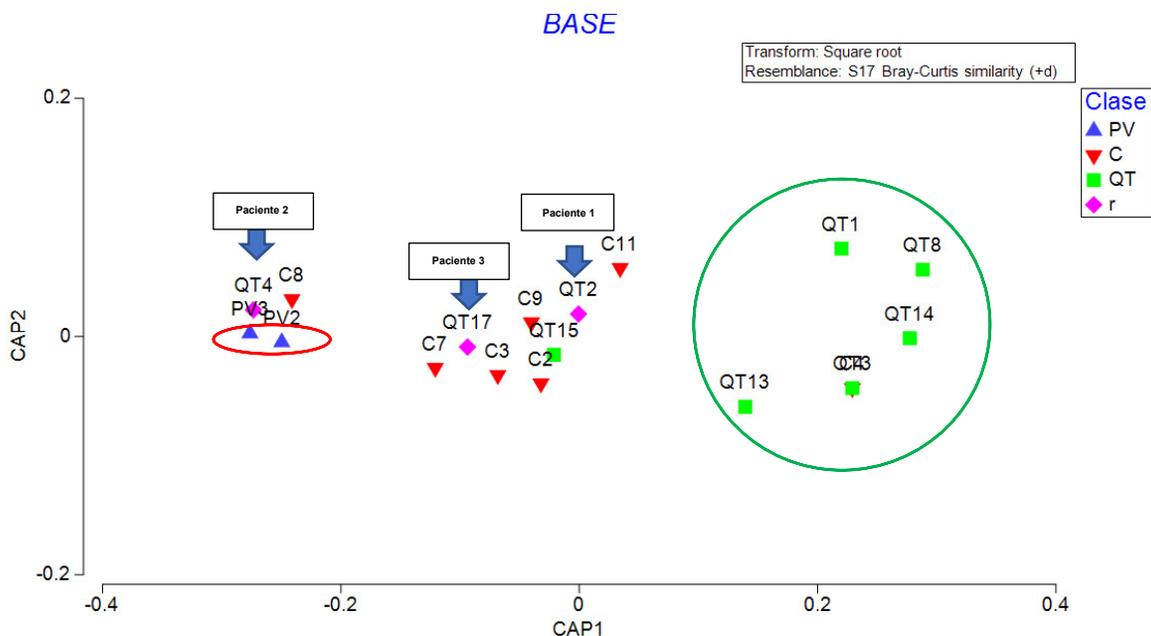


Figura 5. Se señalan las “muestras problema” con flecha azul, en el recuadro se indica de manera individual a que paciente pertenece la muestra. En el círculo verde se señala el grupo que recibió quimioterapia adyuvante y en el ovalo rojo se señalan las pacientes que no habían recibido ningún tipo de tratamiento.

10. Discusión:

La metabolómica es una nueva herramienta que tiene el objetivo de evaluar de manera cuantitativa o cualitativa la presencia de metabolitos en diferentes muestras biológicas como es orina, tejido tumoral, sangre o aliento. La presencia de metabolitos refleja el metabolismo celular que se ve influenciado por la edad, sexo, raza, exposición a medicamentos y enfermedades como el cáncer que tiene influencia sobre vías metabólicas específicas. (32,37)

El patrón de metabolitos refleja el entorno biológico de una persona, la respuesta de las células a la transformación neoplásica, inflamatoria o inmunológica además presenta un comportamiento dinámico por lo que puede evaluar la trayectoria de una enfermedad o la respuesta a un tratamiento establecido.(17)

Los metabolomas son metabolitos de pequeño peso molecular resultantes de procesos metabólicos celulares, tienen función en la modificación del ARN controlando y regulando así la transcripción de genes y traducción de proteínas, también se incrementan asociado al daño oxidativo del ADN y por el metabolismo por glucólisis aeróbica favorecido por las células cancerígenas.(38)

Al ser un estudio no invasivo permite que la metabolómica urinaria sea una herramienta para evaluar la progresión de la enfermedad y monitorear los efectos del tratamiento, no se encuentran estudios dirigidos a pacientes con cáncer de mama después del tratamiento, sin embargo existen estudios en los que se ha comparado el estado preoperatorio y postoperatorio en pacientes con adenocarcinoma ductal pancreático, cáncer de vejiga y carcinoma de ovario en los que la mayoría de los metabolitos alterados retornaron a niveles normales después de la cirugía, por el contrario en pacientes con cáncer gástrico y cáncer renal no hubo un cambio significativo posterior a la cirugía.(36)

En nuestro estudio encontramos una diferencia en el patrón de metabolitos expresados entre las pacientes con cáncer de reciente diagnóstico y en aquellas que ya había completado su tratamiento además entre este último grupo hubo diferencia en las pacientes que además se implementó quimioterapia adyuvante durante su abordaje, en el 2006, Phillips et al. informaron que en pacientes con tumores quimiosensibles se ha reportado una disminución después de la quimioterapia de aminoácidos de hasta el 30%. (22)

Nuestro estudio se pueden observar el Tridecano y Cyclotetrasiloxane, octamethyl como compuestos principales en las pacientes que no se había sometido a ninguna intervención terapéutica, que en otros estudios como es el de M. Phillips del 2010 se identificaron en el aliento de pacientes con cáncer de mama se tomaron como controles a pacientes sanas, estos compuestos en combinación con otros compuestos no identificados como principales dentro de nuestro análisis, dando una sensibilidad 75% y especificidad de 84%. (25)

También identificamos el Phenol 2,5 bis(1,1-dimethylethyl), un compuesto perteneciente al grupo de fenoles volátiles que en el 2011 Silva y colaboradores identificaron en orina como uno de los grupos químicos con mayor contribución resultantes del metabolismo celular en pacientes oncológicos, este perfil de metabolomas urinarios permitió distinguir a los pacientes sanos y oncológicos, en este estudio se incluyeron pacientes con leucemia, linfoma y cáncer de colon y recto. (39)

De acuerdo a los diferentes estudios se puede encontrar que la identificación individual de compuestos no es apropiada para determinar la presencia o ausencia de enfermedad en comparación los patrones con agrupación de compuestos orgánicos pueden ser útiles para la detección de cáncer de mama, estos patrones de compuestos orgánicos se podrían utilizar en la detección en pacientes de alto riesgo y el monitoreo de recurrencia de la enfermedad en pacientes ya tratadas.

Se cuenta como antecedente en nuestra institución, un estudio piloto realizado en conjunto con la Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología en el que se hizo la determinación del patrón metabolómico en aliento en pacientes con cáncer de mama, en este estudio se incluyeron pacientes sanas y pacientes con diagnóstico reciente de cáncer de mama que no habían recibido tratamiento. Se encontró diferencia en el patrón metabolómico en ambos grupos, de acuerdo al patrón metabolómico en aliento se clasificó a las pacientes con cáncer de mama en el 98% de los casos, además se hizo una comparación con mastografía haciendo una clasificación del riesgo de cáncer de mama al 94.87% de las pacientes.

Aunque no era el objetivo de este estudio se observó un mayor uso de pruebas de extensión diferentes a la mamografía en pacientes asintomáticas, poniendo en evidencia la falta de una revisión sobre las recomendaciones actuales sobre el seguimiento de pacientes con cáncer de mama para poder implementar de manera adecuada un protocolo de seguimiento que considere además las características biológicas del cáncer, en la actualidad la recomendación es realizar una revisión clínica periódica y utilizar mamografía de manera anual, no se recomienda utilizar otros tipos de marcadores o estudios de extensión.(23,24,40)

11. Limitaciones y/o nuevas perspectivas de investigación:

En este estudio se observa una diferencia en el patrón metabólico de pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento en comparación con las pacientes que no había recibido ningún tipo de tratamiento, sin embargo se ve limitada este resultado por la poca cantidad de muestras incluidas para el análisis, además de que no se incluyó un grupo de control de pacientes sanas.

Se puede implementar una metabólica de seguimiento, para poder implementar patrones metabólicos de cada individuo y su comportamiento desde que se realiza el diagnóstico y los cambios que va presentando conforme el paso del tiempo y principalmente el cambio asociado al tratamiento establecido.

Se requiere hacer estudios de no inferioridad en comparación con la mamografía o los hallazgos clínicos durante el seguimiento, siendo estas últimas las medidas recomendadas para la vigilancia de las pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento, de esta manera poder determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba.

12. Conclusiones

De acuerdo al resultado obtenido se observa un patrón en la distribución de los compuestos encontrados en la orina de pacientes con cáncer de mama posterior al tratamiento el cual es diferente a las pacientes con cáncer de mama que no han recibido ningún tipo de tratamiento, por lo que este primer acercamiento de estudio concuerda con la hipótesis y el objetivo principal planteados en este trabajo de investigación, sin embargo se debe de considerar con cautela este resultado, aunque existe una distribución diferente del patrón metabólico se ingresó una baja cantidad de pacientes en el análisis.

Asociado al tipo de tratamiento otorgado se encontró una diferencia en aquellas pacientes que como parte del manejo multidisciplinario recibió quimioterapia adyuvante, observando además una trayectoria del patrón metabólico que va desde las pacientes que no habían recibido ningún tipo de tratamiento hasta las pacientes que dentro de su tratamiento se incluyó la quimioterapia adyuvante, quedando en un punto intermedio las pacientes que ya fueron tratadas pero que no recibieron quimioterapia adyuvante en su tratamiento. Esta diferencia no se observó en otros tipos de tratamiento.

Tampoco se observó diferencia en el patrón metabólico en orina en relación con el tiempo de seguimiento ni con la etapa clínica en la que se realizó el diagnóstico, tipo histológico o molecular.

Al implementar en el estudio pacientes con diagnóstico de recurrencia de cáncer de mama y someterlas al mismo análisis para determinar el patrón metabólico, se observó un desplazamiento entre los diferentes grupos. En el futuro los patrones metabólicos de las pacientes con cáncer de mama se pueden implementar como una herramienta para el seguimiento, identificando de manera temprana alteraciones que se desarrollan a nivel celular y que puede haber un retraso en identificar mediante los hallazgos clínicos o estudios de extensión utilizados de manera rutinaria, sin embargo se requiere realizar más estudios de investigación de este tipo para determinar la utilidad como prueba de tamizaje o diagnóstico de recurrencia.

Es necesario realizar una revisión de las recomendaciones existentes sobre el seguimiento de las pacientes con cáncer de mama, de lo que se encontró en nuestro estudio destaca un mayor uso de otras pruebas de seguimiento diferentes a la mamografía.

13. Bibliografía:

1. Butcher DT, Alliston T, Weaver VM. A tense situation: Forcing tumour progression. *Nature Reviews Cancer*. 2009;9(2):108–22.
2. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes and Diseases* [Internet]. 2018;5(2):77–106. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021 May;71(3):209–49.
4. Unger-Saldaña K, Ventosa-Santaulària D, Miranda A, Verduzco-Bustos G. Barriers and Explanatory Mechanisms of Delays in the Patient and Diagnosis Intervals of Care for Breast Cancer in Mexico. Vol. 23, *The Oncologist*. 2018. p. 440–53.
5. Consenso Mexicano de Cáncer Mamario 2021 Digital-1-1.
6. Maffuz-Aziz A, Labastida-Almendaro S, Sherwell-Cabello S, Ruvalcaba-Limón E, Domínguez-Reyes CA, Tenorio-Torres JA, et al. Supervivencia de pacientes con cáncer de mama. Análisis por factores pronóstico, clínicos y patológicos. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*. 2016;84(8):498–506.
7. ACOG. Practice bulletin. *Acog*. 2016;123(5):1118–32.
8. Instituto Mexicano de Seguro Social. Guía de Práctica Clínica GPC, Tratamiento del Cáncer de Mama en Segundo y Tercer Nivel de Atención [Internet]. 2017. 1–83 p. Available from: <http://www.cenetec.salud.gob.mx/contenidos/gpc/catalogoMaestroGPC.html>
9. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Friedenreich CM, Calle EE, et al. Menarche, menopause, and breast cancer risk: Individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *The Lancet Oncology* [Internet]. 2012;13(11):1141–51. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70425-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70425-4)
10. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Calle EE, Heath CW, et al. Alcohol, tobacco and breast cancer - Collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58 515 women with breast cancer and 95 067 women without the disease. *British Journal of Cancer*. 2002;87(11):1234–45.
11. Sanchez-Lezama AP, Cavazos-Arroyo J, Albavera-Hernandez C. Applying the Fuzzy Delphi Method for determining socio-ecological factors that influence adherence to mammography screening in rural areas of Mexico. *Cadernos de Saúde Pública*. 2014;30(2):245–58.
12. Fiorica J v. Breast Cancer Screening, Mammography, and Other Modalities. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2016;59(4):688–709.
13. Jacobs L, Bevers TB, Helvie M, Lehman CD, Bonaccio E, Monsees B, et al. Breast cancer screening and diagnosis, version 3.2018. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2018;16(11):1362–89.

14. Melús Palazón E, Coscollar Santaliestra C. Cáncer de mama. FMC Formacion Medica Continuada en Atencion Primaria. 2008;15(10):664.
15. Li J, Peng Y, Liu Y, Li W, Jin Y, Tang Z, et al. Investigation of potential breath biomarkers for the early diagnosis of breast cancer using gas chromatography-mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta* [Internet]. 2014;436:59–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2014.04.030>
16. Macdonald S, Oncology R, General M. Breast Cancer Breast Cancer [Internet]. Vol. 70, *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2016. 515–517 p. Available from: <https://www2.tri-kobe.org/nccn/guideline/breast/english/breast.pdf>
17. McCartney A, Vignoli A, Biganzoli L, Love R, Tenori L, Luchinat C, et al. Metabolomics in breast cancer: A decade in review. *Cancer Treatment Reviews* [Internet]. 2018;67:88–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.04.012>
18. Harbeck N, Gnant M. Breast cancer. *The Lancet* [Internet]. 2017;389(10074):1134–50. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31891-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31891-8)
19. Coleman WB. Next-Generation Breast Cancer Omics. *American Journal of Pathology*. 2017;187(10):2130–2.
20. Schmoll H-J. AJCC Cancer Staging Manual, 6th edition. *Annals of Oncology*. 2003;14(2):345.
21. Rashmi Kumar N, Burns J, Abraham J, Aft R, Agnese D, Allison KH, et al. NCCN Guidelines Version 2.2022 Breast Cancer [Internet]. 2021. Available from: <https://www.nccn>.
22. Arce C, Bargalló E, Villaseñor Y, Gamboa C, Lara F, Pérez Sánchez V, et al. Cáncer de Mama.
23. María Eugenia Bravo DM. PREVENCIÓN Y SEGUIMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA, SEGÚN CATEGORIZACIÓN DE FACTORES DE RIESGO Y NIVEL DE ATENCIÓN FOLLOW UP AND PREVENTION STRATEGIES OF BREAST CANCER ACCORDING TO RISK CATEGORIES; 24(4) 578-587].
24. Moschetti I, Cinquini M, Lambertini M, Levaggi A, Liberati A. Follow-up strategies for women treated for early breast cancer. Vol. 2016, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2016.
25. Wang C, Sun B, Guo L, Wang X, Ke C, Liu S, et al. Volatile organic metabolites identify patients with breast cancer, cyclomastopathy, and mammary gland fibroma. *Scientific Reports*. 2014;4:1–6.
26. Corona G, Polesel J, Fratino L, Miolo G, Rizzolio F, Crivellari D, et al. Metabolomics biomarkers of frailty in elderly breast cancer patients. *Journal of Cellular Physiology*. 2014;229(7):898–902.
27. Jasbi P, Wang D, Cheng SL, Fei Q, Cui JY, Liu L, et al. Breast cancer detection using targeted plasma metabolomics. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [Internet]. 2019;1105:26–37. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.11.029>
28. Hart CD, Tenori L, Luchinat C, Leo A di. Novel Biomarkers in the Continuum of Breast Cancer. Springer, Cham [Internet]. 2016;882:217–34. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-22909-6>
29. Hadi NI, Jamal Q. “OMIC” tumor markers for breast cancer: A review. Vol. 31, *Pakistan Journal of Medical Sciences*. Professional Medical Publications; 2015.

30. Armitage EG, Ciborowski M. Applications of metabolomics in cancer studies. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer New York LLC; 2017. p. 209–34.
31. Viale A, Draetta GF. Metabolism in Cancer Treatment Resistance. 2016;207:135–56. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-42118-6>
32. Günther UL. Metabolomics Biomarkers for Breast Cancer. *Pathobiology*. 2015;82(3–4):153–65.
33. Barash O, Zhang W, Halpern JM, Hua QL, Pan YY, Kayal H, et al. Differentiation between genetic mutations of breast cancer by breath volatolomics. *Oncotarget*. 2015;6(42):44864–76.
34. Zahran F, Rashed R, Omran M, Darwish H, Belal A. Study on Urinary Candidate Metabolome for the Early Detection of Breast Cancer. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2021 Jul 1;36(3):319–29.
35. Omran MM, Rashed RE, Darwish H, Belal AA, Mohamed FZ. Development of a gas chromatography–mass spectrometry method for breast cancer diagnosis based on nucleoside metabolomes 1-methyl adenosine, 1-methylguanosine and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Biomedical Chromatography*. 2020 Jan 1;34(1).
36. Dinges SS, Hohm A, Vandergrift LA, Nowak J, Habbel P, Kaltashov IA, et al. Cancer metabolomic markers in urine: evidence, techniques and recommendations. Vol. 16, *Nature Reviews Urology*. Nature Publishing Group; 2019. p. 339–62.
37. Burton C, Ma Y. Current Trends in Cancer Biomarker Discovery Using Urinary Metabolomics: Achievements and New Challenges. *Current Medicinal Chemistry*. 2018;26(1):5–28.
38. Burton C, Ma Y. Current Trends in Cancer Biomarker Discovery Using Urinary Metabolomics: Achievements and New Challenges. *Current Medicinal Chemistry*. 2018;26(1):5–28.
39. More TH, Taware R, Taunk K, Chanukuppa V, Naik V, Mane A, et al. Investigation of altered urinary metabolomic profiles of invasive ductal carcinoma of breast using targeted and untargeted approaches. *Metabolomics [Internet]*. 2018;14(8):0. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11306-018-1405-1>
40. Montgomery DA, Krupa K, Cooke TG. Alternative methods of follow up in breast cancer: A systematic review of the literature. *British Journal of Cancer*. 2007 Jun 4;96(11):1625–32.