

República de Cuba

Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey

**Eficacia del método pirogalol-salicilato para el diagnóstico
temprano de pacientes con cáncer de mama**

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas

Por:

Autor: Gerardo Brunet Bernal

Camagüey, 2024

República de Cuba

Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey

**Eficacia del método pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano
de pacientes con cáncer de mama**

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas

Por

Autor: Dr. Gerardo Brunet Bernal

Tutores: Dr.C. Amilkar Arenal Cruz

Dr.C. Zaily Fuentes Díaz

Camagüey, 2024

Agradecimientos

A mi madre que con su apoyo y dedicación contribuyó a que esta investigación se materializará.

A todos los que han aportado su tiempo y conocimientos en la realización de esta tesis que sin su ayuda me hubiera sido imposible terminar la misma, en especial las Dr.C. Gretel Mosquera Betancourt y Lidyce Quesada Leyva, así como la Lic.Dayami Bembibre Mozo e Ing. David Garcia Abreu.

A mis tutores el Dr.C. Amilkar Arenal Cruz y a la Dr.C. Zaily Fuentes Díaz, por el interés que prestaron a esta investigación.

Al imprescindible colectivo del CEPNIBI por su comprensión y dedicación.

A todos, muchas gracias.

Dedicatoria

A mis padres, por haberme guiado tan sabiamente a través de toda mi vida.

A mi familia, que siempre está en mi corazón.

A todas las personas que me respetan y estiman, por su presencia en mi vida.

Síntesis

Los métodos para el diagnóstico temprano de pacientes con cáncer de mama en Camagüey presentan precisión diagnóstica limitada. El método del pirogolol-salicilato pudiera ser una alternativa para este fin; sin embargo, la eficacia de este último se desconoce, por tal motivo esta investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia del método pirogolol-salicilato para el diagnóstico temprano del cáncer de mama. Se realizó un estudio analítico basado en una investigación de evaluación de tecnologías sanitarias, de enero de 2021 a diciembre de 2023 en Camagüey. Se incluyó un total de 167 sujetos seleccionados por muestreo aleatorio simple. Se empleó la citología por aspiración con aguja fina y el método clínico como prueba de oro para la validación diagnóstica del método. La sensibilidad, especificidad y eficacia diagnóstica fueron altas. Se encontraron diferencias significativas de la actividad enzimática media entre los grupos de sujetos diagnosticados de cáncer de mama y no diagnosticados. Resultó novedoso que, por primera vez en el país se empleó la enzima lactoperoxidasa como biomarcador tumoral para el cáncer de mama. Como contribución a la teoría se estableció la asociación entre la actividad aumentada de la lactoperoxidasa sérica y el diagnóstico positivo del cáncer de mama. Se aportó a la práctica el método pirogolol-salicilato validado y eficaz para el diagnóstico temprano de pacientes con cáncer de mama.

Tabla de contenidos

Pág.

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Justificación del estudio	4
1.3 Problema de investigación	6
1.4 Objetivo general	7
1.4.1 Objetivos específicos	7
1.5 Hipótesis de la investigación	7
1.6 Novedad científica	7
1.7 Diseño metodológico de la investigación	8
1.8 Beneficios esperados	9
1.9 Límites del alcance de la investigación	9
2. DESARROLLO	10
2.1 Fundamentación teórica	10
2.1.1 Valoración del contexto local, nacional y mundial.....	10
2.1.2 Fundamentos teóricos que sustentan el empleo de biomarcadores para el diagnóstico temprano de pacientes con CM.....	15

2.1.2.1 Pruebas diagnósticas y sus características matemáticas.....	18
2.1.3 Biomarcadores tumorales y sus aplicaciones	23
2.2 CAPÍTULO I. Validación del desempeño analítico del método pirogalol-salicilato	43
2.2.1 Objetivos del capítulo	43
2.2.2 Diseño metodológico.....	43
2.2.3. Análisis y discusión de resultados	51
2.2.4. Conclusiones del capítulo.....	67
2.3 CAPÍTULO II validación del desempeño clínico del pirogalol-salicilato	71
2.3.1 Objetivos del capítulo	71
2.3.2 Diseño metodológico.....	71
2.3.3. Análisis y discusión de resultados	81
2.3.4 Conclusiones del capítulo.....	100
3. CONCLUSIONES.....	106
4. RECOMENDACIONES	107
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
6. ANEXOS.....	109

1. INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1 Antecedentes

El cáncer de mama (CM) es una enfermedad de origen multifactorial con una importante carga genética que influye en el comportamiento de las células malignas.^{1, 2} Se caracteriza por la multiplicación descontrolada de células cancerígenas procedentes de los epitelios que tapizan los conductos y lobulillos de la mama.^{2, 3} El crecimiento progresivo de la masa cancerígena produce un tumor que comprime e infiltra tejidos vecinos y en ocasiones genera metástasis a tejidos distantes.^{2, 4}

La etiopatogenia del CM es compleja, no obstante se disponen de conocimientos sobre factores de riesgo (FR), cuya presencia no implica la aparición de la afección pero sí la mayor posibilidad de desarrollarla.^{5, 6} Entre estos factores se destacan: la edad, antecedentes familiares, primiparidad tardía, menarquia precoz, menopausia tardía, lactancia materna nula, hábito de fumar, sedentarismo, consumo de alcohol y hormonas exógenas que pueden contribuir al aumento de la incidencia de la enfermedad.^{5, 7}

El diagnóstico del CM se basa en el método clínico que incluye interrogatorio, examen físico (EF) y exámenes complementarios, estos últimos contribuyen a confirmar el diagnóstico presuntivo.^{8,9} El EF puede ser realizado por el médico y el paciente, en muchas ocasiones constituye la vía mediante la cual se detectan por primera vez las anomalías en las mamas que hacen pensar en un proceso maligno previo a la realización de la biopsia y las técnicas de imagen.¹⁰

Entre los métodos complementarios se destacan las técnicas de imagen que incluyen: la mamografía, la resonancia magnética, la tomografía axial computarizada y la ecografía de mama que resultan muy útiles en el seguimiento de los pacientes diagnosticados.¹¹ Estas técnicas además se emplean como apoyo a otros procedimientos diagnósticos como la biopsia de mama, la cual puede ser guiada por ecografía o mamografía obteniéndose resultados más precisos.^{11, 12}

No obstante, para establecer el diagnóstico de certeza se requiere realizar la biopsia. Entre los procedimientos más empleados se destaca la citología por aspiración con aguja fina (CAAF), aguja gruesa y la incisional.^{11, 13} De ahí que, resulta un procedimiento indispensable para la estadificación de los tumores mamarios e identificación de biomarcadores tisulares mediante inmunohistoquímica.

En relación con el diagnóstico de CM, según Palazón¹⁵ se disponen de biomarcadores los que pueden ser tisulares o séricos, órgano-específicos y no órgano-específicos cuyas principales aplicaciones son diagnóstico positivo, seguimiento y evaluación del tratamiento. En la clínica se destaca el antígeno carbohidrato 15-3 (CA 15-3, por sus siglas en inglés *carbohydrate antigen*) y antígeno carcinoembrionario (CEA, sus siglas en inglés *carcinoembryonic antigen*). Otras aplicaciones de los marcadores incluyen la clasificación molecular del CM donde se emplean biomarcadores como el receptor para estrógenos, progestágenos y factor de crecimiento epidérmico.¹⁶

En este sentido, a pesar de la disponibilidad de una gran variedad de biomarcadores, la búsqueda de nuevos procedimientos diagnósticos representa una prioridad para el sistema de salud cubano.¹⁷ En ese contexto la presente investigación está dirigida a evaluar la eficacia del método del pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano del CM.

El método del pirogalol-salicilato tiene como antecedente directo el método de Dupoy, que se emplea para determinar la calidad de la leche de vaca. Este último método, se basa en la determinación de la enzima lactoperoxidasa (LP) a través de una reacción enzimática que utiliza como sustrato el guayacol y el peróxido de hidrógeno. Como producto de la reacción se obtiene el tetraguayacol sustancia que puede ser cuantificada mediante colorimetría.¹⁸

Así mismo, una investigación publicada en 1977 por Pruitt y Adamson en la revista *Infection and Immunity* , demuestra que el pirogalol constituye un sustrato metabolizable por la LP. Aunque el estudio se enmarca en saliva humana como muestra o fuente de la enzima, indica la posibilidad de determinar la LP mediante espectrofotometría. En este caso el pirogalol en presencia de la metaloenzima se transforma en pirogalina producto coloreado que absorbe luz en el espectro de 503 nm de longitud de onda.¹⁹

De modo similar, un estudio piloto llevado a cabo en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI) de Camagüey, pone en práctica el método del pirogalol-salicilato y determina la utilidad de ese procedimiento para la identificación de LP salival mediante espectrofotometría. A diferencia de los métodos precedentes el método del pirogalol-salicilato incorpora como reactivo el

salicilato, un inhibidor de la mieloperoxidasa, enzima que compite con la LP por sustratos fenólicos (pirogalol y guayacol) según Brunet et al.²⁰

Sobre la línea de investigación antes abordada, Brunet et al.,²¹ desarrollan otro estudio en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de Camagüey en el 2023 donde evalúan el comportamiento de la enzima LP en suero sanguíneo humano. Estos autores registran la existencia de asociación entre el diagnóstico histopatológico de CM y la actividad aumentada de la enzima LP sérica. Dentro de este orden de ideas, la enzima LP tiocianato se produce por las células epiteliales de las glándulas salivales y acinos mamarios en mamíferos incluido el humano,²² estas células acinares, en ocasiones y por múltiples factores se transforman en malignas y originan cáncer.²³

Las células cancerígenas una vez originadas en dependencia de su estado de diferenciación pueden comportarse con agresividad variable que se manifiesta por la capacidad de infiltrar, invadir y destruir tejido sano circundante o a distancia mediante la metástasis²⁴ por lo que, los niveles séricos de la enzima LP que se determinan mediante el método del pirogalol-salicilato podrían emplearse como un biomarcador soluble para el diagnóstico temprano del CM. No obstante, la utilidad clínica no ha sido comprobada para este fin, razón que justifica la investigación que se desarrolla.

1.2 Justificación del estudio

Entre las causas que motivaron la investigación se destacan la alta tasa de incidencia de la enfermedad en Cuba y en particular en Camagüey;²⁵ además, se estima en los próximos años que, este indicador tenderá al aumento.^{26, 27} Por otro

lado, la literatura científica indica que el diagnóstico tardío del cáncer se asocia a pronósticos desfavorables de la enfermedad; por tanto, el desarrollo de un procedimiento que contribuya al diagnóstico temprano impacta de manera favorable sobre el indicador antes mencionado.²⁸

A pesar de que los procedimientos disponibles en el país para el diagnóstico temprano son confiables, estos presentan limitaciones. El examen físico de la mama (inspección y palpación) resulta poco eficiente ante tumores pequeños u aquellos localizados en la profundidad de mamas densas donde son difíciles de detectar mediante la palpación.^{29, 30} La mamografía, si bien permite detectar lesiones de pequeño tamaño la sensibilidad diagnóstica se puede ver afectada en pacientes de mamas densas. Como resultado la tasa de errores diagnósticos se incrementa y con ello se pierde la oportunidad de establecer el diagnóstico oportuno.^{29, 30}

En el caso de la ecografía de mama, la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética, son técnicas que no se pueden aplicar a grandes grupos poblacionales para realizar pesquisas. Además, estas técnicas de imagen requieren de personal especializado y equipos con cierta complejidad que limitan su empleo al seguimiento de pacientes ya diagnosticados.^{29, 30}

En Cuba los biomarcadores séricos más empleados en el manejo del CM incluyen el CEA y CA 15-3, cuya ventaja es que pueden ser empleados para el seguimiento de grandes grupos poblacionales. No obstante, presentan como principal desventaja la baja sensibilidad diagnóstica lo cual circunscribe su empleo al seguimiento de la enfermedad metastásica o recaída.³¹

A consideración del autor, la baja precisión de estos biomarcadores se debe a que son proteínas inespecíficas de tejidos por lo que pueden alterarse las concentraciones en procesos tumorales de la mama e incluso trastornos inflamatorios a nivel de otros tejidos. Además, la determinación se realiza por método de enzimoimmunoanálisis de absorción (ELISA, por sus siglas en inglés *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), es decir, se requiere de la interacción con un anticuerpo para que el biomarcador proteico pueda ser detectado de manera indirecta, aspecto que incrementa la probabilidad del error diagnóstico.

Se deben señalar además de las limitaciones intrínsecas de los biomarcadores séricos, las limitaciones atribuidas a las restricciones comerciales a las cuales es sometida Cuba por el embargo económico.³² Esta situación trae como consecuencia la escasa accesibilidad a biomarcadores más precisos lo que sin duda impacta de forma negativa en el manejo de la enfermedad.³³ Por esta razón la búsqueda de métodos efectivos para el diagnóstico temprano del CM representa una prioridad para el Sistema Nacional de Salud.

1.3 Problema de Investigación

Problema científico: ¿Resulta eficaz el método del pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano de pacientes con CM en Camagüey?

Problema práctico: carencia de métodos basados en biomarcadores tumorales para el diagnóstico temprano de pacientes con CM en la provincia Camagüey

Objeto de estudio: proceso de evaluación de la eficacia clínica de métodos basados en biomarcadores tumorales para el diagnóstico temprano de pacientes con CM.

Campo de acción: método del pirogalol-salicilato basado en el biomarcador LP sérica.

1.4 Objetivo general

Evaluar la eficacia del método pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano del CM en pacientes atendidos en Consulta Regional de Casos Nuevos de Mama en Camagüey.

1.4.1 Objetivos específicos

- Validar el desempeño analítico del método pirogalol-salicilato.
- Validar el desempeño clínico del método pirogalol-salicilato.

1.5 Hipótesis de la investigación

El método pirogalol-salicilato resulta eficaz para el diagnóstico temprano de pacientes con CM.

1.6 Novedad científica

Resulta novedoso que, el método pirogalol-salicilato, a diferencia del precedente contiene el reactivo salicilato, molécula con actividad inhibitoria sobre la mieloperoxidasa sérica, lo cual incrementa su precisión.

Por primera vez en Cuba se emplea el biomarcador LP, mediante el método pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano de pacientes con CM.

Aporte teórico

Este estudio aporta por primera vez la existencia de asociación entre las variables: diagnóstico positivo de CM y el aumento de la actividad de la enzima LP sérica.

Sobre la base de este conocimiento teórico los niveles séricos de la LP fueron empleados como biomarcador para el CM con utilidad clínica.

Aporte práctico

La investigación aporta un biomarcador sérico para el diagnóstico temprano de pacientes con CM basado en un método enzimático estandarizado y validado, así como una base de datos, capaz de generar valores de actividad enzimática, lo cual reduce el error humano y tiempo de trabajo.

1.7 Diseño metodológico de la investigación

Se realizó un estudio analítico basado en una investigación de evaluación de tecnologías sanitarias en el CENIPBI, en colaboración con el Hospital Provincial Oncológico María Curie de la provincia Camagüey en el período de enero de 2021 a diciembre de 2023. Se incluyeron sujetos aparentemente sanos y pacientes con diagnóstico de CM.

En el primer capítulo se realizó la validación del desempeño analítico del método pirogallol-salicilato, para ello se aplicaron procedimientos de la estadística descriptiva e inferencial. Se llevó a cabo un estudio experimental de medios diagnósticos.

En el segundo capítulo se realizó la validación del desempeño clínico del método pirogallol-salicilato para lo cual se empleó la estadística descriptiva e inferencial. Se efectuó un estudio analítico y de corte transversal de medios diagnósticos.

Durante el estudio para la validación del desempeño analítico se trabajó con el manual de buenas prácticas para laboratorio de control de medicamento del

Centro para el Control Estatal de Medicamentos (CECMED).³⁴ De modo similar, para la validación del desempeño clínico se utilizó la norma cubana ISO 20916:2023 (Dispositivos médicos para diagnóstico in vitro – estudios de desempeño clínico con muestras de seres humanos – buenas prácticas de estudio (ISO 20916: 2019, documentos).³⁵

En el desarrollo de esta investigación se mantuvo como premisa respetar los principios bioéticos y normativas de la Declaración de *Helsinki* ³⁶ que van implícitos en los estudios de este tipo y los resultados de la misma fueron utilizados solo con fines investigativos. Los investigadores velaron por la calidad de los resultados mediante el cumplimiento de los procedimientos normalizados para cada una de las determinaciones.

1.8 Beneficios esperados

Un método basado en un biomarcador sérico para el diagnóstico temprano del CM que contribuya a la soberanía tecnológica.

1.9 Límites del alcance de la investigación

El método del pirogalol-salicilato basado en la determinación de LP sérica, al igual que otros biomarcadores séricos disponibles en la actualidad son considerados no órgano-específicos, por lo que sus niveles séricos podrían encontrarse alterados en algunas condiciones patológicas como: la mastitis, traumatismos y tumores benignos de las mamas donde se encuentren comprometidos epitelios tisulares productores de LP; lo cual determina un porcentaje de falsos positivos y negativos que atentan contra la precisión diagnóstica de la prueba.

2. DESARROLLO

2. Desarrollo

2.1 Fundamentación teórica

2.1.1 Valoración del contexto local, nacional y mundial

El cáncer constituye un problema de salud en Cuba. En 2021 según el anuario estadístico de salud en el país tuvieron lugar 26 791 defunciones por esta causa, para una tasa de 239 por cada 100 000 habitantes. En el caso del CM se produjeron 1 904 defunciones que representan una tasa de 33,8 por cada 100 000 habitantes. Camagüey aportó 1 851 defunciones por concepto de enfermedades proliferativas.³⁷ Dentro de este marco, Rivera et al.,³⁸ resaltan que el CM representa la segunda causa de mortalidad en las féminas en todo el país incluida la provincia Camagüey.

La incidencia en la provincia agramontina se mantiene alta, entre 200 y 300 personas son intervenidas mediante cirugía cada año por CM. Solo en el año 2020 acudieron a la Consulta Regional de Casos Nuevos de Mama más de 7 800 pacientes, de ellas requirieron intervención quirúrgica unas 347 pacientes y el 83 % fueron positivas.³⁹

Las cifras abordadas con anterioridad sugieren que el CM es una enfermedad que afecta en mayor medida a la población femenina de la provincia y que la muerte se presenta con frecuencia cuando el tratamiento no es el adecuado. Por tanto, el diagnóstico oportuno es indispensable en la reducción de mortalidad.

Ojeda et al., ¹² corroboran que tanto en la provincia Camagüey como en el resto del país el diagnóstico y seguimiento del CM se realiza apoyándose en técnicas de imagen y la biopsia. Además, están disponibles biomarcadores tumorales como la mucina CA 15-3, receptores de estrógenos y progestágenos (RE y RP) también están disponibles.

En consonancia con lo expuesto, Torres et al., ⁴⁰ advierten que el diagnóstico temprano de la enfermedad garantiza el tratamiento oportuno y en consecuencia reduce la probabilidad de muerte por esta causa. Sin embargo, este paso en el manejo integral de los pacientes no siempre se logra por múltiples factores que incluyen el desconocimiento.

De acuerdo con Oliveira et al., ⁴¹ existen otros factores que atentan contra el diagnóstico precoz del CM. Estos incluyen el miedo y angustia que experimentan los sujetos ante la posibilidad de ser diagnosticados como enfermos, lo cual limita su asistencia a las instituciones de salud especializadas.

Desde otra perspectiva, Leiva et al., ¹⁶ enfocan la atención hacia la carencia de biomarcadores séricos, indispensables para las pesquisas poblacionales de CM en la Atención Primaria de Salud (APS). La escasez de esos reactivos conlleva a

intervalos de tiempo donde la vigilancia de la enfermedad se limita y en consecuencia incrementa el riesgo de empeoramiento clínico del paciente.

En la presente indagación se constata que el diagnóstico oportuno del CM constituye una prioridad para el Servicio de Mastología, a pesar de los esfuerzos que se realizan para implementarlo y mantenerlo, el autoexamen de mamas y la mamografía de detección aún son insuficientes basado en la tasa de mortalidad que muestra la provincia. Por tanto, el autor considera que se debe fomentar el desarrollo de métodos diagnósticos complementarios eficaces para este fin.

En Cuba durante las últimas décadas se diagnostican cerca de 2 000 nuevos casos de CM cada año. La tasa de incidencia es de 34 casos por cada 100 000 mujeres. Mientras que la mortalidad ronda en los 1 100 casos por año. Estos indicadores, son muestras de la necesidad de fomentar el desarrollo de métodos novedosos que contribuyan y auxilien el Programa de Control del Cáncer Mamario (PCCM) implementado en Cuba desde 1987 pues en más del 70 % de las féminas el diagnóstico se realiza en periodos tardíos (estadios avanzados). ⁴² Cabe la consideración por otra parte, que el PCCM da acceso a un número importante de pruebas diagnósticas que contribuyen al seguimiento y tratamiento de la enfermedad. No obstante, las pruebas genómicas y ciertos biomarcadores tumorales específicos, que tienen mayor valor para el diagnóstico temprano del CM presentan disponibilidad insuficiente según apreciaciones de García et al. ⁴³ A consideración del Ministerio de Salud Pública ⁴⁴ un aspecto determinante en la accesibilidad a estos reactivos son las limitaciones del bloqueo a Cuba impuesto

por los Estados Unidos de América, que dificulta el acceso del gobierno cubano a estos recursos.

La presente experiencia apunta a que, el desarrollo de métodos diagnósticos eficaces para el CM debe ser considerado una prioridad no solo territorial sino también estatal para mejorar los indicadores de salud como nación. Esta perspectiva a criterio del investigador contribuiría a la soberanía tecnológica y a brindar un mejor servicio sanitario a la población cubana afectada con este tipo de cáncer.

Puerta ⁴⁵ informa que, el CM constituye la neoplasia maligna más frecuente en el mundo con un total de 2,2 millones de pacientes diagnosticados el año 2020, lo que representa la principal causa de muerte en la mujer, por esta causa. Respecto a la supervivencia luego de los cinco años, en países como India y Sudáfrica es del 66 - 40 %, en este orden, mientras que en los países del primer mundo puede superar el 90 % según indagaciones de Paredes. ⁴⁶

Osorio et al., ⁴⁷ consideran que la estadística futurística no es alentadora pues la Organización Mundial de la Salud (OMS) prevé que una de cada 12 mujeres padecerá de CM en algún momento de su vida. Además, añaden que, debido al excesivo crecimiento de la población mundial y la exposición a más factores de riesgos la mortalidad por esta neoplasia maligna se acrecentará en un 45 %.

A propósito, Archaga ⁴⁸ apunta que en países europeos como España el riesgo de padecer cáncer a lo largo de la vida es de uno por cada ocho mujeres y constituye

la principal causa de muerte en las mujeres de este país. Por otro lado, se registra un aumento en el número de casos diagnosticados atribuido al tabaquismo, envejecimiento poblacional, exposición a factores de riesgo y a la mejora de la tecnología de diagnóstico precoz.⁴⁸

En sintonía con este tema, la región de las Américas en 2020 registró una incidencia que superó los 210 000 nuevos diagnósticos de CM y fallecieron unos 68 000 pacientes. América Latina (AL) y el Caribe aportaron la cuarta parte de los nuevos casos que se reportaron a nivel mundial. América del Norte presentó una proporción inferior de mujeres enfermas menores de 50 años, que la región de AL (19 % y 32 %) en correspondencia.⁴⁹

Resulta necesario señalar que, el pronóstico de los pacientes después del diagnóstico de CM muestra mejoras drásticas en los países de altos ingresos, los cuales figuran una disminución del 40 % en mortalidad por CM (estandarizada por edad) entre 1980 y 2020, tras la introducción de programas de detección temprana y protocolos de tratamiento estandarizados.⁵⁰

El investigador opina que los mejores resultados mostrados por los países del primer mundo respecto al control de la enfermedad evidencian que el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno constituyen la clave para el impacto positivo sobre la mortalidad por CM. En relación con lo tratado se hace evidente que el desarrollo de métodos diagnósticos constituye una tarea prioritaria a nivel mundial.

Respecto a la disponibilidad de métodos diagnósticos, en el mundo están al alcance para el diagnóstico y seguimiento del CM pruebas de imágenes, biopsias, biomarcadores tumorales. Entre estos últimos la proteína de choque térmico 27 (Hsp27, por sus siglas en inglés *Heat shock proteins*), receptores para estrógenos (RcE, por sus siglas en inglés *strogen receptors*), biomarcadores de proliferación, ligando de muerte programada-1 (*PD-L1* por sus siglas en inglés *programmed death ligands*), factores de crecimiento y hormonas según indagaciones de Suero et al.¹⁶ Del mismo modo Rodríguez et al.,⁵¹ señalan pruebas genómicas como: *MammaPrint* y la prueba *Oncotype DX*, con la probabilidad de predecir el riesgo de recurrencia de la enfermedad dentro de un rango de 10 años.

Sin embargo, a pesar del desarrollo de la biología molecular en la obtención de cada vez más y mejoradas pruebas diagnósticas para CM, el número de biomarcadores tumorales séricos de diagnóstico temprano es aún bajo. Por tanto, esta es una brecha en la que hay que profundizar para el desarrollo de biomarcadores que permitan realizar estudios en poblaciones de riesgo (pesquisas) que tributen al diagnóstico precoz o por lo menos temprano del CM.

2.1.2 Fundamentos teóricos que sustentan el empleo de biomarcadores para el diagnóstico temprano de pacientes con CM.

Considera Alvares⁵² que el proceso diagnóstico requiere el empleo de técnicas e instrumentos que se encuentren validados desde la ciencia. Este proceso tiene

como finalidad reducir la incertidumbre en torno al estado de salud de un individuo desde el inicio del estudio a límites aceptables al final de este.⁵³

Jain ⁵⁴ asume que un biomarcador tumoral sérico es una sustancia cuya presencia en sangre se modifica (incrementa o desciende) en relación con la presencia de una neoplasia maligna en el organismo. Así pues, una vez validado un biomarcador este se convierte en predictor estadístico de: presencia de enfermedad futura, enfermedad actual o en biomarcador pronóstico.⁵⁴

Diamandis ⁵⁵ opina que existen biomarcadores tumorales con varias aplicaciones e incluyen:

- ✓ Diagnóstico precoz.
- ✓ Diagnóstico.
- ✓ Pronóstico.
- ✓ Monitorización.

A consideración del autor, el empleo de biomarcadores séricos tumorales resulta conveniente en las estrategias de diagnóstico temprano del CM, sin embargo, estos deben ser validados de manera eficiente para garantizar un diagnóstico preciso. Se debe tener en cuenta que el empleo de biomarcadores ineficientes puede conllevar a diagnósticos incorrectos y por ende a tratamientos innecesarios que pueden generar daños a los pacientes.

En relación con lo antes abordado, los objetivos que persiguen los biomarcadores tumorales pueden ser diferentes en dependencia del enfoque clínico. Si, por

ejemplo, lo que se evalúa es la eficacia de un biomarcador para el diagnóstico temprano, el valor predictivo del mismo depende de la prevalencia de la enfermedad en la población y su objetivo sería discernir entre individuos sanos y enfermos. En este caso los individuos son sanos con factores de riesgo de desarrollar la enfermedad.⁵⁶

De modo diferente, si el biomarcador se diseña para establecimiento del diagnóstico positivo de la enfermedad, este se debe destinar a pacientes enfermos con síntomas y signos evidentes de cáncer con un porcentaje de certeza alto. La aplicación a pacientes con estas características garantiza el diagnóstico diferencial entre enfermo de cáncer y no enfermo, lo cual contribuye a mejorar el valor diagnóstico del biomarcador. Por lo que se deduce que la correcta selección del paciente resulta crucial para obtener resultados favorables.⁵⁶

Se debe señalar que en ocasiones los biomarcadores son desarrollados para el diagnóstico evolutivo de la enfermedad, es decir, su objetivo se centra en discernir si un paciente enfermo de cáncer presenta una recidiva o remisión completa de la enfermedad. Este aspecto resulta crucial para el seguimiento de los pacientes ya que la inconsistencia en el control del cáncer puede impactar de forma negativa en el pronóstico de la enfermedad. De igual modo, si el biomarcador estuviese centrado en el diagnóstico de extensión el objetivo se encaminaría a diferenciar un sujeto con enfermedad local de un individuo con enfermedad extendida.⁵⁶

En ocasiones lo que se trata es de identificar la capacidad de un biomarcador para discernir o diferenciar entre la curación o la muerte, presencia de invalidez o curación sin secuelas, muerte o curación. En los casos abordados con anterioridad se hace referencia a los biomarcadores pronósticos, Ortiz ⁵⁷ sugiere que siempre se aplican a sujetos enfermos cuyo diagnóstico de cáncer se confirmó mediante la biopsia, examen físico y las técnicas de imagen de sujetos enfermos. Se debe hacer referencia a los biomarcadores de riesgo cuya finalidad está dirigida a la predicción de enfermedad futura lo cual sugiere que son aplicables a sujetos sanos y por ende como prueba diagnóstica juegan un papel en la prevención de la enfermedad. ⁵⁶

2.1.2.1 Pruebas diagnósticas y sus características matemáticas.

Según Álvarez ⁵² para la determinación de la eficacia de una prueba diagnóstica, se requiere estimar las probabilidades de resultados o la combinación de estos (descriptores de probabilidades). Estos descriptores incluyen la especificidad, la sensibilidad, valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo. Núñez ⁵⁸ es del criterio que estos últimos elementos se obtienen a partir de los posibles resultados producto de la aplicación de la prueba diagnóstica o biomarcador tumoral según el contexto.

La sensibilidad diagnóstica se define como la capacidad de la prueba diagnóstica para identificar como positivo a casos que realmente están enfermos. Representa la proporción de enfermos que son bien clasificados. En otras palabras, como el

cociente de verdaderos positivos entre la suma de verdaderos positivos y falsos negativos. A continuación se muestra la simbología empleada y la formulación matemática.^{52, 58}

Se entiende como Se (sensibilidad diagnóstica), VN (verdaderos negativos, ausencia de enfermedad y marcador negativo); VP (verdaderos positivos, presencia de enfermedad y diagnosticador o biomarcador positivo); FN (falsos negativos, prueba o biomarcador negativo en presencia de enfermedad) FP (falsos positivos, biomarcador positivo en ausencia de enfermedad).^{52, 58}

$$Se = \frac{VP}{VP + FN} \quad 58, 59$$

Chernick, y Friis, (2003)⁵⁹ desde el punto de vista conceptual entienden por especificidad a la capacidad de la prueba o biomarcador diagnóstico de identificar como negativo a aquellos que en realidad no están enfermos. Es el cociente de verdaderos negativos entre la suma de falsos positivos y verdaderos negativos. A continuación se muestra la simbología empleada y la formulación matemática.

Se entiende como Sp (especificidad diagnóstica), VN (verdaderos negativos,); VP (verdaderos positivos); FN (falsos negativos, prueba) FP (falsos positivos).

$$Sp = \frac{VN}{VN + FP} \quad 58, 59$$

Con respecto a, el valor predictivo positivo es la probabilidad de estar enfermo en presencia de un biomarcador tumoral (diagnosticador) positivo. A la probabilidad de estar sano en presencia de un biomarcador tumoral negativo se conoce como valor predictivo negativo.^{58, 59} A continuación se muestra la simbología empleada y la formulación matemática.

Se entiende como VP+ (valor predictivo positivo); VP- (valor predictivo negativo); VN (verdaderos negativos); VP (verdaderos positivos); FN (falsos negativos, prueba) FP (falsos positivos).^{58, 59}

$$VP = \frac{VP}{VP} + FP^{58, 59} \quad VP = \frac{VN}{VN} + FN$$

A consideración del autor, la sensibilidad y la especificidad son descriptores de probabilidad de resultados adecuados para la evaluación de la eficacia clínica de una prueba diagnóstica. Sin embargo, la medición de la calidad de la prueba o biomarcador diagnóstico requiere de otros descriptores como índice de validez y el área debajo de la curva de características operativas del receptor (ROC, por sus siglas en inglés *Receiver Operating Characteristic*).

$$\text{Eficiencia diagnóstica} = \frac{(VP+VN)}{(VP+FP+FN+VN)}$$

Se debe tener en cuenta que, para comparar la sensibilidad y especificidad de dos biomarcadores o pruebas diagnósticas, se hace necesario trabajar con el mismo

grupo de muestras y luego comparar la concordancia de los resultados. Además, se hace necesario la presencia en la muestra de sujetos que presenten la enfermedad y sujetos no enfermos.

Torregroza ⁶⁰ en 2021 declara que en ocasiones los biomarcadores tumorales (pruebas diagnósticas) proporcionan valores cuantitativos que deben ser convertidos en datos cualitativos dicotómicos para poder evaluar el biomarcador . Se hace necesario, por ende, establecer lo que se conoce como punto de corte. El punto de corte es el valor numérico que determina si un resultado es positivo o negativo lo cual indica que el valor que se proporciona a este parámetro impacta de forma directa sobre la sensibilidad y especificidad del diagnosticador. ⁶⁰

En consonancia con lo antes referido, otro elemento que afecta los predictores (sensibilidad y especificidad) es la prevalencia de la enfermedad en la población. Cuando este último indicador es bajo y la prueba diagnóstica (biomarcador tumoral) es positiva la probabilidad de obtener falsos positivos aumenta. En estos casos el valor predictivo de la enfermedad puede ser bajo a pesar de ser un biomarcador eficiente (Se: 95 %, y Sp 95 %). ^{56, 58}

A opinión del investigador, la baja prevalencia del CM en la población (inferior al 1%) es la principal causa que dificulta la obtención de un biomarcador eficaz para el diagnóstico precoz del CM. Se debe tener en cuenta que este tipo de biomarcador se aplica a pacientes sanos con alto riesgo de la enfermedad, por lo que se debe invertir más tiempo y recursos en la innovación tecnológica para dar

solución a la carencia de biomarcadores de diagnóstico precoz y temprano del CM.

Se debe señalar que las pruebas diagnósticas requieren además de la validación clínica, ser comprobadas desde la perspectiva de las características del desempeño analítico. Estas características incluyen: linealidad, especificidad analítica, precisión analítica, exactitud analítica, límites de detección y cuantificación analíticos, tolerancia, repetibilidad y reproducibilidad analítica.³⁴

La linealidad analítica es la capacidad (dentro de un intervalo dado) para aportar resultados con una proporción directa a la concentración del analito en las muestras de que se examina. Se refiere al intervalo de concentraciones del analito donde la respuesta del sistema de medición es una función lineal de la concentración; la representación gráfica de este intervalo (concentraciones frente a respuestas) debe mostrar una buena correlación de los puntos experimentales a la recta de regresión para que el método analítico en cuestión sea aceptable.³⁴

Por otra parte, la especificidad analítica es la capacidad para la determinación del analito con certeza en la presencia de compuestos, los cuales se espera que estén presentes. Por lo general se incluyen impurezas y otros elementos que aparecen durante el proceso analítico.³⁴

La precisión analítica se define como el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, mediante el empleo de una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas. La exactitud de medición hace referencia al grado de la correspondencia entre el resultado de una medición y un

valor verdadero o real de lo medurado y en el caso de la exactitud relativa representa el grado de concordancia entre las determinaciones del método evaluado y los obtenidos por medio de un método de referencia reconocido.³⁴

El límite de detección es la concentración mínima de un analito en la muestra que puede ser detectada, pero no cuantificada de forma obligatoria, bajo condiciones analíticas específicas. Es decir, se refiere a la identificación cualitativa del analito. Mientras que el límite de cuantificación es valor de concentración que mínimo debe obtenerse con una imprecisión aceptable. Se refiere a la determinación cuantitativa del analito.³⁴

La tolerancia (fortaleza) se define como el grado de reproducibilidad del método en diferentes condiciones. Es decir, la capacidad de generar resultados similares antes diferentes de los analistas, laboratorios, día de análisis, reactivos e instrumentos.³⁴

La repetibilidad es grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas de un mismo analista, realizadas en las mismas condiciones de medición. Mientras que la reproducibilidad representa el grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo analista, efectuadas en diferentes condiciones de medición.³⁴

Por otro lado, el análisis de la reproducibilidad y repetibilidad (R&R) determina la capacidad de un sistema de medición para generar resultados reproducibles ante el análisis de un mismo grupo de muestras por diferentes analistas. Resulta útil para identificar la fuente de variación en el sistema de medición.³⁴

2.1.3 Biomarcadores tumorales y sus aplicaciones

Biomarcador tumoral *breast cancer* 1 y 2 (BRCA-1 y BRCA-2)

Casaubon et al.,⁶¹ afirman que las mujeres que padecen CM, entre 5 % - 10 % presentan predisposición genética, es decir, la causa es hereditaria. De estas últimas el 80 % se debe a mutaciones en los genes CM uno y dos (BRCA-1 y BRCA-2, por sus siglas en inglés *Breast Cancer 1 and 2*.⁶² La localización cromosómica de estos genes son los cromosomas 17q21 y 13q12-q13 en correspondencia. Las mutaciones a nivel de BRCA-1 se asocia a la aparición de CM entre 40 y 50 años, así como a otros tipos de cáncer como el de ovario⁶³ mientras que la aparición de CM en edades comprendidas de 60-70 años se asocia con mayor frecuencia a mutaciones que afectan a BRCA-2. Los tumores de mama en el sexo masculino, cáncer de próstata y vejiga también se relacionan con esta mutación.⁶¹

Los genes BRCA codifican para varias fosfoproteínas que cumplen varias funciones a nivel intracelular. Estas funciones incluyen la regulación a la baja del ciclo celular, la reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN) y duplicación de los centrosomas, por tanto, se encuentran implicados en la inhibición de la actividad cancerígena.⁶⁴ Se debe puntualizar que las mutaciones a nivel de BRCA no desencadenan de forma directa el desarrollo de un proceso tumoral maligno, pero sí genera inestabilidad genética que afecta la función de la proteína (p)53.⁶⁵ La proteína p53 es un elemento supresor de tumores conocido como el custodio del genoma y su alteración asociada a mutaciones en BRCA aumenta el riesgo de padecer CM.⁶⁴

A consideración del autor el gen BRCA podría ser un excelente biomarcador de riesgo de CM aplicable a población sana con factores de riesgo. Si bien es cierto que existen varias mutaciones a nivel de BRCA aún así, no todas las mujeres con el gen alterado desarrollan cáncer. La alta asociación entre el desarrollo de CM y la alteración de estos genes justifica su empleo como biomarcador de riesgo.

El empleo de esta tecnología podría contribuir al diagnóstico precoz de al menos el 10 % de las afectadas. Sin embargo, el costo y la accesibilidad podría resultar muy alto en países subdesarrollados, razón que justifica la búsqueda de nuevas alternativas más sostenibles. De modo similar, biomarcadores como las ciclinas resultan poco rentables en países seguidores de la tecnología, pues requiere para su aplicación de equipos y reactivos costosos que inviabilizan su generalización.

Biomarcador tumoral ciclinas

Opacka et al.,⁶⁶ refieren que ciclinas son un grupo de proteínas que cumplen funciones durante el ciclo celular; son subunidades proteicas que forman complejos estables con las quinasas celulares y promueven la proliferación celular. Estas proteínas se encuentran localizadas a nivel del núcleo y citoplasma donde regulan los procesos proliferativos. Se considera que cerca del 20 % de los casos de CM presentan amplificado el gen ciclina 1 (CCND1, por sus siglas en inglés *Cyclin D1*) que codifica que esta proteína se sobreexpresa en el 50 % de los pacientes CM.⁶⁷

Los estudios sugieren que la sobreexpresión de ciclinas se asocia a la expresión de receptores de estrógenos en tumores, los cuales se vuelven más diferenciados y respondedores a la hormonoterapia. En cambio, la expresión insuficiente de la proteína p27, inhibidor de la ciclina D1 se asocia a la presencia de tumores con carencia de receptores hormonales más indiferenciados lo que sin duda trae como resultado un peor pronóstico de la enfermedad.^{68, 69}

El autor comparte el criterio de que las ciclinas pueden emplearse como biomarcador en el seguimiento del CM. La asociación de estas proteínas al grado de diferenciación de los tumores resulta clave para conocer la posible evolución del proceso maligno. El empleo como biomarcador pronóstico podría resultar atractivo en la práctica clínica debido a su relación con la diferenciación tumoral y la respuesta al tratamiento hormonal. De esta manera, las ciclinas en combinación con el factor de crecimiento transformante alfa podrían augurar un pronóstico más certero.

Biomarcador tumoral Factor de crecimiento transformante α (TGF α)

Kaufman et al.,⁷⁰ definen el factor de crecimiento transformante alfa es un polipéptido con estructura similar del factor de crecimiento epidérmico. Razón por la cual compite con este por el mismo receptor. Este polipéptido se encuentra sobreexpresado en el CM y tiene como función la estimulación de la proliferación celular y la angiogénesis.⁷⁰ En la práctica clínica se asocia a la presencia de ganglios positivos y a la resistencia a terapias farmacológicas que incluyen la hormonal y la quimioterapia convencional.⁷¹

Biomarcador tumoral proteasa

Investigadores como Martin et al.,⁷² son del criterio que, las células cancerígenas se caracterizan por la multiplicación y el crecimiento descontrolado a nivel de un tejido. Entre las propiedades que presentan estas células malignas se destaca la invasividad y la metástasis a distancia. Para lograr estos procesos las células cancerosas liberan al espacio extracelular un conjunto de enzimas denominadas proteasas. Las proteasas son proteínas cuya función es degradar las proteínas de la matriz extracelular e incluyen las catepsinas, metaloproteinasas y uroquinasa activadora del plasminógeno.⁷²

Según datos proporcionados por Tsegaye et al.,⁷³ en la práctica clínica estas proteasas se relacionan con pronósticos desfavorables del CM, razón por lo cual son empleados como biomarcador en el seguimiento de la enfermedad.

Tras el análisis crítico de la información referente a las proteínas: ciclinas y proteasas es opinión del autor que ambos grupos de proteínas funcionan como biomarcadores pronósticos eficaces. La implicación de estas proteínas en la fisiopatología del cáncer justifica su empleo como biomarcador en pacientes con estadios avanzados y la emisión de un pronóstico más certero. Sin embargo, para el diagnóstico temprano o precoz de la enfermedad deberían desarrollarse más estudios para evaluar su posible aplicación.

Biomarcador tumoral Her-2/neu (erbB-2)

El receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Her-2/neu, por sus siglas en inglés *human epidermal growth factor receptor 2* es un protooncogen que codifica para una fosfoproteína transmembrana de 185 KD (*kilodaltons*).⁷⁴ Iqbal y Iqbal⁷⁵ en 2014 refieren que la amplificación de este gen resulta en la sobreexpresión de la proteína receptora con actividad citoplasmática de tipo tirosinquinasa, la cual presenta una estructura similar al receptor de crecimiento epidérmico. En células cancerígenas la forma mutada del gen traduce una proteína mutada con una alteración a nivel transmembrana con una mayor capacidad de dimerización y activación.⁷⁶

Desde el punto de vista clínico el gen se emplea para estudios pronósticos en estadios tempranos, así como para establecer predicciones sobre la respuesta al tratamiento. La sobreexpresión del gen se relaciona con formas más agresivas del CM, presencia de ganglios positivos, aumento de la proliferación tumoral e invasividad, escasa respuesta a la terapia antineoplásica y pronóstico desfavorable de la enfermedad.⁷⁷

En otro orden de ideas, Marchió et al.,⁷⁸ concuerdan en que la importancia clínica del biomarcador se evidencia en la terapéutica mediante la aplicación anticuerpos antiHER2/neu (Herceptin). Este fármaco bloquea el efecto de este receptor y aumenta la sobrevida de los pacientes enfermos de CM en un porcentaje alto de casos.

Biomarcador tumoral proteína 53 (p53)

La proteína p53 se considera uno de los elementos centrales en el desarrollo de las neoplasias malignas, Borrero y El-Deiry ⁷⁹ asumen que, debido a su papel en el control del ciclo celular y la apoptosis el gen que codifica para la proteína se encuentra mutado en 50 % de todos los tipos de cáncer. El producto del gen con frecuencia se localiza dentro del núcleo donde interactúa con el ADN como factor de transcripción de varios genes. La p53 además, impide la división de células cuyo material genético se encuentra dañado por lo que se considera un elemento supresor tumoral. ⁷⁹

Como biomarcador tumoral, la proteína p53 mutada se puede detectar a nivel nuclear en células cancerígenas y se considera un biomarcador pronóstico. La proteína se asocia a mayor agresividad e invasividad tumoral, deficiente expresión de receptores hormonales y aumento en la expresión de receptores para el factor de crecimiento epidérmico. Los elementos antes referidos traen como consecuencia un pronóstico poco favorable por la influencia de la escasa respuesta al tratamiento convencional que incluye la quimioterapia y la terapia hormonal. ⁸⁰

Biomarcador tumoral Ki 67 (mib 1)

La proteína Ki67 es una proteína localizada en el núcleo celular y se puede encontrar en todas las fases del ciclo celular con excepción de G0. ⁸¹ Ki67 se emplea como biomarcador pronóstico para el CM. La actividad de la proteína presenta una correlación directa con otros parámetros que incluyen fracción de células en fase de síntesis y el conteo mitótico ; sin embargo, se considera el

biomarcador más confiable de ellos pues brinda un mejor índice de positividad.^{82,}

83

Tras el análisis exhaustivo de varios de los biomarcadores empleados en el manejo del CM, el autor considera que la mayoría están dirigidos a la evaluación del pronóstico de la enfermedad. Por otro lado, los biomarcadores de riesgo requieren de tecnologías complejas y costosas para ser determinados. Estos apuntes evidencian la necesidad de profundizar en investigaciones encaminadas al desarrollo de biomarcadores útiles para el diagnóstico temprano de la enfermedad. Se debe recalcar que el logro de un pronóstico más favorable guarda relación con el diagnóstico temprano.

Biomarcador enzima convertidora de angiotensina (ACE).

Nair et al.,⁸⁴ afirman que en seis tipos de tumores malignos, incluido el carcinoma invasivo de mama, el adenocarcinoma de próstata, el carcinoma de tiroides, el carcinoma hepatocelular de hígado, el cromóforo de riñón y el adenocarcinoma de estómago, existía expresión diferencial de ACE2 en comparación con los tejidos normales correspondientes. Existen reportes que adjudican a ACE2 la función de suprimir tumores en múltiples subtipos de cáncer.⁸⁴

El biomarcador tumoral enzima convertidora de angiotensina (ECA), es un biomarcador de remisión completa eficiente en el CM. Cumple con la característica de que sus cifras se elevan por encima de los valores normales durante la remisión completa del CM.⁸⁴ Sin embargo, durante la enfermedad activa los

valores de esta enzima descienden por debajo de los valores preestablecidos como normales o de referencia. Esta característica no la presenta otro biomarcador.⁸⁴

Biomarcador antígeno carbohidrato 15.3

Las mucinas son glicoproteínas con alto contenido de carbohidratos, se estima que entre un 50 %-90 % del peso molecular lo representan los hidratos de carbono. Estas proteínas se encuentran en diferentes epitelios tanto en tejidos normales como en neoplásicos, con una sobreexpresión en estos últimos. La mucina 1(MUC1, por sus siglas en inglés *mucin*) es de las más investigadas y se encuentra con frecuencia expresada hacia la luz de los conductos glandulares incluido los de mama.⁸⁵

Brayman et al.,⁸⁶ consideran que la MUC1 cumple varias funciones en la célula que incluyen la reorganización del citoesqueleto imprescindible para garantizar la arquitectura celular. Interviene, además, en la génesis o formación del epitelio y regulación hacia la baja la expresión de las moléculas de adhesión celular, mecanismo por el cual se implica en los procesos de metástasis.

Conviene subrayar que, la reducción de expresión de proteínas de adhesión celular contribuye a la separación de células neoplásicas de la masa tumoral y de la matriz extracelular proceso indispensable para que se produzca la metástasis a distancia. Las mucinas se involucran en la protección de las células cancerosas al interferir con la función inmunológica de las células asesinas naturales (*natural killers* NK) destinadas a destruir los tumores.⁸⁷

Kabel ⁸⁸ considera que en la práctica clínica la MUC1 se emplea como biomarcador y se detecta en suero como CA27-29 y CA15-3. Ambos biomarcadores tienen indicación para el seguimiento de pacientes con CM avanzado y metastásica, así como para el monitoreo de la respuesta a la quimioterapia para el CM.

Sin embargo, no son biomarcadores organoespecíficos pues tumores de próstata y ovario también pueden mostrar altos valores de estos biomarcadores. Al comparar ambos biomarcadores el 27-29 resulta más específico para el CM, no obstante, el CA15-3 se emplea con mayor frecuencia debido a su superior sensibilidad diagnóstica. ⁸⁷

Las investigaciones indican que varios de los pacientes que desarrollarán recidivas o metástasis del CM, presentan una elevación sérica de los biomarcadores CA 15-3 y antígeno CEA. Esta elevación se produce antes de la aparición de los signos, síntomas, imágenes sugestivas de metástasis e incluso en un periodo de tres a dieciocho meses previo al advenimiento del cuadro clínico indeseable. ⁸⁹ Para esta indicación Uygur y Gümüş ⁹⁰ en 2021 plantean que las sensibilidades de los niveles de CA 15-3 y CEA son del 82,1% y del 88,3%; mientras que las especificidades 47,3% y 46,2%, en correspondencia.

Sadeghi et al., ⁹¹ aseguran que la determinación de Ca 15-3 se realiza mediante el método inmunológico de ELISA, por tanto, es un método indirecto de cuantificación del biomarcador pues lo que se detecta son anticuerpos fijados al

antígeno Ca15-3. El resultado se ofrece en unidades por mililitros lo cual permite establecer un punto de corte para emitir un informe positivo o negativo.^{92, 93}

A consideración del autor, la sobreexpresión de la mucina 1 en pacientes con CM resulta conveniente para emplearlo como biomarcador . No obstante, se debe enfocar los esfuerzos hacia otros métodos de determinación de mucinas diferentes del ELISA, pues si bien es cierto que los biomarcadores CA15-3 y CA27-29 son eficientes para el seguimiento de estadios avanzados de la enfermedad, carecen de confiabilidad para el diagnóstico precoz y temprano del CM.

En la actualidad se defiende el criterio de que un diagnóstico temprano del CM garantiza un mejor pronóstico, de ahí la importancia de trabajar en métodos diferentes de determinación del biomarcador.

En consonancia con lo antes abordado respecto al diagnóstico precoz, la aplicación de mamografía con alta periodicidad en mujeres mayores de 50 años reduce la probabilidad de morir por CM en un 20 % de los casos.⁹⁴

Esta observación se convirtió en un estímulo para el desarrollo de biomarcadores séricos tumorales de diagnóstico precoz que puedan cumplir con esta finalidad. Sin embargo, existe una limitación para estos biomarcadores y es que el valor predictivo depende de forma exclusiva de la prevalencia de la enfermedad en la población que para el CM es inferior al 1 %. En esta dirección se han realizado investigaciones con los biomarcadores Ca 15-3 y CEA, no obstante, los resultados no resultan atractivos para la práctica clínica.⁵⁶

En general, los niveles de CA 15-3 se utilizan en combinación con medidas adicionales, como mamografías, así como niveles de otros biomarcadores tumorales para evaluar la reaparición en mujeres tratadas por estadios II y III de CM, así lo aseguran Bick y Helbich ⁹⁵ en 2019. Si bien es cierto que en los últimos 30 años se ha avanzado en el entendimiento del cáncer, siempre existe la necesidad de enfoques mejorados para evaluar el riesgo del individuo de desarrollar cáncer y descubrir los que se encuentran en etapas tempranas. ⁹⁶

El biomarcador, además, se puede usar para identificar recaídas y progresión de la enfermedad manifestada mediante metástasis pues existe una relación matemática positiva entre la concentración de Ca15-3 y el incremento en la proliferación o masa tumoral. El empleo para el diagnóstico precoz de la enfermedad debería evitarse como consecuencia de la escasa precisión para este fin.

Antígeno carcinoembrionario (CEA)

El antígeno carcinoembrionario es una proteína fetal compuesta en grado variable de aminoácidos y glucosa. Se sintetiza de modo natural durante la vida embrionaria donde alcanza sus mayores concentraciones. También es sintetizado en varios epitelios de sujetos adultos sanos pero sus concentraciones son muy bajas en estos casos. ⁹⁷ Kankanala y Mukkamalla ⁹⁸ en 2022 plantean que CEA se sobreexpresa en tumores malignos sólidos a nivel de mama, ovario, colon, recto, páncreas e hígado por lo que no se considera un biomarcador organoespecífico.

Además, estados inflamatorios como hepatitis, pancreatitis y las colitis pueden incrementar las concentraciones séricas de este biomarcador.

En la práctica clínica el CEA se emplea como biomarcador con una sensibilidad y especificidad variable en relación con localización y tamaño del tumor. Existe una relación positiva entre el aumento de las concentraciones y el tamaño del tumor, razón por la cual es empleado con fines de seguimiento y no para el diagnóstico inicial.⁹⁹

Se indica para evaluar la respuesta al tratamiento antineoplásico, recidiva de tumores avanzados y para la identificación de metástasis tumoral. En los estados mencionados los niveles séricos del biomarcador superan a los registrados en suero de individuos sanos donde son casi indetectables.⁹⁷

En pacientes sin enfermedad maligna el punto de corte es < 2 ng/mL, sin embargo, en pacientes enfermos luego del tratamiento los valores pueden fluctuar entre 4,3-10 ng/mL. En pacientes con valores superiores a los establecidos como normal, se aconseja realizar pruebas confirmatorias como técnicas de imagen y biopsias pues existe la probabilidad de extensión del tumor o aparición de nuevas metástasis del tumor primario.¹⁰⁰

Desde punto de vista fisiológico el CEA es una proteína cuyas concentraciones son altas durante el periodo fetal y se reduce de manera continua a medida que el cuerpo madura, de forma tal que es casi indetectable en adultos sanos. Esta es la razón considerada por el autor para emitir un criterio favorable acerca del empleo

de este antígeno como biomarcador tumoral del CM. Sin embargo, se debe tener en cuenta que al igual que el CA15-3 su empleo se limita al seguimiento de pacientes con enfermedad avanzada y no para el diagnóstico temprano de la enfermedad, por lo que se debe realizar investigaciones en la obtención de biomarcadores más eficaces.

Xiong et al.,¹⁰¹ son del criterio de que el CEA, proteína perteneciente a la familia de glucoproteínas de superficie celular, a pesar de ser menos sensible que el CA15-3 constituye uno de los biomarcadores más empleados para el estudio del CM.¹⁰¹

Por otro lado, indagaciones de Hammarström S¹⁰² sugieren que la proteína CEA es producto de la expresión de un conjunto de 19 genes localizados en el cromosoma 19q13.2. Estos genes se subdividen en dos familias, los genes codifican para glucoproteínas específicas del embarazo y genes que representan a las proteínas de adhesión del CEA. Alteraciones en la expresión de este último grupo de genes determina que las células cancerígenas puedan invadir y realizar metástasis, así como de inhibir a las *NK* y escapar de la muerte celular.

Tras la revisión y análisis de los apuntes previos, se asume que el CEA juega un papel esencial en el desarrollo del cáncer pues la inhibición de las células *NK* limita la respuesta inmunológica celular contra células transformadas, además, al contribuir al desarrollo de metástasis determina que el pronóstico de la enfermedad sea desfavorable.

Según Akverdi y Erbaş¹⁰³ el CA15-3 y el CEA son de los biomarcadores más empleados en la práctica clínica para el seguimiento del CM. Ambos antígenos cuentan con la aprobación de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, *Food and Drug Administration*, por sus siglas del inglés) para evaluar la respuesta a tratamientos, la aparición de recaídas y detección de metástasis; no obstante, la Red Nacional Integral de Cáncer (NCCN, *National Comprehensive Cancer Network*) en sus pautas no aconseja emplear los biomarcadores CEA o CA15-3 en la evaluación clínica antes del tratamiento. Del mismo modo las pautas de la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO, *American Society of Clinical Oncology* por sus siglas en inglés) no recomiendan estos biomarcadores para detectar, diagnosticar o establecer el estadio y vigilancia de rutina en pacientes con CM después del primer ciclo de tratamiento.¹⁰⁴

Dentro de este marco, una de las ventajas más importantes de estos biomarcadores es que se detectan en suero antes de la aparición de los signos clínicos e incluso imagenológicos lo cual permite tomar decisiones en momentos más oportunos. Presentan bajas concentraciones séricas en individuos sanos, pero se incrementa en el paciente con cáncer.⁵⁶ Al compararlos con biomarcadores tisulares como el RE, son más fáciles de cuantificar de forma segura y reproducible.¹⁰⁵ Con frecuencia los niveles cuantificables del biomarcador tumoral manifiestan la carga o masa tumoral.¹⁰⁶

La principal desventaja que presentan estos biomarcadores es la baja eficacia para el diagnóstico y detección temprana de las metástasis. La sensibilidad no

supera el 65 % mientras que la especificidad es cercana al 95 %, cuando se emplea un punto de corte de 30 U/mL. Al igual que la mayoría de los biomarcadores tumorales no son específicos de tumor por lo que se pueden encontrar alterados en otras neoplasias malignas ⁸⁷

Biomarcador enzima LP sérica

En la perspectiva que aquí se discute, el método del pirogalo salicilato es un método enzimático colorimétrico y se emplea en la determinación de la actividad de la enzima LP tiocianato. Entre los principales reactivos que se emplean en su aplicación se destaca el sustrato de la enzima (pirogalo) el cual es convertido en pirogalina, un producto coloreado detectado por espectrofotometría. También se emplea el salicilato, sustancia capaz de inhibir a la mieloperoxidasa de los leucocitos del suero. ²⁰

El método se sustenta en la enzima LP sérica como biomarcador para el diagnóstico del CM en estadios iniciales. Esta enzima es una proteína oxidoreductasa hémica pues contiene un átomo de Fe^{2+} por subunidad y es capaz de resistir temperaturas superiores a 50 °C. Cataliza la oxidación del tiocianato y otros compuestos fenólicos a partir del oxígeno atómico procedente del peróxido. ¹⁸

La enzima como mecanismo de acción, garantiza la transferencia del oxígeno activo procedente de los peróxidos, así como la oxidación de varios sustratos que incluyen aminas aromáticas, fenoles y vitamina C. La proteína cataliza además la

oxidación del tiocianato por medio del peróxido de hidrógeno lo que resulta en la producción de hipotiocianato, molécula que inhibe el crecimiento bacteriano.^{18, 107}

Entre los fenoles empleados en el laboratorio para el estudio de la actividad de la enzima se destacan el guayacol y el pirogallol. Este último sustrato también se conoce como ácido gálico y ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico con fórmula química $C_6H_2(OH)_3COOH$. El ácido orgánico es un sólido de color blanquecino, inodoro, con temperatura de fusión de 131-133 °C. Reacciona de forma violenta con bases, hidróxido amónico, iodo, metales, fenol y permanganatos. Puede, además, formar ésteres y sales lo que origina galatos.¹⁰⁸

Por otro lado, la enzima puede ser inactivada por medios físicos como el calor o mediante el empleo de agentes químicos. El cianuro y la hidroxilamina son reactivos que interaccionan con el ion de Fe^{2+} presente en el grupo prostético de la enzima lo que resulta en la inactivación.¹² Fármacos como primaquina, dapsona, famotidina y benzocaína inhiben a la mieloperoxidasa (MPO) mediante un secuestro competitivo con el ion Cl^- . Otras drogas que agrupan: antihipertensivos, hidralacina, indometacina y los salicilatos se comportan como inhibidores de la mieloperoxidasa. A la azida de sodio también se le reconoce su potencial inhibitorio de la MPO, sin embargo, el mecanismo por el cual actúa se desconoce.

109

En otro orden de ideas, la proteína se produce en varios epitelios, que incluyen el de revestimiento de los ductos mamarios y por las células acinares en los lóbulos

de las mamas. Desde el punto de vista fisiológico es una proteína con función defensiva ya que a partir del tiocianato que se genera en el organismo produce hipotiocianato el cual es activo contra bacterias Gram positivas.¹⁸

Por otro lado, Nourazarian et al.,¹¹⁰ señalan que la enzima LP está involucrada en el metabolismo de hormonas estrogénicas producidas en el tejido mamario lo cual contribuye al estrés oxidativo. La oxidación del 17-estradiol panoxil en presencia de H_2O_2 genera radicales intermedios, que contribuyen al desarrollo del carcinoma de mama.¹¹⁰

Obviarse no debe que, aunque no existen antecedentes del empleo de esta enzima como biomarcador para el CM. Una investigación efectuada en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de la provincia Camagüey, indica que existe fuerte asociación entre el diagnóstico del CM y la actividad aumentada de la enzima LP sérica. Las determinaciones de la enzima se realizan a partir de suero sanguíneo (100 μ L) y mediante un espectrofotómetro se determina la actividad la cual se informa en U/mL.²¹

Entre las ventajas del método del pirogalol se destaca el empleo de una enzima como biomarcador y no una proteína estructural como los CA 15-3 y CEA, lo que condiciona que se pueda no solo medir concentración del biomarcador sino también la actividad, ambos datos de similar relevancia clínica. Además, la enzima LP es más estable incluso a temperaturas elevadas, esto permite almacenar las muestras en condiciones menos exigentes.

A consideración del autor, los datos experimentales indican que, el biomarcador LP presenta sensibilidad superior (76,83 %) con punto de corte en 0,09 U/mL en comparación con los datos obtenidos a partir de CA 15-3. Desde el punto de vista económico podría resultar más barato y accesible para el país. Estos apuntes convierten al método del pirogalol en una potencial herramienta clínica auxiliar o complementaria a la mamografía para el tamizaje o detección temprana del CM.

Sin embargo, comparte algunas ventajas con los biomarcadores precedentes, pues es un método de ejecución fácil, las concentraciones de la enzima se elevan en sujetos con CM y se puede obtener a partir del suero sanguíneo. Esto resulta relevante al compararlo con los biomarcadores tisulares que requieren procedimientos más traumáticos como la biopsia mamaria para el aislamiento y análisis del tejido.

No obstante, al igual que los biomarcadores precedentes, el método del pirogalol-salicilato se considera un método invasivo pues requiere la extracción de sangre. Puede generar falsos positivos y falsos negativos. La presencia de compuestos fenólicos en el suero capaces de generar productos coloreados puede influir en el resultado que se informa; por tanto, para evitar este inconveniente se orienta ayunar 12 horas previo a la extracción sanguínea.

Tras el análisis crítico de la información abordada en este marco teórico se arriba a las siguientes consideraciones :el diagnóstico temprano constituye una prioridad para los sistemas de salud en todo el mundo, aún son insuficientes los métodos

disponibles para el diagnóstico temprano del CM, la mayoría de las pruebas y marcadores disponibles tienen como principal indicación el seguimiento y pronóstico de la enfermedad y el método del pirogalol salicilato basado en el biomarcador LP podría ser una alternativa viable en el contexto de Cuba.

2.2 Capítulo I. Validación del desempeño analítico del método pirogallol-salicilato

El capítulo aborda aspectos relacionados con la validación del desempeño analítico del método pirogallol-salicilato. Se operacionalizan las variables de estudio y se determinan características de desempeño analítico como: linealidad, especificidad analítica, precisión analítica, exactitud analítica, análisis repetibilidad y reproducibilidad. Se aplican procedimientos de la estadística descriptiva e inferencial para el procesamiento de los datos, los cuales se representan en gráficos y tablas.

2.2.1 Objetivos del capítulo

Objetivo general

Validar el desempeño analítico del método pirogallol-salicilato.

Objetivo específico

Determinar las características de desempeño analítico del método pirogallol-salicilato.

2.2.2 Diseño metodológico

Se realizó un estudio con diseño experimental, del tipo preexperimento, de preprueba-postprueba con un solo grupo de control. La investigación se llevó a cabo en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey en el periodo comprendido de enero del 2021 a diciembre del 2023.

Definición de la población de estudio:

La población de estudio quedó conformada por 86 muestras solubles de la enzima LP. Una de estas elaborada en el CENIPBI a la concentración de 1 mg /mL (concentrada) a partir de la cual se elaboraron diluciones a diferentes

concentraciones .El resto incluyó muestras de suero sanguíneo (85) de pacientes con antecedentes de salud aparente procedentes del Banco Provincial de Sangre de Camagüey.

Variables de investigación

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variable	Dimensión	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador
Actividad de la enzima LP	-	Cuantitativa continua	Unidades por mililitros (U/mL) 0,001-0,05	✓ Media ✓ Desviación estándar ✓ Varianza ✓ IC 95 %
Validación del desempeño o analítico del método pirogalol-salicilato	Linealidad del sistema	Cualitativa nominal dicotómica	✓ Lineal ✓ No lineal	✓ Frecuencia absoluta y porcentaje
	Especificidad del sistema	Cualitativa nominal dicotómica	✓ Específico ✓ No específico	Frecuencia absoluta y porcentaje
	Precisión del sistema	Cualitativa ordinal	Variabilidad ✓ Alta ✓ Moderada ✓ Baja	✓ Frecuencia absoluta y porcentaje (CV %)
	Exactitud del sistema	Cualitativa ordinal	Grado de exactitud ✓ Alta ✓ Media ✓ Baja	✓ Frecuencia absoluta y porcentaje
	Tolerancia del sistema	Cuantitativa continua	Unidades U/mL ✓ $0 - < 0,005$ U/mL	✓ Intervalo de confianza 95 % ✓ Media
	Límite de detección del sistema	Cuantitativa continua	Concentración de enzima (mol/L) $< 9 \times 10^{-7}$	✓ Frecuencia absoluta y porcentaje
	Límite de cuantificación del sistema	Cuantitativa continua	Concentración de enzima (mol/L) $< 9 \times 10^{-8}$	✓ Frecuencia absoluta y porcentaje
Análisis de repetibilidad y reproducibilidad del sistema		Cualitativa nominal dicotómica	✓ Reproducible ✓ No reproducible	✓ Número y porcentaje

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Métodos para el control de la calidad de los datos

Se aplicó la técnica de enmascaramiento a simple ciega, es decir, los analistas, no conocían del estado o la procedencia de las muestras a analizar. Se le asignó una rotulación numérica consecutiva a cada muestra y fueron procesadas de forma aleatoria por distintos analistas durante el proceso de validación del desempeño analítico.

La determinación de la enzima LP se efectuó mediante el método de Dupoy¹⁸ con las siguientes modificaciones: se sustituyó el reactivo guayacol por el pirogalol, se incorporó el reactivo salicilato como inhibidor de la enzima mieloperoxidasa sérica, se trabajó con un volumen final de ensayo de 500 μL y se utilizaron muestras con concentraciones conocidas (2×10^{-8} , 5×10^{-8} , 1×10^{-7} , $1,5 \times 10^{-7}$, 2×10^{-7} mol/L) de LP.

En una cubeta de cuarzo se agregaron:

- ✓ 200 μL de una solución de salicilato de Na^+ diluida en tampón fosfato (Na_2HPO_4) 0,79 M con pH 6,8.
- ✓ 100 μL de H_2O_2 de una solución de 45 μL de H_2O_2 al 30 % en 10 mL de agua destilada.
- ✓ 100 μL de pirogalol disuelto en agua destilada 0,04 M y se agregaron 100 μL de la concentración conocida de LP.

De inmediato la mezcla se colocó en un espectrofotómetro *Rayleigh UV-VIS 16-01* y se realizó una cinética enzimática, las muestras se leyeron a los 20, 40, 60, y 80 min a una longitud de onda de 420 nm el coeficiente de absorción (ϵ) fijado fue de

2640 L/ mol⁻¹ cm⁻¹. La actividad enzimática se midió en unidades por mililitros (u/mL).

Determinación de las características analíticas del método pirogalol-salicilato

Determinación de la linealidad del sistema de medición.

A partir de una concentración de 1mg/mL de la enzima LP se prepararon por dilución cinco niveles diferentes de concentración: 2×10^{-8} , 5×10^{-8} , 1×10^{-7} , $1,5 \times 10^{-7}$, 2×10^{-7} mol/L y se analizaron por triplicado. Las mediciones se realizaron bajo las mismas condiciones de experimentación y se reportó la relación concentración contra actividad enzimática medida en unidades relativas de densidad óptica. Se calculó el valor de la pendiente b_1 , la ordenada en el origen b_0 , el coeficiente de determinación (R^2) y el intervalo de confianza (IC) de la pendiente.

Previo al ensayo, se aseguró el mantenimiento de los equipos como la idoneidad de los reactivos. Se realizaron las mediciones de cada dilución y se tabularon los resultados en el programa SPSS 21 obteniéndose la media para cada dilución, de la siguiente manera, (Tabla 2)

Tabla 2. Resultado de la media de la actividad enzimática según concentración de enzima en cada dilución

Niveles de dilución		Actividad enzimática (UDO)			Media aritmética
		Replicas			
		1	2	3	
1		0,44	0,43	0,42	0,43
2		0,55	0,52	0,52	0,53
3		0,67	0,73	0,75	0,71
4		1,06	1,08	1,05	1,06
5		1,44	1,17	1,18	1,25

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Criterio de aceptación: $R^2 \geq 0,95$; IC no puede incluir el cero. ³⁴

Determinación de la especificidad del sistema de medición ³⁴

Para determinar la especificidad del método se emplearon 10 muestras con concentración 5×10^{-8} mol/L de LP. Las mismas se analizaron y se determinó la actividad enzimática media en unidades por mililitros (U/mL). Luego a cada muestra se le agregó la proteína albúmina a una concentración de 30 g/L y se reevaluó la actividad enzimática en búsqueda de diferencias significativas.

Criterio de aceptación: ausencia de diferencias significativas antes y después de agregada la albúmina sérica humana. ($p > 0,05$)

Determinación de la precisión del sistema de medición ³⁴

La precisión se determinó a partir de la repetibilidad, para ello se tomó una muestra de LP con actividad de 0,011U/mL y se le realizaron 12 réplicas, por el mismo analista, el mismo día, los mismos reactivos, equipos e instrumentos y se midió la actividad enzimática en cada una de las determinaciones las cuales se compararon. Se calcularon parámetros como la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Criterio de aceptación: $CV \leq 30 \%$

Determinación de la exactitud del sistema de medición ³⁴

Se analizaron 31 muestras de suero sanguíneo de sujetos con antecedentes de salud aparente y se evaluó la actividad media de la enzima LP sérica, el valor fue considerado como valor real, en base a la no existencia de valores reportados en la literatura científica. Acto seguido se determinó la actividad de la enzima LP en 85 muestras de sujetos sanos. Ambas medias se compararon y se identificó la

diferencia, así como el porcentaje de la exactitud que se obtuvo mediante la resta de la diferencia al valor real calculado.

Porcentaje de error= (valor real – valor muestral) x 100 Exactitud= 1-% error

Criterio de aceptación: exactitud superior al 95 %.

Determinación del límite de detección (sensibilidad) del sistema de medición ³⁴

A partir de una concentración de LP 1mg/mL, se efectuaron varias diluciones seriadas y se cuantificó la actividad enzimática de cada una de las diluciones hasta encontrar la concentración a la cual no se registró actividad enzimática, pero se identificó de forma segura y cualitativa (presencia de color y variación en la absorbancia de la muestra) la presencia de enzimas. El límite de detección se expresó como concentración mínima de enzimas en mol/L.

Determinación del límite de cuantificación del sistema de medición ³⁴

A partir de una concentración de LP de 1mg/mL, se efectuaron varias diluciones seriadas y se cuantificó la actividad enzimática de cada una de las diluciones hasta encontrar la concentración mínima donde se registró actividad enzimática, de forma segura y precisa. El límite de cuantificación se expresó como concentración mínima de enzimas en mol/L.

Determinación de la tolerancia del sistema de medición ³⁴

Se emplearon 85 muestras procedentes de sujetos con antecedentes de salud aparente. Se determinó la actividad enzimática y mediante el paquete estadístico SPSS 21.0 se identificó la media, la desviación estándar y el intervalo de confianza de la media aritmética. La tolerancia del sistema se expresó mediante el intervalo de confianza (IC).

Criterio de aceptación: IC valores entre la media $\pm 0,001$ U/mL

Análisis de (R & R) del sistema de medición ³⁴

Se seleccionaron 10 muestras para el estudio. Las muestras se analizaron por triplicado por cada analista. Se emplearon los mismos instrumentos y equipos de medición que incluyó un espectrofotómetro *Rayleigh UV-VIS 16-01*. Las mediciones se realizaron de manera aleatoria y participaron tres analistas. El primer analista realizó mediciones de la actividad enzimática el primer día, mientras que el segundo analista efectuó las mediciones el segundo día y el tercero realizó determinaciones el quinto día. Se determinó la media de la actividad enzimática, la desviación estándar, la varianza y el efecto de la interacción entre los analistas y las partes (muestras). Se evaluó la repetibilidad y la reproducibilidad del sistema de medición mediante la ANOVA de dos factores.

Criterio de aceptación: ausencia de diferencias ($p > 0,05$) en las medias de actividad enzimática entre analistas.

Técnicas y procedimientos para la recolección de datos: los datos fueron obtenidos a partir de fuentes primarias (muestras de LP). La observación científica permitió el registro de la actividad enzimática medida por espectrofotometría UV-VIS auxiliándose de un espectrofotómetro *Rayleigh UV 16-01*. Los datos experimentales fueron vertidos y codificados en una base de datos en Excel para su posterior análisis en el procesador SPSS 21 (SPSS por sus siglas del inglés *Statistical Package for the Social Sciences*) versión 21 para Windows.

Procesamiento estadístico de los datos

La regresión lineal simple se realizó para determinar la existencia de relación entre el aumento de la actividad enzimática y la concentración de enzima durante el análisis de la linealidad. El método se consideró lineal si $R^2 > 95 \%$ y no lineal si $R^2 < 95 \%$.

La prueba t de student se aplicó para determinar la existencia de diferencias o no entre las medias de actividad enzimática de las muestras con concentración 5×10^{-8} mol/L de LP antes y después de agregarles albúmina humana durante la determinación de la selectividad (especificidad). El método se consideró específico si $p \geq 0,05$ y no específico si $p < 0,05$. Se empleó el CV para determinar la precisión del método. Los siguientes valores fueron utilizados como referencia:

- ✓ Variabilidad Alta $CV > 70 \%$
- ✓ Moderada $30 \% \leq CV \leq 70 \%$
- ✓ Baja $CV \leq 30 \%$

La media muestral fue calculada y comparada con el valor real durante la determinación de la exactitud del método.

Los siguientes valores fueron utilizados como referencia:

Grado de exactitud

- ✓ Alta $\geq 95 \%$
- ✓ Media $\geq 85 \% < 95 \%$
- ✓ Baja $\geq 75 \% < 85 \%$

La prueba ANOVA de 2 vías, se llevó a cabo con la finalidad de determinar diferencias significativas en las medias de actividad enzimática de los diferentes analistas durante el proceso de validación analítica. La prueba se aplicó para

determinar la repetibilidad y reproducibilidad del sistema de medición. Se trabajó con un nivel de confiabilidad del 95 % y una significación de 0,05.

Los siguientes valores fueron utilizados como referencia:

Reproducible si $p \geq 0,05$

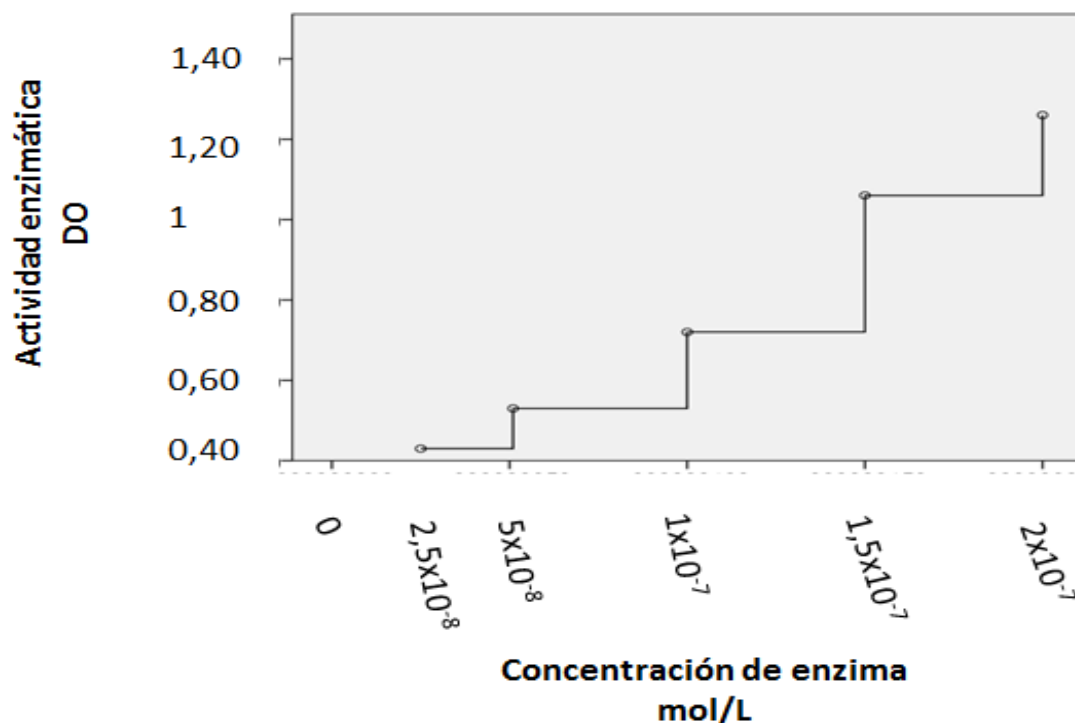
No reproducible si $p < 0,05$

2.2.3. Análisis y discusión de resultados

2.2.3.1 Determinación de las características analíticas del método pirogalol-salicilato

2.2.3.1.1. Gráfico 1 Linealidad del método pirogalol-salicilato para la determinación de la LP sérica

Se muestra la relación entre la concentración de enzima expresada en mol/L y la actividad enzimática representada como unidades relativas de absorbancia o densidad óptica (DO). Se observa un aumento de la actividad enzimática en función de la concentración de enzima con un comportamiento lineal. La mayor concentración de enzimas (2×10^{-7} mol/L) se correlaciona de forma positiva con la mayor actividad enzimática (1,3 DO) registrada en el ensayo.



Menciona Copeland ¹¹¹ que existen factores capaces de modificar la velocidad con que una cantidad de sustrato es convertida en producto por las enzimas. Estos factores incluyen la temperatura, concentración de protones en el medio, sustratos, enzimas y cofactores requeridos por las enzimas. ¹¹¹ La relación entre estas variables puede ser modelada desde la matemática y proporciona las condiciones ideales, así como mecanismos fisiológicos involucrados en el control de la reacción según Maisincho et al. ¹¹²

Figuerola et al., ¹¹³ al analizar la capacidad antioxidante (medida con ABTS) y el potencial quelante de Fe^{2+} a través del tiempo en distintas condiciones de enzima y sustrato encuentra que la relación concentración de enzima y actividad enzimática era negativa. Los datos proporcionados por estos autores indican que la actividad enzimática antioxidante es mayor a menores concentraciones de

enzima. Los resultados en el presente estudio no coinciden con los mencionados por Figueroa et al.,¹¹³ pues la actividad enzimática se incrementó con relación a la concentración de enzimas.

Ruiz et al.¹¹⁴ en Villa Clara, Cuba investigan los valores de referencia de la enzima mieloperoxidasa, biomarcador para la evaluación del deterioro clínico en pacientes con COVID-19. Proporcionan como resultado que existe linealidad positiva entre la concentración de mieloperoxidasa y la actividad de esta enzima.¹¹⁴ Esta observación queda en evidencia tras una curva de calibración donde se analiza la actividad enzimática a diferentes concentraciones (0,125 y 2 kU/l (125U/l y 2 000 U/l,).¹¹⁴ Los datos que se obtuvieron en este estudio se encuentran en correspondencia con los apuntes de Ruiz et al.¹¹⁴

En 2020, Lavin¹¹⁵ determina la actividad de la lipasa de lipoproteínas (LPL) en cerebro de rata y ofrece como dato la existencia de relación entre la actividad y la concentración de enzima, esta última como parte del tejido. El análisis de varianza de la regresión muestra buena linealidad para actividad enzimática en relación con la cantidad de tejido ($p < 0,05$) y actividad enzimática en relación con el tiempo ($p < 0,005$) en los rangos investigados¹¹⁵. Los coeficientes de correlación por rangos fueron $r = 0,967$ y $r = 0,980$ en correspondencia. Los resultados obtenidos en la presente investigación se encuentran en consonancia con los identificados por Lavin.¹¹⁵

A consideración del investigador, existe una relación lineal positiva entre la actividad enzimática y la concentración de la enzima. El aumento de la concentración de enzimas determina mayor cantidad de centros activos o

catalíticos donde el sustrato puede ser convertido en producto en un intervalo menor de tiempo. Sin embargo, se debe puntualizar que la relación entre estas variables puede ser no lineal o exponencial en dependencia del tipo de enzima y las condiciones de la reacción.

Se muestra el valor del parámetro R^2 (0,99) y nivel de significación (0,00). Existe una relación lineal positiva significativa entre la variable independiente (concentración de enzima) y la dependiente (actividad enzimática) (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros de regresión lineal para la relación entre variables actividad enzimática en función de la concentración de enzimas

R	R^2	R^2 corregida	Estadísticos de cambio	
			Cambio en R^2	Sig. Cambio en F
,995 ^a	,990	,986	,990	,000

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Al analizar la linealidad entre la actividad enzimática y la concentración de enzimas Lavin ¹¹⁶ en 2020 encuentra una relación positiva entre la actividad enzimática lipasa y cantidad de tejido cardiaco (indicador de la concentración de enzima en el homogeneizado). Estos datos se ajustan a las observaciones que realiza por el mismo autor pero esta vez al emplear tejido cerebral de rata y un diseño metodológico similar. Los resultados encontrados en el actual estudio coinciden con los propuestos con anterioridad.

Barengo et al.,¹¹⁷ establecen las condiciones óptimas, para el empleo de la enzima pura papaína en la cuantificación de la actividad proteolítica de enzimas fúngicas de Trichoderma y Escovopsis. Tras evaluar el efecto del tiempo, el pH y la

temperatura sobre la actividad enzimática a distintas concentraciones de papaína estos investigadores detectan una relación lineal positiva entre la concentración y la actividad de la papaína, observación que guarda relación con los datos ofrecidos en la actual indagación. Esto se debe a que mayor concentración de enzima más centros activos interactúan con los sustratos.

El autor considera que un R^2 mayor del 0,95, es indicador de linealidad del método de medición. Por tanto, en esta investigación el aumento de la concentración de enzima o sustrato se acompaña del incremento de la actividad enzimática de manera proporcional. Esta es una de las características más importantes que debe cumplir todo sistema de medición para poder ser validado.

2.2.3.1.2. Especificidad del método pirogallol-salicilato

Entre las medias de las muestras que contenían albúmina y las muestras analizadas en ausencia de esta última proteína no se observaron diferencias (no fueron significativas, $p= 0,086$). La ausencia de diferencias es un indicador de especificidad del sistema de medición (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de medias de actividad de la LP en presencia y ausencia de albúmina humana en las muestras

Actividad enzimática de las muestras	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias				
	F	Sig.	t	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95 % Intervalo de confianza para la diferencia	
						Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	,05	,81	-1,9	,08	-,0079	-,001	,017
No se han asumido varianzas iguales			-1,9	,086	-,0079	-,001	,017

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

La selectividad o especificidad analítica es la capacidad del método para detectar de forma exclusiva el analito de interés aún en presencia de otras moléculas con características similares o diferentes de forma eficiente.¹¹⁸⁻¹²⁰ Una posible explicación a la selectividad del método del pirogalol-salicilato se basa en la física de la reacción mediada por la enzima LP; al metabolizar al sustrato pirogalol genera pirogalina con capacidad de absorber luz a una longitud de onda de 420 nm diferente al resto de los productos presentes en el suero sanguíneo.²⁰

En la perspectiva que aquí se discute, un sensor que desarrollan Abdel et al.,¹²¹ con actividad similar a la peroxidasa, es capaz de oxidar mediante catálisis la O-fenilendiamina (OPD, incolora) en 2,3-diaminofenazina (ox-OPD, color amarillo verdoso) en presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Este resultado indica que el método presenta alta selectividad.¹²¹ Los datos encontrados en el actual estudio respecto a la especificidad analítica del método enzimático se encuentra en

concordancia con los datos de Abdel et al.,¹²¹ aunque varían respecto al diseño y tipo de peroxidasa.

La ausencia de diferencias entre las muestras analizadas indica que el método detecta de manera selectiva la actividad de la enzima LP y que la presencia de otros analitos e impurezas es incapaz de alterar el resultado. A criterio del autor la selectividad o especificidad analítica debe garantizarse al validar los sistemas de medición debido a la cantidad de sustancias presentes en el suero sanguíneo humano incluido proteínas.

2.2.3.1.3. Precisión del método pirogalol-salicilato

Se obtuvo tras la determinación de la actividad enzimática replicada en 12 ocasiones a partir de una muestra de LP un coeficiente de variación de 0,13. La media de actividad fue de 0,011 U/mL para una desviación estándar de 0,0015. El valor del coeficiente de variación es un indicador de precisión del sistema de medición.

Tabla 5. Coeficiente de variación en réplicas de una muestra de LP sérica

N	Media	Desviación estándar	Varianza	Coeficiente de variación
12	0,011	0,0015	0,00	0,13 (13 %)

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

En 2023 se valida y estima la incertidumbre de la medición del método enzimático glucosa oxidasa-peroxidasa (GOD-PAP) por parte de Castro y Bazán¹²² para cuantificar glucosa en sangre. La evidencia indica que el método enzimático glucosa GOD-PAP es lineal, exacto y preciso lo cual garantiza la determinación confiable de la glucosa en sangre. Los resultados registrados en la presente investigación coinciden con los publicados por Castro y Bazán.¹²²

Del mismo modo, la validación de un método y colorimétrico específico por Olmedo et al.,¹²³ para la determinación de fructosa y glucosa en bebidas azucaradas, proporciona como resultado una repetibilidad expresada como CV de 3,8 %, mientras que la reproducibilidad interna presenta un CV de 4,1 %.

Ambos valores aceptables de acuerdo con el coeficiente de Horwitz (% CV aceptable para repetibilidad < 4,00; % CV aceptable para reproducibilidad interna < 5,33).¹²³ Estos resultados demuestran que el método enzimático-colorimétrico resulta preciso para la determinación de fructosa y glucosa en refrescos.¹²³

La presente investigación también se ajusta a los datos que proporciona Carrión et al.,¹²⁴ quienes identificaron valores del coeficiente de variación aceptables durante el proceso de validación del método enzimático colorimétrico dirigido a determinar creatinina en orina y suero.

El autor es del criterio que el coeficiente de variación se comporta como un indicador de precisión del método pirogalol-salicilato y cuando este estadígrafo muestra valores inferiores al 30 % se considera preciso. Por lo antes referido se puede afirmar que el método proporciona valores confiables tras varias determinaciones realizadas a la misma muestra.

2.2.3.1.4. Exactitud del método pirogalol-salicilato

El valor real de actividad enzimática calculado a partir de 31 muestras de LP sérica fue de 0,0085 U/mL, mientras que la media de actividad LP sérica en las muestras de estudio fue de 0,0082 U/mL. La diferencia en actividad fue de 0,0003 U/mL. La exactitud del sistema de medición superó el 95 %.

Tabla 6. Exactitud del método del pirogalol-salicilato

Variable	Exactitud del método pirogalol-salicilato	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	Exactitud %
Medición de la actividad enzimática	Valor real	31	,0085	,003476	,000624	96,47
	Valor experimental	85	,0082	,005248	,000569	

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

El sistema de medición mostró precisión y exactitud, lo que indica que varias mediciones realizadas por el mismo analista, u otro analista igual de entrenado, serán muy similares o cercanas entre ellas y al valor conocido como real. Daniel ¹²⁵ menciona en 1989 que el coeficiente de variación, la desviación estándar, y la varianza son parámetros estadísticos indicadores precisión o repetibilidad. Desde el punto de vista estadístico mientras menor sea la variabilidad del sistema más preciso y confiable se vuelve. ¹²⁵

En Cuba Cruz et al.,¹²⁶ corroboran la necesidad de determinar la exactitud para la validación del desempeño analítico de los métodos colorimétricos. Los autores, al evaluar el desempeño de los métodos analíticos que se emplean como medida del estado redox extracelular en suero, informan que la exactitud es alta ($p>0,05$), no se encuentran diferencias en los resultados de las mediciones realizadas. ¹²⁶ La presente investigación mostró resultados similares a los registrados por los investigadores Cruz et al.,¹²⁶ como se observa en la (Tabla 6).

En este orden de ideas, los apuntes de Fernández et al., ¹²⁷ se encuentran en correspondencia con las observaciones de Cruz et al.¹²⁶ Estos autores¹²⁶ informan

como exacto un lector de placas de ELISA que emplea leds superluminosos como fuente de iluminación y una *webcam* con función detectora de la concentración en soluciones coloreadas en placa de ELISA.

La concordancia entre los valores de concentración que suministra el sistema colorimétrico y los obtenidos con el sistema convencional, demuestran la exactitud del prototipo de medición y resulta válido para determinación de glucosa en plasma sanguíneo.¹²⁷ La precisión expresada como el coeficiente de variación (CV) del 2-9 % para ambos sistemas, mediante la cuantificación través de una curva de calibración.¹²⁷

El autor del presente estudio tras analizar los datos procedentes de las literaturas, argumenta que la exactitud es una característica analítica obligatoria para validez cualquier método analítico. Se basa en la comparación del valor muestral mediante el nuevo método con el valor real de la actividad LP sérica lo cual permite determinar qué tan exacto son los resultados.

2.2.3.1.4. Otros parámetros del desempeño analítico

El límite inferior de detección de LP por el sistema de medición fue de $5,1 \times 10^{-10}$ mol/L. Mientras que el límite de cuantificación de esta enzima por el sistema fue de $2,5 \times 10^{-8}$ mol/L. La tolerancia calculada con una confiabilidad del 95 % se encontró entre 0,007 y 0,009 U/mL. Mientras que la incertidumbre de la medición fue de 0,001 U/mL.

Tabla 7. Parámetros de desempeño analítico del método del pirogalol-salicilato

Parámetro de desempeño analítico	Prueba	Criterio de aceptación	Resultado
Límite de detección del sistema	Sensibilidad analítica mediante espectrofotometría UV-VIS	Identificación cualitativa de actividad enzimática	Concentración de enzima $2,3 \times 10^{-7}$ mol/L
Límite de cuantificación del sistema	Medición de la actividad enzimática mediante espectrofotometría UV-VIS	Concentración de enzima (mol/L) $< 9 \times 10^{-8}$	Concentración de enzima $2,5 \times 10^{-8}$ mol/L
Tolerancia	Intervalo de confianza (IC) 95 %	Valores entre 0 – 0,01	Límite superior: 0,009 Límite inferior: 0,007

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Según la guía para validación de métodos analíticos, la tolerancia se entiende por la capacidad del método para reproducir los resultados tras el análisis de la misma muestra con escasos efectos de los factores externos sobre las mediciones obtenidas. El laboratorio debe establecer *a priori* cuál será el intervalo de tolerancia aceptable para el sesgo del método, de tal forma que compare el sesgo obtenido con la tolerancia preestablecida.¹²⁸

Si el valor promedio del sesgo está dentro de los límites de tolerancia, implica que el método satisface los requerimientos para la validación.¹²⁸ Es por ello que, el método que se desarrolla (pirogalol-salicilato) presenta una tolerancia aceptable, pues el intervalo de confianza preestablecido es cerrado y el valor de la media se encuentra dentro del intervalo como se muestra en la (Tabla 7).

Los límites de detección y cuantificación resultaron ser bajos, lo cual es conveniente para la validez analítica como diagnóstica. Los límites que se analizaron representan un indicador de la sensibilidad analítica del método para detectar la actividad LP y por tanto diferencias en concentración y actividad enzimática de pacientes enfermos al compararlos con individuos sanos. A criterio del autor mientras menores sean los límites de detección y cuantificación mayor será la sensibilidad analítica y diagnóstica del método que se analiza.

2.2.3.1.5. Análisis repetibilidad y reproducibilidad del método (R&R) ^{129, 130}

La interacción entre analistas no explica de manera significativa la variación encontrada en el sistema de medición o analizado desde otro punto, la variación encontrada en el sistema de medición no es significativa $p = 0,64$.

Tabla 8. Anova de 2 vías con interacciones.

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Muestra	4	0,0000133	0,0000033	1,00000	0,461
Analista	2	0,0000178	0,0000089	2,66667	0,130
Muestra * Analista	8	0,0000267	0,0000033	0,75000	0,648
Repetibilidad	30	0,0001333	0,0000044		
Total	44	0,0001911			

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Al respecto, Pardo et al., ¹³¹ son del criterio de que existe interacción entre dos factores solo si el efecto de uno de ellos sobre la variable dependiente no es el mismo en todos los niveles del otro factor. Es decir, que existe interacción cuando el resultado de la combinación de dos factores es diferente de la suma de los efectos principales de esos factores. En el modelo de ANOVA de dos factores de

efectos fijos existe interacción cuando el efecto de esta es menor de 0,05 mientras que no existe interacción si el efecto es mayor de 0,05. ¹³¹

Al respecto Daniel,¹²⁵ considera que el análisis de la varianza estudia el efecto de una o varias variables independientes denominadas factores sobre la variable dependiente. Es una generalización del contraste de medias para dos muestras con datos independientes y se aplica en las situaciones en las que sean tres o más los grupos a comparar. Al analizar el efecto de la interacción si el p-valor es menor de 0,05 la interacción es significativa. ^{132, 133} Solo con este dato se puede anticipar el comportamiento de las categorías dentro de las variables que se analizan.

Como se observa en la tabla 8 y en concordancia con lo anterior referido, la interacción entre muestras y analistas no explica la variación en el sistema de medición. A consideración del autor este aspecto es un indicador del funcionamiento adecuado del sistema de medición, debido a que el efecto que pudiera presentarse con el cambio de analista no influye de modo significativo en las mediciones de la actividad enzimática.

Las medias obtenidas por los analistas no indican diferencias significativas, el valor de p ($>0,05$) al comparar los resultados constituyó un indicador de reproducibilidad y repetibilidad del sistema de medición. Las diferencias evidenciadas no fueron significativas interanalistas, ni intraanalista al realizar los ensayos en diferentes días, como muestra la (Tabla 9).

Tabla 9. Prueba de comparaciones múltiples entre analistas según día de ensayo.

Prueba	(I) Analista	(J) Analista	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DHS de Tukey	Primer analista (día 1)	Segundo analista (día 1)	-,0008	,00118	,768	-,0037	,0021
		Tercer analista (día 5)	-,0004	,00118	,933	-,0033	,0025
		Primer analista (día 1)	,0008	,00118	,768	-,0021	,0037
	Segundo analista (día 2)	Tercer analista (día 5)	,0004	,00118	,939	-,0025	,0033
		Primer analista (día 1)	,0004	,00118	,933	-,0025	,0033
	Tercer analista (día 5)	Segundo analista (día 1)	-,0004	,00118	,939	-,0033	,0025

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 1,049E-005.

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Los apuntes mencionados se ajustan a las observaciones de Severino et al.,¹³⁴

Estos autores, consideran que la precisión y reproducibilidad se corrobora mediante la concordancia intra-ensayos (repetibilidad) se realizan tres ensayos independientes para cada muestra, ejecutados por un mismo analista en distintos días (periodo corto).¹³⁴

De esta manera, para el análisis de la variabilidad entre ensayos, evalúan tres diluciones del Estándar 1 en dos ensayos independientes realizados por dos analistas distintos en diferentes días (precisión intermedia). Para cada caso, se identifica el coeficiente de variación porcentual (CV %).¹³⁴

En este orden de ideas, Quaglino et al.,¹³⁵ asume que los factores influyentes sobre los tiempos de operación, son los operarios y los días en que se efectúan las mediciones. En virtud del criterio de homogeneidad definido, los días de cada operario se identifican como cuatro "unidades" distintas, para las cuales la medición es efectuada en dos ocasiones.¹³⁵

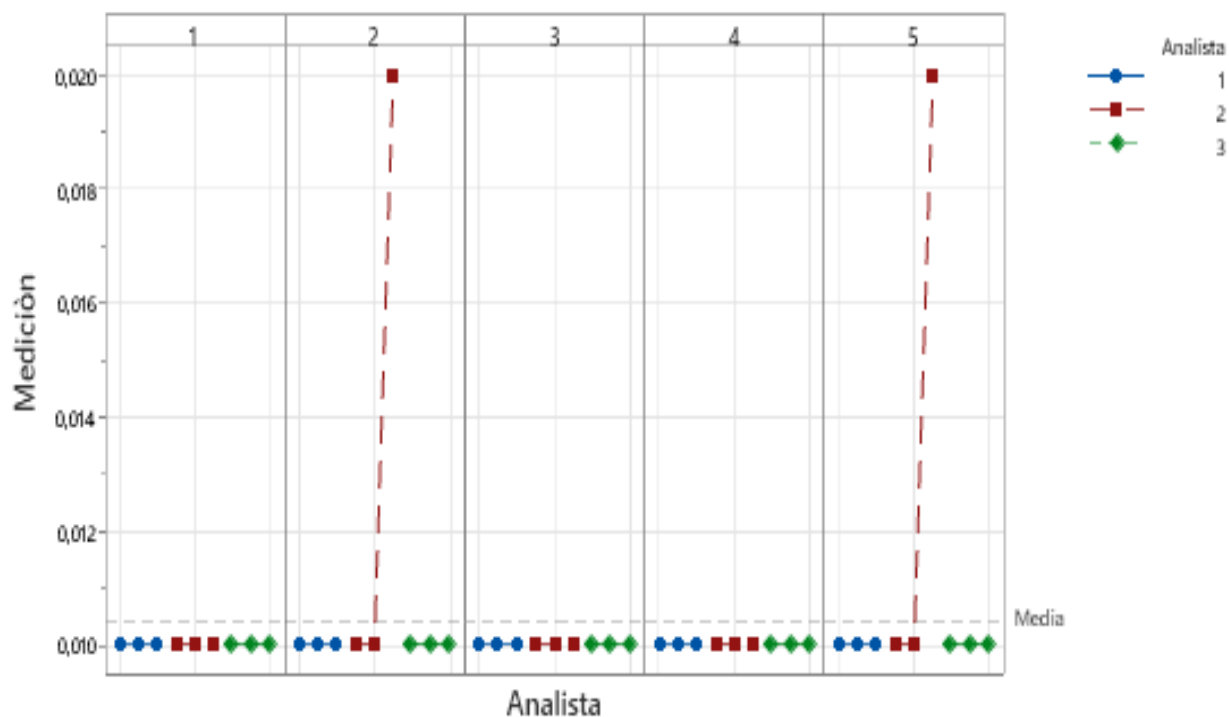
De este modo, los datos se asemejan a los de un diseño factorial anidado con tres operarios, cuatro unidades dentro de cada operario y dos repeticiones para cada unidad. La reproducibilidad del sistema en este caso es aceptada si R y R es menor del 30 % o si las diferencias entre las medias determinadas entre analistas y días diferentes, no son significativas.¹³⁵

El análisis de los datos proporcionados por Quaglino et al.,¹³⁵ induce al autor a considerar la idea de que el método pirogolol-salicilato es reproducible. Esta afirmación se basa en los resultados del estadígrafo P (significación) como se muestra (Tabla 8) $p > 0,05$ en todas las determinaciones lo cual se traduce como un indicador de precisión analítica.

Es criterio del autor que, entre los aspectos que se valoran para determinar la validez analítica de un sistema de medición se destaca la reproducibilidad y la precisión de los resultados en diferentes días, puesto que aún en iguales condiciones de experimentación los factores ambientales pueden variar de un día a otro. De manera similar, diferentes reactivos con el tiempo pueden perder calidad y estabilidad lo cual podría afectar de manera directa los resultados obtenidos.

La determinación de la actividad enzimática en cinco muestras diferentes, por triplicado y llevado a cabo por tres analistas indica que el método es reproducible. Las mediciones que obtuvieron los analistas en la primera, tercera y cuarta muestra fueron iguales 0,010 U/mL de actividad enzimática. Sin embargo, en la segunda y quinta muestra se observaron variaciones entre las mediciones proporcionadas por el tercer analista y el resto de los operarios al realizar la tercera replica. El tercer analista registró 0,02 U/mL mientras que el resto de operarios detectaron una actividad de 0,010 U/mL (Gráfico 2).

Gráfico 2 Reproducibilidad y repetibilidad del método del pirogallol-salicilato para la determinación de la LP sérica



Al evaluar el R&R del sistema de medición (método pirogallol-salicilato) se constató repetibilidad y reproducibilidad. Tras el análisis de cinco mediciones por triplicado

realizado por tres analistas se evidencio que no existían diferencias significativas entre las medias registradas por cada analista o interanalistas. Sin embargo, se registraron variaciones en las muestras dos y cinco durante la tercera réplica, pero por el mismo analista. Esta observación indica que el analista debe recibir entrenamiento en el procedimiento para mejorar los resultados del sistema de medición que incluye equipo, reactivos, analistas y el procedimiento.

La observación antes comentada se establece sobre la base teórica ofrecida por Escamilla et al.,¹³⁶ quienes plantean que el análisis de varianza (Anova) constituye uno de los métodos más confiables para determinar la reproducibilidad. Este análisis tiene las ventajas que las varianzas son estimadas con mayor exactitud, se adquiere variada información sobre la interacción del operador con la parte que se mide. Además, asume un modelo de efectos aleatorios para todos los factores o componentes de la variación del sistema (operadores, partes, interacción e instrumento).

En consonancia con los comentarios de Escamilla et al.,¹³⁶ el autor Suárez,¹³⁷ menciona en 2020 que en los laboratorios analíticos los resultados deben ser examinados en relación con el grado de variabilidad de los datos. Algunos de los factores más comunes que pueden ser unas las causas de variabilidad son: los equipos de laboratorios, operadores, materiales, temperatura y humedad, entre otros.

2.2.4. Conclusiones del capítulo

Se concluyó que el método del pirogallol-salicilato resultó válido desde el punto de vista analítico. Presentó linealidad, especificidad, precisión y exactitud analítica.

En este sentido, fue reproducible por diferentes analistas con alta precisión e incertidumbre ligera, lo cual sugiere que puede emplearse con fines clínicos.

2.3 Capítulo II Validación del desempeño clínico del pirogalol-salicilato

El capítulo aborda aspectos relacionados con la validación del desempeño clínico del método pirogalol-salicilato. Se operacionalizan las variables y se determinan las características de desempeño clínico como sensibilidad, especificidad y la precisión diagnóstica. Se aplican procedimientos de la estadística descriptiva e inferencial para el procesamiento de los datos, los cuales se muestran en gráficos y tablas.

2.3.1 Objetivos del capítulo

Objetivo general

- Validar el desempeño clínico del método pirogalol-salicilato

Objetivo específico

- Determinar las características de desempeño clínico del método pirogalol-salicilato

2.3.2 Diseño metodológico

Se realizó un estudio observacional, de corte transversal y analítico con medios diagnósticos. La investigación se llevó a cabo en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey en colaboración con el Hospital Oncológico María Curie en el periodo comprendido de enero del 2021 a diciembre del 2023.

Definición de la población y muestra:

Población de estudio: se trabajó con pacientes atendidos por el grupo multidisciplinario en la consulta territorial de casos nuevos de mama, del Hospital Provincial Docente Oncológico María Curie de Camagüey en el periodo

comprendido de enero del 2021 a diciembre del 2023 que cumplieron con los siguientes criterios de selección:

Criterios de selección para el grupo de pacientes con CM

Se incluyeron pacientes con CM diagnosticados mediante el método clínico y citología por aspiración con aguja fina, procedentes de la consulta territorial de casos nuevos de mama que incluye (Camagüey, Ciego de Ávila y Las Tunas). Con edades comprendidas entre 19-85 años y de ambos sexos mientras que se excluyeron de la investigación pacientes que recibieron tratamiento antineoplásico en cualquiera de sus modalidades y aquellos en estado de embarazo o durante el procesos de lactancia.

Criterios de selección para el grupo control

Se incluyeron sujetos supuestamente sanos (dispensarizados como grupo 1) según el compendio de Medicina General Integral y Programa Nacional del Médico y Enfermera de la Familia,¹³⁸ cuyas muestras séricas procedieron del Banco Provincial de Sangre de Camagüey. Sujetos mayores de 18 y menores de 66 años y de ambos sexos, según lo normado en la resolución ministerial 101-2008.¹³⁹ Mientras que, se excluyeron de la investigación sujetos en estado de embarazo o durante el proceso de lactancia.

Las unidades de análisis, muestreo y observación coincidieron: pacientes atendidos en la consulta de clasificación de mama.

Calculo del tamaño muestral: el procesamiento de la información se efectuó mediante el software EPIDAT. Se realizó sobre la base de un nivel de seguridad del 95 % = 1,96. Precisión deseada del 3 %. Población camagüeyana con edades

comprendidas entre 19-85 años es de 599 887 habitantes. Tasa de prevalencia de la enfermedad en el país de 34 por cada 100 000 habitantes. Tasa provincial 37,8 por cada 100 000 habitantes, lo cual supone que cada año se diagnostiquen un aproximado de 227 pacientes.¹⁴⁰ Supervivencia por CM se estimó un promedio entre 5 y 10 años. Prevalencia aproximada del CM en la provincia Camagüey 0,4 %. En el presente estudio se asumió una prevalencia del 3,9 %, lo que determinó un tamaño muestral aproximado de 160 sujetos, no obstante, la muestra ascendió a 167 sujetos. De ellos 85 sujetos con antecedentes de salud y 82 pacientes con diagnóstico clinicopatológico de CM.

Técnica de muestreo: se aplicó un muestreo probabilístico, aleatorio simple para la selección de la muestra, mediante la generación de números *random* por computador.

Variables de investigación

Tabla 10. Operacionalización de las variables

Variable	Dimensión	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador
Actividad de la enzima LP	-	Cuantitativa continua	Unidades por mililitros (u/mL) 0,001-0,05	✓ Media ✓ Desviación estándar ✓ Varianza ✓ IC 95 %
Validación del desempeño clínico del método pirogalol-salicilato	Sensibilidad clínica	Cualitativa ordinal	✓ Alta ✓ Media ✓ Baja	✓ Frecuencia absoluta
	Especificidad clínica	Cualitativa ordinal	✓ Alta ✓ Media ✓ Baja	✓ porcentaje
	Precisión diagnóstica	Cualitativa ordinal	✓ Excelente ✓ Muy buena ✓ Buena ✓ Regular ✓ Malo	
Estado de salud de los sujetos.	-	Nominal dicotómica	✓ Sano ✓ Enfermo	✓ Frecuencia absoluta ✓ Porcentaje

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Métodos para el control de la calidad de los datos

Se aplicó la técnica de enmascaramiento a simple ciega, es decir, los analistas, no conocían del estado o la procedencia de las muestras a analizar. Se le asignó una rotulación numérica consecutiva a cada muestra y fueron procesadas de forma aleatoria por distintos analistas durante el proceso de validación del desempeño analítico.

Procedimiento

Se debe señalar que, aunque el objetivo de la investigación se centró en evaluar la eficacia del método para el diagnóstico temprano de la enfermedad; la finalidad fue satisfacer una necesidad social de salud como resultado de un problema (diagnóstico tardío del CM). Para ello se asumió un enfoque integral interdisciplinario y básico-clínico. El mismo se puso en práctica durante la ejecución de cada etapa de la investigación. La primera etapa transcurrió en los laboratorios del CENIPBI donde se procesaron muestras para la validación analítica del método y primaron los conocimientos de Bioquímica del grupo de investigadores.

En la etapa posterior se realizó la validación clínica, razón por la cual el investigador principal se incorporó al grupo multidisciplinario de la Consulta Regional de Casos nuevos de Mama donde obtuvo las muestras séricas de los pacientes con CM que cumplieron con los criterios requeridos. En esta ocasión predominaron los conocimientos de las ciencias clínicas aportados por especialistas en Oncología y la Radiología cuyo escenario fue el Hospital Provincial Docente María Curie de Camagüey.

Una vez obtenidas las muestras, estas últimas fueron procesadas en los laboratorios del CENIPBI y en la Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz. Los resultados fueron luego enviados al grupo multidisciplinario de la Consulta Regional de Casos nuevos de mama donde fueron valorados de forma integral con otros análisis para informar al paciente y tomar conductas respecto al tratamiento.

La determinación de la enzima LP sérica incluyó varios pasos, primero se citaron los pacientes con sospecha clínica de CM procedentes de la consulta de clasificación a la consulta regional de casos nuevos de mama. Luego se efectuó el examen clínico, imagenológico e histológico por un grupo multidisciplinario de profesionales. Se indicó la extracción de sangre para determinación de LP y se determinó la actividad de esta enzima por espectrofotometría UV-VIS.

La actividad enzimática se analizó mediante el método de Dupoy ¹⁸ con las siguientes modificaciones: se sustituyó el reactivo guayacol por el pirogallol, se incorporó el reactivo salicilato como inhibidor de la enzima mieloperoxidasa sérica, se trabajó con un volumen final de ensayo de 500 µL y se utilizó suero sanguíneo en lugar del lácteo.

Se solicitó el consentimiento informado a los sujetos para participar en el estudio. Una vez obtenido el consentimiento informado, se procedió a la obtención de las muestras de la siguiente manera:

El suero sanguíneo se añadió en frascos viales de un mililitro, que de inmediato se estacionaron en hielo. Se tomaron muestras entre las 8:00 a.m. y las 10:00 a.m. Antes de recolectar el suero, se orientó a los seleccionados que se abstuvieran de

comer y beber durante 12 h. Las muestras de sangre se homogeneizaron y clarificaron mediante centrifugación a $3\,000 \times g$ durante 10 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las muestras de suero se conservaron a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización.

En una cubeta de cuarzo se agregaron:

- ✓ 200 μL de una solución de salicilato diluido en tampón fosfato (Na_2HPO_4) 0,79 M con pH 6,8.

- ✓ 100 μL de H_2O_2 de una solución de 45 μL de H_2O_2 al 30 % en 10 mL de agua destilada.

- ✓ 100 μL de pirogalol disuelto en agua destilada 0,04 M y se agregaron 100 μL de suero sanguíneo.

De inmediato la mezcla se colocó en un espectrofotómetro Rayleigh UV-VIS 16-01 y se realizó una cinética enzimática, las muestras se leyeron a los 20, 40, 60, y 80 min una longitud de onda de 420 nm el coeficiente de absorción (ϵ) fijado fue de $2640\text{ L/mol}\cdot\text{cm}$. La actividad enzimática se midió en unidades por mililitros (u/mL).

Se determinó la sensibilidad y especificidad diagnóstica para evaluar el desempeño clínico del método diagnóstico.⁵⁹

Se tomaron como referencia los siguientes valores para sensibilidad y especificidad diagnóstica:

- ✓ Alta $\geq 95\%$
- ✓ Media $\geq 85\% < 95\%$
- ✓ Baja $\geq 75\% < 85\%$

En la tabla 11A,tomada de Cáceres ⁵² en 2007 se muestra el modo de calcular la sensibilidad y especificidad. Dónde: a = número de pacientes con la enfermedad diagnosticados como "positivos" por la prueba. b = número de pacientes sin la enfermedad diagnosticados como "positivos" por la prueba. c = número de pacientes con la enfermedad diagnosticados como "negativos" por la prueba. d = número de pacientes sin la enfermedad diagnosticados como "negativos" por la prueba.

Tabla 11A. Relación entre la prueba y el criterio de veracidad para establecer los valores de sensibilidad y especificidad diagnóstica

Pruebas		Criterio de veracidad		
		Enfermo	Sano	Total
Prueba diagnóstica	Positivo	a	b	a+b
	Negativo	c	d	c + d
	Total	a+c	b+d	a+b+c+d

Fuente: Cáceres ⁵², 2007

En la tabla 11B, tomada también de Cáceres ⁵² se muestra el modo de calcular la sensibilidad y especificidad. Puede apreciarse que cada celda de la figura refleja una característica que también suele calificarse de la manera siguiente: a = Verdaderos positivos (VP). b = Falsos positivos (FP).c = Falsos negativos (FN) d = Verdaderos negativos (VN).

De modo similar en la tabla 11B,tomada Cáceres ⁵². Relación entre la prueba y el criterio de veracidad para establecer los valores de sensibilidad y especificidad diagnóstica

Pruebas		Criterio de veracidad		
		Enfermo	Sano	Total
Prueba diagnóstica	Positivo	VP	FP	VP+FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
Total		VP+FN	FP+VN	VP+FN+FP+VN

Fuente: Tomado de Cáceres ⁵², 2007

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total de enfermos}} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}} = \frac{a}{a + c}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total de no enfermos}} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}} = \frac{d}{b + d}$$

Se determinó el valor predictivo positivo para determinar la probabilidad de que los individuos con una prueba positiva tengan la enfermedad mediante la fórmula:

$$\text{Valor predictivo positivo} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total de positivos}} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}} = \frac{a}{a + b}$$

Se determinó el valor predictivo negativo para determinar la probabilidad de que los individuos con una prueba negativa no tengan la enfermedad mediante la fórmula:

$$\text{Valor predictivo negativo} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total de negativos}} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}} = \frac{d}{a + d}$$

Se efectuó el índice de validez o proporción correcta de aciertos (IV) para determinar la proporción de individuos clasificados de forma correcta. En términos de la tabla 2 x 2 básica, el índice de validez responde a la siguiente fórmula:

Índice de validez = Verdaderos positivos + Verdaderos negativos/Total de sujetos

$$\text{IV} = \text{VP} + \text{VN} / \text{Total} = a + d / a + b + c + d$$

Se efectuó, además, índice de Youden o versión 2 de la probabilidad corregida de detectar enfermedad (IJ) para determinar la diferencia entre la tasa de verdaderos positivos y la de falsos positivos.

Criterio de aceptación: $IJ > 0$

Se ejecutó la razón de verosimilitud (RV) como indicador de desempeño de la prueba diagnóstica. La razón expresó cuantas veces más probables es que el prueba sea positivo en los enfermos que en los no enfermos.

$$RV+ = S / 1 - E$$

Criterio de aceptación: > 0

Como indicador de eficacia del método del pirogalol se realizó una curva de características operativas del receptor (ROC, por sus siglas en inglés *Receiver Operating Characteristic*). Se estableció un punto de corte en 0,008 U/mL de actividad enzimática. Intervalos de valores de la curva ROC y su interpretación: Muy malo (50 %); Malo (50-60 %); Regular (60-75 %); Bueno (75-90 %); Muy bueno (90-97 %); Excelente (97-100 %).

Criterio de aceptación: valores entre 0,75-1 (75–100 %)

Técnicas y procedimientos para la recolección de datos

Los datos fueron obtenidos a partir de fuentes primarias (sujetos de investigación). Se empleó el método clínico en conjunto a la biopsia por aspiración con aguja fina (CAAF) para analizar los tejidos y establecer el diagnóstico de CM. La observación científica permitió el registro de la actividad enzimática medida por espectrofotometría UV-VIS auxiliándose de un espectrofotómetro *Rayleigh UV-VIS 16-01*. Los datos fueron vertidos y codificados en una base de datos en Excel para

su posterior análisis en el procesador SPSS 21 (SPSS por sus siglas del inglés *Statistical Package for the Social Sciences*) versión 21 para Windows.

Análisis estadístico de los datos

Se trabajó con el procesador SPSS 21. Se aplicaron las pruebas Kolmogorov-Smirnov con la corrección Lilliefors para determinar si el conjunto de datos se ajustaba a una distribución normal. De la estadística descriptiva se determinaron medidas de tendencia central y medidas de dispersión (desviación estándar, varianza, coeficiente de variación) para datos cuantitativos, mientras que los porcentajes, frecuencias absolutas, índices y proporciones se aplicaron para resumir datos cualitativos.

La prueba T Student se empleó para identificar la existencia de diferencias significativas en las medias de actividad enzimática entre el grupo de pacientes con CM y el grupo control. Se trabajó con un nivel de confiabilidad del 95 % y una significación de 0,05.

Se aplicó la prueba Chi cuadrado para determinar la asociación entre la actividad enzimática aumentada y el diagnóstico histopatológico de CM. Para determinar la magnitud de la asociación se realizaron los coeficientes de correlación V de Cramer y de contingencia. Cuando más del 20 % de las frecuencias esperadas fue inferior a cinco o algunas de estas fue inferior a uno, no se realizó la prueba. En ese caso se redujo la tabla de contingencia a una tabla de 2 x 2 y se aplicó la prueba exacta de Fisher.

Se empleó la regresión logística binaria para determinar la relación entre la variable predictora actividad LP y la variable estado de salud de los sujetos a

través de un modelo pronóstico. Se trabajó con un nivel de significación inferior a 0,05 y la confiabilidad del 95 %.

2.3.3. Análisis y discusión de resultados

2.3.3.1 Determinación de las características clínicas del método pirogalol-salicilato

La sensibilidad del método pirogalol-salicilato fue de 76,84 % con un intervalo de confianza de 66,62 a 84,63 %. Mientras que la especificidad fue del 65,88 % con un intervalo de confianza entre el 55,31 y 75,08 % (Tabla 12).

2.3.3.1.1 Tabla 12. Sensibilidad y especificidad diagnóstica del método del pirogalol-salicilato

Punto de corte	Sensibilidad %	95 % CI	Especificidad %	95 % CI	Razón de verosimilitud
> 0,003155	98,78	93,41 % a 99,94 %	12,94	7,382 % a 21,70 %	1,135
> 0,009470	76,83	66,62 % a 84,63 %	65,88	55,31 % a 75,08 %	2,252

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

La alta sensibilidad de la prueba se debe a varios factores entre ellos al método de determinación de la LP que es un método espectrofotométrico, sencillo y directo que permite detectar y cuantificar la actividad enzimática.²¹ La enzima LP se produce en las células acinares de la mama, por ende un aumento en el número de células se relaciona con el incremento de la enzima y de su actividad.²¹

Es criterio del autor que la sensibilidad adecuada de la prueba también puede ser resultado de la selección del punto de corte. En relación con el objetivo que se persigue al desarrollar una prueba diagnóstica, ya sea para detectar la mayor

cantidad de enfermos o de sanos posibles el punto de corte se puede modificar. Como resultado de puntos de cortes diferentes se obtienen disímiles valores de sensibilidad y especificidad, es tarea del investigador basándose en los datos de la clínica encontrar el punto óptimo para llevar a cabo la validación de la prueba diagnóstica.

Los apuntes de Galo et al .,¹⁴¹ indican que el diagnóstico temprano de CM se puede realizar mediante la identificación de biomarcadores a través de la técnica de biopsia líquida con alta sensibilidad y especificidad. Los datos provienen de una revisión sistemática que incluye 136 artículos e implica la participación de 17 709 pacientes con CM. El 95,6 % de los estudios son de casos y controles, de estos 96,3 % de las biopsias líquidas corresponden a muestras de sangre periférica donde el biomarcador más analizado es el microARN.¹⁴¹

El autor considera que la biopsia líquida es conveniente para los pacientes, pues resulta una técnica no invasiva, característica que comparte con el método pirogalol-salicilato que se investiga. Otra ventaja respecto a biomarcadores como el CA- 15-3 o el CEA es que se puede emplear para el diagnóstico temprano de la enfermedad. Sin embargo, la escasa asequibilidad para países subdesarrollados lo convierte en una técnica poco sostenible.

Entre los factores de riesgo que contribuyen a la aparición del cáncer se destaca la inflamación crónica a nivel del tejido mamario mediada por quimiocinas.¹⁴²

Sobre la base de este conocimiento se evalúa la utilidad clínica del empleo de la quimiocina 12 o factor 1 derivado de células del estroma (CXCL12, por sus siglas del inglés *chemokine 12* como biomarcador de diagnóstico temprano en el CM.¹⁴²

El estudio incluye 100 pacientes con CM en estadios temprano y 100 con diagnóstico negativo de cáncer (control) y se evalúa de forma comparativa los niveles séricos de CXCL12 y CA15-3.¹⁴²

Motyka et al.,¹⁴² constatan valores de CXCL12 superiores en pacientes con cáncer en estadios tempranos al compararlos con el grupo control. Por otro lado, como biomarcador diagnóstico CXCL12 muestra una sensibilidad (79 %), especificidad (82 %), valor predictivo positivo (89,72 %), valor predictivo negativo (80 %), precisión diagnóstica (80 %) y poder diagnóstico (AUC = 0,8196). Estos datos superan los obtenidos con el biomarcador CA 15-3 (58 %; 72 %; 80,56 %; 46,15 %, 62,67 %, 0,6434, en consecuencia) y la combinación de ambos biomarcadores mejora la sensibilidad de la prueba diagnóstica.¹⁴²

Sin embargo, al comparar los datos obtenidos en esta investigación con los proporcionados con el estudio de validación del método del pirogalol-salicilato se puede deducir que el método basado en el biomarcador LP es más preciso, sensible y con un poder diagnóstico superior que el empleo de CXCL12 solo, o el biomarcador CA15-3 solo. No obstante, la combinación de estos últimos aumenta la precisión de la prueba. Las evidencias registradas en estudios previos indican que la combinación de biomarcadores incrementa la sensibilidad y el poder predictivo de la prueba, por lo que a criterio del autor la combinación del biomarcador LP y CXCL12 pudiera ser de mayor utilidad clínica que cada biomarcador independiente.

La búsqueda de biomarcadores para diagnóstico temprano, constituye una prioridad para la ciencia. En esta dirección se investigan la metilación del ácido

desoxirribonucleico (AND) en sangre total, pero sin resultados prometedores hasta la fecha mencionan Guan et al.¹⁴³ Una revisión sistemática que incluye 33 estudios donde se analizaron biomarcadores de metilación para el diagnóstico temprano del cáncer evidencio que la mayoría de estos biomarcadores presentan una sensibilidad modesta poco mayor del 40 % y especificidad del 75 %. Razón por la cual no están validados para esta indicación.¹⁴³

En relación con este tema, se realizan estudios de perfil metabólico con la finalidad de encontrar nuevos biomarcadores para el diagnóstico temprano del CM. Una investigación basada en acople de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, del inglés *High Performance Liquid Chromatography*) con espectrometría de masa (MS), permitió el análisis del suero de 39 pacientes con CM y un grupo control de 31 sujetos sanos detectándose 232 metabolitos endógenos. Como resultado los mejores biomarcadores incluyen acilcarnitinas (AC) y ácido 9,12-linoleico. La combinación de los biomarcadores presenta una sensibilidad del 83 % y una especificidad del 81 %, con una área bajo la curva (AUC, por sus siglas del inglés *area under curve* de 0,839 (intervalo de confianza del 95 %, 0,811-0,867) según apreciaciones de Kozar et al.¹⁴⁴

Al analizar estos resultados se deduce que el método del pirogalol-salicilato presenta una eficacia diagnóstica similar a los biomarcadores detectados por espectrometría de masa, para el diagnóstico temprano del CA. Sin embargo, el autor considera que el procedimiento propuesto por Kozar et al.,¹⁴⁴ es poco sostenible en las condiciones económicas actuales de Cuba, pues la

espectrometría es un procedimiento complejo, requiere personal especializado y reactivos caros.

Otros esfuerzos en la búsqueda de biomarcadores eficientes se centran en los autoanticuerpos (AA) séricos contra, varios antígenos tumorales. Una experiencia llevada a cabo para investigar la utilidad clínica de los autoanticuerpos como biomarcadores de diagnóstico temprano sugiere resultados poco alentadores, así lo aprecian Rauf et al.¹⁴⁵ La mayoría de los anticuerpos detectados hasta la fecha presentan poca sensibilidad. Para contrarrestar esta limitación se desarrollan paneles de autoanticuerpos por medio de los antígenos tumorales: (p53, c-MYC, HER2, NY-ESO-1, BRCA1, BRCA2 y MUC1).¹⁴⁵

Las sensibilidades de los autoanticuerpos individuales generados frente a los antígenos citados con anterioridad se encuentra entre 8 - 34 % de tumores primarios de la mama y la especificidad es del 91 al 98 %. No obstante, al emplearlos combinados 64 % de los pacientes evidencian aumento de al menos uno de los seis autoanticuerpos con una especificidad del 85 %.¹⁴⁵

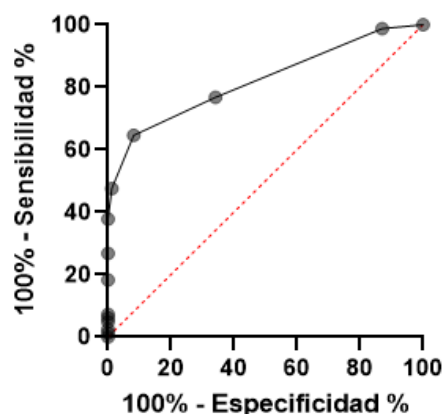
Estos resultados son poco eficientes si se comparan con el biomarcador LP cuya sensibilidad diagnóstica individual supera el 75 %, con un intervalo de confianza que puede llegar hasta el 85 % lo que significa que es capaz de detectar a 8 de cada 10 personas con CM de modo aproximado. A opinión del autor la baja sensibilidad de los anticuerpos se debe a la variabilidad biológica interindividual que determina la intensidad con la cual el sistema inmunológico reaccionará con los antígenos tumorales y generará los autoanticuerpos.

En otro orden de ideas, se evidencia la importancia del desarrollo e implementación de métodos para el diagnóstico temprano del CM. El método del pirogalol-salicilato basado en el biomarcador LP sérica parece ser una alternativa sostenible y eficiente para las condiciones económicas actuales de Cuba. Al compararlo con varios biomarcadores validados y en estudio muestra superioridad en cuanto al poder diagnóstico, razón por la cual se debe potenciar su generalización y aplicación en la práctica clínica.

La eficacia del método para el diagnóstico del carcinoma de mama, se ajusta al 76,83 % con un intervalo de confianza entre el 66,62 % y 84,63 %. Siete de los nueve resultados (predicciones) se encuentran por encima de la línea de no-discriminación. (Gráfico 3).

2.3.3.1.2 Gráfico 3. Curva ROC para el método del pirogalol-salicilato

Curva ROC: Método pirogalol salicilato



El CM constituye un problema de salud para las mujeres iraquíes, en los últimos años esta enfermedad ha incrementado su frecuencia en esta población. Por lo que Hussein et al.,¹⁴⁶ investigan el monitoreo de proteínas séricas como la

aromatasa y CA15-3; con la finalidad de evaluar precisión de estos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico del CM pues la detección oportuna contribuye al retraso de metástasis y reducción de la mortalidad.¹⁴⁶

La investigación incluye 159 pacientes de ellos 50 presentan tumores benignos de mama (grupo control). Los resultados sugieren que existe una correlación positiva entre los niveles de aromatasa y CA15-3 y que existen diferencias significativas ($p < 0,001$), entre las medias de concentración de aromatasa entre el grupo de pacientes con CM y el control. Además, el empleo de aromatasa y CA15-3 parecen ser excelentes predictores por ROC con una precisión de 93,3 % y 88,3 % en correspondencia. La combinación de ambos biomarcadores incrementó la sensibilidad por encima del 95 %.¹⁴⁶

Los resultados de esta experiencia se encuentran en concordancia con los obtenidos en la actual investigación donde se demuestra que el método del pirogalol-salicilato presentó sensibilidad y eficacia diagnóstica. A consideración del autor todo biomarcador que demuestre alta precisión para el diagnóstico temprano del CM debe ser empleado en la práctica clínica por el impacto positivo sobre el indicador mortalidad. Tanto el biomarcador aromatasa como el método del pirogalol-salicilato son eficaces, sin embargo, se debe investigar sobre la disponibilidad, accesibilidad y costo de ambos en el contexto económico actual del país Cuba para la toma de decisiones de sus usos.

Las metaloproteinasas de matriz (MMP) son un grupo de enzimas que juegan un papel fundamental en el proceso de carcinogénesis. Estas enzimas tienen la función de degradar la matriz extracelular y la lámina basal, lo cual contribuye a

los procesos de invasión y metástasis de las células cancerígenas. Por lo anterior se evalúa la utilidad clínica de las MMP-3 y MMP-7 en el diagnóstico temprano del CM por Ławicki et al.¹⁴⁷

Se analizan un total de 100 pacientes con CM en estadios tempranos y se incluye un grupo control. Las MMP se determinan mediante el método de ELISA y el biomarcador CA15-3 por citometría de inmunoafinidad. Como resultado se encuentran diferencias significativas entre el grupo con CM y el grupo control, la media de la concentración de MMP alcanza un nivel superior en el grupo con CM. Al analizar el área bajo la curva ROC, el biomarcador MMP proporciona un valor de 0,68 lo cual indica que es un biomarcador poco preciso para la indicación investigada.¹⁴⁷

Los apuntes de la presente indagación no se encuentran en concordancia con los proporcionados por Ławicki et al.¹⁴⁷ pues el método del pirogalol-salicilato presenta una precisión diagnóstica superior al biomarcador MMP. En opinión del investigador las discrepancias encontradas en cuanto a la eficacia de ambos estudios pueden deberse a las características intrínsecas de los biomarcadores. También considera que la baja eficacia y sensibilidad clínica de las MMP trae como consecuencia diagnósticos imprecisos y por tanto daños al paciente, por lo que no aconseja su empleo como biomarcador de diagnóstico temprano de la enfermedad.

Al estudiar 282 pacientes con CM y 87 sujetos sanos (control), He et al.,¹⁴⁸ determinan como finalidad validar la utilidad clínica del ácidos ribonucleicos largos no codificantes (lncRNA) T376626 como biomarcador sérico diagnóstico y

pronóstico del CM en estadios tempranos. Se determina la expresión de este biomarcador mediante micromatriz aplicada a todo el genoma.¹⁴⁸

Como resultado los autores¹⁴⁸ encuentran valores de LncRNA T376626 más altos en las muestras de los pacientes enfermos. Los niveles superiores del biomarcador se asocian de manera positiva con una etapa de diferenciación patológica más avanzada. El área bajo la curva del lncRNA T376626 en suero fue de 0,842 lo cual induce a pensar que podría ser un buen biomarcador diagnóstico para el CM.¹⁴⁸

Los resultados obtenidos al emplear lncRNA T376626 como biomarcador son alentadores. Al comparar el poder diagnóstico que exhibe este último biomarcador con el método pirogalol-salicilato se puede constatar que ambos resultan eficaces. Sin embargo, la estructura molecular (ARN) del biomarcador difiere de la mayoría de los biomarcadores más empleados que son de naturaleza proteica. A consideración del autor este aspecto debe tenerse en cuenta debido a la baja estabilidad del ARN, lo cual pudiera influir en las concentraciones y por ende en la determinación y valor clínico del biomarcador lncRNA T376626.

Del mismo modo, los argumentos obtenidos al evaluar la eficacia del biomarcador LP también se ajustan a los datos de sensibilidad, especificidad del biomarcador microARN (miR-34a) 0,880 y 0,593 en correspondencia, y el área bajo la curva ROC fue 0,78.¹⁴⁹ Lo cual indica que el biomarcador de naturaleza nucleotídica presenta poder diagnóstico inferior al biomarcador LP sérica. Sin embargo, señalan Shaaban et al.,¹⁴⁹ que podría emplearse como un biomarcador no invasivo para evaluar la respuesta de los tumores malignos de mama a la quimioterapia.

Kawsar et al.,¹⁵⁰ en Bangladeth evalúan la eficacia de los biomarcadores CA15-3 y el CEA para detectar recurrencia del CM proporcionan como resultado que, la combinación de ambos biomarcadores puede ser de utilidad clínica en este grupo de pacientes. Se emplean los puntos de corte (límite: 5 ng/mL) para el CEA y el CA15-3 (30 U/mL). La sensibilidad y especificidad de CEA y CA15-3 resulta en 22,22 %, 82,9 % y del 66,7 %, 75,6 %, en este orden, mientras que, en combinación la sensibilidad aumentó 6,25 %.¹⁵⁰ el AUC, fue 0,62, 0,82 y 0,88 para CEA, CA15-3 y combinación, en correspondencia.¹⁵⁰

Al analizar los resultados obtenidos en esta experiencia se puede constatar que de forma independiente el poder diagnóstico de CEA y CA15-3 es bajo, mientras que la combinación lo incrementa. Sin embargo, al comparar los resultados de sensibilidad y eficacia diagnóstica con los obtenidos con el método del pirogalol-salicilato este último es superior.

A criterio del autor, los biomarcadores CEA y CA15-3 solo deben emplearse para el seguimiento, evaluación de la respuesta a la quimioterapia de la enfermedad. No se aconseja el empleo como biomarcadores de riesgo o de diagnóstico temprano por la baja eficacia diagnóstica.

Hoy día, el empleo de la inteligencia artificial (IA) juega un papel protagonista en todas las esferas de la sociedad incluidos los servicios de salud. La eficacia combinada de una red neuronal e Inmunohistoquímica (IHQ) en comparación con IHQ convencional indica mejores resultados para la primera estrategia así lo indican Shamaï et al.¹⁵¹

Los autores,¹⁵¹ investigan la expresión molecular de 19 biomarcadores incluido el receptor de estrógeno (ER), el receptor de progesterona (PR) y (HER2). Se predice la expresión de ER en 105 de 207 que representa el 50,7 % y 1059 de 2046 pacientes en la cohorte 2 (51,8 %), con VPP del 97 % y 98 %, en correspondencia VPN del 68 % y 76 %, en ese orden, mientras que la precisión alcanza el 91 y 92 %, en consecuencia. En este orden de ideas, estos datos superan a la IHQ tradicional cuya precisión se encuentra 81-90 %).¹⁵¹

El autor, razona que los datos obtenidos en relación con el poder diagnóstico en esta experiencia son superiores a los reportados con el método del pirogalol-salicilato que muestra precisión por encima del 85 %. Una posible explicación para los resultados de la IHQ y red neuronal se sustenta en que esta última constituye una herramienta de la inteligencia artificial, la cual tiende a reducir el error humano durante los procedimientos de análisis.

Dentro de este marco, sobre la base de los beneficios de la IA, el empleo de esta tecnología en combinación con el método del pirogalol-salicilato podría mejorar la precisión de esta última prueba para el diagnóstico temprano del CM a un costo inferior que en combinación con otros biomarcadores tumorales séricos.

Del total de 85 muestras procedentes de sujetos controles, 56 muestras presentaron actividad enzimática normal y 29 mostraron un aumento de la actividad. Mientras que, de un total de 82 muestras positivas, en 65 se encontró aumentada la actividad de la LP sérica. Los resultados sugieren que al igual que otros biomarcadores inespecíficos de tejido empleados en la clínica, el

biomarcador LP sérica puede generar falsos positivos y negativos en menor cuantía. La prueba exacta de Fisher mostró una significación de 0,000 (Tabla 13).

2.3.3.1.3 Tabla 13. Asociación entre el resultado del método clínico y la CAAF con la actividad enzimática LP sérica

Actividad enzimática	Resultado del método clínico y la CAAF			Prueba chi-cuadrado Sig. Exacta de Fisher (bilateral)	Sig. Exacta de Fisher Coeficiente de contingencia
	Positivo	Negativo	Total		
Aumentada	65	29	94	0,000	0,000
Normal	17	56	73		
Total	82	85	167		

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Santana y Cambal ¹⁵² señalan que los biomarcadores inespecíficos tienen la característica de aportar a los resultados un porcentaje variable de falsos positivos y falsos negativos. La presencia del biomarcador inespecífico tanto en tejido normal de diferentes órganos, como en tejido maligno determina que procesos inflamatorios, infecciosos, tumorales, fisiológicos y fisiopatológicos puedan modificar las concentraciones de un determinado biomarcador en el momento que se evalúa. ⁵⁶

Por otro lado, la validación del método emplea como prueba de referencia el Método clínico y CAAF, esta última con una sensibilidad variable entre el 85 % y 95 %, lo que sugiere la posibilidad de asumir algunos individuos como sanos cuando en realidad no lo son. ¹⁵³ Como consecuencia se sobreentiende que si se emplea la CAAF para validar otra prueba diagnóstica se corre un riesgo de proporcionar un porcentaje de resultados incorrectos.

Los resultados indican que una parte de los pacientes enfermos presentaron actividad enzimática entre los valores normales, mientras que en el grupo control se registraron en varios sujetos cifras elevadas de actividad LP. A criterio del autor estos acontecimientos son resultado de las características intrínsecas de los métodos diagnósticos además de variables fisiológicas y fisiopatológicas de los sujetos en estudio.

El método del pirogalol-salicilato al basarse en un biomarcador sérico inespecífico (LP) puede presentar valores altos de actividad de la enzima en procesos no malignos como traumatismos en las mamas, mastitis e incluso procesos benignos donde se encuentre comprometida la integridad de la membrana basal.

La regresión logística para la variable predictora actividad enzimática destaca el valor del gradiente (B)= 159,8. El valor de Wald fue de 32,18 y el nivel de significación estadístico ($p=0,00$). La exponente beta (Exp B) fue de 2,44 y el modelo pronóstico presentó un nivel de acierto del 78,4 %.

2.3.3.1.4 Tabla 14. Regresión logística binaria para la variable predictora (actividad enzimática)

Variable predictora		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp (B)	Pronóstico Correcto del modelo
Paso 1 ^a	Actividad enzimática	159,7	28,16	32,18	1	,000	2,45	78,4 %
	Constante	2,214	,379	34,11	1	,000	,109	

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Ambos.

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Al analizar la tabla es evidente que el valor de Wald no contiene ceros, al contrario, es positivo para la variable predictora actividad enzimática. Este dato

sugiere que la variable predictora explica el 78,4 % de los resultados del modelo. Sin embargo, no basta con interpretar el valor de Wald, sino también la significación estadística la cual debe ser menor de 0,05. Por último, al interpretar los exponentes de beta (Exp(B)), que no son más que los Odd Ratios se puede deducir que aquellos pacientes que presentan mayor actividad sérica de la enzima LP tienen 2,45 veces más posibilidad de desarrollar CM.

Por lo anterior señalado el autor considera que el biomarcador LP puede además ser empleado en el diagnóstico precoz del CM. Esto supone su aplicación en pesquisas para población sana de riesgo. No obstante, se recomienda dirigir futuros estudios hacia esta posible aplicación.

Los datos expuestos con anterioridad se encuentran en consonancia con los apuntes de Irigoyen et al.,¹⁵⁴ los cuales al analizar las diferencias pronósticas en función de tres grandes subgrupos (LuminalA, LuminalB y HER2+), los resultados revelan diferencias significativas en el pronóstico de los distintos subtipos moleculares de CM, esto evidencia la relación entre los biomarcadores y el pronóstico del CM.¹⁵⁴

La media de la actividad enzimática en las muestras de sujetos controles fue de 0,008 U/mL, mientras que en el grupo de enfermos diagnosticados mediante el método clínico y CAAF fue superior (0,034 U/mL). Se encontraron diferencias muy significativas entre grupos, $p=0,000$ (Tabla 15).

2.3.3.1.5. Tabla 15. Actividad enzimática media según resultado del método clínico y CAAF

Resultado del método clínico y CAAF	N	Media	Desviación típ.	Intervalo de confianza al 95 %	Sig.(bilateral) Varianzas iguales y diferentes
Sano	85	0,008	0,005	0,007-0,009	0,000
Enfermo	82	0,026	0,020	0,022-0,030	0,000

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor.

Entre los resultados de la presente investigación se destaca la existencia de diferencias significativas en la media de actividad enzimática a favor de las muestras procedentes de pacientes enfermos al compararlas con el grupo control. También resulta remarcable la existencia de una fuerte asociación entre la actividad enzimática aumentada y el diagnóstico de cáncer. Lo cual sugiere que estas variables se encuentran relacionadas.

Esta experiencia resulta pionera en el empleo del biomarcador LP sérica para el diagnóstico del CM, motivo que justifica la no alusión a otros estudios al respecto al momento de analizar y contrastar los resultados. Sin embargo, otros biomarcadores de naturaleza (biomarcador tumoral sérico) similar a la LP como el CEA y CA15-3 experimentan un aumento de sus concentraciones en relación con la masa tumoral.

A criterio del investigador el comportamiento desigual de la actividad LP en los casos y controles es resultado de las características proliferativas de los tumores malignos. El aumento en las mitosis características en células malignas, genera

una mayor masa celular con capacidad de producir más proteínas (LP). Por otro lado, la división celular en células normales se lleva a cabo de manera estable y regulada, motivo que determina niveles adecuados de actividad LP en sujetos sanos.

El investigador infiere sobre la base de los datos analizados con anterioridad que las diferencias en cuanto a actividad enzimática entre sujetos sanos y enfermos, contribuyen a establecer los valores normales y alterados del biomarcador. Constituye por consiguiente el elemento básico para el desarrollo del método del pirogalol-salicilato sustentado en esta enzima cuyo costo supone beneficios económicos para el sistema de salud.

2.3.3.1.6. Efecto social y psicológico del método pirogalol-salicilato

El costo de la prueba biomarcador LP por paciente fue \$ 17.47 USD, lo que equivale a \$ 419.61 CUP. Mientras que el costo de la prueba biomarcador Ca 15-3 según la literatura consultada se encontró entre \$ 499-540 USD en laboratorios registrados y certificados fuera del país,¹⁵⁵ lo que representa \$ 12,960 CUP si el cambio de moneda se efectúa a \$ 1,00 USD por \$ 24,00 CUP.¹⁵⁶ El efecto económico del biomarcador LP sérica en relación con Ca 15-3 fue de \$ 12,540 CUP.

Tabla 16. Precio de la determinación de biomarcadores séricos para diagnóstico

Biomarcador	Precio de la prueba por paciente en USD	Precio de la prueba por paciente en CUP	Efecto económico del biomarcador LP sérica por paciente en CUP
Ca 15-3 +++	\$ 499*- 540*	\$12,960	\$12,540
Ca 27-29 ++	\$ 82	\$1,968	\$1548.39
CA 125 ++	\$ 18- 479*	\$11,496	\$11,076.39
CEA +	\$ 14- 399*	\$9,576	\$9,156.39
LP sérica ++++	\$ 17.47	\$419.61	-

de CM por cada paciente.

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor

Leyenda: Laboratorios ® (*) ; Precisión diagnóstica (+)

Los resultados sugieren que el empleo del biomarcador LP presenta un efecto económico favorable sobre el Sistema de Salud Cubano, puesto que el costo no supera el valor de \$ 420 CUP. Por otro lado, la realización del análisis por paciente con el biomarcador Ca 15-3 se encuentra entre 400-600 USD en laboratorios extranjeros lo cual resulta un gasto considerable si se tiene en cuenta la alta incidencia del CM.¹⁵⁵

Otros biomarcadores que se emplean en el estudio de la enfermedad como: Ca 27-29, CA 125 y CEA también resultan menos económicos que el biomarcador LP, puesto que el costo del análisis asciende a valores entre (80 – 400 USD).¹⁵⁵ Además, su sensibilidad es similar al biomarcador Ca 15-3.⁸⁷ Estos datos sugieren que el biomarcador en estudio es más económico que los disponibles en el mercado accesibles a Cuba.

El autor defiende el criterio de implementar el biomarcador LP sérica basado en el método pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano del CM , pues su efecto económico supera los 12, 000 CUP por paciente y resulta más preciso para esta indicación médica. Se debe señalar que el biomarcador en estudio brinda soberanía tecnológica lo que se traduce en mayor accesibilidad y asequibilidad social a la prueba.

En conjunto al efecto económico, el método presenta valor diagnóstico, lo cual se considera indispensable para su implementación en instituciones de salud cubanas. El índice de validez de la prueba fue de 72, 46 % con un intervalo de confianza entre 65,38-79,53 %. El valor predictivo positivo se encontró entre 59-79 % (Tabla 17).

Tabla 17. Validez del método pirogalol-salicilato para diagnóstico temprano de CM.

	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (%)	79,27	69,88	88,65
Especificidad (%)	65,88	55,22	76,55
Índice de validez (%)	72,46	65,38	79,53
Valor predictivo + (%)	69,15	59,28	79,02
Valor predictivo - (%)	76,71	66,33	87,09
Prevalencia (%)	49,10	41,22	56,98
Índice de Youden	0,45	0,32	0,59
Razón de verosimilitud +	2,32	1,69	3,19
Razón de verosimilitud -	0,31	0,20	0,49

El CM constituye un reto para la sociedad y los sistemas de salud, debido a su alta incidencia y efecto psicológico. Un criterio internacional consensuado es la falta de

infraestructuras, y recursos que condicionan un rezago en la detección temprana del CM.¹⁵⁷ De este modo los resultados que se reflejan (Tabla 18) contribuyen a la solución de la problemática que se analiza. Debe señalarse que el desarrollo de una prueba con un índice de validez adecuado, supone una alternativa más a la satisfacción de una necesidad social de salud, pues se diagnostican más individuos de manera oportuna.

La realización de la prueba no requiere de equipos y reactivos costosos lo cual permite que pueda efectuarse en la Atención Primaria de Salud (policlínicos), de modo que esta tecnología se acerca a la comunidad. En consecuencia se incrementaría el número de individuos estudiados con factores de riesgo o síntomas asociados al CM.

Desde la perspectiva psicológica, Thomas y Saborío¹⁵⁸ recalcan las consecuencias del diagnóstico y tratamiento tardío del CM que, incluye trastornos emocionales por la función del busto para la estética femenina, la función biológica durante la reproducción; así como los nocivos efectos en la vida sexual, familiar y social. De lo anterior se vislumbra la importancia de disponer de métodos para el diagnóstico oportuno de este flagelo social.

Por lo que, el autor asume que los resultados obtenidos (Tablas 16 y 17) tienen efectos sensibles no solo en la economía de los sistemas de salud sino también en el funcionamiento emocional de las familias afectadas por el CM. Un diagnóstico y tratamiento temprano resultan en consecuencias menos traumáticas que la mastectomía o la pérdida de un familiar. Desde otro punto de vista, la implementación del método pirogalol-salicilato humaniza el diagnóstico temprano

de pacientes con CM. Se debe señalar que, métodos como la biopsia y la mamografía resultan traumáticos para los pacientes desde la esfera psicológica ya que supone la exposición de zonas íntimas y traumas directos sobre las mamas.

11, 12

Rodríguez et al., ¹⁵⁹ plantean que existen determinantes sociales que pueden influir sobre la etiología y diagnóstico del CM. El bajo nivel adicional, adquisitivo (pobreza) se han asociado al diagnóstico y tratamiento tardío del CM. También las políticas de estado y la accesibilidad a los servicios de salud constituyen determinantes identificados. ¹⁵⁹ A criterio del autor, la presente investigación proporciona una prueba válida (tabla 17) para el estudio de los sujetos en estadios tempranos que al compararla con la disponible (Ca 15-3) resulta superior desde el punto de vista clínico y de asequibilidad social a este servicio de salud.

Luego del análisis crítico de esta investigación se evidenció no solo el enfoque social de la misma, sino también el encadenamiento y perfeccionamiento de procesos desde la universidad hacia la asistencia médica y viceversa. En consonancia con las políticas actuales del estado que fomentan la integración entre estos actores de la sociedad para satisfacer desde la ciencia e innovación las necesidades de la población según consideraciones de Triana et al., ¹⁶⁰

2.3.4 Conclusiones del capítulo

Los biomarcadores tumorales séricos disponibles para uso clínico resultan más eficaces para el seguimiento y pronóstico de la enfermedad que para diagnóstico temprano por lo que se precisa de nuevas alternativas. El método pirogalol-salicilato basado en el biomarcador lactoperoxidasa sérica mostró sensibilidad y

validez diagnóstica. La precisión clínica fue alta lo cual sugiere su posible utilidad clínica para el diagnóstico temprano de cáncer de mama. Los pacientes en estadios tempranos de la enfermedad registraron una media alta de actividad lactoperoxidasa en comparación con los sujetos sanos. Además, el método presenta efecto económico, social y psicológico para los pacientes.

3.CONCLUSIONES

3. Conclusiones

- ✓ El método pirogalol-salicilato permitió la determinación de la actividad lactoperoxidasa sérica de forma rápida y directa, de modo que esta última se convirtió en un biomarcador preciso para el diagnóstico temprano de pacientes con cáncer de mama.
- ✓ La actividad de la enzima lactoperoxidasa sérica presentó diferencias notables en sujetos con diagnóstico de cáncer de mama en comparación con los valores registrados en sujetos aparentemente sanos. Así pues, se evidenció una asociación de esta afección de salud con el aumento de la actividad sérica de la enzima y no así con su disminución.
- ✓ El método pirogalol-salicilato para el diagnóstico temprano de pacientes con cáncer de mama mostró precisión analítica y clínica adecuada. Desde una perspectiva más general, el costo de la prueba por sujeto fue bajo en comparación con otros biomarcadores empleados en Cuba, con un efecto social y psicológico positivo para los pacientes.

4.RECOMENDACIONES

4. Recomendaciones

- ✓ Fomentar el desarrollo de investigaciones donde se evalúe la efectividad diagnóstica del biomarcador lactoperoxidasa en combinación con otros biomarcadores tumorales séricos.
- ✓ Implementar el método del pirogallol-salicilato en la consulta de casos nuevos de mama del Hospital Provincial Docente Oncológico de Camagüey
- ✓ como un método complementario al examen físico para el diagnóstico temprano del cáncer de mama.

5.REFERENCIAS BIBLOGRÁFICAS

5. Referencias bibliográficas

1. Aguilar-Torres CR, Cisneros-Castolo M, Stener-Lechuga T, Pérez-Molina KF, Parra-Acosta H, Sáenz Cabrales IP, et al. Panorama actual del tamizaje para detección del cáncer de mama en el estado de Chihuahua, México. Ginecol Obstet Méx. 2021;89(2):91-99.
2. Marks MP. Células madre tumorales y reprogramación metabólica en cáncer de mama [tesis]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 2020. Disponible en:
https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n6767_Marks.pdf
3. Gil AB. Apoyo social percibido y calidad de vida en mujeres con cáncer de mama [tesis]. Mendoza: Pontificia Universidad Católica Argentina; 2022. Disponible en:
<https://repositorio.uca.edu.ar/bitstream/123456789/13728/1/apoyo-social-percibido-calidad.pdf>
4. Núñez Rivera A. CCMV y BMV como potenciales nanovehículos en tratamientos contra el cáncer de mama [tesis doctoral]. Baja California: Centro de Investigacion Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California; 2020. Disponible en:
https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3231/1/tesis%20Nu%c3%b1ez%20Rivera%20Alfredo_24_feb_2020.pdf
5. García Torralba E. Nuevos Factores Pronósticos y Predictores de Respuesta al Tratamiento Neoadyuvante en Cáncer de Mama: Estudio del Papel del Sistema Inmune con Biomarcadores Locales y Sistémicos [tesis doctoral].

Murcia: Universidad de Murcia; 2022. Disponible en:

<https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/122583/1/Tesis%20Doctoral%20-%20Esmeralda%20Garcia%CC%81a%20Torralba.pdf>

6. Picón Gómez KM. Características sociodemográficas de las mujeres con tumores malignos de mama y sus particularidades clínicas e histopatológicas en el Hospital Amazónico de Yarinacocha, 2017–2021 [tesis]. Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali; 2022. Disponible en:
http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/5864/B11_2022_UNU_MEDICINA_2022_T_KATHERINE_PICON_V1.pdf?sequence=1&isAllowed=y
7. García Montalva MS. Estrategia WarmiSALUD para enfrentar el incremento de casos de cáncer de cuello uterino y cáncer de mama en mujeres jóvenes y adultas en Lima Metropolitana [tesis master]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2021. Disponible en:
<https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/21304/GARCIA%20MONTALVA%20MARINA%20SUSANA%20ESTRATEGIA%20WARMISALUD.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. López Jurado CF. Estudio del impacto del cáncer de mama y su tratamiento en la calidad del sueño. Factores asociados y calidad de vida [tesis doctoral]. España: Universidad de Extremadura; 2022. Disponible en:
https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/14690/1/TDUEX_2022_Lopez_Jurado.pdf
9. Palmero Picazo J, Lassard Rosenthal J, Juárez Aguilar LA, Medina Núñez CA. Cáncer de mama: una visión general. Acta Med Grupo Ángeles [Internet].

2021 [citado 12 Feb 2024]; 19(3): 354-360. Disponible en:

<https://www.scielo.org.mx/pdf/amga/v19n3/1870-7203-amga-19-03-354.pdf>

10. Rodríguez Abrahantes TN, Fariña Díaz A, Sánchez Leiva Y, Jiménez Santana JR. Programa educativo sobre detección precoz del cáncer de mama en una población riesgo, enero-marzo 2020. I Simposio Virtual de Enfermería Oncológica 2021 [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=ria&uact=8&ved=2ahUKEwj1kcSP4eSEAxWjRjABHTURAwMQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Fenfoncologica2021.sld.cu%2Findex.php%2Fenfoncologica%2F2021%2Fpaper%2Fdownload%2F11%2F12&usq=AOvVaw3_eGiMSwmoal56WG8oq9qa&opi=89978449
11. Navarro Manzano E. Estudio de Biomarcadores Moleculares Implicados en el Desarrollo de Resistencia a Tratamiento en cáncer de mama[tesis doctoral]. Murcia: Universidad de Murcia; 2022. Disponible en:
<https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/122443/1/Tesis%20Doctoral%20-%20Esther%20Navarro%20Manzano.pdf>
12. Ojeda Delgado L, Rodríguez Pino MY, Valladares Valle M. Contribución de los estudios de imagen al diagnóstico de cáncer de mama. OncoCienfuegos [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en:
<https://oncocienfuegos2021.sld.cu/index.php/oncocfg/conferencias/paper/viewFile/203/75>
13. Cajal Campo B, Fernández García J, Riestra Merchán C, Rosa Toro H de la, González Cárdenas E, García–Melgares Hernández JC, et al. Biopsias

percutáneas de mama. SERAM [Internet]. 2022 [citado 12 Feb 2024]; 1(1).

Disponible en: [https://piper.espacio-](https://piper.espacio-seram.com/index.php/seram/article/view/9136)

[seram.com/index.php/seram/article/view/9136](https://piper.espacio-seram.com/index.php/seram/article/view/9136)

14. Burgués O, Terrádez L, Buch E, Martínez MT, Cejalvo JM, Bermejo B.

Tratamiento neoadyuvante en el cáncer de mama. El papel del patólogo.

Rev Senol Patolog Mamar [Internet]. 2022 Jul [citado 12 Feb 2024]; 35(2):

[aprox. 14 p.]. Disponible en: [https://www.elsevier.es/es-revista-revista-](https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-articulo-tratamiento-neoadyuvante-el-cancer-mama--S0214158222000743)

[senologia-patologia-mamaria--131-articulo-tratamiento-neoadyuvante-el-](https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-articulo-tratamiento-neoadyuvante-el-cancer-mama--S0214158222000743)

[cancer-mama--S0214158222000743](https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-articulo-tratamiento-neoadyuvante-el-cancer-mama--S0214158222000743)

15. Palazón Carrión N. Caracterización del perfil inmunitario en sangre periférica y

en tejido de carcinoma de mama con tratamiento neoadyuvante. Estudio de

su potencial papel pronóstico y predictivo de respuesta [tesis doctoral].

Sevilla: Universidad de Sevilla; 2020. Disponible en:

[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%2520Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AOvVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449)

[rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QA](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%2520Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AOvVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449)

[Q&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%2520Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AOvVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449)

[F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%252](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%2520Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AOvVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449)

[0Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AO](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%2520Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AOvVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449)

[vVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwispNbF6eSEAxXjTTABHcHSC3UQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Ffidus.us.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F11441%2F105497%2FPalaz%25C3%25B3n%2520Carri%25C3%25B3n%252C%2520Natalia%2520TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usq=AOvVaw0gEYGEh5KJR8LukrKdp80b&opi=89978449)

16. Leiva Suero LE, Carrero Castillo Y, Quishpe Jara GM, Villacis Valencia S,

Chicaiza Tayupanta JO, Arias tapia S. Biomarcadores tumorales

pronósticos de cáncer de mama: BAX y Bcl-2. Enfermería Investiga

[Internet]. 2022 Ene-Mar [citado 12 Feb 2024]; 7(1): [aprox. 12 p.].

Disponible en:

<https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/enfi/article/view/1475/1276>

17. Riverón-Carralero WJ, Rodríguez Escobar K, Ramírez Carralero M, Góngora-Gómez O, Molina Tamayo LE. Intervención educativa sobre cáncer de mama. Rev cuban med gen integr [Internet]. 2021 Ene-Mar [citado 12 Feb 2024]; 37(1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v37n1/1561-3038-mgi-37-01-e1354.pdf>
18. Cristales George SE. Recopilación de métodos de análisis oficiales y no oficiales más empleados para determinar fosfatasa alcalina y lactoperoxidasa en leche y quesos [tesis]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2009. Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2578/1/16101146.pdf>
19. Pruitt KM, Adamson M. Enzyme activity of salivary lactoperoxidase adsorbed to human enamel. Infect Immun [Internet]. 1977 Jul [citado 12 Feb 2024]; 17(1): [aprox. 4 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC421089/>
20. Brunet-Bernal G, Fernández-Torres S, Quintana-Verdecia E, Torres-Romo UR, Fernández –Franch N, Betancourt-Valladares M. Utilidad del método pirogalol salicilato en la identificación de lactoperoxidasa tiocianato salival. Arch méd Camagüey [Internet]. 2022 [citado 12 Feb 2024]; 26: e8376. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v26/1025-0255-amc-26-e8376.pdf>
21. Brunet Bernal G, Arenal Cruz A, Fuentes Díaz Z, Hernández Herrera L, Cadenas Freixas JL, et al. Asociación entre el diagnóstico de carcinoma

mamario y la actividad de la enzima lactoperoxidasa sérica. Rev cuban invest bioméd [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 42: [aprox. 12 p.].

Disponible en: <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/2594>

22. Guzmán V, Olivera-Angel M. Calostrogénesis, digestión y absorción del calostro [Internet]. Medellín: Fondo Editorial Biogénesis; 2020 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en:
- <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwie8r681-yEaXxBibAFHeh6DE8QFnoECA4QAQ&url=https%3A%2F%2Frevistas.udea.edu.co%2Findex.php%2Fbiogenesis%2Farticle%2Fdownload%2F342145%2F20802566%2F&usq=AOvVaw3BcPKvleo4NfLoT4zbp5fG&opi=89978449>

23. Arceo-Martínez MT, López-Meza JE, Ochoa-Zarzosa A, Palomera Sánchez Z. Estado actual del cáncer de mama en México: principales tipos y factores de riesgo. Gac Mex Oncol [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 20(3): [aprox. 9 p.]. Disponible en: https://www.gamo-smeo.com/files/es/gamo_21_20_3_101-110.pdf

24. García Pérez R, Llanes García L, Hernández Moreno VJ, Agüero Arboláez MC, Sánchez Hernández L, Aguado Besú Y. Carcinoma de mama triple negativo. Estudio anatómo-estadístico. Medicentro [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 27(1): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/3656/3024>

25. Gómez-Soler U, Hierrezuelo-Rojas N, Cordovi-Hierrezuelo M, Neira-Hierrezuelo N, Selva-Capdesuñer A. Pesquisa activa de cáncer de mama en mujeres de un Consultorio Médico de la Familia. Arch méd Camagüey [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 27: e9693. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjSjPKy3-yEAXGTTABHauRDeIQFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Frevistaamc.sld.cu%2Findex.php%2Famc%2Farticle%2Fdownload%2F9693%2F4761&uq=AOvVaw0uv-bUHIGVchC1SeKZ1-Wh&opi=89978449>
26. García-Valdés N, Casado-Méndez PR, Ricardo-Martínez D, Santos-Fonseca RS, Gonsalves-Monteiro A, Sambu Z. Prevalencia de complicaciones en pacientes mastectomizadas por cáncer de mama. Rev méd electrón [Internet]. 2023 Mar-Abr [citado 12 Feb 2024]; 45(2): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rme/v45n2/1684-1824-rme-45-02-250.pdf>
27. García Mejía AS, Zaporta Ramos JA, Quishpe Donoso PR, Zaporta Ramos AR. Revisión bibliográfica sobre cáncer de mama en adultos mayores. RECIMUNDO [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 7(3): [aprox. 10 p.]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjN8I3_4OyEAXW1lIQIHZdkD3cQFnoECBEQAQ&url=https%3A%2F%2Frecimundo.com%2Findex.php%2Fes%2Farticle

[%2Fdownload%2F2106%2F2647%2F&usq=AOvVaw2OqB31P7KsDH9AQ
DYF0xNK&opi=89978449](#)

28. Hanafi I, Alsalkini M, Husein S, Salamoon M. The delay of breast cancer diagnosis and management during the Syrian war. *Cancer Epidemiol* [Internet]. 2023 Feb [citado 12 Feb 2024]; 82: 102290. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36384074/>.
29. Zhang M, Mesurolle B, Theriault M, Meterissian S, Morris EA. Imaging of breast cancer—beyond the basics. *Current Problems in Cancer* [Internet]. 2023 Abr [citado 12 Feb 2024]; 47(2): 100967. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014702722300020X>
30. Ojeda Delgado L, Rodríguez Pino MY, Valladares Valle M, Díaz Yanes N. Contribución de los estudios por imágenes en el diagnóstico de cáncer de mama. *Rev Finlay* [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 11(4): 100967. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342021000400423
31. Jayasinghe R, Jayarajah U, Seneviratne SA. Circulating Biomarkers in the Management of Breast Cancer. *Biomarkers in Medicine*. 2022 Feb; 17: 133-149.
32. Silva González JL, Páez Cuba LD. La aplicación de medidas coercitivas unilaterales en contextos excepcionales: el caso del bloqueo económico, financiero y comercial hacia Cuba (Application of unilateral coercive measures in exceptional contexts: The case of the economic, financial and commercial blockade against Cuba). *Oñati Socio-Legal Series* [Internet].

2023 [citado 12 Feb 2024]; 13(2): [aprox. 7 p.]. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/366154805_La_aplicacion_de_medidas_coercitivas_unilaterales_en_contextos_excepcionales_El_caso_de_l_bloqueo_economico_financiero_y_comercial_hacia_Cuba/fulltext/63bc609bc3c99660ebdf5757/La-aplicacion-de-medidas-coercitivas-unilaterales-en-contextos-excepcionales-El-caso-del-bloqueo-economico-financiero-y-comercial-hacia-Cuba.pdf?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uliwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19

33. Ruiz-González L, Piñera-Castro H, Smith-Groba J. Impacto del bloqueo estadounidense sobre el sistema cubano de salud en la última década. Rev cuban med mil [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 52(1): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://dpsalud.ch.gob.cu/2023/02/03/impacto-del-bloqueo-estadounidense-sobre-el-sistema-cubano-de-salud-en-la-ultima-decada/>.
34. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. Anexo No 1. De las Buenas Practicas para Laboratorio de Control de Medicamentos. Validación de Métodos Analíticos [Internet]. La Habana: CECMED; 2018 [citado 10 Feb 2024]. 30 p. Disponible en: https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/validacion_de_metodos_analiticos.pdf

35. Oficina Nacional de Normalización. Dispositivos Médicos para Diagnósticos in Vitro- Estudios de Desempeño Clínico con Muestras de Seres Humanos – Buenas Prácticas de Estudio (ISO 20916: 2019, IDT). La Habana: NC; 2023.
36. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Anales de la Facultad de Medicina [Internet]. 2001 [citado 12 Feb 2024]; 62(1): [aprox. 3 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/379/37962112.pdf>
37. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Cuba. 2021 [Internet]. La Habana: Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2021 [citado 20 junio 2021]. Disponible en: <https://instituciones.sld.cu/fatesa/files/2022/11/Anuario-Estad%C3%ADstico-de-Salud-2021.-Ed-2022.pdf>
38. Rivera Ledesma E, Fornaris Hernández A, Mariño Membribes ER, Alfonso Díaz K, Ledesma Santiago RM, Abreu Carter IC. Factores de riesgo del cáncer de mama en un consultorio de la Atención Primaria de Salud. Rev habanera cienc méd [Internet]. 2019 Mar-Abr [citado 12 Feb 2024]; 18(2): [aprox. 3 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2019000200308
39. Peña Seguí M. En Camagüey alta incidencia del cáncer de mama. Adelante [Internet]. 2024 Oct 18 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en:

<https://www.adelante.cu/index.php/es/noticias/de-camagueey/15019-en-camagueey-alta-incidencia-del-cancer-de-mama-audio>

40. Torres-Agüero NC, López Catá FJ, Paz Loret de Mola EJ de la, Agüero Betancourt CM. Intervención educativa sobre factores de riesgo del cáncer de mama en mujeres de 20 a 40 años. Rev cien méd Pinar Rio [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 17(1): [aprox. 12 p.] Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/6382/638266620001/html/>.
41. Oliveira MEC de, Oliveira TA de, Melo Santos TT de, Santos Andrade LS dos, Weller M. Atraso na primeira consulta após percepção dos sinais/sintomas de câncer de mama. Rev fam Cic Vid Sau Cont Soc [Internet]. 2020 [citado 12 Feb 2024]; 8(4): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/4979/497966365001/movil/>.
42. Perea Hevia L, Pairol Ramos D, Trujillo Ricaño M, Perea Ruiz CA. Linfoma primario no Hodgkin de mama. Rev cuban med gen integr [Internet]. 2021 Abr-Jun [citado 12 Feb 2024]; 37(2): [aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252021000200019
43. García-Pérez R, Llanes-García L, Alfonso-González CP, Agüero Arboláez MC, Cabrera-Evin JC, Navarro-López E. Carcinoma mamario RH negativo en el Hospital Clínico Quirúrgico Docente Celestino Hernández Robau. Arch méd Camagüey [Internet]. 2022 [citado 12 Feb 2024]; 26: e8689. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1403305>

44. Ministerio de Salud Pública. Informe del Ministerio de Salud Pública sobre el bloqueo económico, comercial y financiero, impuesto a Cuba por los Estados Unidos de América. INFODIR [Internet]. 2019 Ene-Jun [citado 12 Feb 2024]; 28: [aprox. 21 p.]. Disponible en:
<https://revinfodir.sld.cu/index.php/infodir/article/view/634/724>
45. Puerta Tole S. Análisis estadístico para la toma de decisiones de pacientes con cáncer de mama [tesis máster]. Valencia: Universitat Politècnica de Valencia; 2022. Disponible en:
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/188448/Puerta%20-%20Analisis%20estadistico%20para%20la%20toma%20de%20decisiones%20de%20pacientes%20con%20cancer%20de%20mama.pdf?sequence=1>
46. Paredes Tirado JL. Nivel de conocimiento y práctica de autoexamen de mama. Mujeres atendidas en consultorio de planificación familiar. Centro de Salud Tulpuna. Cajamarca, 2021 [tesis]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca; 2021. Disponible en:
<https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/4692/INFORME%20FINAL%20DE%20TESIS%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
47. Osorio Bazar N, Bello Hernández C, Vega Bazar L. Factores de riesgo asociados al cáncer de mama. Rev cuban med gen integr [Internet]. 2020 [citado 12 Feb 2024]; 36(2): e1147. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-21252020000200009

48. Argacha Junyent P De. Cirugía ecoguiada en cáncer de mama comparada con la técnica Roll [tesis doctoral]. Barcelona: Universitat Internacional de Catalunya; 2021. Disponible en:
<https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/672789/Tesis%20Paula%20de%20Argacha.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
49. Table Batista RM, Escobar Reyes L, Sánchez Alarcón L, Gómez Vázquez FM, Martínez Regalado OL. Epidemiological and clinical-therapeutic characterization of women with breast cancer in the urban área of Bayamo. Multimed. 2022 Feb; 26(1): 23-31.
50. Paternina Melendrez FA. Calidad en el proceso de diagnóstico a mujeres con cáncer de seno en hospitales y clínicas de países iberoamericanos: revisión de la literatura en el periodo comprendido entre 2010-2020 [tesis]. Antioquia: Universidad de Antioquia; 2022. Disponible en:
https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/32099/3/FranciscoPaternina_2022_CancerSenolberoamerica.pdf
51. Rodríguez-Esquivel M, Mendoza-Rodríguez MG, Hernández-Quijano T, Apresa-García T, López–Romero R, Hernández Santiago R, et al. La innovación sensorial para detección no invasiva del cáncer de mama. Rev Méd Instit Mex Seg Soc [Internet]. 2020 [citado 12 Feb 2024]; 58(Suppl 1): [aprox. 11 p.]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/journal/4577/457769373013/html/>.

52. Álvarez Cáceres R. Estadística aplicada a las ciencias de la salud [Internet]. España: Díaz de Santos; 2007 [citado 12 Feb 2024]. 778 p. Disponible en: <https://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788230.pdf>
53. Centro Nacional de Metrología. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico [Internet]. México, DF: CNM; 2008 [citado 12 Feb 2024]. 47 p. Disponible en: <https://www.qualitat.cc/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/CENAM.EMA.Validacion-verificacion.pdf>
54. Jain KK. The Handbook of Biomarkers [Internet]. Switzerland: Springer Science Business Media; 2010 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: <https://content.e-bookshelf.de/media/reading/L-7356-f64764e1ea.pdf>
55. Diamandis EP. Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications. Washington, DC: AACC; 2002.
56. Serna A, Quintela D. Los biomarcadores diagnósticos y pronósticos del cáncer de mama. Rev Sen Patol Mamar [Internet]. 1999 Jul [citado 12 Feb 2024]; 12(3): [aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-articulo-los-biomarcadores-diagnosticos-pronosticos-del-13007591>
57. Ortiz Otero AB. Análisis de biomarcadores en el carcinoma de mama: Expresión inmunohistoquímica y valor pronóstico [tesis]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2014. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=43251>

58. Núñez M. Evaluación de las técnicas diagnósticas: Análisis estadístico [Internet]. Montevideo: Escuela Universitaria de Tecnología Médica UdelaR; 2008 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: <https://docplayer.es/12000294-Evaluacion-de-las-tecnicas-diagnosticas-analisis-estadistico-margarita-nunez.html>
59. Chernick MR, Friis RH. Introductory Biostatistics for the Health Sciences: Modern Applications Including Bootstrap [Internet]. New Jersey: John Wiley & Sons; 2003 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: https://cdn.preterhuman.net/texts/science_and_technology/nature_and_biology/Mathematical_Biology/Biostatistics/Introductory%20Biostatistics%20for%20the%20Health%20Sciences%20Modern%20Applications%20Including%20Bootstrap%20-%20Michael%20R.%20Chernick,%20Robert%20H.%20Friis.pdf
60. Torregroza-Diazgranados EJ. Pruebas diagnósticas: Fundamentos de los estudios diagnósticos, evaluación de la validez e interpretación clínica de sus resultados. Rev colomb cir [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 36(2): [aprox. 12 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-75822021000200193
61. Casaubon JT, Kashyap S, Regan JP. BRCA1 and BRCA2 Mutations [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jul [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470239/>.

62. Cao A, Huang L, Shao Z. The Preventive Intervention of Hereditary Breast Cancer. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2017 [citado 12 Feb 2024]; 1026: [aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29282679/>.
63. Talhouet S De, Peron J, Vuilleumier A, Friedlaender A, Viassolo V, Ayme A, et al. Clinical outcome of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations according to molecular subtypes. *Scient reports* [Internet]. 2020 [citado 12 Feb 2024]; 10: 7073. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-63759-1>
64. Gorodetska I, Kozeretska I, Dubrovskaya A. BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance. *J Cancer* [Internet]. 2019 [citado 12 Feb 2024]; 10(9): [aprox. 18 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6548160/>.
65. Castellanos G, Valbuena DS, Pérez E, Villegas VE, Rondón-Lagos M. Chromosomal Instability as Enabling Feature and Central Hallmark of Breast Cancer. *Breast Can Targ Ther* [Internet]. 2023 Mar [citado 12 Feb 2024]; 15: [aprox. 22 p.]. Disponible en: <https://www.dovepress.com/chromosomal-instability-as-enabling-feature-and-central-hallmark-of-br-peer-reviewed-fulltext-article-BCTT>
66. Opacka A, Żuryń A, Krajewski A, Mikołajczyk K. The role of cyclin Y in normal and pathological cells. *Cell Cycle* [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 22(8): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10054165/>.

67. Ortiz AB, García D, Vicente Y, Palka M, Bellas C, Martin P. Prognostic significance of cyclin D1 protein expression and gene amplification in invasive breast carcinoma. PloS One [Internet]. 2017 [citado 12 Feb 2024]; 12(11): e0188068. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5687747/>.
68. Joe AK, Memeo L, Mckoy J, Mansukhani M, Liu H, Avila-Bront A, et al. Cyclin D1 overexpression is associated with estrogen receptor expression in Caucasian but not African-American breast cancer. Anticancer Res [Internet]. 2005 Ene-Feb [citado 12 Feb 2024]; 25(1A): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15816548/>.
69. Rutkovsky AC. Implications for the 8p12-11 Genomic Locus in Breast Cancer Diagnostics and Therapy: Eukaryotic Initiation Factor 4E-Binding Protein, EIF4EBP1, as an Oncogene. MUSC Theses and Dissertations [Internet]. 2018 [citado 12 Feb 2024]; 295: [aprox. 7 p.]. Disponible en: <https://medica-musc.researchcommons.org/cgi/viewcontent.cgi?article=1295&context=theses>
70. Kaufman NEM, Dhingra S, Jois SD, Vicente MCH. Molecular Targeting of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGFR). Molecules [Internet]. 2021 Feb [citado 12 Feb 2024]; 26(4): 1076. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/349429753_Molecular_Targeting_of_Epidermal_Growth_Factor_Receptor_EGFR_and_Vascular_Endotheli

al Growth Factor Receptor VEGFR/fulltext/602fb3274585158939b4f6a3/Molecular-Targeting-of-Epidermal-Growth-Factor-Receptor-EGFR-and-Vascular-Endothelial-Growth-Factor-Receptor-VEGFR.pdf

71. Wang Y, Zhang Y, Chen R, Tian X. Autocrine EGF and TGF- α promote primary and acquired resistance to ALK/c-Met kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *Pharmacol Res Perspect* [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 11: e01047. Disponible en: https://www.researchgate.net/journal/Pharmacology-Research-Perspectives-2052-1707/publication/366700678_Autocrine_EGF_and_TGF-a_promote_primary_and_acquired_resistance_to_ALKc-Met_kinase_inhibitors_in_non-small-cell_lung_cancer/links/64dd17dfad846e28829666b7/Autocrine-EGF-and-TGF-a-promote-primary-and-acquired-resistance-to-ALK-c-Met-kinase-inhibitors-in-non-small-cell-lung-cancer.pdf
72. Martin TA, Ye L, Sanders AJ, Lane J, Jiang WG. Cancer Invasion and Metastasis: Molecular and Cellular Perspective. En: Jandial R. *Metastatic Cancer: clinical and biological perspectives* [Internet]. Austin, Texas: Madame Curie Bioscience Database; 2013 [citado 12 Feb 2024]. 290 p. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK164700/>
73. Tsegaye S, Mehdi M, Labisso WL, Melka DS. Cysteine Cathepsins and Matrix Metalloproteases Among Breast Cancer Patients. *Breast Cancer* [Internet].

2021 May [citado 12 Feb 2024]; 13: [aprox. 12 p.]. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33994807/>.

74. Furrer D, Paquet C, Jacob S, Diorio C. The Human Epidermal Growth Factor

Receptor 2 (HER2) as a Prognostic and Predictive Biomarker: Molecular

Insights into HER2 Activation and Diagnostic Implications. En: Lemamy

GJ. Cancer Prognosis. Chapter 2 [Internet]. London: IntechOpen; 2018

[citado 12 Feb 2024]. 11-31 p. Disponible en:

<https://www.researchgate.net/publication/329426264> The Human Epider

mal Growth Factor Receptor 2 HER2 as a Prognostic and Predictive

Biomarker Molecular Insights into HER2 Activation and Diagnostic I

mplications/fulltext/5c080b9ca6fdcc494fdc96c1/The-Human-Epidermal-

Growth-Factor-Receptor-2-HER2-as-a-Prognostic-and-Predictive-

Biomarker-Molecular-Insights-into-HER2-Activation-and-Diagnostic-

Implications.pdf? tp=eyJjb250ZXh0lp7lmZpcnN0UGFnZSI6lnB1YmxpY2

F0aW9uliwicGFnZSI6lnB1YmxpY2F0aW9uIn19

75. Iqbal N, Iqbal N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in

Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. Mol Biol Int

[Internet]. 2014 [citado 12 feb 2024]; 2014: 852748. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4170925/>.

76. Imami K, Sugiyama N, Imamura H, Wakabayashi M, Tomita M, Taniguchi M, et

al. Temporal Profiling of Lapatinib-suppressed Phosphorylation Signals in

EGFR/HER2 Pathways. Mol Cell Proteomics [Internet]. 2012 Dic [citado 12

Feb 2024]; 11(12): [aprox. 16 p.]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3518135/>.

77. Castro-Guijarro AC, Sánchez AM, Flamini MI. Potential Biomarkers Associated with Prognosis and Trastuzumab Response in HER2+ Breast Cancer.

Cancers [Internet]. 2023 Sep [citado 12 Feb 2024]; 15(17): 4374.

Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10486824/>.

78. Marchiò C, Annaratone L, Marques A, Casorzo L, Berrino E, Sapino A.

Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity,

HER2-low carcinomas and beyond. Sem Can Biol [Internet]. 2021 Jul

[citado 12 Feb 2024]; 72: [aprox. 12 p.]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044579X20300493>

79. Borrero LJH, El-Deiry WS. Tumor Suppressor p53: Biology, Signaling Pathways, and Therapeutic Targeting. Biochim Biophys Acta Rev Cancer [Internet].

2021 Ago [citado 12 Feb 2024]; 1876(1): 188556. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8730328/>.

80. Marei HE, Althani A, Afifi N, Hasan A, Caceci T, Pozzoli G, et al. p53 signaling in cancer progression and therapy. Cancer Cell Int [Internet]. 2021 [citado

12 Feb 2024]; 21: [aprox. 15 p.]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8709944/>.

81. Finkelman BS, Zhang H, Hicks DG, Turner BM. The Evolution of Ki-67 and Breast Carcinoma: Past Observations, Present Directions, and Future

Considerations. Cancers [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 15: [aprox.

808 p.]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/journal/Cancers->

[2072-6694/publication/367553301](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2072-6694/publication/367553301) The Evolution of Ki-67 and Breast Carcinoma Past Observations Present Directions and Future Considerations/[links/657348b1cbd2c535ea095761/The-Evolution-of-Ki-67-and-Breast-Carcinoma-Past-Observations-Present-Directions-and-Future-Considerations.pdf](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/657348b1cbd2c535ea095761/The-Evolution-of-Ki-67-and-Breast-Carcinoma-Past-Observations-Present-Directions-and-Future-Considerations.pdf)

82. Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, Hayes MM, Gelmon KA. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. Lancet Oncol [Internet]. 2010 Feb [citado 12 Feb 2024]; 11(2): [aprox. 9 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20152769/>.
83. Xu M, Tang Q, Li M, Liu F. An analysis of Ki-67 expression in stage 1 invasive ductal breast carcinoma using apparent diffusion coefficient histograms. Quant Imaging Med Surg [Internet]. 2021 Abr [citado 12 Feb 2024]; 11(4): [aprox. 23 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7930667/>.
84. Nair MG, Prabhu JS, Sidhar TS. High expression of ACE2 in HER2 subtype of breast cancer is a marker of poor prognosis. Cancer Treat Res Commun [Internet]. 2021 [citado]; 27: 100321. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7825889/>.
85. Ghosh SK, Pantazopoulos P, Medarova Z, Moore A. Expression of underglycosylated MUC1 antigen in cancerous and adjacent normal breast tissues. Clin Breast Cancer [Internet]. 2013 Abr [citado 12 Feb 2024]; 13(2): [aprox. 9 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3578066/>.

86. Brayman M, Thathiah A, Carson DD. MUC1: a multifunctional cell surface component of reproductive tissue epithelia. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2004 [citado 12 Feb 2024]; 2: [aprox. 4 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC320498/>.
87. Bonilla-Sepúlveda ÓA. Biomarcadores tumorales en cáncer de mama. Revisión sistemática. *Ginecol Obstet Méx* [Internet]. 2020 [citado]; 88(12): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.mediagraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2020/gom2012f.pdf>
88. Kabel AM. Tumor markers of breast cancer: New perspectives. *J Oncol Sciences* [Internet]. 2017 Abr [citado 12 Feb 2024]; 3(1): [aprox. 6 p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452336416300395>
89. Martín Suárez A, Alonso Díaz L, Ordiz Álvarez I, Vázquez J, Vizoso Piñeiro F. Utilidad clínica de los biomarcadores tumorales séricos. *Aten Primaria* [Internet]. 2003 Sep [citado 12 Feb 2024]; 32(4): [aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-utilidad-clinica-biomarcadores-tumorales-sericos-13051017>
90. Uygur MM, Gümüş M. The utility of serum tumor markers CEA and CA 15–3 for breast cancer prognosis and their association with clinicopathological parameters. *Cancer Treat Research Commun* [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 28: 100402. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468294221001003>

91. Sadeghi M, Sadeghi S, Naghib SM, Garshasbi HR. A Comprehensive Review on Electrochemical Nano Biosensors for Precise Detection of Blood-Based Oncomarkers in Breast Cancer. *Biosensors* [Internet]. 2023 [citado 12 Feb 2024]; 13(4): 481. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6374/13/4/481>
92. Ribeiro JA, Sales MGF, Pereira CM. Electrochemistry-Assisted Surface Plasmon Resonance Biosensor for Detection of CA 15–3. *Anal Chem*. 2021 Jun; 93(22): 7815-7824.
93. Rebelo TSGR, Ribeiro JA, Sales MGF, Pereira CM. Electrochemical immunosensor for detection of CA 15-3 biomarker in point-of-care. *Sensing and Bio-Sensing Research* [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 33: 100445. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Jose-Ribeiro-40/publication/353596612_Electrochemical_immunosensor_for_detection_of_CA_15-3_biomarker_in_point-of-care/links/6110dfdb0c2bfa282a2f9097/Electrochemical-immunosensor-for-detection-of-CA-15-3-biomarker-in-point-of-care.pdf
94. Mann RM, Athanasiou A, Baltzer PAT, Camp-Herrero J, Clauser P, Fallenberg EM, et al. Breast cancer screening in women with extremely dense breasts recommendations of the European Society of Breast Imaging (EUSOBI). *Eur Radiol* [Internet]. 2022 [citado 12 Feb 2024]; 32(6): 4036-4045. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9122856/>
95. Bick U, Helbich TH. Follow-Up of Patients with Breast Cancer: Imaging of local Recurrence and Distant Metastases. In: Bick U, Helbich TH, editors.

Diseases of the Chest, Breast, Heart and Vessels 2019-2022: Diagnostic and Interventional Imaging [Internet]. Cham (CH): Springer; 2019 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553861/>.

96. Shawky AM, El-Tohamy M. Signal amplification strategy of label-free ultrasensitive electrochemical immunosensor based ternary Ag/TiO₂/rGO nanocomposites for detecting breast cancer biomarker CA 15-3. Mater Chem Phys. 2021; 272: 124983.
97. Téllez-Ávila FI, García-Osogobio SM. El antígeno carcinoembrionario: a propósito de un viejo conocido. Rev invest clín [Internet]. 2005 Nov-Dic [citado 12 Feb 2024]; 57(6): 814-819. Disponible en:
<https://www.scielo.org.mx/pdf/ric/v57n6/v57n6a7.pdf>
98. Kankanala VL, Mukkamalla SKR. Carcinoembryonic Antigen [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK578172/>.
99. Rosero Ordoñez AK, Pincay Francis AA, Solorzano Holguín LS, Castro Jalca AD. Cáncer de Mama: Prevalencia, Factores de Riesgo y Métodos Diagnósticos. Higia de la Salud [Internet]. 2022 Jul-Dic [citado 12 Feb 2024]; 7(2): 12-31. Disponible en:
<https://revistas.itsup.edu.ec/index.php/Higia/article/view/729/1486>
100. Coronato S, Laguens GE, Spinelli OM, Di Girolamo W. Biomarcadores tumorales en cancer de mama. Medicina [Internet]. 2002 [citado 12 Feb 2024]; 62: [aprox. 9 p.]. Disponible en:

<https://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol62-02/1/cancermama.htm>

101. Xiong X, Zhang Y, Wang Y, Sha H, Jia N. One-step electrochemiluminescence immunoassay for breast cancer biomarker CA 15-3 based on Ru (bpy) 62+-coated UiO-66-NH₂ metal-organic framework. *Sensors and Actuators B: Chemical* [Internet]. 2019 Oct [citado 12 Feb 2024]; 297: 126812. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925400519310123>
102. Hammarström S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 1999 Abr [citado 12 Feb 2024]; 9(2): [aprox. 5 p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X98901195>
103. Akverdi B, Erbaş O. Tumor markers and clinical use. *D J Tx Sci* [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 6(1-2): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjtwEHovvGEAxWKQTABHb-UBDIQFnoECBIQAQ&url=https%3A%2F%2Fjournaltxdbu.com%2Ffull-text-pdf%2F53&usq=AOvVaw1VGe6KW-XY4xcgPqPWkcg6&opi=89978449>

104. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, Aft R, Agnese D, Allison KH, et al. NCCN Guidelines® Insights: Breast Cancer, Version 4. 2021: Featured updates to the NCCN guidelines. J Natl Compr Canc Netw. 2021; 19(5): 484-493.
105. Palacin Forgue A. Detección inmunohistoquímica (IHQ) de biomarcadores tumorales (MT). Revista de la Real Academia de Medicina de Barcelona [Internet]. 1986 [citado 12 Feb 2024]; 1(3): 11-23. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjR4sr19POEAXUamYQIHbrGCe84ChAWegQICRAB&url=https%3A%2F%2Fraci.cat%2Findex.php%2FRevistaRAMB%2Farticle%2FviewFile%2F70193%2F90266&usq=AOvVaw0NeYOosik4Lps-yZHyfuEz&opi=89978449>
106. Zhao W, Li X, Wang W, Chen B, Wang L, Zhang N, et al. Association of Preoperative Serum Levels of CEA and CA15-3 with Molecular Subtypes of Breast Cancer. Dis Markers [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 2021: 5529106. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8492280/>.
107. Bafort F, Parisi O, Perraudin JP, Jijakli MH. Mode of Action of Lactoperoxidase as Related to Its Antimicrobial Activity: A Review. Enzyme Res [Internet]. 2014 [citado 12 Feb 2024]; 2014: 517164. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4182067/>.
108. Ficha de Datos de Seguridad conforme al Reglamento (CE) no 1907/2006 (REACH). Pirogalol ≥ 98 %, *para síntesis*. número de artículo: 3963

[Internet]. Barcelona: ROTH; 2019 [citado]. 17 p. Disponible en:
<file:///D:/LEYDIS%20REFERENCIA/REV%20GERAR/Referencias%20tesis%20de%20doctorado%20Gerardo/PIROGALOL/Pirogalol%20caracteristicas.pdf>

109. García Morales OH, Pereira Roche N, Flores Sánchez RM. Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: mieloperoxidasa. Rev cuba invest bioméd [Internet]. 1998 [citado 12 Feb 2024]; 17(3): 190-7. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v17n3/ibi02398.pdf>
110. Nourazarian AR, Kangari P, Salmaninejad A. Roles of Oxidative Stress in the Development and Progression of Breast Cancer. Asian Pac J Cancer Prev [Internet]. 2014 [citado 12 Feb 2024]; 15(12): [aprox. 6 p.]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Alireza-Nourazarian/publication/263713960_Roles_of_Oxidative_Stress_in_the_Development_and_Progression_of_Breast_Cancer/links/651fa3adfc5c2a0c3bb86650/Roles-of-Oxidative-Stress-in-the-Development-and-Progression-of-Breast-Cancer.pdf
111. Copeland RA. Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis. 2da ed. New York: Wiley-VCH; 2000.
112. Maisincho Asqui MP, Delgado Demera MH, Cedeño Palacios CA. Modelos Matemáticos en la cinética enzimática. Una revisión. Centro Azúcar [Internet]. 2022 Ene-Mar [citado 12 Feb 2024]; 49(1): [aprox. 15 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/caz/v49n1/2223-4861-caz-49-01-115.pdf>

113. Figueroa OA, Peñaloza SP, Mejía EE, Zapata JE. Efecto de la relación enzima-sustrato en la hidrólisis enzimática de lactosuero bovino por Alcalasa® 2.4 L. Información Tecnológica [Internet]. 2020 [citado 12 Feb 2024]; 31(3): [aprox. 9 p.]. Disponible en:
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v31n3/0718-0764-infotec-31-03-3.pdf>
114. Ruiz Moré AA, González Méndez L, Carvajal Ciomina E, Armas Fernández I De, Valdés Utrera JR, Machín Parapar E. Estimación de valores de referencia de la enzima mieloperoxidasa: biomarcador de deterioro clínico en pacientes con COVID-19. Acta médica del centro [Internet]. 2022 Oct-Dic [citado 12 Feb 2024]; 16(4): [aprox. 10 p.]. Disponible en:
<http://scielo.sld.cu/pdf/amdc/v16n4/2709-7927-amdc-16-04-614.pdf>
115. Lavin Palmieri M. Actividad de lipasa de lipoproteínas: aplicación de un método al tejido cerebral. Rev cuban med [Internet]. 1985 Mar [citado 12 Feb 2024]; 24: [aprox. 6 p.]. Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjxh9S4_OEAxXfsoQIHTKmDdYQFnoECBIQAQ&url=https%3A%2F%2Frevmedicina.sld.cu%2Findex.php%2Fmed%2Farticle%2Fdownload%2F2147%2F1746&usq=AOvVaw0J21URQQNrVI7ak8djNgg5&opi=89978449
116. Lavin Palmieri M, Sánchez Serrano D. Un método para la determinación de lipasa lipoproteínica en corazón y tejido adiposo epididimal. Rev cuban med [Internet]. 1982 [citado 12 Feb 2024]; 21(Suppl): [aprox. 10 p.].

Disponible en:

<https://revmedicina.sld.cu/index.php/med/article/view/1883/1497>

117. Barengo MP, Amerio NS, Bich GA, Castrillo ML, Zapata PD.

Estandarización del método cuantitativo de azocaseína para determinar la actividad proteolítica en sobrenadantes fúngicos de Escovopsis y

Trichoderma. Biotechnol Aplic [Internet]. 2020 [citado 12 Feb 2024];

37(2): [aprox. 12 p.]. Disponible en:

[https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/143769/CONICET_Digital_Nro.3cba129f-a0e2-4466-b513-](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/143769/CONICET_Digital_Nro.3cba129f-a0e2-4466-b513-5966f86ed730_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

[al_Nro.3cba129f-a0e2-4466-b513-](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/143769/CONICET_Digital_Nro.3cba129f-a0e2-4466-b513-5966f86ed730_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

[5966f86ed730_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/143769/CONICET_Digital_Nro.3cba129f-a0e2-4466-b513-5966f86ed730_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

118. Aban Aramayo EA. Validación del método analítico por cromatografía

líquida de alta resolución para la cuantificación de conservantes en jugo de naranja [tesis]. La Paz: Universidad Mayor de San Andrés; 2018.

Disponible en:

[https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/19752/TM-](https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/19752/TM-1944.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[1944.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/19752/TM-1944.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

119. Pancham YP, Girish B, Sanjay SS. UV-Spectrophotometric method for

quantification of ascorbic acid in bulk powder. Pharm Innov J [Internet].

2020 [citado 12 Feb 2024]; 9(5): [aprox. 4 p.]. Disponible en:

[https://www.thepharmajournal.com/archives/2020/vol9issue5/PartA/8-6-](https://www.thepharmajournal.com/archives/2020/vol9issue5/PartA/8-6-15-737.pdf)

[15-737.pdf](https://www.thepharmajournal.com/archives/2020/vol9issue5/PartA/8-6-15-737.pdf)

120. Raposo F, Ibelli-Bianco C. Performance parameters for analytical method

validation: Controversies and discrepancies among numerous

guidelines. TrAC [Internet]. 2020 Ago [citado 12 Feb 2024]; 129:

115913. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993620301424>

121. Abdel-Lateef MA, Almahri A, Alzahrani E, Pashameah RA, Abu-Hassan AA, El Hamd MA. Sustainable PVP-Capped Silver Nanoparticles as a Free-Standing Nanozyme Sensor for Visual and Spectrophotometric Detection of Hg²⁺ in Water Samples: A Green Analytical Method. Chemosensors [Internet]. 2022 [citado 12 Feb 2024]; 10(9): 358. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-9040/10/9/358>
122. Castro Alvildo ET, Bazán Díaz VM. Validación y estimación de la incertidumbre del método enzimático GOD-PAP, para la determinación de glucosa en suero humano [tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2023. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/259579e2-18b9-42e0-b5df-0390cba7b833/content>
123. Olmedo L, Henning MF, Pappalardo B, García SM, Pellon Maison M. Validación de un método enzimático-colorimétrico para la determinación de fructosa en refrescos comerciales. Rev Esp Nutr Hum Diet [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 25(1): [aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.renhyd.org/renhyd/article/view/1087/641>
124. Carrión Domínguez IR, García Borges L, Suarez Pérez YS, Rodríguez Fernández B, Aja Masa G. Validación del método enzimático para la

determinación de creatinina en suero y orina. Rev cuba farm [Internet]. 2015 Oct-Dic [citado 12 Feb 2024]; 49(4): [aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v49n4/far03415.pdf>

125. Daniel WW. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud [Internet]. México, DF: Limusa Noriega; 2019 [citado 12 Feb 2024]. 667 p. Disponible en: <https://www.estadisticaparalainvestigacion.com/wp-content/uploads/2019/03/Bioestad%C3%ADstica-de-Daniel-Wayne.pdf>
126. Cruz Vadell H, Cala Calviño L, Ramos Hernández L, Roque Rodríguez C. Evaluación del desempeño de los métodos analíticos para el estado redox extracelular en suero humano. Rev cuba farm [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]; 54(3): e630. Disponible en: <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/630/422>
127. Fernández A, González F, Castillo J, Vitta Y, Briceño A. Aplicaciones de un Analizador Colorimétrico de Placas de ELISA Basado en Detección con Webcam A la Determinación de Glucosa en Plasma Sanguíneo. Bistua [Internet]. 2009 [citado 12 Feb 2024]; 7(1): [aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/4059/1/yosmeri%20bistua%202.pdf>
128. Guía de Validación de Métodos Analíticos [Internet]. México: Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos; 2023 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: https://www.academia.edu/7278632/GU%C3%8DA_DE_VALIDACI%C3%93N_DE_M%C3%89TODOS_ANAL%C3%8DTICOS?uc-g-sw=8892490

129. Aguilera C. Implementación de Herramientas Estadísticas para Evaluar la Incertidumbre de los Instrumentos de Medición del Laboratorio de Análisis Instrumental bajo los Lineamientos de la Norma Internacional ISO/IEC 17025. I Congreso Metodología de Investigación para la Ciencia Tecnología e Innovación [Internet]. 2021 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: <https://revista-avante.com/index.php/inicio/article/view/64/56>
130. Shuttleworth M. Explorable.com [Internet]. 2024 Mar [citado 12 Feb 2024]. Reproducibilidad. Disponible en: <https://explorable.com/es/reproducibilidad>
131. Pardo A, Garrido J, Ruiz MÁ, San Martín R. La interacción entre factores en el análisis de varianza: errores de interpretación. Psicothema [Internet]. 2007 [citado 12 Feb 2024]; 19(2): [aprox. 7 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/727/72719224.pdf>
132. Janczyk M, Pfister R. Factorial Analysis of Variance (ANOVA). In: Understanding Inferential Statistics: From A for Significance Test to Z for Confidence Interval [Internet]. Berlin: Springer; 2023 [citado 12 Feb 2024]. Disponible en: [https://books.google.com.cu/books?id=wwjfEAAQBAJ&pg=PA126&lpg=PA126&dq=Janczyk+M+and+Pfister+R.+Factorial+Analysis+of+Variance+\(ANOVA\).+Understanding+Inferential+Statistics:+From+A+for+Significance+Test+to+Z+for&source=bl&ots=EHICQdg60-&sig=ACfU3U2EThVPxDvjLAY4QxN9Pk7SUziprg&hl=es-](https://books.google.com.cu/books?id=wwjfEAAQBAJ&pg=PA126&lpg=PA126&dq=Janczyk+M+and+Pfister+R.+Factorial+Analysis+of+Variance+(ANOVA).+Understanding+Inferential+Statistics:+From+A+for+Significance+Test+to+Z+for&source=bl&ots=EHICQdg60-&sig=ACfU3U2EThVPxDvjLAY4QxN9Pk7SUziprg&hl=es-)

419&sa=X&ved=2ahUKEwj2-TNwvSEAxX3SDABHWD6BF8Q6AF6BAgaEAM#v=onepage&q=Janczyk%20M%20and%20Pfister%20R.%20Factorial%20Analysis%20of%20Variance%20(ANOVA).%20Understanding%20Inferential%20Statistics%3A%20From%20A%20for%20Significance%20Test%20to%20Z%20for&f=false

133. Dugard P, Todman J, Staines H. Approaching multivariate analysis. A practical introduction. 2da ed. New York: Routledge; 2010.
134. Severino G, Julin H, Cassano P, Aprea P. Estandarización de un método para la identificación y determinación de contenido antigénico en vacunas contra la hepatitis B mediante el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA). Ciencia Reguladora [Internet]. 2020 Abr [citado 12 Feb 2024]; 6: 5-12. Disponible en:
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/estandarizacion_de_un_metodo_cr6.pdf
135. Quagliano M, Pagura J, Dianda D, et al. Estudio de sistemas de medida con ensayos destructivos: Una aplicación sobre tiempos de producción. Rev *SaberEs* [Internet]. 2010 [citado 12 Feb 2024]; 2(2): 59-72. Disponible en: <https://rephip.unr.edu.ar/server/api/core/bitstreams/d913c3d0-dee5-4bb5-849b-9ef251783bd1/content>
136. Escamilla-López M, Tejeda-Castrejón JF, Yáñez-Brambila R, Mejías-Brito J, Meza Jiménez J, Macedo-Velázquez AR, et al. Repetibilidad y Reproducibilidad en las Mediciones del Espesor de Tubos de Acero

para Ferroaducto. Conciencia Tecnológica [Internet]. 2020 Ene-Jun

[citado 12 Feb 2024]; 59. Disponible en:

<https://www.redalyc.org/journal/944/94463783003/94463783003.pdf>

137. Suárez Algarín CA. Determinación de la repetibilidad y reproducibilidad del método ISO 9622 para la determinación del contenido de grasa en leche cruda en un interlaboratorio, bajo los lineamientos de la norma NTC 3529-2 [tesis]. Bogotá D.C: Fundación Universitaria Los Libertadores; 2020. Disponible en:

<https://repository.libertadores.edu.co/server/api/core/bitstreams/86e2e9a2-b71d-4ed9-bf5f-d42cb26f4faf/content>

138. Fernández Sacasas JA, Díaz Novás J. Algunas consideraciones teóricas sobre la pesquisa activa. Rev cuban med gen integr [Internet]. 2009 [citado 12 Feb 2024]; 25(4): 107-116. Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v25n4/mgi11409.pdf>

139. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Resolución Ministerial No.101 [Internet]. La Habana: MINSAP; 2008 [citado 12 Feb 2024]. 14 p. Disponible en:

https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Res_MIN_SAP-101-08.pdf#overlay-context=reglamentacion/aprobadas%3Fpage%3D10

140. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Cuba. 2023 [Internet]. La Habana: Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2023 [citado 20 May 2024]. Disponible en:

<https://instituciones.sld.cu/ucmvc/files/2023/10/Anuario-Estad%C3%ADstico-de-Salud-2022-Ed-2023.pdf>

141. Duque G, Manterola C, Otzen T, Arias C, Galindo B, Mora M, et al. Clinical utility of liquid biopsy in breast cancer: A systematic review. Clin Genet. 2022 Mar; 101(3): 285-295
142. Motyka J, Gacuta E, Kicman A, Kulesza M, Malinowski P, Lawicki S. CXCL12 and CXCR4 as Potential Early Biomarkers for Luminal A and Luminal B Subtypes of Breast Cancer. Cancer Manag Res [Internet]. 2023 Jul [citado 12 Feb 2024]; 15: 573-589. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37426394/>
143. Guan Z, Yu H, Cuk K, Zhang Y, Brenner H. Whole-blood DNA methylation markers in early detection of breast cancer: a systematic literature review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet]. 2019 Mar [citado 12 Feb 2024]; 28(3). Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Haixin-Yu/publication/329256770_Whole-Blood_DNA_Methylation_Markers_in_Early_Detection_of_Breast_Cancer_A_Systematic_Literature_Review/links/5c90e1bb92851c1df94ab1ba/Whole-Blood-DNA-Methylation-Markers-in-Early-Detection-of-Breast-Cancer-A-Systematic-Literature-Review.pdf
144. Kozar N, Kruusmaa K, Bitenc M, Argamasilla R, Adsur A, Takac I, et al. Identification of novel diagnostic biomarkers in breast cancer using targeted metabolomic profiling. Clin Breast Cancer [Internet]. 2021 Jun [citado 12 Feb 2024]; 21(3): e204-e211. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33281038/>

145. Rauf F, Anderson KS, LaBaer J. Autoantibodies in early detection of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2020 Dic; 29(1): 2475-2485.
146. Hussein AA, Baban RS, Mahdi QA. Evaluation of aromatase as a potential biomarker and its association with CA 15-3 in patients with non-metastatic breast cancer. *International Journal Health Sciences [Internet].* 2022 [citado 12 Feb 2024]; 6(S5): 8339-8349. Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://sciencescholar.us/journal/index.php/ijhs/article/download/10552/7574&ved=2ahUKEwjNpKzb6aOFAXyt4QIHe70DlcQFnoECB0QAQ&usq=AOvVaw1t0XKZ0kPqSGcAWToog8qk>
147. Ławicki P, Malinowski P, Motyka J, Ławicki M, Kicman A, Kulesza M, et al. Plasma Levels of Metalloproteinase 3 (MMP-3) and Metalloproteinase 7 (MMP-7) as New Candidates for Tumor Biomarkers in Diagnostic of Breast Cancer Patients. *J Clin Med [Internet].* 2023 Abr [citado 12 Feb 2024]; 12(7): 2618. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10094779/>
148. He Y, Xiao B, Lei T, Xuan J, Kuang Z, Liu J, et al. LncRNA T376626 is a promising serum biomarker and promotes proliferation, migration, and invasion via binding to LAMC2 in triple-negative breast cancer. *Gene [Internet].* 2023 Abr [citado 12 Feb 2024]; 860: 147227. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36709879/>
149. Shaaban NZ, Ibrahim NK, Saada HN, El-Rashidy FH, Shaaban HM, Elbakary NM, et al. The Implication of microRNAs as non-invasive biomarkers in 179

Egyptian breast cancer female patients. *Oncol Res* [Internet]. 2022 [citado 12 Feb 2024]; 30(6): 269-276. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10208075/>

150. Kawsar M, Kawser M, Hasan M, Mostaque Hossainet AZM, Khurshid Alam ABM.

Recurrence of Breast Cancer Among Bangladeshi Women Using Two Serum Protein Tumor Markers, Carcinoembryonic Antigen (CEA) and Carbohydrate Antigen 15-3 (CA15-3): A Prospective Observational Study. *British Journal of Multidisciplinary and Advanced Studies* [Internet]. 2023 Ago [citado 12 Feb 2024]; 4(1): 52-70. Disponible en:

<https://bjmas.org/index.php/bjmas/article/view/569/1108>

151. Shamaï G, Binenbaum Y, Slossberg R, Duek I, Kimmel R. Artificial intelligence algorithms to assess hormonal status from tissue microarrays in patients with breast cancer. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2019 Jul [citado 12 Feb 2024]; 2(7): e197700. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6661721/>

152. Cambal Vilema SP, Santana Gallo LF. *Biomarcadores tumorales séricos, como ayuda diagnóstica en el cancer de mama* [tesis]. Riobamba: Universidad

Nacional de Chimborazo; 2023. Disponible en:

<http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/11872/1/Cambal%20Vilema%2c%20S%20y%20Santana%20Gallo%2c%20L%20%282023%29%20Biomarcadores%20tumorales%20s%3ca9ricos%2c%20como%20ayuda%20diagn%3b3stica%20en%20el%20c%3ca1ncer%20de%20mama.%20%28Tesis%20>

20de%20Pregrado%29%20Universidad%20Nacional%20de%20Chimborazo
%2c%20Riobamba%2c%20Ecuador..pdf

153. Garcia Batista ML, Ojeda Quevedo Y, Arceo Espinosa M, Serrat Fonseca F, Gómez Tasé RV. Citología aspirativa con aguja fina en el diagnóstico de las neoplasias de mama. Bayamo, Granma. Multimed [Internet]. 2013 [citado 12 Feb 2024]; 17(3). Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/multimed/mul-2013/mul133c.pdf>
154. Irigoyen A, Vicente García F, Córdoba Iturriagagoitia A, Ibañez Beroiz B, Santamaria Martinez M, Guillen Grima F. Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas. Anales Sis San Navarra [Internet]. 2011 [citado 12 Feb 2024]; 34(2): 219-233. Disponible en:
<https://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v34n2/original7.pdf>
155. LAPI [Internet]. Mérida: Salud Integral. Laboratorio Médico; 2021[actualizado 24 Abr 2024; citado 25 Abr 2024]. Disponible en: <https://lapi.com.mx/salud-integral>
156. Academia de Ciencias De Cuba. Resolución Nro 30 / 1984[Internet]. La Habana: Academia de Ciencias de Cuba; 1984. [citado 25 Abr 24].p 13.Disponible en:
[https://descargas.epconsgtmo.co.cu/Normalizacion%20Actualizadas/Normas%20de%20la%20construccion/Normas%20Anir/FOLLETO%20para%20imprimir/3%20Res%2030%201984%20Academia%20de%20Ciencia%20C%C3%](https://descargas.epconsgtmo.co.cu/Normalizacion%20Actualizadas/Normas%20de%20la%20construccion/Normas%20Anir/FOLLETO%20para%20imprimir/3%20Res%2030%201984%20Academia%20de%20Ciencia%20C%C3%93)

A1lculo%20del%20efecto%20econ%C3%B3mico%20de%20la%20introducci
%C3%B3n%20de%20la%20nueva%20t%C3%A9cnica.pdf

157. Braden AM, Stankowski RV, Engel JM, Onotilo AA. Breast cancer biomarkers: risk assessment, diagnosis, prognosis, prediction of treatment efficacy and toxicity, and recurrence. *Curr Pharm Des*. 2014; 20(30): 4879-98.
158. Knaul FM, López Carrillo L, Lazcano Ponce E, Gomez dantes H, Romieu I, Torres G. Cáncer de mama: un reto para la sociedad y los sistemas de salud. *Salud Pública de México* [Internet]. 2009 [citado 12 Feb 2024]; 51(2): s138-s140. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10616164002>
159. Claudet P, Saborío Hernández F. Consecuencias psicoafectivas y sociales del cancer de mama y de la mastectomía. *Rev Cost Cienc Med* [Internet]. 1985 [citado 12 Feb 2024]; 6(2): 29-38. Disponible en: <https://repositorio.binasss.sa.cr/repositorio/bitstream/handle/20.500.11764/3811/art4V6N2.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
160. Rodríguez González N. ¿Cómo influyen los determinantes sociales de la salud en el cáncer de mama? [tesis]. España: Universitat de les Illes Balears; 2022. Disponible en: https://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/160083/Rodriguez_Gonzalez_Nereida.pdf?sequence=1&isAllowed=y
161. Triana Velázquez Y, García González M, Díaz Pérez M, Ferragut Reinoso E. *Sistemas de Ciencia, Tecnología e Innovación: integración de actores para el desarrollo*. Estudios del Desarrollo Social: Cuba y America Latina [Internet].

2021 May-Ago [citado 12 Feb 2024]; 9(2): 176-190. Disponible en:

<https://revistas.uh.cu/revflacso/article/view/4201/3688>

6. ANEXOS

6. Anexos

Anexo 1. Modelo de consentimiento informado

El presente documento es parte de un estudio de evaluación de tecnología sanitaria. Este estudio es promovido por la Universidad de Camagüey y el Centro de Investigaciones y Productos Biológicos (CENIPBI), de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Cuba. El documento lo recibo antes de ser sometido a cualquier proceder de tipo médico, relacionado con el estudio.

Mi médico de asistencia me ha brindado una amplia información con relación al estudio que me propone y me ha permitido hacer todas las preguntas que me han surgido, en función de aclarar mis dudas al respecto.

El propósito de este estudio es evaluar la eficacia del método pirogallol-salicilato para el diagnóstico temprano del cáncer de mama. El estudio pretende determinar la sensibilidad diagnóstica, especificidad y precisión diagnóstica del método. Además, determinar características analíticas como la reproducibilidad, repetibilidad y linealidad.

Mi médico de asistencia me hizo saber los criterios que se tienen en cuenta para ser incluido y aquellos que no me permiten ser incluido.

¿En qué consiste la investigación?

El estudio consiste en determinar la actividad de la enzima lactoperoxidasa sérica mediante el método del pirogallol salicilato y correlacionar sus valores con el estado de salud del sujeto en estudio (sujeto aparentemente sano o con diagnóstico histopatológico de cáncer de mama). Se emplea el método clínico y la biopsia por aspiración con aguja fina (CAAF) como prueba de oro para analizar a los sujetos.

Durante el estudio se me realizarán una extracción de sangre, luego de la extracción concluirá mi participación en el estudio.

¿Qué medicamentos pudiera utilizar durante el estudio?

No se contraindican los medicamentos durante la participación en el estudio.

¿Conllea riesgos mi participación en el estudio?

La probabilidad de ocurrencia de efectos indeseables es baja. En muy pocos individuos sometidos a extracción de dos mililitros de sangre se han producido efectos severos ni graves además, las muestras son tratadas fuera del paciente por lo que no existe riesgo de daño físico. Los efectos indeseables que se han presentado previamente consisten en reacciones ligeras a moderadas como dolor en el sitio de la extracción y tromboflebitis. Estas reacciones se suelen presentar en las primeras 24 horas posteriores a la extracción de sangre, son de corta duración y fácilmente controlables con la medicación específica. Cualquier nuevo dato durante mi participación en el estudio, el cual pueda comprometer mi seguridad, me será notificado inmediatamente. Estas reacciones no ocurren todas en un mismo individuo por lo que no tienen que presentarse obligatoriamente.

¿Existirá confidencialidad en el manejo de todo lo referente mi persona?

Se me explicó que la información referida a mi persona, aun cuando pueda ser revisada por los investigadores, las autoridades hospitalarias competentes o quienes estas designen, no se hará pública en ningún caso. Además, mi identidad no será revelada en ninguna publicación científica.

¿Cuáles son mis derechos como participante?

En todo momento puedo preguntar por los pormenores del estudio y decidir, sobre la base de la información brindada, si participo en la investigación o no. La negativa de participación o el abandono del estudio no dañarán mis relaciones con el hospital ni con el médico que me atiende ni se afectarán los cuidados posteriores que yo deba recibir.

Se me ha expresado claramente la condición totalmente gratuita de cada uno de los procedimientos a los que podré tener acceso mediante el estudio, y a su vez se me ha informado acerca de la no remuneración monetaria por mi participación. En compensación seré beneficiado desde el punto de vista diagnóstico con una prueba (biomarcador sérico LP) para la vigilancia de mi estado de salud respecto al diagnóstico de cáncer mamario.

Deberé consultar con mi médico cualquier posible participación en otro estudio. Una vez que esté de acuerdo en participar en esta investigación, asumo la responsabilidad de cumplimentar lo establecido en el estudio.

En caso de presentar algún síntoma inesperado durante el curso del estudio debo dirigirme a:

Hospital	Médico	Teléfonos
. Oncológico María Curie de Camagüey	Dr. Gerardo Brunet Bernal	271797

Como he tenido suficiente tiempo para considerar la propuesta de participación en el estudio y suficiente información acerca del mismo, he decidido tomar parte en la investigación. Para que así conste y por mi libre voluntad, firmó el presente consentimiento a los |__|__| día del mes de _____ del año ____.

Nombre del paciente	Firma	Fecha
Nombre del Médico	Firma	Fecha
Nombre del testigo	Firma	Fecha

Anexo 2

Estrategia de búsqueda y gestión de la información novedosa.

Se empleó el motor de búsqueda de Google avanzado, al cual se introdujo los términos o descriptores: lactoperoxidasa, biomarcador y neoplasia de la mama; tomados con anterioridad del DeCS (Descriptores en Ciencias de la Salud). La búsqueda se limitó a los últimos cinco en todos los idiomas y en formato de documento PDF. Tras la búsqueda solo una pantalla fue identificada con 60 documentos, de los cuales fueron revisados 4 de estos que contenían los términos de interés. Se realizó un análisis crítico de estos últimos y resultaron descartados por no contener información relevante sobre la novedad que se investiga.

En un segundo momento, se accedió a las bases de datos disponibles para el Sistema Nacional de Salud que incluyen: SciELO, Cumed, LILACS, PubMed y Scopus soportadas sobre la plataforma Infomed. En la base LILACS se introdujeron los descriptores que se mencionaron con anterioridad, fueron aplicadas técnicas de truncamiento y los operadores booleanos para limitar la búsqueda. Se analizó información en los idiomas: inglés, español, portugués y francés. El resultado de la búsqueda para documentos relevantes fue nulo.

Se trabajó con las bases PubMed y Medline, donde se utilizó el índice del MeSH establecido por la *National Library of Medicine*. Se aplicaron técnicas de truncamiento a partir de los descriptores identificados con anterioridad en el tesauro y de modo similar a las estrategias precedentes, ninguno de los documentos mostró resultados satisfactorios. En SciELO Regional, SciELO Cuba

y Cumed se empleó la misma metodología aplicada en LILACS y el resultado no mostró cambios.

Anexo 3

Tabla 18. Recursos materiales y precios.

Existencias de productos				
Descripción	UM	Cantidad	Precio	Importe
Jeringuilla y aguja múltiple vacutainer 21G (ESTCH. X 250)	Unidad	1	\$2,52	\$2,52
Torundas estériles	Estuches 1000	2	29,44	0,0002
Alcohol isopropílico	Mililitros (mL)	1	\$0,54	\$0,54
Citrato de sodio	Mililitros (mL) Frasco de 1,29 mol/L	1	65,4	0,55
Tubo de ensayo.8000 unidades	Uno	1	0.08	0,00001
Vial Esendorf 0.5ML	Bolsa X 1000 unidades.424 unidades	1	4.216	0,00001
Puntas azules	Paquete de 259 Unidades	1	104.66	0,40
Puntas Amarillas 20-200 UL	Paquete de 1000 Unidades.952 paquetes	1	59.134	0,00006
PIPETA 200 - 1000UL	Uno	1	415.096	415.096
Pirogalol	Gramo. Frasco de 100 g	0,0005 g	8196	0,40
Aspirina de 125 mg	Frasco de 60 tabletas	1	1.10	0,018
H ₂ O ₂ 30 %	Frasco de 1000 mL	0,2 mL	441,6	0,088
Gasto Total	Por cada paciente			419.61

Fuente: tomado de lista de productos en existencia de almacén. Almacén 05, sección 5. Suministros médicos Camagüey.

Anexo 3

Gastos indirectos de la centrífuga, balanza analítica y espectrofotómetro UV-VIS.

Método de línea recta

Depreciación anual contable = $\frac{\text{Precio de compra}}{\text{Tiempo estimado de vida}}$

Tiempo estimado de vida

La depreciación se calcula sobre el valor inicial registrado en libros, excepto de los que hayan llegado al término de su vida útil según la norma cubana de contabilidad № 7 activos fijos tangibles y el manual de normas y procedimientos del subsistema de activos fijos tangibles. En estos documentos se explicita que aquellos equipos cuya vida útil finalizó pero que se mantengan en explotación por tener valor de uso, no se incluirán en los cálculos de depreciación.

Tabla 19. Equipos y costo de uso diario según depreciación anual.

Equipo	Precio de compra	Tiempo estimado de vida	Aplicación del 15 %. Depreciación anual del equipo	Costo diario de uso
Balanza analítica	-	15	-	-
Centrífuga	-	13	-	-
Espectrofotómetro UV-VIS	-	12	-	-

Fuente: base de datos de la investigación. Elaborada por el autor

