



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento Del Hombre y su Ambiente  
Licenciatura en Biología**

Informe de Servicio Social por  
Actividades Relacionadas con la Profesión

**“Colecta y procesamiento de muestras de tejido y biopsia  
líquida obtenidas de pacientes con cáncer de mama”**

Que presenta

**Yair Eliud Espina Casas**  
(matrícula: 2203018340)

Asesora Externa  
**Dra. Mireya Cisneros Villanueva**  
Cédula profesional: 14586300  
Instituto Nacional de Medicina Genómica  
Laboratorio de Genómica del Cáncer

Asesora Interna  
**Dra. María Teresa Núñez Cardona**  
Número económico: 14473  
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco  
Departamento Del Hombre y su Ambiente

Ciudad de México, 29 de abril de 2026

## INDICE

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMEN .....                                                                                     | 2  |
| INTRODUCCIÓN .....                                                                                | 3  |
| LUGAR DONDE SE REALIZÓ EL SERVICIO SOCIAL .....                                                   | 5  |
| MARCO INSTITUCIONAL .....                                                                         | 5  |
| Misión.....                                                                                       | 5  |
| Visión .....                                                                                      | 6  |
| OBJETIVO GENERAL .....                                                                            | 6  |
| Objetivos Particulares .....                                                                      | 6  |
| ACTIVIDADES DESARROLLADAS .....                                                                   | 6  |
| Metodología .....                                                                                 | 7  |
| Selección de muestras del biobanco INMEGEN-FUCAM.....                                             | 7  |
| Extracción orgánica de RNA total a partir de buffy coat .....                                     | 7  |
| Extracción por columnas de ADN y ARN a partir de tumor y buffy coat .....                         | 7  |
| Cuantificación de DNA y RNA total por espectrofotometría .....                                    | 8  |
| Integridad de DNA y RNA total por electroforesis en gel de agarosa.....                           | 8  |
| Ensayo de retrotranscripción y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa.....              | 8  |
| Extracción de cfDNA .....                                                                         | 9  |
| Integridad y cuantificación del cfDNA .....                                                       | 9  |
| Análisis estadístico .....                                                                        | 10 |
| Resultados.....                                                                                   | 10 |
| Selección de muestras de buffy coat y tejido tumoral .....                                        | 10 |
| Evaluación de la cantidad y calidad de DNA y RNA .....                                            | 11 |
| Comparación del rendimiento de la extracción de DNA y RNA entre buffy coat y tejido tumoral ..... | 14 |
| Análisis de expresión de genes clave para el cáncer de mama.....                                  | 16 |
| Extracción y análisis de cfDNA .....                                                              | 18 |
| VÍNCULO DE LAS ACTIVIDADES DESARROLLADAS CON LOS OBJETIVOS DE FORMACIÓN DEL PLAN DE ESTUDIOS..... | 20 |
| REFERENCIAS.....                                                                                  | 21 |
| VISTO BUENO DE LAS ASESORAS DEL SERVICIO SOCIAL .....                                             | 23 |

## RESUMEN

El cáncer de mama es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en mujeres a nivel mundial y en México. La incorporación de herramientas moleculares, como el análisis de DNA, RNA y DNA libre circulante (cfDNA), permite complementar los métodos diagnósticos convencionales y avanzar hacia la medicina personalizada. El objetivo de las actividades realizadas fue seleccionar y procesar muestras biológicas de pacientes (mujeres) con cáncer de mama para obtener ácidos nucleicos de alta calidad útiles para estudios genómicos. Se seleccionaron muestras de tejido tumoral, buffy coat y plasma del Biobanco del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN). Se incluyó a pacientes con diagnóstico confirmado y controles sanos. Se realizaron extracciones de DNA y RNA mediante métodos por columnas y extracción orgánica. La concentración y pureza de las extracciones se evaluaron por espectrofotometría (NanoDrop) y la integridad por electroforesis en gel de agarosa. El RNA se retrotranscribió a cDNA y se analizó mediante RT-qPCR con sondas TaqMan para genes clínicamente relevantes (*ESR1*, *PGR*, *MKI67* y *ERBB2*). El cfDNA se aisló de plasma mediante un sistema automatizado y se evaluó por electroforesis capilar. El análisis estadístico incluyó medidas descriptivas y la prueba U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Se analizaron muestras de 11 pacientes mujeres, todas mayores de 40 años y en estadio clínico II; predominó el subtipo luminal A (63.6%) sobre luminal B (36.4%). Las muestras tumorales mostraron mayor pureza (A260/A280: DNA 81.8%, RNA 72.7%) en comparación con buffy coat (54.5%), aunque la pureza A260/A230 fue subóptima en la mayoría de las muestras. La integridad fue superior en tejido tumoral (DNA 72.7% íntegro) frente a buffy coat, donde el RNA presentó alta degradación (90.9%). No hubo diferencias significativas en la concentración de DNA entre tejidos, pero el RNA tumoral mostró mayor rendimiento y diferencia significativa ( $p = 0.01$ ). El análisis de expresión génica evidenció mayor expresión de *ESR1*, *PGR* y *ERBB2* en luminal A, con diferencia significativa para *ESR1* ( $p = 0.04$ ). En el análisis de cfDNA ( $n = 54$ ), las pacientes con cáncer presentaron concentraciones significativamente mayores que los controles. Las metodologías empleadas permitieron obtener ácidos nucleicos de calidad adecuada para estudios genómicos. El tejido tumoral demostró ser la mejor fuente para análisis de expresión génica, mientras que el cfDNA se posiciona como un biomarcador no invasivo prometedor. Estos resultados contribuyen al fortalecimiento del biobanco institucional y al desarrollo de investigaciones en genómica del cáncer orientadas a la medicina de precisión.

**Palabras clave:** Cáncer de mama, extracción de ácidos nucleicos, DNA, RNA, DNA libre circulante (cfDNA), expresión génica, RT-qPCR, biomarcador, biobanco.

## INTRODUCCIÓN

Este proyecto estuvo enfocado en el estudio genómico del cáncer de mama, una enfermedad considerada como un problema de salud pública en México.

En el 2022, el cáncer de mama fue una de las principales causas de mortalidad oncológica, con una proporción destacada de fallecimientos en la población femenina y su alta incidencia a escala global (Bray et al., 2024). Se ha determinado que los casos de atención hospitalaria por cáncer de mama se realizan en personas de 20 años o más es del 24% y las tasas de mortalidad nacional por esta enfermedad alcanzan 17.19 defunciones por cada 100 mil mujeres adultas, siendo las entidades federativas del norte de México con mayores tasas de incidencia. Este panorama refuerza la importancia de generar conocimiento que contribuya a mejorar su detección, caracterización y tratamiento, objetivo central de las líneas de investigación del laboratorio. Por lo ello, la detección oportuna y el diagnóstico del cáncer de mama, es de relevancia clínica para reducir las altas tasas de incidencia y mortalidad (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2023).

Los métodos convencionales para el diagnóstico del cáncer de mama incluyen la exploración clínica, la mastografía y el ultrasonido mamario, los cuales constituyen herramientas fundamentales para la detección inicial, sin embargo, presentan limitaciones importantes en la práctica clínica. Estas técnicas pueden mostrar menor sensibilidad en mujeres jóvenes con mamas densas, dificultad para diferenciar lesiones benignas de malignas y una capacidad limitada para identificar alteraciones moleculares o subtipos biológicos tumorales, aspectos esenciales para la medicina personalizada. Asimismo, en etapas avanzadas de la enfermedad, los estudios de imagen convencionales pueden subestimar la presencia de marcadores tumorales o la detección de micrometástasis, lo que condiciona retrasos diagnósticos y decisiones terapéuticas menos precisas. Por ello, se destaca la necesidad de complementar los métodos tradicionales con herramientas diagnósticas más específicas, incluyendo estudios moleculares y biomarcadores, que permitan una mejor estratificación pronóstica y la selección del tratamiento oncológico (Cárdenas, 2021).

El análisis de ácidos nucleicos (DNA y RNA) constituye una herramienta principal en la investigación biomédica y en la oncología, ya que permite estudiar directamente los mecanismos moleculares responsables de la enfermedad. Las técnicas de extracción y

enriquecimiento de ácidos nucleicos actuales facilitan la obtención de material genético de alta calidad a partir de distintos tipos de muestras biológicas (tejidos, sangre o biopsia líquida), lo que mejora la sensibilidad y precisión de los análisis posteriores. Estas metodologías permiten aislar secuencias específicas, reducir contaminantes y optimizar la detección de variantes genéticas mediante estudios genómicos, transcriptómicos y epigenómicos, esenciales para la investigación traslacional y el desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas (Shin, 2018).

En la oncología, el análisis de ácidos nucleicos brinda ventajas clave como la detección temprana, la identificación de mutaciones somáticas, la caracterización molecular de tumores y la comprensión de los mecanismos de progresión tumoral. El estudio del ácido desoxirribonucleico (DNA, *por sus siglas en inglés*) y el ácido ribonucleico (RNA, *por sus siglas en inglés*) tumoral permite identificar biomarcadores diagnósticos y pronósticos, así como predecir la respuesta terapéutica y desarrollar tratamientos personalizados basados en medicina de precisión. Además, estas herramientas permiten caracterizar heterogeneidad tumoral y detectar alteraciones genéticas incluso en concentraciones bajas mediante la aplicación de tecnologías de alta sensibilidad (Kim, 2023).

Adicionalmente, los avances en la secuenciación de nueva generación y tecnologías emergentes han permitido analizar perfiles completos de expresión génica, metilación del DNA y variaciones estructurales, proporcionando una visión integral del cáncer a nivel molecular. Esto favorece el desarrollo de terapias dirigidas, el monitoreo dinámico de la enfermedad mediante biopsia líquida y la evaluación de resistencia a tratamientos. En conjunto, el análisis de ácidos nucleicos ha transformado la investigación biomédica al permitir pasar de enfoques descriptivos a estrategias predictivas y personalizadas en el diagnóstico y tratamiento del cáncer (Kim, 2023).

Recientemente, se han desarrollado herramientas alternativas para complementar el diagnóstico del cáncer de mama. Las biopsias líquidas han adquirido un papel relevante como herramienta complementaria al análisis de tejido tumoral. El DNA libre circulante (cfDNA, *por sus siglas en inglés*), es uno de los biomarcadores más relevantes de la biopsia líquida para el estudio del cáncer, su utilidad radica en que permite obtener información de los

tumores sin necesidad de procedimientos invasivos considerando el análisis del cfDNA un componente fundamental en el desarrollo de biobancos de investigación (Ma et al., 2024).

Por todo lo anterior, las actividades realizadas durante el servicio social se integraron directamente en la selección, procesamiento y análisis de muestras de tejido tumoral y biopsia líquida de pacientes con cáncer de mama, así como muestras de plasma de pacientes sin cáncer (grupo control). Entre las actividades se incluyó la extracción de DNA, RNA y cfDNA, la evaluación de su calidad mediante diferentes técnicas de biología molecular, así como el análisis descriptivo y estadístico inferencial de los resultados obtenidos. Además, la realización de estas actividades permitió fortalecer habilidades prácticas en biología molecular y relacionar de manera directa la formación académica con procesos reales de investigación.

A continuación, se describen las actividades realizadas durante el servicio social desarrollado en el Laboratorio de Genómica del Cáncer ubicado en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), durante el periodo del 24 de febrero al 24 de agosto de 2025.

## **LUGAR DONDE SE REALIZÓ EL SERVICIO SOCIAL**

Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), Laboratorio de Genómica del Cáncer.

Dirección: Periférico Sur 4809, Colonia Arenal Tepepan, Alcaldía Tlalpan, C.P, 14610 Ciudad de México.

## **MARCO INSTITUCIONAL**

### **Misión**

La misión del INMEGEN es contribuir a la salud en México mediante investigación, formación de profesionales y colaboración con el sector productivo, acelerando el acceso a innovaciones que mejoren la calidad de vida y fomenten la prevención. Todo esto a través de tecnología avanzada para la detección temprana de enfermedades comunes en el país (Instituto Nacional de Medicina Genómica, 2025).

## **Visión**

El INMEGEN tiene como visión ser un referente en la investigación, las políticas públicas e innovación en salud preventiva, demostrando el impacto de la genómica en la toma de decisiones para enfrentar las principales enfermedades en México (Instituto Nacional de Medicina Genómica, 2025).

## **OBJETIVO GENERAL**

Seleccionar y procesar muestras de tejido y biopsia líquida de pacientes con cáncer de mama para la obtención de material biológico de alta calidad para análisis genómicos.

### **Objetivos Particulares**

- Seleccionar muestras de tejido tumoral y de biopsia líquida de pacientes con cáncer de mama almacenadas en un biobanco, que cumplan con los criterios de selección para extracción de material biológico.
- Procesar las muestras de tejido tumoral y biopsia líquida para la obtención de ácidos nucleicos (DNA, RNA, cfDNA) útiles para investigación biomédica.
- Verificar la calidad del material biológico obtenido a partir de tejido tumoral y biopsia líquida, con base en criterios establecidos, para su integración al biobanco.
- Determinar el rendimiento de las muestras procesadas mediante análisis descriptivo y estadístico.

## **ACTIVIDADES DESARROLLADAS**

En los siguientes párrafos se presentan las actividades desarrolladas, incluyendo metodología y resultados obtenidos.

## **Metodología**

### **Selección de muestras del biobanco INMEGEN-FUCAM**

Se seleccionaron muestras de plasma, buffy coat (leucocitos) y de tumor previamente almacenadas en un biobanco del Laboratorio de Genómica del Cáncer, del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN). Las muestras se obtuvieron de pacientes con diagnóstico histológico confirmado de cáncer de mama atendidas en la Fundación de Cáncer de Mama (FUCAM), Ciudad de México. Todas las pacientes firmaron previamente el consentimiento informado. Se incluyeron casos con biopsia diagnóstica inicial, diagnosticadas con carcinoma ductal o lobulillar, con tumores mayores a 20 mm y en estadios clínicos desde I hasta IV. Idealmente, se priorizó el procesamiento de muestras correspondientes a pacientes en estadios avanzados o con recurrencia/metástasis. En el caso del plasma, también se utilizaron muestras de biopsia líquida provenientes de donadoras sanas (sin cáncer de mama), quienes también firmaron el consentimiento informado con el fin de contar con un grupo de comparación para los análisis de cfDNA. Se excluyeron pacientes con antecedentes de otras neoplasias primarias, tratamiento, infecciones agudas sistémicas graves o expedientes clínicos incompletos.

### **Extracción orgánica de RNA total a partir de buffy coat**

Las muestras de buffy coat se procesaron utilizando el reactivo TRIzol™ (Invitrogen, ThermoFisher Scientific) siguiendo las recomendaciones de protocolo y ajustando ligeras modificaciones (Thermo Fisher Scientific, 2018). Se añadió cloroformo para separar las fases del lisado y se recuperó la fase acuosa, que contiene el RNA. El RNA se precipitó con isopropanol toda la noche, el RNA precipitado fue centrifugado a 13,000 rpm y el pellet se lavó de tres a cuatro veces con etanol al 70%. Finalmente, el RNA se hidrató en agua (grado biología molecular) y fue almacenado a -80°C, hasta su procesamiento.

### **Extracción por columnas de ADN y ARN a partir de tumor y buffy coat**

Para el procesamiento de las muestras tumorales y de buffy coat se utilizó el kit AllPrep® DNA/RNA/Protein Mini Kit (QIAGEN®) siguiendo las recomendaciones del fabricante

(QIAGEN, 2011). Las muestras tumorales se lisaron y homogeneizaron con buffer RLT que contenía  $\beta$ -mercaptoetanol para inactivar DNasas, RNasas y proteasas. El lisado se transfirió a una columna AllPrep® DNA, que permite la unión selectiva y aislamiento del DNA. Posteriormente, el DNA se lavó y se eluyó. Al sobrante de la columna AllPrep® DNA se le añadió etanol y se pasó por una columna RNeasy®, a la cual se une selectivamente el RNA. Posteriormente, el RNA se lavó y se eluyó. Las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta su procesamiento.

### **Cuantificación de DNA y RNA total por espectrofotometría**

La concentración del DNA y RNA extraído se evaluó por espectrofotometría con el equipo NanoDrop™ 1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific), siguiendo las indicaciones del fabricante (Thermo Fisher Scientific, 2023).

### **Integridad de DNA y RNA total por electroforesis en gel de agarosa**

Se preparó un gel de agarosa al 1% en buffer TBE 1x para proporcionar un medio de separación y mantener la conductividad eléctrica durante la electroforesis. Las muestras de DNA y RNA se mezclaron con buffer de carga mezclado con el intercalante SYBR™ Gold (Invitrogen, ThermoFisher™ Scientific) siguiendo las recomendaciones del fabricante (Thermo Fisher Scientific, 2006), para facilitar su deposición en los pozos del gel y la visualización de las muestras. La electroforesis se llevó a cabo a 100 V, y posteriormente el gel se visualizó en un transiluminador (Bio-Rad™) para evaluar la integridad de las muestras.

### **Ensayo de retrotranscripción y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa**

A partir de las muestras de RNA total, primero se realizó una retrotranscripción (RT) utilizando el kit High Capacity cDNA Reverse Transcription siguiendo las recomendaciones del fabricante (Thermo Fisher Scientific, 2017). Brevemente, se sintetizó el cDNA utilizando un Master Mix que incluye 1  $\mu$ L de MultiScribe™ Reverse Transcriptase (Invitrogen, ThermoFisher™ Scientific), 2  $\mu$ L de 10x RT Buffer, 0.8  $\mu$ L de 25x dNTP, 2  $\mu$ L de 10x RT

random primers y 4.2 µL de agua de grado molecular. Se añadieron 100 ng de RNA total en 10 µL de agua de grado molecular, para un volumen total de 20 µL.

La cuantificación de la expresión génica se realizó con el ensayo TaqMan® Gene Expression considerando las recomendaciones del protocolo (Thermo Fisher Scientific, 2012). Brevemente, la reacción de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR, *por sus siglas en inglés*) partió de 1 µL de la muestra de cDNA, 5 µL de TaqMan™ Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, ThermoFisher™ Scientific), 0.5 µL de 20x TaqMan Gene Expression Assay (Applied Biosystems, ThermoFisher™ Scientific) y 3.5 µL de agua de grado molecular, en un volumen total de 10 µL. La expresión relativa se calculó por medio del método  $2^{-\Delta C_t}$ , utilizando *GAPDH* como gen endógeno (Schmittgen & Livak, 2008). Los genes blanco analizados fueron *ESR1* (Estrogen Receptor 1), *PGR* (Receptor de progesterona), *MKI67* (Marker of Proliferation Ki-67) y *ERBB2* (Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2), debido a su relevancia clínica en la caracterización de los subtipos moleculares de cáncer de mama.

## **Extracción de cfDNA**

El cfDNA fue extraído utilizando el kit MagMAX™ cell free DNA isolation a partir de 4 mL de plasma mediante el sistema automatizado basado en perlas magnéticas KingFisher™ Flex (ThermoFisher™ Scientific). El procedimiento se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

## **Integridad y cuantificación del cfDNA**

Se analizó la calidad y el tamaño del cfDNA extraído de plasma utilizando el sistema de electroforesis capilar automatizada Agilent™ TapeStation 2200 con el kit High Sensitivity D1000 ScreenTape (Agilent Technologies™), para ellos se siguieron las indicaciones del manual del fabricante (Agilent Technologies, 2019).

## Análisis estadístico

El análisis de las variables estudiadas fue inicialmente evaluado con estadística descriptiva donde se emplearon medidas de tendencia central (media, mediana) y de dispersión (desviación estándar, valor mínimo y máximo) que mostraron las frecuencias absolutas. Estos análisis estadísticos se aplicaron tanto a los datos clínicos como a los resultados obtenidos de la expresión génica medidos por RT-qPCR, así como a las concentraciones de DNA y RNA extraídos de leucocitos, plasma y tejido tumoral. Para esto, se utilizó la prueba estadística U de Mann-Whitney que compara la mediana de los grupos independientes, así como la dispersión de los datos. El nivel de significancia estadística se estableció cuando los valores fueron  $p \leq 0.05$ .

## Resultados

### Selección de muestras de buffy coat y tejido tumoral

Las muestras de buffy coat y tumor fueron seleccionadas de 11 pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de mama quienes cumplieron los criterios de selección. Para asegurar una adecuada representación del tejido tumoral, solo se seleccionaron muestras que tuvieran  $\geq 60\%$  de células tumorales. Las características clínicas de las pacientes se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1. Características clínico-patológicas de las pacientes con cáncer de mama Y rangos de edad.**

| Característica        | Categoría | n = 11 | 100%  |
|-----------------------|-----------|--------|-------|
| Edad                  | $\geq 40$ | 11     | 100%  |
|                       | $< 40$    | 0      | 0%    |
| Estadio clínico       | I         | 0      | 0%    |
|                       | II        | 11     | 100%  |
|                       | III       | 0      | 0%    |
|                       | IV        | 0      | 0%    |
| Grado histopatológico | I         | 0      | 0%    |
|                       | II        | 10     | 90.9% |
|                       | III       | 1      | 9.1%  |
| Subtipo molecular*    | Luminal A | 7      | 63.6% |

|                   |                  |    |       |
|-------------------|------------------|----|-------|
|                   | <b>Luminal B</b> | 4  | 36.4% |
| <b>Metástasis</b> | <b>Si</b>        | 1  | 9.1%  |
|                   | <b>No</b>        | 10 | 90.9% |

\*Subtipo molecular determinado por la identificación de los biomarcadores: receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP), receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y antígeno nuclear Ki-67 mediante inmunohistoquímica.

## Evaluación de la cantidad y calidad de DNA y RNA

Las muestras de buffy coat se procesaron mediante extracción por columnas y extracción orgánica para la obtención del RNA. En algunas de las extracciones por columnas se aplicó una modificación en el procedimiento, el cual consistió en utilizar dos columnas para aislar el DNA con el propósito de mejorar el rendimiento y la pureza.

Por otro lado, las muestras de tejido tumoral se procesaron exclusivamente mediante extracción por columnas, tanto con el método estándar como con la variación de dos columnas para aislar el DNA (tabla 2).

**Tabla 2. Proporción de muestras procesadas con diferentes métodos de extracción.**

| <b>Tipo de muestra</b>  | <b>Total<br/>N= 11</b> | <b>Extracción<br/>por columnas<br/>(normal)</b> | <b>Extracción<br/>por columnas<br/>(dos columnas)</b> | <b>Extracción<br/>orgánica</b> |
|-------------------------|------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>Buffy coat (DNA)</b> | 11                     | n = 5 (45.5%)                                   | n = 6 (54.5%)                                         | 0                              |
| <b>Buffy coat (RNA)</b> | 11                     | n = 2 (18.2%)                                   | n = 5 (45.5%)                                         | 4 (36.4%)                      |
| <b>Tumor (DNA)</b>      | 11                     | n = 5 (45.5%)                                   | n = 6 (54.5%)                                         | 0                              |
| <b>Tumor (RNA)</b>      | 11                     | n = 7 (63.6%)                                   | n = 4 (36.4%)                                         | 0                              |

Después de la extracción de ácidos nucleicos, se obtuvieron los valores de pureza mediante espectrofotometría. Los datos se interpretaron utilizando los índices A260/A280 para pureza con respecto a proteínas y A260/A230 para la pureza con respecto a sales. Los intervalos considerados aceptables fueron 1.7–2.0 para A260/A280, y 1.8–2.0 para A260/A230 (10).

Se observó que tanto para el DNA como el RNA, la mayoría de las muestras tumorales (DNA n=9, RNA n=8) tuvieron valores dentro del intervalo aceptable para pureza proteica (A260/A280), mientras que en las muestras de buffy coat aproximadamente la mitad de las muestras (DNA n=6, RNA n=6) cumplió con este criterio. En cuanto a la pureza respecto a sales u otros contaminantes (A260/A230), la mayoría de las muestras de DNA y RNA obtenidos tanto de buffy coat (DNA n=9, RNA n=10) como de tumor (DNA n=10, RNA n=9), presentaron valores fuera del intervalo adecuado, por lo tanto, tuvieron mayor contaminación por sales (tabla 3).

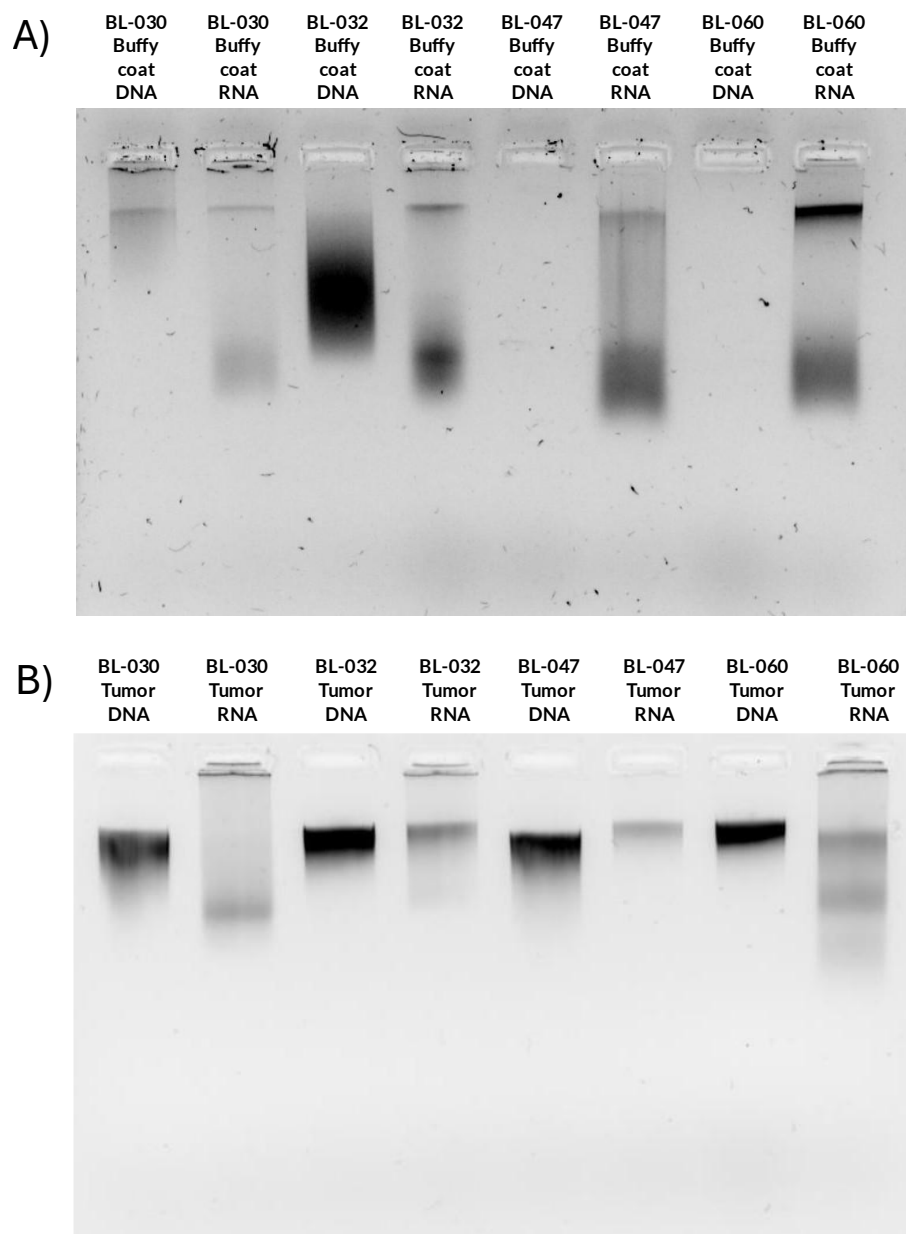
**Tabla 3. Porcentaje de muestras de DNA y RNA dentro y fuera de los intervalos aceptables de pureza según los índices A260/A280 y A260/A230.**

| <b>Tipo de muestra</b>  | <b>Total</b> | <b>Dentro del intervalo<br/>A260/A280<br/>(1.7–2.0)</b> | <b>Fuera del intervalo<br/>A260/A280<br/>(&lt;1.7)</b> | <b>Dentro del intervalo<br/>A260/A230<br/>(1.8–2.0)</b> | <b>Fuera del intervalo<br/>A260/A230<br/>(&lt;1.8)</b> |
|-------------------------|--------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>Buffy coat (DNA)</b> | 11           | 6 (54.5%)                                               | 5 (45.5%)                                              | 2 (18.2%)                                               | 9 (81.8%)                                              |
| <b>Buffy coat (RNA)</b> | 11           | 6 (54.5%)                                               | 5 (45.5%)                                              | 1 (9.1%)                                                | 10 (90.9%)                                             |
| <b>Tumor (DNA)</b>      | 11           | 9 (81.8%)                                               | 2 (18.2%)                                              | 1 (9.1%)                                                | 10 (90.9%)                                             |
| <b>Tumor (RNA)</b>      | 11           | 8 (72.7%)                                               | 3 (27.3%)                                              | 2 (18.2%)                                               | 9 (81.8%)                                              |

Al evaluar la integridad en geles de agarosa al 1%, se observó que las muestras provenientes de buffy coat mostraron una mayor degradación tanto de DNA como de RNA (Figura 1A) n comparación con las de tejido tumoral (figura 1B).

En contraste, las muestras provenientes de tejido tumoral mostraron una mayor integridad, principalmente de DNA, ya que se observaron bandas bien definidas, mientras que para

algunas muestras de RNA se conservaron las bandas características de los RNA ribosomales 28S y 18S (figura 1 B). Incluso se observaron algunas muestras de RNA contaminadas con DNA tanto para las muestras de buffy coat como de tejido tumoral (figura 1A y B).



**Figura 1. Integridad de ácidos nucleicos.** Electroforesis en gel de agarosa de algunas de las muestras representativas de **(A)** buffy coat y **(B)** tejido tumoral.

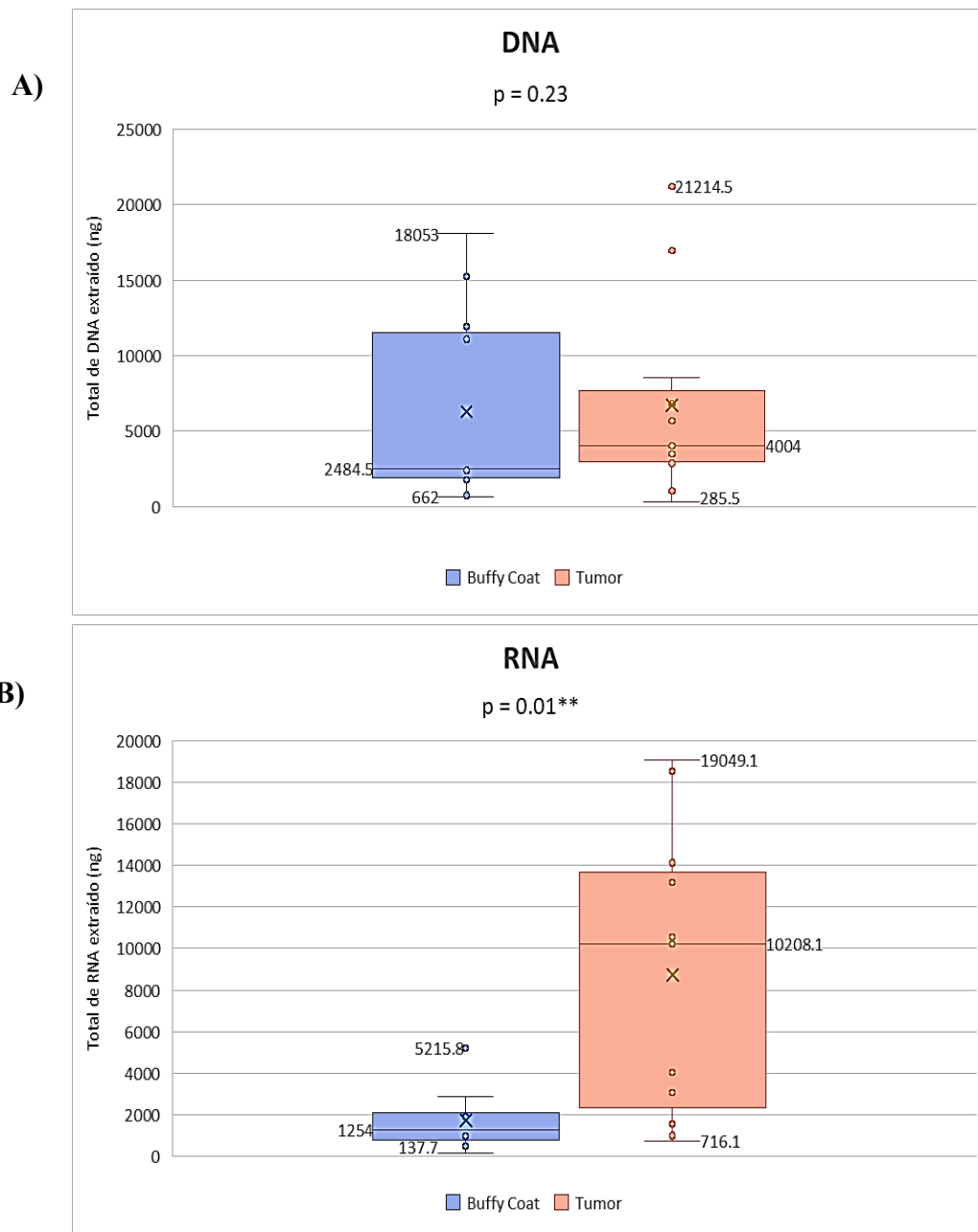
La cantidad de muestras que mostraron una buena integridad y las degradadas en cada grupo se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4. Cantidad y porcentaje de muestras íntegras y degradadas de DNA y RNA provenientes de buffy coat y tejido tumoral.**

| <b>Tipo de muestra</b>  | <b>Total</b> | <b>Íntegras</b> | <b>Degradadas</b> |
|-------------------------|--------------|-----------------|-------------------|
| <b>Buffy coat (DNA)</b> | 11 (100%)    | 7 (63.6%)       | 4 (36.4%)         |
| <b>Buffy coat (RNA)</b> | 11 (100%)    | 1 (9.1%)        | 10 (90.9%)        |
| <b>Tumor (DNA)</b>      | 11 (100%)    | 8 (72.7%)       | 3 (27.3%)         |
| <b>Tumor (RNA)</b>      | 11 (100%)    | 6 (54.5%)       | 5 (45.5%)         |

### **Comparación del rendimiento de la extracción de DNA y RNA entre buffy coat y tejido tumoral**

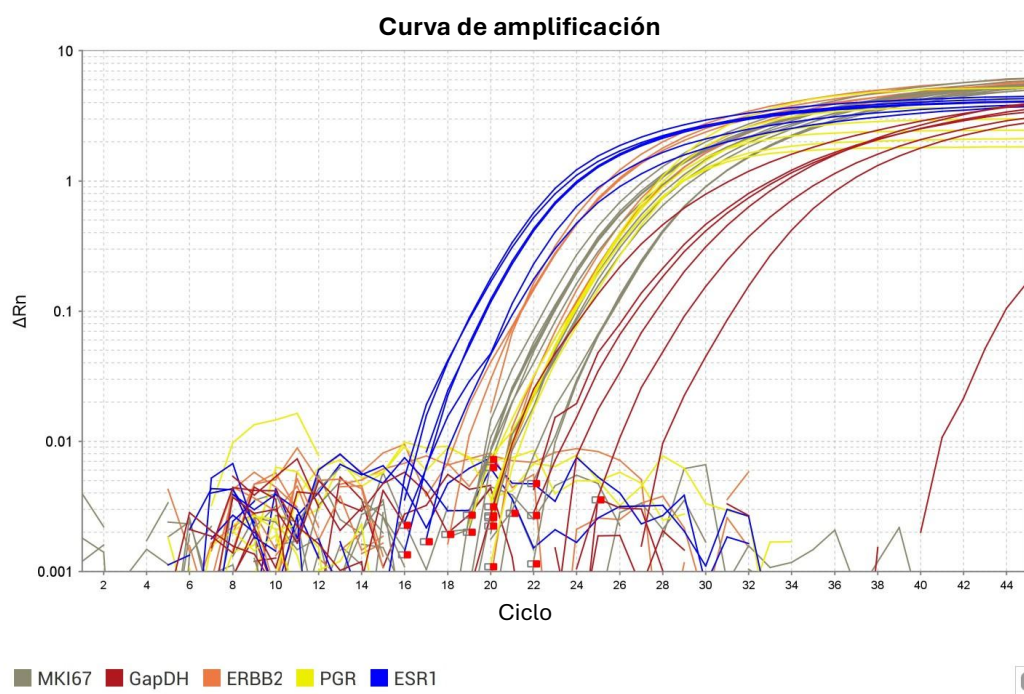
La comparación entre las concentraciones de DNA y RNA (ng totales) a partir del buffy coat y el tejido tumoral mostró una amplia dispersión entre ambos tipos de estirpe celular (Figura 2). Se observó mayor concentración de DNA en muestras de buffy coat en comparación con muestras de tejido tumoral (figura 2A), sin embargo, no se mostró significancia estadística. Interesantemente, se observó una mayor dispersión y una mediana mayor en muestras de tejido tumoral en comparación con las muestras de RNA de buffy coat (figura 2B). Al realizar los análisis con la prueba U de Mann-Whitney con enfoque bilateral para datos sin normalidad, se distinguió una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de RNA ( $p = 0.01$ ) (figura 2B).



**Figura 2. Comparación de las concentraciones los ácidos nucleicos.** Concentración de **(A)** DNA y **(B)** RNA en nanogramos totales. Los valores de p fueron obtenidos mediante la aplicación de la prueba U de Mann-Whitney.

### Análisis de expresión de genes clave para el cáncer de mama

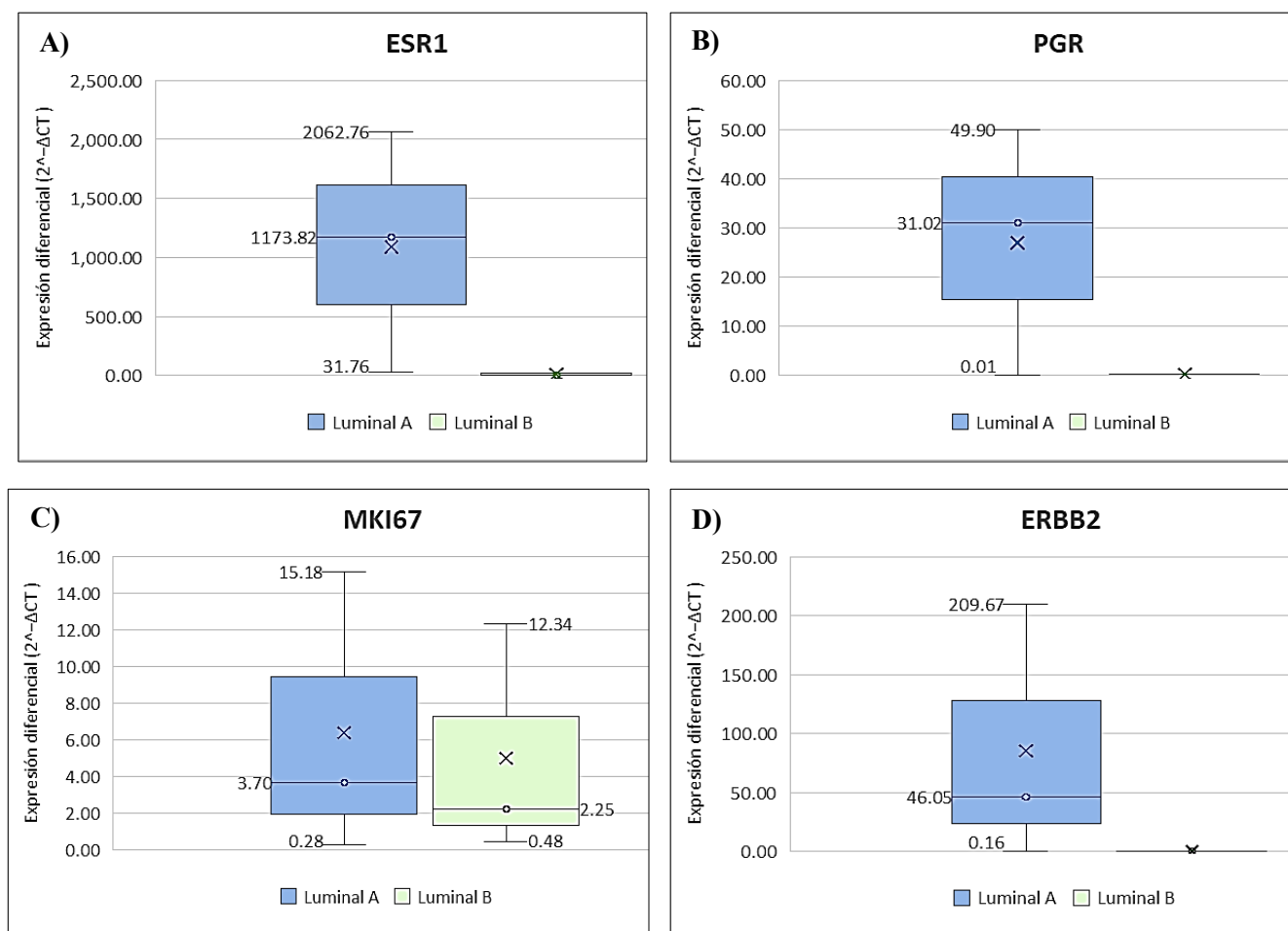
Se seleccionaron siete muestras de RNA obtenido de tejido tumoral para el análisis de expresión génica de cuatro genes claves para el desarrollo de cáncer de mama más un gen endógeno. Para cada muestra se analizó cada gen por triplicado técnico. La figura 3 muestra las curvas de amplificación de cada gen y los ciclos a los cuales amplificó para cada muestra en el eje de las X (cycle threshold o CT). Estos datos indican que las muestras de RNA aislado de tejido tumoral con el método por columnas es viable para el análisis de expresión de genes de interés clínico.



**Figura 3. Curvas de amplificación de RT-qPCR para los genes evaluados en muestras de RNA tumoral.** Cada gen representa un color distinto, el cual es identificado mediante el uso de sondas TaqMan marcadas con fluoróforos FAM.

En el análisis de expresión relativa de los genes *ESR1*, *PGR* y *ERBB2* se observó que la mediana de expresión del grupo luminal A fue mayor en comparación con la mediana del grupo luminal B, lo que indica una mayor expresión de estos genes (figura 4A, B y D). En contraste, para gen de proliferación *MKI67* se observó una mediana de expresión similar entre luminal A y B (Figura 4C). Al realizar el análisis estadístico mediante la prueba U de Mann-Whitney, se observó una diferencia estadísticamente significativa en la expresión del gen *ESR1* entre los grupos luminal A y luminal B ( $p = 0.04$ ) (figura 4A), mientras que no se

observó significancia estadística para los genes *PGR* ( $p = 0.14$ ), *MKI67* ( $p = 0.24$ ) y *ERBB2* ( $p = 0.06$ ) (figura 4B, C y D).



**Figura 4. Comparación de la expresión relativa en los subtipos moleculares Luminal A y Luminal B.** Cuatro genes fueron analizados: (A) *ESR1*, (B) *PGR*, (C) *MKI67* y (D) *ERBB2*. Los valores de  $p$  fueron obtenidos mediante la prueba U de Mann-Whitney que compara la mediana de dos grupos independientes.

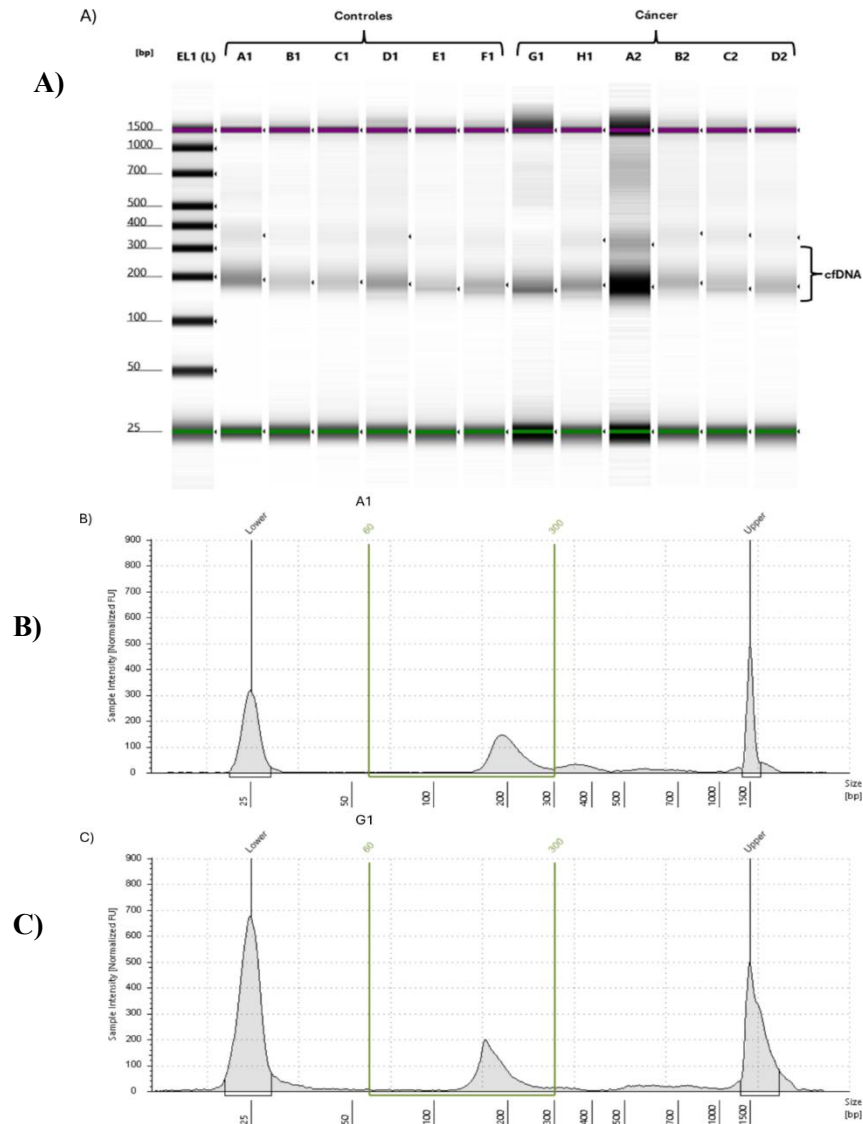
## Extracción y análisis de cfDNA

Se seleccionaron 54 muestras de plasma para la extracción de cfDNA, de las cuales 24 correspondieron a pacientes con cáncer de mama y 30 a pacientes sanas (controles). Las características clínico-patológicas de las pacientes oncológicas se resumen en la tabla 5.

**Tabla 5. Características clínico-patológicas de las pacientes con cáncer de mama y sus rangos de edad.**

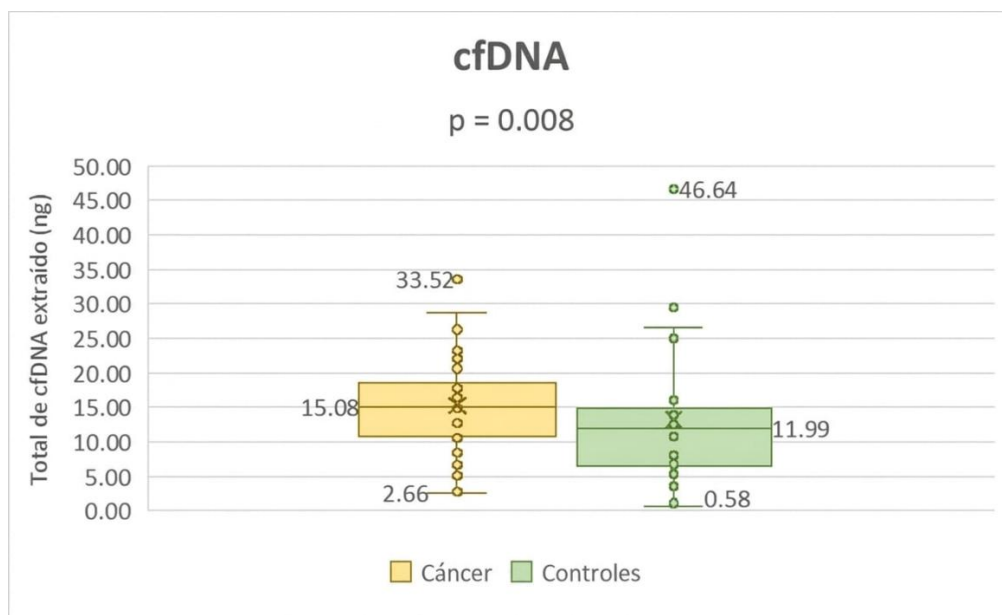
| Característica               | Categoría        | n = 24 | %     |
|------------------------------|------------------|--------|-------|
| <b>Edad</b>                  | <b>≥ 40</b>      | 23     | 95.8% |
|                              | <b>&lt; 40</b>   | 1      | 4.2%  |
| <b>Estadio clínico</b>       | <b>I</b>         | 2      | 8.3%  |
|                              | <b>II</b>        | 16     | 66.7% |
|                              | <b>III</b>       | 5      | 20.8% |
|                              | <b>IV</b>        | 0      | 0%    |
| <b>Grado histopatológico</b> | <b>I</b>         | 1      | 4.2%  |
|                              | <b>II</b>        | 18     | 75%   |
|                              | <b>III</b>       | 4      | 16.7% |
| <b>Subtipo molecular</b>     | <b>Luminal A</b> | 18     | 75%   |
|                              | <b>Luminal B</b> | 4      | 16.7% |
|                              | <b>HER2+</b>     | 1      | 4.2%  |
| <b>Metástasis</b>            | <b>Si</b>        | 4      | 16.7% |
|                              | <b>No</b>        | 20     | 83.3% |

La cuantificación del cfDNA mediante electroforesis capilar se llevó a cabo midiendo los fragmentos de 60–300 pb, correspondientes al intervalo donde se concentra la mayor parte del cfDNA circulante (Sanchez et al., 2021). En la figura 5A se observa el tamaño de los fragmentos representativos del cfDNA tanto de pacientes con cáncer de mama como de mujeres control, así como los picos del cfDNA mostrados en el electroferograma (figura 5B).



**Figura 5. Verificación del aislamiento del cfDNA a partir de muestras de plasma. A)** Imagen representativa de la electroforesis capilar donde se observan las bandas correspondientes al cfDNA. EL-1 corresponde a la escalera electrónica, A1–F1 corresponden a muestras control, mientras que G1–D2 corresponden a muestras de pacientes con cáncer de mama. **B)** Electroferograma de una muestra del grupo control y **C)** electroferograma de una muestra de cfDNA aislado de una paciente con cáncer de mama.

Con respecto a la concentración del cfDNA en ng totales entre los grupos, aislado a partir de 4 mL de plasma tanto para las pacientes con cáncer como para el grupo control, se observó que la mediana del grupo de pacientes con cáncer de mama fue significativamente mayor en comparación con el grupo control (figura 6).



**Figura 6. Concentración de cfDNA extraído del plasma de pacientes con cáncer y controles.** El valor de p corresponde a la prueba de Mann–Whitney.

## VÍNCULO DE LAS ACTIVIDADES DESARROLLADAS CON LOS OBJETIVOS DE FORMACIÓN DEL PLAN DE ESTUDIOS

Las actividades realizadas en el Laboratorio de Genómica del Cáncer del INMEGEN permitieron aplicar los conocimientos adquiridos durante la carrera de Biología en el contexto de la investigación biomédica, reforzando la capacidad de aprendizaje y adaptación a distintas áreas de investigación, así como una perspectiva crítica y ética en el área biomédica, lo que motivó la elección del INMEGEN para realizar el servicio social.

Esta experiencia amplió la formación recibida en la UAM-Xochimilco, donde la carrera de Biología proporcionó una base sólida en el método científico, facilitando el análisis de datos y la resolución de problemas complejos en distintas áreas de la biología. Por ejemplo, en el módulo Procesos Celulares Fundamentales se estudiaron aspectos como el crecimiento, la reproducción y la diferenciación celular, así como procesos relacionados con la salud-enfermedad e inmunología. Por su parte, el módulo Energía y Consumo de Sustancias Fundamentales introdujo los principios de bioquímica necesarios para comprender el funcionamiento celular y molecular (Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, 2025).

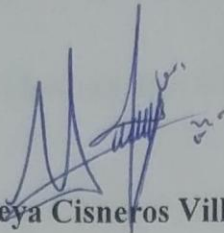
## REFERENCIAS

1. Agilent Technologies. (2019). High sensitivity D1000 ScreenTape assay for TapeStation systems quick guide. <https://www.agilent.com>
2. Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 74(3), 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
3. Cárdenas S. J. (2021). Consenso mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario (Vol. 20, pp. 1–105).
4. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, INEGI. (2023). Estadísticas a propósito del Día Mundial de la Lucha Contra el Cáncer de Mama. <https://www.inegi.org.mx>
5. Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN). (2025). Misión, visión y valores. <https://www.inmegen.gob.mx/el-instituto/mision-vision-y-valores/>
6. Kim, T. (2023). Nucleic acids in cancer diagnosis and therapy. *Cancers*, 15(7), Article 1987. <https://doi.org/10.3390/cancers15071987>
7. Ma, L., Guo, H., Zhao, Y., Liu, Z., Wang, C., Bu, J., Shi, M., Chen, P., Cui, B., Yao, Y., Wang, J., Zhou, T., & Wang, L. (2024). Liquid biopsy in cancer: Current status, challenges and future prospects. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 336. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01982-2>
8. QIAGEN. (2011). AllPrep DNA/RNA/Protein Mini handbook. <https://www.qiagen.com>
9. Sanchez, C., Roch, B., Mazard, T., Blache, P., Al Amir Dache, Z., Pastor, B., Pisareva, E., Tanos, R., & Thierry, A. R. (2021). Circulating nuclear DNA structural features, origins, and complete size profile revealed by fragmentomics. *JCI Insight*, 6(7), e144561. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.144561>
10. Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nature Protocols*, 3(6), 1101–1108. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.73>
11. Shin, J. H. (2018). Nucleic acid extraction and enrichment. En *Advanced techniques in diagnostic microbiology: Volume 1: Techniques* (pp. 273–292). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-33900-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33900-9_13)

12. Thermo Fisher Scientific. (2006). SYBR Green I nucleic acid gel stain. <https://assets.thermofisher.com>
13. Thermo Fisher Scientific. (2012). TaqMan gene expression assays. <https://assets.thermofisher.com>
14. Thermo Fisher Scientific. (2017). High capacity cDNA reverse transcription kit. <https://assets.thermofisher.com>
15. Thermo Fisher Scientific. (2018). TRIzol reagent user guide. <https://assets.thermofisher.com>
16. Thermo Fisher Scientific. (2023). NanoDrop 1000 spectrophotometer V3.8 user's manual. <https://assets.thermofisher.com>
17. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. (2025). Dirección de Ciencias Biológicas y de la Salud. <https://cbstmp.xoc.uam.mx/biologia/plan-y-programas-de-estudios/t>

**VISTO BUENO DE LAS ASESORAS DEL SERVICIO SOCIAL**

Asesora Externa



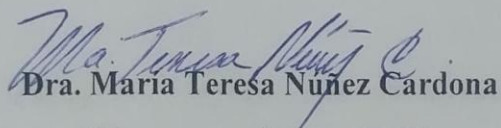
**Dra. Mireya Cisneros Villanueva**

Cédula profesional: 14586300

Instituto Nacional de Medicina Genómica

Laboratorio de Genómica del Cáncer

Asesora Interna



**Dra. María Teresa Núñez Cardona**

Número económico: 14473

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

Departamento Del Hombre y su Ambiente