



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Proyecto de Servicio Social

Revisión bibliográfica de análisis metabólicos por RMN y EM en biofluidos de  
pacientes con cáncer de mama para su uso como herramienta diagnóstica  
temprana

Nombre: Francisco Castillo Diana Alba

Matricula: 2162031710

Asesores:

Dr. Ernesto Sánchez Mendoza  
No. Económico: 35036

Dra. Nimsi Campos Xolalpa  
No. Económico: 900061

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>2</b>
3.1	Objetivo general.....	2
3.2	Objetivos específicos .....	2
<b>4</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>2</b>
<b>5</b>	<b>MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES</b> .....	<b>3</b>
5.1	Epidemiología de la enfermedad .....	3
5.2	¿Qué es el cáncer? .....	3
<b>5.3</b>	<b>Cáncer de mama</b> .....	<b>5</b>
5.3.1	Estadificación del cáncer de mama .....	6
5.3.2	Gradación del cáncer de mama.....	8
5.3.3	Clasificación histopatológica del cáncer de mama .....	8
5.3.3.1	Carcinoma ductal in situ (DCIS) .....	8
5.3.3.2	Carcinoma lobulillar in situ (LCIS) .....	8
5.3.3.3	Cáncer de seno invasivo .....	8
5.3.4	Clasificación molecular del cáncer de mama .....	9
5.3.4.1	Receptores hormonales.....	9
5.3.4.2	Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) .....	10
5.3.4.3	Cáncer de mama triple negativo (CMTN).....	10
5.3.5	Señalización celular relacionada con el CM.....	12
5.3.5.1	Vía PI3K/AKT/mTOR (PAM).....	12
5.3.5.2	Vía IL-6/JAK/STAT3 .....	14
5.3.5.3	Vía del receptor de prolactina (PRLR).....	15
5.3.5.4	Vía HER2/EGFR.....	16
5.3.6	Diagnóstico convencional .....	18
5.3.7	Biopsias líquidas .....	18
<b>5.4</b>	<b>Metabolómica</b> .....	<b>19</b>
5.4.1	Resonancia Magnética Nuclear (RMN) .....	20
5.4.1.1	RMN 1D .....	21
5.4.1.2	RMN 2D .....	22
5.4.2	Espectroscopía de Masas (EM).....	23
5.4.2.1	CG – EM .....	23
5.4.2.2	CL – EM .....	24
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>32</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>34</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>36</b>

## 1 Introducción

El cáncer de mama es el más prevalente y la primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres en todo el mundo. En 2022 se registraron cerca de 2.3 millones de casos nuevos (World Health Organization: WHO, 2024) la tasa de supervivencia a cinco años varía según su estado, subtipo y metástasis (Scimeca et al. 2019).

La característica más desafiante del cáncer de mama es su heterogeneidad, ya que son diferentes en términos de incidencia, pronóstico, perfiles moleculares, morfología, expresión de marcadores y su respuesta o resistencia a tratamientos, debido a esto, una muestra del tumor tomada durante una biopsia no siempre representa la composición real del tumor (Guo et al. 2023), por ello, es importante contar con diagnósticos certeros y confiables.

Las biopsias líquidas han emergido como una estrategia innovadora y no invasiva para la detección y monitorización de cáncer (Pérdomo et al. 2020, De Rubis et al. 2019), este tipo de muestras, al estar en contacto directo con el tumor, permiten obtener información del circuloma tumoral, es decir, de los componentes circulantes derivados del tumor como células tumorales y vesículas extracelulares, que promueven la liberación de metabolitos, proteínas y ácidos nucleicos tumorales, estos elementos son de gran importancia ya que, en los últimos años se ha investigado su uso como potenciales biomarcadores en el diagnóstico del cáncer de mama (De Rubis et al. 2019).

La metabolómica es el estudio analítico para la identificación y cuantificación de metabolitos en muestras biológicas, es decir, moléculas como péptidos, lípidos, aminoácidos, carbohidratos y ácidos orgánicos, cuyo conjunto se denomina metaboloma (Nalbantoglu, 2019) y está influenciado por factores internos y externos, por ello, refleja el estado de salud del organismo que lo produce. En el contexto de cáncer de mama, la metabolómica permite la identificación de alteraciones metabólicas durante el desarrollo y la progresión de esta enfermedad mediante la identificación de biomarcadores, caracterización de subtipos y la evaluación de respuesta al tratamiento (Cala et al. 2018, Wang et al. 2018).

Las técnicas analíticas usadas en metabolómica son la resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas (EM). La RMN es una técnica no destructiva que permite la identificación y cuantificación de metabolitos específicos, ofreciendo una visión integral de los cambios metabólicos asociados con el cáncer de mama (Gowda & Raftery, 2021), mientras que la EM, aunque es una técnica destructiva, tiene una alta sensibilidad que permite la identificación de más de 1000 metabolitos en concentraciones menores de 10 y hasta 100 nM (Emwas et al. 2019), sin embargo, usualmente es necesario utilizarla acoplada a un sistema de separación previo como la cromatografía o la electroforesis capilar (Panneerselvam et al. 2022).

La identificación de biomarcadores específicos presentes en el cáncer de mama es un paso crucial hacia la mejora de estrategias de detección temprana, por ello, en la presente revisión se investigará el metaboloma asociado a esta enfermedad, además, se proporcionará una descripción general de las oportunidades actuales del análisis metabolómico en biofluidos de pacientes de la misma, evaluando su potencial como herramienta diagnóstica temprana y destacando las perspectivas futuras en esta área de investigación, también se abordarán los desafíos que se enfrentan en la implementación de biopsias líquidas en la práctica clínica así como las ventajas y limitaciones de cada técnica en el contexto clínico para definir cuál de ellas podría proporcionar un enfoque más completo y robusto en el análisis metabolómico.

## 2 Planteamiento del problema y justificación

La incidencia de cáncer de mama ha aumentado considerablemente durante los últimos años, siendo, además, el cáncer con mayor mortalidad en mujeres a nivel mundial debido a al diagnóstico tardío y la falta de acceso al tratamiento. La detección temprana es fundamental para aumentar las tasas de supervivencia y mejorar los resultados clínicos en pacientes con dicha enfermedad.

La identificación de biomarcadores de cáncer de mama en biofluidos mediante técnicas metabolómicas puede llevar al desarrollo de herramientas de diagnóstico más sensibles y específicas. Estos biomarcadores podrían no solo facilitar la detección de la enfermedad en sus fases iniciales, sino también proporcionar información acerca de la progresión y la respuesta al tratamiento, permitiendo la personalización de las estrategias terapéuticas. Al comprender mejor la eficacia de técnicas como la RMN y la EM en la identificación de biomarcadores en diferentes biofluidos, es posible optimizar la selección del método y del tipo de muestra, esto ayudará a establecer protocolos de diagnóstico eficientes y confiables, mejorando la precisión y aplicabilidad clínica de las técnicas metabolómicas.

Al examinar múltiples estudios, esta revisión bibliográfica permite consolidar los resultados obtenidos por diferentes investigadores, de esta manera, es posible establecer la robustez de los biomarcadores identificados y su potencial en la aplicabilidad clínica para proporcionar una base para su implementación futura en diagnósticos clínicos.

## 3 Objetivos

### 3.1 Objetivo general

Realizar una revisión bibliográfica sobre análisis metabolómicos mediante RMN y EM en biofluidos de pacientes con cáncer de mama con el fin de evaluar su importancia como herramienta para el diagnóstico preventivo de manera no invasiva.

### 3.2 Objetivos específicos

1. Determinar las principales rutas metabólicas afectadas en pacientes de cáncer de mama
2. Identificar firmas metabolómicas del cáncer de mama en diferentes fluidos biológicos que permitan su detección temprana
3. Contrastar alteraciones metabolómicas en cada tipo y etapa del cáncer de mama
4. Evaluar las diferencias y similitudes en los perfiles metabolómicos obtenidos mediante RMN y EM en biofluidos de pacientes con cáncer de mama, destacando las ventajas y limitaciones de cada técnica.
5. Establecer el biofluido idóneo para el análisis metabolómico por RMN y EM considerando su sensibilidad y especificidad en el diagnóstico temprano de cáncer de mama.

## 4 Materiales y Métodos

Mediante una búsqueda detallada en distintas bases de datos como PubMed, ScienceDirect, Wiley, Nature, Springer, SciELO y Redalyc se recopilaron artículos, libros y tesis relacionadas al tema, las palabras clave para la búsqueda fueron “cáncer de mama”, “biopsia líquida”, “metabolitos”, “metaboloma”, “biofluidos”, “biomarcadores metabólicos”, “firma metabólica”, “perfiles metabólicos”, “plasma”, “suero”, “orina”, “RMN”, “resonancia magnética nuclear”, “EM”, “espectrometría de masas”, estas palabras fueron buscadas en español e inglés, también se utilizaron los operadores booleanos “and”, “or”, “not”, esto para optimizar la recuperación de información pertinente. Se analizaron las referencias de todos los artículos en búsqueda de estudios potenciales.

Todos los estudios incluidos en esta revisión cumplieron con los criterios de inclusión: artículos, libros y tesis publicados desde enero de 2018 hasta marzo de 2024, diagnóstico de los pacientes confirmado previamente, población de estudio conformada totalmente o en su gran mayoría por mujeres, estudios realizados de cualquier zona geográfica y etnias de cualquier zona del mundo. Criterios de exclusión: investigaciones con más del 5% de población total analizada masculina, estudios de pacientes con tratamiento previo contra el cáncer de mama, estudios realizados en modelos animales o sin resultados concretos.

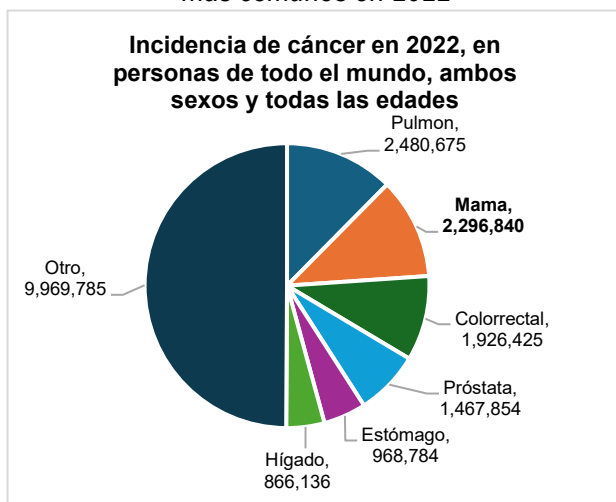
La información recopilada se organizó temáticamente utilizando tablas, mapas conceptuales y gráficas con el objetivo de visualizar relaciones y patrones entre los estudios analizados para finalmente generar una conclusión y realizar el informe final.

## 5 Marco Teórico y Antecedentes

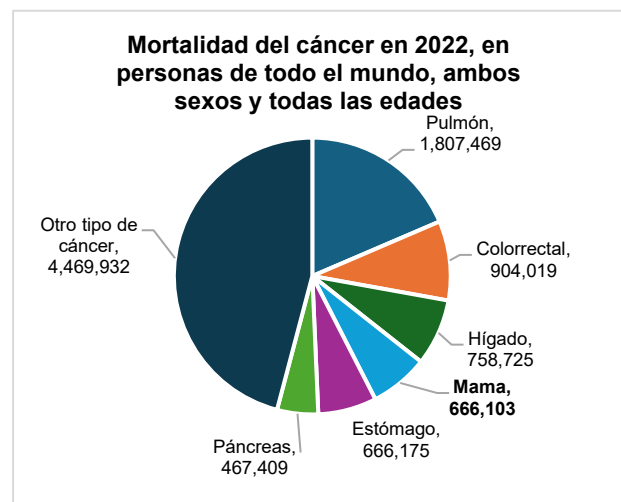
### 5.1 Epidemiología de la enfermedad

Actualmente el cáncer es considerado como una de las principales causas de muerte a nivel mundial, en 2022 se estimaron cerca de 20 millones de casos nuevos y se registraron alrededor de 10 millones de decesos (World Health Organization, 2023). En las gráficas 1 y 2 se detallan los principales tipos de cáncer presentes en estas cifras.

Gráfica 2 Distribución de casos de los cánceres más comunes en 2022



Gráfica 1 Distribución de muertes por cánceres más comunes en 2022



De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer de mama tiene altas tasas de incidencia y mortalidad (gráficas 1 y 2). En México, durante 2022 se registraron 23,790 casos nuevos de cáncer de mama entre la población de 20 años y más, también se observó que, de las 87,880 muertes por tumores malignos en las personas del mismo rango de edad, 7,888 fueron por cáncer de mama, cifra que aumentó a 8,034 en 2023, donde 7,992 (99.5%) ocurrieron en mujeres y 42 (0.5%) en hombres (INEGI, 2023, INEGI, 2024).

### 5.2 ¿Qué es el cáncer?

El término neoplasia se refiere a cualquier crecimiento nuevo y anormal de tejido, ya sea de naturaleza benigna o maligna, mientras que el término cáncer se relaciona únicamente con tumores malignos (*Breast Cancer Screening*, 2023) que pueden surgir en cualquier órgano y dar lugar a distintas manifestaciones clínicas, dependiendo de su ubicación.

**Cáncer** es un conjunto de enfermedades que surgen de la división descontrolada de un grupo de células denominadas tumorales o cancerígenas, estas células poseen características específicas entre las cuales se encuentran (Sánchez et al. 2022; *What is cancer?*, 2021):

- Autosuficiencia a señales de crecimiento.
- Resistencia a la apoptosis como consecuencia de la inactivación de *p53* o la activación de genes antiapoptóticos.
- Estimulación de la angiogénesis local mediante la secreción mediadores como factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) e interleucina 8 (IL-8).
- Deficiencia en la reparación del ADN.
- Capacidad para evadir respuestas del sistema inmunológico.
- Invasión de tejidos locales.

Dichas características son el resultado de daños en el ADN celular que modifican su metabolismo, estructura y función de las células, alterando el balance normal entre proliferación y muerte celular, todos estos cambios brindan el potencial a la célula maligna para diseminarse a otros sitios del cuerpo (metástasis).

Los diferentes daños genéticos celulares pueden deberse a variaciones esporádicas y/o adquiridas en células somáticas o germinales. Las primeras, como su nombre lo indica, se transmite directamente de una generación a otra y suelen ser menos frecuentes, mientras que las segundas ocurren debido a la exposición a factores carcinógenos físicos, como radiaciones UV o ionizantes, químicos como arsénico, mercurio y plomo o biológicos, o en algunos casos por medio de infecciones crónicas causadas por bacterias como *Helicobacter pylori*, o virus de Epstein-Barr (EBV), virus de la hepatitis B o C (HBV y HCV, respectivamente) e inclusive parásitos como *Opisthorchis viverrini* (Krump & You, 2018). Es importante aclarar que la mayoría de estas infecciones desaparecen comúnmente, pero en muy pocas ocasiones, pueden incrementar el riesgo de desarrollar cáncer ya sea por la estimulación de la inflamación crónica o por producción de metabolitos con actividad cancerígena (*Risk Factors: Infectious Agents*, 2019).

Las alteraciones genéticas que promueven el cáncer se localizan principalmente en genes que regulan procesos como la apoptosis, angiogénesis y proliferación celular.

En células humanas sanas, los protooncogenes codifican proteínas que regulan de manera normal la cascada de eventos que sirven para mantener el control de la progresión del ciclo celular y el estado normal de la diferenciación de la célula. Cuando estos protooncogenes son afectados por una variación genética se denomina oncogén y como consecuencia, codifican una oncoproteína que provoca el crecimiento, división y proliferación celular desregulada (*Oncogene*, 2022; Bermúdez et al. 2019). Investigaciones recientes también sugieren que las proteínas producidas por algunos oncogenes trabajan para suprimir el sistema inmunitario, lo que reduce la posibilidad de que las células inmunitarias reconozcan y eliminen células que presenten alguna alteración genética (Zakiryanova et al. 2018).

Así mismo, los genes supresores de tumores son responsables de controlar la proliferación, reparación celular y la apoptosis, sin embargo, cuando estos genes son mutados recesivamente, se presenta una pérdida de función de las proteínas que codifica, produciendo una falla en los mecanismos de control y reparación internos de la célula, induciendo su proliferación y crecimiento descontrolado, además de la acumulación de nuevas mutaciones (Sánchez, 2013) por lo tanto, la probabilidad de desarrollar cáncer es mayor ya que las células afectadas no se reparan y continúan sobreviviendo en lugar de sufrir apoptosis.

Un ejemplo es el gen *BRCA1* que codifica a una proteína que actúa como un supresor de tumores, la proteína BRCA1, que está implicada en la reparación del DNA dañado, ya sea por radiación natural y médica o por otras exposiciones ambientales. Los protooncogenes *KRAS* y *BRAF*, codifican a una GTPasa y una serina treonina cinasa, respectivamente, ambas son parte de una vía de señalización conocida como la vía RAS/MAPK que regula el crecimiento y la división celular, así como su diferenciación, movimiento (migración o metástasis) y apoptosis (*KRAS Proto-oncogene*, 2024; *BRCA1 DNA Repair Associated*, 2024; *B-Raf Proto-oncogene*, 2024)

La Clasificación Internacional de Enfermedades Oncológicas en su tercera edición (CIE-O-3) especifica que, según los tipos de tejido, el cáncer se puede clasificar en 6 categorías principales (*Cancer Classification*, 2024).

**Carcinoma:** Se origina en la capa epitelial de las células que forman el revestimiento de las partes externas del cuerpo, como la piel, o el revestimiento interno de los órganos del cuerpo. Es el único tipo de cáncer que tiene una fase no invasiva, por lo tanto, son los únicos cánceres para los que se realizan pruebas de detección de manera rutinaria. La mayoría de los carcinomas afectan a órganos o glándulas como las mamas, pulmones, colon, próstata o vejiga y se presentan como un tumor sólido.

**Sarcoma:** Son cánceres de huesos y tejidos blandos del cuerpo que están formados por células llamadas mesenquimales, este tipo de cáncer afecta a los huesos, los músculos, tendones, ligamentos, cartílagos, nervios, tejidos sinoviales (tejidos de articulaciones) y tejidos grasos.

**Mieloma:** Son cánceres que se originan en las células plasmáticas que produce la médula ósea, y a su vez, estas células se encargan de la producción de proteínas que se encuentran en la sangre, como los anticuerpos.

**Leucemia:** Es un cáncer que se origina en las células de la médula ósea, produciendo un exceso de glóbulos blancos inmaduros que no llevan a cabo sus funciones, debido a esto, el paciente suele ser más propenso a sufrir infecciones.

**Linfoma:** Son un tipo de cáncer que se desarrolla en el sistema linfático, una red de vasos, ganglios y órganos (bazo, amígdalas y timo) que filtran los fluidos corporales y producen glóbulos blancos o linfocitos que combaten las infecciones. A diferencia de las leucemias, los linfomas son tumores sólidos.

**Tipos mixtos:** Los componentes presentes en este tipo de cáncer pueden pertenecer a diferentes categorías, un ejemplo de ellos es el carcinosarcoma, tumor que, como su nombre lo dice, es una mezcla de carcinoma y sarcoma (*Carcinosarcoma*, s. f.).

### 5.3 Cáncer de mama

El cáncer de mama (CM) surge en las células epiteliales de revestimiento y puede tener origen en los lóbulos, glándulas productoras de leche o conductos, vías que transportan la leche producida hasta el pezón. Cuando el cáncer se limita a estos sitios no produce síntomas, no obstante, con el paso del tiempo, puede volverse invasivo y propagarse al tejido mamario circundante para posteriormente diseminarse a los ganglios linfáticos cercanos y finalmente hacer metástasis (*World Health Organization*, 2024). En la ilustración 1 se esquematizan las partes de la mama.

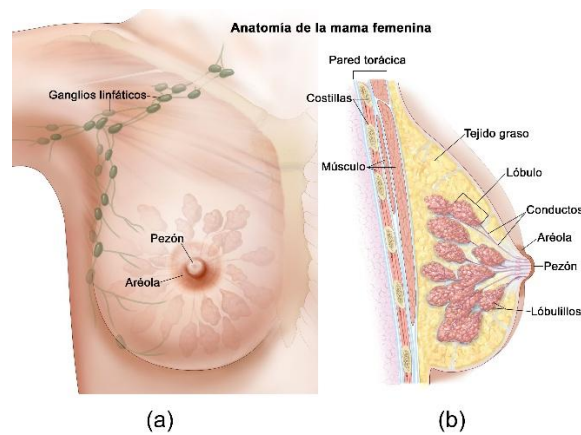


Ilustración 1. Anatomía de la mama femenina. (a) Parte externa de la mama, señalando el pezón y la aréola (b) Parte interna de la mama, donde se encuentran los conductos y lóbulos, que a su vez están formados por pequeños lobulillos (Recuperado de Breast Cancer Screening, 2023).

Dado que el cáncer es una enfermedad compleja, heterogénea y multifactorial, es necesario evaluar diversos factores para así poder clasificar a los pacientes y determinar tanto el pronóstico como la respuesta a diversos tratamientos. Por ello, la clasificación del CM puede ser en función de distintos subtipos, principalmente histológicos y moleculares.

### 5.3.1 Estadificación del cáncer de mama

Un sistema importante para clasificar el CM es la estadificación de este. En la década de 1940, el cirujano francés Pierre Denoix propuso un sistema de estadificación de la patología tumoral basada en tres aspectos; el tamaño del tumor, la afectación de los ganglios linfáticos regionales y si existía metástasis a distancia. Este sistema fue aceptado y empleado por la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC) en 1968 y por el Comité Conjunto Americano del Cáncer (AJCC, por sus siglas en inglés) que publicó su primer sistema de estadificación basado en el concepto de tamaño tumoral, afectación ganglionar y metástasis (TNM) (Lucena et al. 2021), en la tabla 1 se detallan dichos criterios, (Estadificación del Cáncer, 2022).

Tabla 1 Estadificación del cáncer de mama basado en TNM (Etapas del Cáncer de Seno, 2021, Sos et al. 2019)

Categoría	Definición	Valores
T (Tumor)	Describe el tamaño del tumor primario, así como su propagación a la piel o a la pared torácica debajo del seno	<p><b>TX:</b> no se puede analizar.</p> <p><b>T0:</b> no hay evidencia de tumor primario.</p> <p><b>Tis:</b> carcinoma <i>in situ</i>.</p> <p><b>T1:</b> tumor <math>\leq 2</math> cm de ancho que invade la lámina propia o la muscular de la mucosa y/o la submucosa.</p> <p><b>T2:</b> tumor que presenta invasión en la submucosa, de entre 2 y 5 cm de ancho.</p> <p><b>T3:</b> el tumor invade la adventicia, dimensión mayor a 5 cm.</p> <p><b>T4:</b> tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica y/o a la piel.</p>

N (nódulos / ganglios)	Indica si el cáncer se ha propagado a los ganglios linfáticos cercanos al seno y cuántos ganglios se encuentran afectados.	<p><b>NX:</b> los ganglios linfáticos adyacentes no se pueden evaluar.</p> <p><b>N0:</b> el cáncer no se ha propagado a los ganglios linfáticos adyacentes.</p> <p><b>N0(i+):</b> área de propagación &lt;200 células y &lt;0.2 mm.</p> <p><b>N1:</b> el cáncer se propagó entre 1 y 3 ganglios linfáticos axilares y/o en los ganglios linfáticos mamarios internos.</p> <p><b>N1mi:</b> propagación en los ganglios linfáticos debajo del brazo con áreas de entre 0.2 y 2 mm.</p> <p><b>N1a:</b> propagación a 1-3 ganglios linfáticos debajo del brazo con área &gt;2 mm de ancho.</p> <p><b>N1b:</b> propagación a los ganglios linfáticos mamarios internos en el mismo lado del cáncer.</p> <p><b>N1c:</b> tanto N1a como N1b están presentes.</p> <p><b>N2:</b> el cáncer se ha propagado a 4-9 ganglios linfáticos debajo del brazo o ha agrandado los ganglios linfáticos mamarios internos.</p> <p><b>N2a:</b> el cáncer se propagó a ganglios linfáticos debajo del brazo con un área de propagación &gt;2 mm.</p> <p><b>N2b:</b> el cáncer se propagó a uno o más ganglios linfáticos mamarios internos.</p> <p><b>N3:</b> cualquiera de los siguientes:</p> <p><b>N3a:</b> el cáncer se propagó a 10 o más ganglios linfáticos axilares o infraclaviculares con por un área de propagación &gt;2 mm.</p> <p><b>N3b:</b> hay presencia de cáncer en al menos un ganglio linfático axilar o bien, en 4 o más y se encuentra poca cantidad en los ganglios linfáticos mamarios internos en la biopsia de ganglio linfático centinela.</p> <p><b>N3c:</b> el cáncer se ha propagado a los ganglios linfáticos supraclaviculares con un área de propagación &gt;2 mm.</p>
M (metástasis)	indica si el cáncer se ha propagado o no a los órganos distantes	<p><b>MX:</b> no se puede evaluar la metástasis.</p> <p><b>M0:</b> no se encuentra metástasis en estudios por imágenes o en examen médico.</p> <p><b>cM0(i+):</b> se encuentra un pequeño número de células cancerosas en la sangre o médula ósea o, se encuentran áreas diminutas de propagación que no miden más de 0.2 mm en los ganglios linfáticos alejados de la axila, clavícula o áreas mamarias internas.</p> <p><b>M1:</b> el cáncer se ha propagado a órganos distantes.</p>

Una vez determinados los valores de T, N y M, esta información se emplea para determinar el estadio clínico del CM, es cual va desde 0 hasta IV, donde el 0 representa un carcinoma *in situ* y el IV un cáncer invasivo. Los cánceres en estadio I son los menos avanzados y a menudo tienen un pronóstico favorable, por el contrario, los que se encuentran en estadio IV son los más avanzados y con un pronóstico poco favorable. En la tabla 2 se muestran los posibles resultados del sistema TNM y el estadio al que pertenecen.

Tabla 2 Estadificación TNM (Estadificación del Cáncer, 2022, Breast, 2016)

Estadio	T	N	M
0	Tis	0	0
I A	1	0	0
I B	0, 1	1mi	0
II A	0 - 2	0, 1	0
II B	2, 3	0, 1	0
III A	0 - 3	1, 2	0

III B	4	0 - 2	0
III C	0 - 4	3	0
IV	0 - 4	0 - 3	1

### 5.3.2 Gradación del cáncer de mama

El CM también se pueden clasificar según su grado, frecuentemente se utiliza el sistema de gradación Nottingham, el cual se basa en 3 características: (1) Formación tubular: expresa cuánto tejido tumoral tiene estructuras sanas de conductos; (2) Grado nuclear: evalúa el tamaño y forma del núcleo de las células tumorales; y (3) Rango mitótico: frecuencia con la que las células se dividen. A cada característica se le asigna una puntuación del 1 al 3, donde el valor mínimo significa que las células y el tejido tumoral se ven en su gran mayoría sanos, por el contrario, el valor más alto significa que las células y el tejido se ven anormales en su gran mayoría. Las puntuaciones obtenidas para las 3 categorías se suman, y se obtiene un resultado entre 3 y 9 que se utiliza para clasificar al cáncer en grado 1, 2 o 3 (*¿Qué Es el Grado del Cáncer de Seno?*, 2021; *Grado del Tumor*, 2022).

- **Grado 1 o bien diferenciado:** Se encuentran las puntuaciones 3, 4 y 5, tiene un pronóstico favorable. Las células son de aspecto relativamente sano que no parecen estar creciendo rápidamente y se encuentran ordenadas en forma de pequeños túbulos para el cáncer ductal y en forma de cordones para el cáncer lobulillar.
- **Grado 2 o moderadamente diferenciado:** Tienen una puntuación de 6 y 7, las células cancerosas tienen un aspecto diferente a las sanas y se dividen más rápido, presenta un pronóstico moderadamente favorable.
- **Grado 3 o escasamente diferenciado:** Con pronóstico desfavorable, presenta puntuaciones de 8 y 9. Las células cancerosas de este grado tienen un aspecto muy diferente a las células sanas, además tienden a crecer y propagarse más rápido.

### 5.3.3 Clasificación histopatológica del cáncer de mama

Esta clasificación se fundamenta en las características anatómicas de su posible origen, de esta manera se identifican dos tipos principales: (1) Ductal: se origina en las células que recubren los conductos mamarios, y (2) Lobulillar: su origen es en el lóbulo de la mama. A su vez, estos subtipos pueden ser no invasivos (*in situ*) o invasivos, esto dependerá de si solo se encuentran afectando las células de origen o se han propagado al tejido mamario cercano.

#### 5.3.3.1 *Carcinoma ductal in situ (DCIS)*

También denominado carcinoma intraductal o cáncer de seno en etapa 0, es un cáncer de seno no invasivo o preinvasivo, es decir, las células que revisten los conductos se han convertido en células cancerosas, pero no se han propagado por las paredes de los conductos hasta el tejido mamario adyacente. En ocasiones puede convertirse en un cáncer invasivo al extenderse hacia los tejidos cercanos al conducto y a partir de ahí, hacer metástasis (*Carcinoma Ductal In Situ (DCIS)*, 2021).

#### 5.3.3.2 *Carcinoma lobulillar in situ (LCIS)*

Las células cancerosas crecen en el recubrimiento de las glándulas productoras de leche del seno, pero no se propaga fuera de los lobulillos, sin embargo, aumenta el riesgo de posteriormente desarrollar cáncer de seno invasivo, por ello, las mujeres que presentan LCIS deben someterse a pruebas periódicas para su detección (*Carcinoma Lobulillar In Situ (LCIS)*, 2022).

#### 5.3.3.3 *Cáncer de seno invasivo*

La mayoría de los cánceres de seno son invasivos, pero hay distintos tipos, los más comunes son el carcinoma ductal invasivo (IDC) y el carcinoma lobulillar invasivo (ILC). El IDC es el tipo más común

de cáncer de seno, representando aproximadamente 8 de cada 10 casos, comienza en las células que revisten los conductos, a partir de ahí, invade la pared de estos y crece en los tejidos mamarios cercanos, una vez aquí, tiene la capacidad de hacer metástasis a través tanto del sistema linfático como del torrente sanguíneo. Como su nombre lo indica, el ILC comienza en los lobulillos, al igual que el IDC puede hacer metástasis, sin embargo, es más difícil de detectar y afecta en 1 de cada 5 casos, ambos senos (*Cáncer de Seno Invasivo (IDC/ILC)*, 2021).

Esta clasificación histopatológica brinda la posibilidad de establecer un pronóstico y ayudar a indicar terapias adyuvantes al tratamiento quirúrgico, sin embargo, la falta de indicadores más específicos puede conllevar a un infra o sobretreatmento, debido a esto, se implementó una clasificación molecular.

#### 5.3.4 Clasificación molecular del cáncer de mama

Con el desarrollo de técnicas más sofisticadas, es posible analizar el origen genético del cáncer de mama, estas técnicas han dado lugar a una clasificación mucho más precisa basada principalmente en la presencia celular de receptores hormonales de superficie de estrógeno (RE) y progesterona (RP) y la amplificación del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) (Lucena et al. 2021; Horvath, 2021).

##### 5.3.4.1 Receptores hormonales

Algunos cánceres de mama humanos dependen de hormonas esteroideas, dicho efecto está mediado por los receptores de estrógeno (RE) y los receptores de progesterona (RP) (Ali & Coombes, 2000).

RE y RP son receptores de superficie que median procesos de transcripción celular. En la glándula mamaria se expresan ambos receptores, los cuales tienen la función de llevar a cabo procesos de replicación, en condiciones fisiológicas se encargan de mantener el equilibrio celular, pero en procesos tumorales permiten la replicación de células que los sobreexpresan y generan el rápido crecimiento del tumor. Por lo tanto, si estos receptores hormonales están presentes, esto significa que el crecimiento de las células cancerosas es impulsado por las hormonas estrógeno y/o progesterona (Sarı & Yalçın, 2016).

Los RE son receptores regulados por ligandos que pertenecen a la familia de receptores nucleares de esteroides, funcionan como factores de transcripción y transducen señales hormonales en una gran variedad de respuestas fisiológicas en distintos órganos. Existen dos isoformas de RE, RE $\alpha$  y RE $\beta$ , ambas se encuentran estructuralmente relacionadas, sin embargo, son los productos de dos genes separados (*ESR1*, locus: 6q25.1-q25.2 y *ESR2*, locus: 14q23.2-q23.3, respectivamente) que se expresan diferencialmente en los tejidos (Ali & Coombes, 2000). Los RE están conformados por dos dominios, el de unión a ADN, que tiene gran afinidad y especificidad a secuencias llamadas ERE (elementos de respuesta a estrógenos) para regular las tasas de transcripción de los genes blanco; y el dominio de unión al ligando, que se une a los estrógenos (Sarı & Yalçın, 2016). En las glándulas mamarias sanas, el estradiol se une tanto a RE $\alpha$  como al RE $\beta$  para controlar la proliferación y diferenciación celular (Helguero et al. 2005). Ambas isoformas de RE se expresan a niveles igualmente bajos en células sanas mientras que en las células de CM expresan en mayor cantidad el RE $\alpha$  que el RE $\beta$  (Sarı & Yalçın, 2016).

Los RP también son miembros de la familia de receptores nucleares dependientes de ligandos, la progesterona se une a dos isoformas predominantes, RP-A y RP-B, las cuales se transcriben a partir del mismo gen, *PGR* (locus 11q22-q23) por dos promotores distintos que tienen diferentes actividades transcripcionales y funcionales, RP-A puede actuar para suprimir la función de RP-B, que a menudo actúa como un potente activador de la transcripción de genes diana (Li et al. 2022; Trabert et al. 2019). Las dos isoformas se coexpresan en niveles similares en el seno sano, sin embargo, en carcinomas

ductales *in situ* y lesiones mamarias invasivas generalmente predomina la isoforma PR-A (Li et al. 2022).

#### 5.3.4.2 Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2)

La familia de HER regulan el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación celular a través de múltiples vías de transducción de señales y participan en la proliferación y diferenciación celular, la familia está compuesta por cuatro miembros principales, HER1, HER2, HER3 y HER4. Tres miembros de esta familia (HER1, HER3 y HER4) se unen a al menos 11 ligandos peptídicos conocidos, lo que da lugar a la homo y heterodimerización entre estos receptores y las subsiguientes cascadas de señalización tirosina quinasa que estimulan la posterior proliferación, migración, invasión y supervivencia de las células, todas ellas características del cáncer. HER2 no tiene un ligando conocido, pero es el compañero de dimerización preferido de los otros tres receptores, principalmente de HER1 y HER3 (Iqbal & Iqbal, 2014; Hayes, 2019).

HER2, codificado por el gen *ERBB2* y con *locus* 17q12, se localiza en la membrana de las células y se sobreexpresa en el 15-30% de los cánceres de mama, los cuales pueden tener hasta 50 copias del gen *ERBB2* (Iqbal & Iqbal, 2014).

Una prueba de inmunohistoquímica (IHQ) otorga una puntuación que va desde 0 hasta 3+ y que mide la cantidad de proteína receptora HER2 en la superficie de las células en una muestra de tejido de CM. El resultado de la prueba de IHQ puede arrojar 3 resultados distintos (*Breast Cancer HER2 Status | What Is HER2 Status?*, 2022):

**0/1+:** el cáncer se considera HER2-.

**2+:** el resultado no está claro y se denomina “equivoco”, por lo tanto, tiene que realizarse mediante una prueba FISH para aclararlo.

**3+:** el cáncer se considera HER2+.

Los cánceres de mama HER2+ tienen una alta incidencia de metástasis cerebrales, estos tumores tienden a diseminarse rápidamente a los ganglios linfáticos axilares, los pulmones, el hígado, la médula ósea, los ovarios y las glándulas suprarrenales (Hedayatzadeh-Omran et al. 2015).

#### 5.3.4.3 Cáncer de mama triple negativo (CMTN)

El término “triple negativo” generalmente se refiere a que las células de este cáncer no presentan RE, RP y tampoco tienen una amplificación del gen *ERBB2*, de acuerdo con las pautas de la Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica/Colegio de Patólogos Estadounidenses (ASCO/CAP), los CMTN se caracterizan por una expresión celular de receptores de progesterona y estrógeno  $\leq 1\%$  y expresiones de HER2 entre 0 y 1+ (Almansour, 2022).

El CMTN tiende a ser más común en mujeres menores de 40 años (McGuire et al. 2015), con descendencia afroamericana, o que presentan una variación genética en el gen *BRCA1*. Los CMTN crecen y se diseminan más rápido que otros y tienen un peor pronóstico, además, su tratamiento es limitado ya que, debido a sus características, tanto la terapia hormonal como los medicamentos dirigidos a HER2 no son útiles para tratarlos, por lo tanto, solo la quimioterapia puede funcionar (*Breast Cancer Hormone Receptor Status Estrogen Receptor*, 2021).

Los CMTN constituyen del 15 al 25% de todos los cánceres de mama (Yin et al. 2020); tienen un comportamiento relativamente agresivo comparados con otros subtipos de CM, teniendo una tasa de supervivencia media de aproximadamente 10.2 meses en perspectiva con la terapia disponible en la actualidad, además, con una tasa de supervivencia a los 5 años del 65% en los casos de tumores

regionales mientras que en los casos en los que el tumor se extiende a órganos distantes alcanza solo el 11% (Almansour, 2022).

Lehmann et al. (2011) informaron seis subtipos de CMTN en función de su heterogeneidad molecular: similares a basales (BL1 y BL2), inmunomodulador (IM), similares a mesenquimales (M), similares a tallos mesenquimales (MSL) y con expresión de receptores de andrógenos luminales (LAR) (Almansour, 2022, Yin et al. 2020, Lucena et al. 2021).

Sin embargo, Lehmann et al. (2016) redefinieron la clasificación de CMTN en cuatro subtipos: BL1, BL2, M y LAR, ya que comprobaron que los subtipos IM y MSL representan tumores con importante infiltración linfocitaria y células mesenquimales asociadas al tumor, respectivamente, estos subtipos se describen en la tabla 3. Además, analizaron la respuesta al tratamiento neoadyuvante por subtipos y concluyeron que la tasa de respuesta patológica completa fue significativamente mayor en el subtipo molecular BL1 comparado con el resto de los subtipos, siendo BL2 y LAR los que alcanzaron menor tasa de respuesta.

Tabla 3 Reacomodo de subtipos genómicos de CMTN por Lehmann y colaboradores (Lehmann et al. 2016)

Subtipo CMTN	Características	Principales genes asociados
Basal 1 (BL1)	Aumento de expresión génica del ciclo celular Deleción de genes de reparación del DNA Amplificación de genes de proliferación celular	<i>MYC, PIK3CA, CDK6, AKT2, KRAS, FGFR1, IGF1R, CCNE1, CDKN2A/B, BRCA1, BRCA2, PTEN, MDM2, TP53, STAT4</i>
Basal 2 (BL2)	Activación anormal de vías de señalización del factor de crecimiento (vías EGF, NGF, MET Wnt/ $\beta$ -catenina y IGF1R) Expresión de marcadores mioepiteliales Activación de vías de glucólisis y gluconeogénesis	<i>BRCA1, TP53, PTEN, CDKN2A, UTX, MME, EGFR, MET, EPHA2, RB1</i>
Mesenquimatoso (M)	Motilidad celular (regulación de actina por Rho) Interacción con la matriz extracelular de <i>PIK3CA</i>	<i>PTEN, RB1, TP53, PIK3CA, TP53</i>
Receptor de andrógenos luminales (LAR)	Enriquecen la síntesis de esteroides y el metabolismo de andrógenos/estrógenos	<i>PIK3CA, CDH1, PTEN, RB1, TP53</i>

Otra clasificación del CM se encuentra basada en perfiles genéticos detallados, esta clasificación ofrece una mejor visión de la biología tumoral y podría guiar el tratamiento clínico, dicha clasificación incluye las citoqueratinas expresadas en las células, la concentración de la proteína Ki67 y el grado histológico.

En las glándulas mamarias existen diferentes tipos de células entre las cuales se encuentra las luminales que recubren la luz de los conductos mamarios y de los alveolos; y las basales, que rodean la capa de células luminales, expresando citoqueratinas 8/18 y 5/6, respectivamente (Uscanga-Perales et al. 2016, Feng et al. 2018).

Como se mencionó, la clasificación molecular también abarca la evaluación de Ki67, una proteína nuclear codificada por *MKI67*, asociada con la proliferación debido a que se expresa durante todas las fases del ciclo celular, excepto G0. Altos índices de Ki67 muestran una baja diferenciación histológica y están relacionados con la recurrencia de metástasis ganglionares (Sausa, 2019), mientras que valores altos de esta proteína indican que muchas células se están dividiendo de manera rápida y es

muy probable que las células de cáncer crezcan y se diseminen rápidamente (*Understanding Your Pathology Report: Breast Cancer*, 2023).

La evaluación IHQ de Ki67 es el método más utilizado en la práctica clínica para determinar la actividad proliferativa del cáncer de mama. No existe un acuerdo absoluto respecto a los puntos de corte, algunas pautas definen una baja actividad proliferativa cuando se encuentran niveles de Ki67 por debajo de 10% mientras que una alta actividad proliferativa se considera en niveles superiores al 10%, sin embargo, el punto crítico suele ser entre el 10 y 20% (Colomer et al. 2017).

Por lo tanto, se clasifica al CM en 4 subtipos moleculares: Luminal A, Luminal B, HER2 y triple negativo. En la tabla 4 se resume la clasificación molecular de acuerdo con todos los parámetros mencionados anteriormente.

*Tabla 4 Subtipos moleculares del cáncer de mama. Se especifica si cada subtipo es positivo o negativo para RE y RP, si tiene amplificación o no de HER2, el nivel de Ki67, las citoqueratinas que presentan y la gradación en la que se encuentran. Se toma como punto crítico de Ki67 14%. (Feng et al. 2018, Horvath, 2021, Lucena et al. 2021, Uscanga-Perales et al. 2016)*

Subtipo	RE	RP	HER2	CK (+)	Ki67	Grado histológico	Representación del total de casos	Pronóstico
Luminal A	+	+	-	8/18	Bajo (<14%)	I y II	40 - 50%	Bueno
Luminal B	+	+/-	+/-	8/18	Alto (>14%)	II y III	≤ 20%	Intermedio
HER2	-	-	+	NA	NA	III	10 – 15%	Intermedio
Basal o CMTN	- (<1%)	- (<1%)	-	5/6 y 17	NA	III	≈ 20%	Malo

Abreviaturas: RE: Receptor de estrógeno, RP: Receptor de progesterona, HER2: Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, CK; Citoquinas, CMTN: cáncer de mama triple negativo, NA: No aplica

### 5.3.5 Señalización celular relacionada con el CM

La transducción de señales celulares es un proceso fundamental en el desarrollo y progresión del cáncer, se han descrito diversas alteraciones en las células de CM como variaciones en las respuestas mediadas por receptores sensibles al calcio, por factores inducibles por hipoxia o incluso en los propios mecanismos apoptóticos que afectan vías de señalización. Las vías más estudiadas e implicadas directamente en la progresión y desarrollo del CM son las mediadas por RE y HER2 que promueven la señalización de otras vías como la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), la vía PI3K/AKT/mTOR o IL5/JAK3, por ejemplo.

#### 5.3.5.1 Vía PI3K/AKT/mTOR (PAM)

Esta vía participa fisiológicamente en el metabolismo celular, el crecimiento, la proliferación y la apoptosis mediante la activación del receptor de tirosina quinasa (RTK) y los receptores acoplados a proteínas G.

Las PI3K son una familia de quinasas intracelulares divididas en tres clases, I, II y III (Zhu et al. 2022), en particular, la clase I es un subtipo que está asociado con la aparición y desarrollo de cáncer, esta clase a su vez se subdivide en IA y IB, los primeros son heterodímeros que constan de una subunidad reguladora p85 (p85α, p85β y p85γ) codificada por *PIK3R1*, *PIK3R2* y *PIK3R3* y una subunidad catalítica p110 (p110α, p110β, p110γ o p110δ) codificada por *PIK3CA*, *PIK3CB* y *PIK3CD*, respectivamente, mientras que los IB-PI3K son heterodímeros que contienen una subunidad reguladora p101 y una subunidad catalítica p110γ. Los IA-PI3K son activados directamente por receptores de la superficie celular como los acoplados a proteínas G, RTK y la proteína G RAS (Cerma et al. 2023, Miricescu et al. 2020).

mTOR es una proteína quinasa que existe en las células como dos complejos funcionales distintos, mTORC1 y mTORC2. mTORC1 fue descubierto como un complejo que consiste en mTOR, proteína Raptor, proteína mLST8, proteína DEPTOR y PRAS40 (sustrato de AKT rico en prolina); responde a factores de crecimiento y aminoácidos, promueve el crecimiento y supervivencia celular al estimular la absorción de nutrientes y la producción de ribosomas. mTORC2 está compuesto por mTOR, mLST8, proteína Rictor, Protor/PRR5 (proteína 5 rica en prolina), DEPTOR y mSIN1 (proteína interactuante con la proteína quinasa activada), este complejo puede ser activado por factores de crecimiento como la insulina y el IGF-1, promueve la activación de la proteína quinasa AKT al fosforilar su motivo hidrofóbico para posteriormente activar mTORC1, además actúa principalmente en la reconstrucción del citoesqueleto y la supervivencia celular a través de las GTPasas de la familia Rho (Panwar et al. 2023, Miricescu et al. 2020, Jiang et al. 2024)

La ilustración 2 muestra que la vía PI3K/AKT/mTOR se inicia con una unión de un factor de crecimiento, aminoácidos (arginina y leucina), glucosa, o estrés celular al receptor tirosina quinasa (RTK), esta unión activa la proteína PI3K que catalizará la fosforilación de PIP2 a PIP3. AKT se recluta en la membrana plasmática donde sufre dos procesos de fosforilación, uno catalizado por PDK1 a nivel del residuo de treonina y el segundo catalizado por mTORC2, una vez activado por estas reacciones, AKT fosforilara mTORC1, afectando la proliferación celular al activar la proteína S6K y la síntesis de proteínas al inhibir la proteína de unión al factor 4EBP (Jiang et al. 2024, Khan et al. 2019, Miricescu et al. 2020, Zhu et al. 2022).

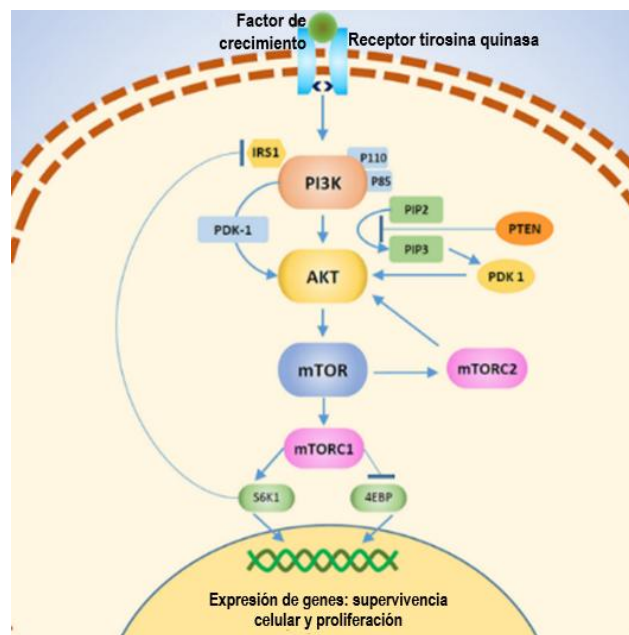


Ilustración 2. Esquemización de la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR. (Modificada de Khan et al. 2019)

En el CM están presentes distintas alteraciones en las vías PAM, aproximadamente el 30-40% de los pacientes presentan variaciones genéticas en *PIK3CA* que podrían inducir la hiperactivación de la isoforma p110α de PI3K (Miricescu et al. 2020).

Por otro lado, es frecuente que la PI3K de clase I, la AKT y mTOR muestren una activación anormal en el CM, sobre todo en los tumores RH+, mientras que en el CMTN es mucho más frecuente la delección del gen supresor de tumores *PTEN*, que, al ser el principal regulador negativo de esta vía, puede favorecer la proliferación del cáncer (Cerma et al. 2023, Hart et al. 2020).

También pueden coexistir múltiples cambios en estas vías, por ejemplo, una variación en *PIK3CA*, la delección de *PTEN* y la amplificación de *HER2*, por lo tanto, la inhibición de un único objetivo podría no

lograr efectos antitumorales en dichas circunstancias, esto no sólo sugiere el mecanismo molecular de la resistencia a los medicamentos, sino también la viabilidad de las terapias combinadas (Zhu et al. 2022).

### 5.3.5.2 Vía IL-6/JAK/STAT3

Los factores de transcripción (FT) son proteínas que poseen dominios que se unen al ADN de regiones promotoras o potenciadoras de genes específicos, una de las familias FT más destacadas en el CM es la de transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT), compuesto por siete miembros estructuralmente similares y altamente conservados STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b y STAT6 (Wang et al. 2022). Todos los miembros de la familia contienen 6 dominios funcionales comunes: un dominio N-terminal (NH<sub>2</sub>) ahora llamado STAT-int, un dominio en espiral (CCD), un dominio de unión al ADN (DBD), un dominio enlazador (SRC), un dominio de homología 2 (SH<sub>2</sub>) y un dominio de transactivación (TAD) (Ma et al. 2020).

STAT3 participa en varias funciones celulares básicas como el crecimiento, la supervivencia, diferenciación, regeneración, respuesta inmune y respiración celular (Wang et al. 2022), esta proteína puede activarse a través de varias citosinas, incluidas la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 11 (IL-11) y factores como el de crecimiento epidérmico (EGF), el de fibroblastos (FGF) y el similar a la insulina (IGF) (Ma et al. 2020).

En la ilustración 3 se esquematiza la señalización clásica de STAT3, esta se activa mediante la unión de IL-6 al receptor  $\alpha$  de IL-6 unido a la membrana (IL-6R) y al receptor  $\beta$  de IL-6 (también conocido como gp130), formando un complejo heterohexámero (IL-6/IL-6R/gp130), activador las Janus quinasas (JAK) que fosforilan la cola citoplasmática del receptor y STAT3, a través de su dominio SH<sub>2</sub>, se une a residuos de tirosina fosforilados. Una vez que STAT3 se encuentra fosforilado, forma homodímeros y se transloca al núcleo, donde forma un complejo con algunos coactivadores como p68 para finalmente unirse a la región promotora de los genes diana y así activar la transcripción de estos (Ma et al. 2020, To et al. 2022).

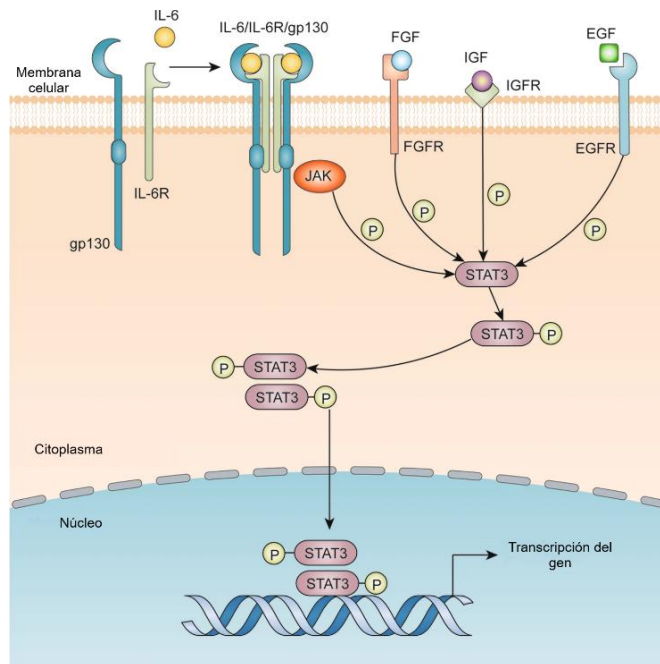


Ilustración 3. Esquemática de la vía de señalización IL-6/JAK/STAT3 (Modificado de Ma et al. 2020)

Particularmente, STAT3 ha sido estudiado por su importancia en la progresión, metástasis, modulación de las respuestas inmunitarias relacionadas con tumores y la resistencia terapéutica al cáncer (To et al. 2022).

Los cambios en la señalización de STAT3 pueden provocar la regulación positiva de oncogenes que provocan cáncer como *c-MYC*, *VEGF*, *Mcl-1*, *Bcl-2*, *Bcl-xL* y *VEGF*, o la regulación negativa o silenciamiento de genes supresores de tumores incluidos *PTEN*, *p53*, *PTPN6* lo que resulta en una señalización favorable al desarrollo y progresión del tumor (Manore et al. 2022).

La sobreexpresión y la interacción física de pSTAT3 y *GLI1*, el oncogén asociado a glioma, se encuentran en aproximadamente el 60-70% de los cánceres de mama triple negativos y enriquecidos con HER2, además, los pacientes con tumores de mama STAT3/GLI1 coactivados han tenido malos resultados de supervivencia a largo plazo (To et al. 2022).

De acuerdo con Y. Wang et al. (2021), la expresión de pSTAT3 presenta un gran aumento en CMTN seguido de Luminal A y Luminal B, los tumores HER2+ muestran la tasa más baja de pSTAT3.

Se ha prestado especial atención, no solo a la hiperactividad de STAT3 en el cáncer, si no también, a la mayor abundancia de sus citocinas activadoras, la familia de IL-6. La oncostatina (OSM), miembro de esta familia, puede inducir la regulación positiva de IL-6 y la fosforilación de STAT3 para promover la progresión del CM, otras interleucinas como la IL-35 y la IL-8, promueven la progresión del CM mediante la activación de STAT3, además, se ha descubierto que la IL-35 inhibe las células T convencionales y promueve la progresión del CM mediante la activación de STAT1 y STAT3, mientras que la IL-8 activa STAT3, la baja expresión de IL-17 inhibe la activación de STAT3 (Ma et al. 2020)

Los macrófagos pueden eliminar o reparar células y matrices dañadas para mantener la integridad del tejido, después de la estimulación con diferentes programas de activación, los macrófagos se polarizan en dos modos diferentes con sus propias funciones metabólicas, incluidos los macrófagos tipo M1 que producen citocinas proinflamatorias y los macrófagos tipo M2 que tienen características antiinflamatorias y de cicatrización de heridas, la activación de STAT3 dependiente de IL-6 induce la polarización de M2 al mismo tiempo que inhibe la activación de M1, lo que promueve la progresión del cáncer y reduce la supervivencia del paciente (Wang et al. 2022).

#### 5.3.5.3 *Vía del receptor de prolactina (PRLR)*

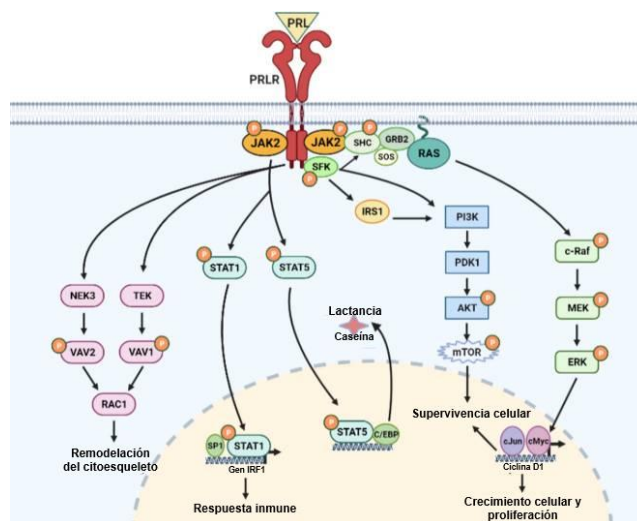
La prolactina (PRL) es una hormona proteica que contiene 199 aminoácidos y se produce en las células lactotrofas de la glándula pituitaria anterior, la prolactina también se secreta de manera extrapituitaria y autocrina/paracrina desde diferentes tejidos, como las glándulas mamarias, el cerebro y las células inmunitarias, la secreción de PRL está regulada por varios factores, los estrógenos modulan la síntesis de PRL y la liberación de prolactina al tiempo que suprimen la síntesis de dopamina (Kavarthapu & Dufau, 2022).

PRLR pertenece a la familia de receptores de lactógeno/citoquinas que median diversas acciones celulares de PRL en diferentes tejidos, PRLR posee tres dominios principales: extracelular que se divide en dos dominios de fibrolectina D1 y D2, el motivo WS en D2 actúa como un interruptor molecular durante la activación de PRLR unido a ligando, transmembrana que no posee actividad quinasa e intracelular, que incluye los dominios Box-1 y Box-2, donde el primero interactúa con las quinasas de la familia JAK2 y Src como *FYN* (Kavarthapu et al. 2021).

Como se muestra en la ilustración 4, cuando PRL se une a PRLR, provoca la dimerización del receptor, lo que da como resultado la activación de la vía clásica JAK/STAT, mediante JAK2/STAT5 se estimula la transcripción de genes de proteínas de la leche y genes implicados en la proliferación celular, además, esta vía activa otras cascadas de señalización (Clevenger & Rui, 2022), por ejemplo, los

residuos de fosfotirosina del PRLR actúan como sitios de acoplamiento para las proteínas adaptadoras SHC/GRB2/SOS que conectan el receptor a la cascada de señalización RAS/RAF/MAPK, también, PRL/PRLR induce la fosforilación de la quinasa PI3K a través de c-SRC, activando la señalización de PI3K/PDK1/AKT/mTOR que promueve la traducción de proteínas diana y supervivencia celular (Kavarthapu et al. 2021).

Todas estas cascadas de señalización están involucradas en procesos como la lactancia, la respuesta inmune, la remodelación del citoesqueleto y el crecimiento, proliferación y supervivencia celular (Kavarthapu & Dufau, 2022) alterando la expresión de genes diana de PRL relevantes para el CM, incluida la regulación positiva de ciclina D1, anfirregulina, epiregulina, *PTHLH*, *CISH* y la regulación negativa de BCL6 (Clevenger & Rui, 2022).



*Ilustración 4. Vías de señalización PRL/PRLR. La PRL unida a PRLR induce múltiples vías de señalización que incluyen la participación de las quinasas JAK, SFK, PI3K/AKT, NEK3/VAV2, TEK/VAV1 y factores de transcripción STAT (Modificado de Kavarthapu et al. 2022)*

El factor de transcripción más importante de esta señalización es STAT, se ha demostrado que tanto STAT3 como STAT5 activados contribuyen directamente a la oncogénesis al estimular la proliferación celular y prevenir la apoptosis. La señalización PRL/PRLR también puede promover sustancialmente la migración e invasión de células de CM mediante la activación de quinasas como TEC y NEK3, además, muchos tumores de mama se caracterizan por tener bajos niveles de STAT y altos niveles de expresión de PRLR y de componentes de señal MAPK. En el CM invasivo hay un cambio de señalización de las vías mediadas por STAT5 a las vías FAK y MAPK, favoreciendo así la proliferación (Kavarthapu et al. 2021).

La interferencia de todas las vías de señalización que se muestran en la ilustración 4, tiene un papel importante en el CM, la señalización de RAS/MEK/ERK y PI3K/AKT puede activar el RE sin ligando que forma un complejo con Sp1/C/EBPβ y se recluta junto con STAT5 en el promotor PRLR, mientras que EGFR puede activar la señalización STAT5 directa o indirectamente a través de s-SRC (Kavarthapu et al. 2021).

Si bien esta vía interfiere con muchas otras cascadas de señalización, una de las más importantes es la vía HER2/EGFR activada por fosforilación a través de JAK2 en la señal PRL/PRLR.

#### 5.3.5.4 Vía HER2/EGFR

HER2 es parte de los receptores del factor de crecimiento epidérmico, una familia de proteínas tirosina quinasa donde también se encuentran EGFR, HER3 y HER4. HER2 consta de una región extracelular,

un dominio transmembrana y una región intracelular que incluye el dominio tirosina quinasa (Feng et al. 2018).

De acuerdo con la ilustración 5, tras la unión de ligandos extracelulares que incluyen diversos factores de crecimiento y heregulinas (también llamadas factores de diferenciación neu) se produce una homo o heterodimerización, la cual puede producirse entre cualquiera de los miembros de esta familia de receptores, siendo HER2 el compañero dímero favorito debido a que, al no contar con ligandos conocidos, mantiene una forma activa siempre (Hart et al. 2020), y ya que la dimerización es asimétrica, el dominio quinasa de un receptor activa el otro a través de una fosforilación, estos residuos de tirosina c-terminales actúan como sitios de acoplamiento, proporcionando la ubicación para la posterior activación de moléculas que participan en vías de señalización como la MAPK y la PI3K, ambas fuertemente asociadas con la tumorigénesis de mama (Feng et al. 2018).

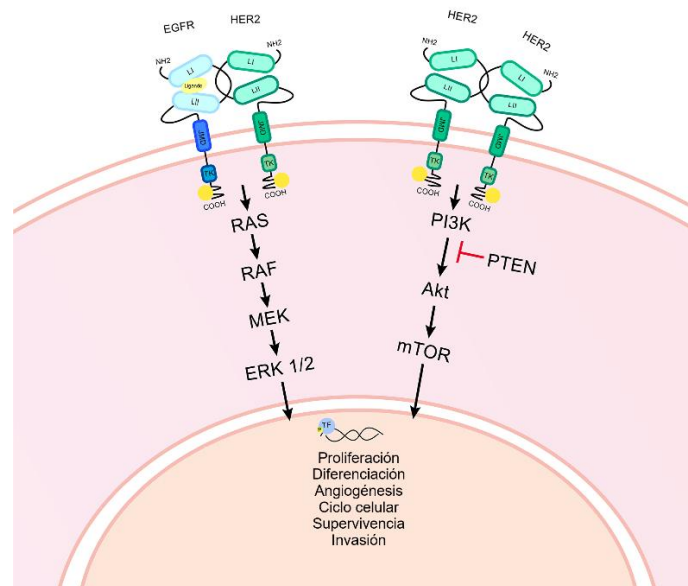


Ilustración 5. Esquemización de la vía EGFR/HER2 (Modificado de Hart et al. 2020)

La sobreexpresión de HER2 en células de CM puede activar las vías de señalización RAS/MEK/ERK y c-SRC/FAK. Por otro lado, la señal PRL/PRLR activa tanto EGFR como HER2 que, a su vez, pueden activar STAT3 mediante fosforilación a través de s-SRC, promoviendo la supervivencia celular, esta interferencia de ambos receptores puede intensificar aún más la progresión del tumor (Kavarthapu et al. 2021).

HER2 como hetero u homodímero con EGFR media vías que incluyen la señalización PI3K y MAPK. La vía RAS/MAPK, produce una expresión alterada de genes relacionados con la proliferación, apoptosis y diferenciación celular que traduce la señalización amplificada a través de HER2 en una mayor progresión del cáncer. El dímero HER2/HER3 es muy importante para la vía PI3K, particularmente en tumores HER2 ya que contribuyen en gran medida a sus niveles de fosforilación (Hart et al. 2020), mientras que la señalización PI3K/PDK/AKT/mTOR puede promover la proliferación celular mediada por la inactivación del inhibidor del ciclo celular p27/p21 (Kavarthapu et al. 2021).

Como se mencionó, una interferencia importante es la de las vías PRLR y EGFR/HER2, esto debido a que el empalme PRLR/HER2 activa la fosforilación del RE y promueve su unión al regulador PRLR y, por lo tanto, su transcripción, además, EGF/EGFR también puede desencadenar la transcripción de PRLR de manera dependiente de MAPK/PI3K. La activación de PRL/PRLR recluta HER2 a través de JAK2, lo que resulta en la adherencia celular e inducción de metástasis (Feng et al. 2023).

### 5.3.6 Diagnóstico convencional

El abordaje diagnóstico de este tipo de cáncer implica exploración física e imágenes mamarias, especialmente ecografía, mamografía y resonancia magnética, sin embargo, estas técnicas no detectan con certeza si se trata de cáncer, por ello se debe realizar una biopsia de tejido, ya que es la única prueba que puede confirmar el diagnóstico (Barba et al. 2021, *Breast cancer screening*, 2023), aunque también cuenta con algunas limitaciones como la invasividad y el no poder proporcionar una muestra representativa del tumor debido a su heterogeneidad.

La heterogeneidad del CM se atribuye a diferencias en las características genómicas como variaciones genéticas y alteraciones en el número de copias; epigenómicas como la cromatina accesible a transposasa y la ocupación de nucleosomas; y proteómicas como las modificaciones de proteínas y transducción de señales, todas ellas afectan propiedades del tumor como su proliferación, apoptosis, metástasis y respuesta terapéutica. Esta característica puede presentarse en distintos niveles, inter e intratumoral, la primera hace referencia a variaciones de tumores entre pacientes, dando origen a los diferentes subtipos moleculares (Luminal A, Luminal B, HER2 y triple negativo), mientras que la segunda se refiere a que, en un único tumor, existen poblaciones de células cancerosas fenotípicamente diferentes con distintas funciones, expresión de biomarcadores y resistencia a distintos medicamentos (Guo et al. 2023).

### 5.3.7 Biopsias líquidas

Debido a que los métodos tradicionales no son lo suficientemente completos para obtener todo el panorama genómico de los tumores presentes en el CM, muchos esfuerzos de investigación se han centrado en identificar biomarcadores moleculares que permitan la detección temprana de esta enfermedad. A causa de esto, se ha implementado una nueva herramienta de diagnóstico llamada biopsia líquida que comprende la toma y análisis de fuentes biológicas líquidas como la sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, saliva, orina e incluso muestras de lavado bronquial, lágrimas o sudor. La obtención de muestras de este tipo requiere técnicas mucho menos invasivas y al estar en contacto directo con el tumor, se obtiene información del circuloma tumoral, representando su heterogeneidad y permitiendo, a la vez, llevar a cabo un seguimiento de la evolución del tumor (De Rubis et al. 2019, Pérdomo et al. 2020).

Las muestras de los diferentes fluidos corporales poseen distintos biomarcadores que son capaces de distinguir específicamente las condiciones cancerosas de las contrapartes sanas, como es mostrado en la ilustración 6, la sangre es el biofluido donde se pueden encontrar diversos tipos de biomarcadores como proteínas tumorales circulantes, ácidos nucleicos u otras vesículas celulares, por mencionar algunos. Otro biofluido útil para las pruebas de rutina es la orina, que podría contener información de perfiles metabolómicos y proteómicos, miRNA e incluso, exosomas (Li et al. 2020). Si bien estas biofuentes son las más comunes, no son las únicas, ya que también se pueden analizar fluidos como las lágrimas donde se pueden encontrar proteínas marcadoras de CM, o el sudor, que suele ser fuente principalmente de metabolitos (Patel & Shah, 2022).

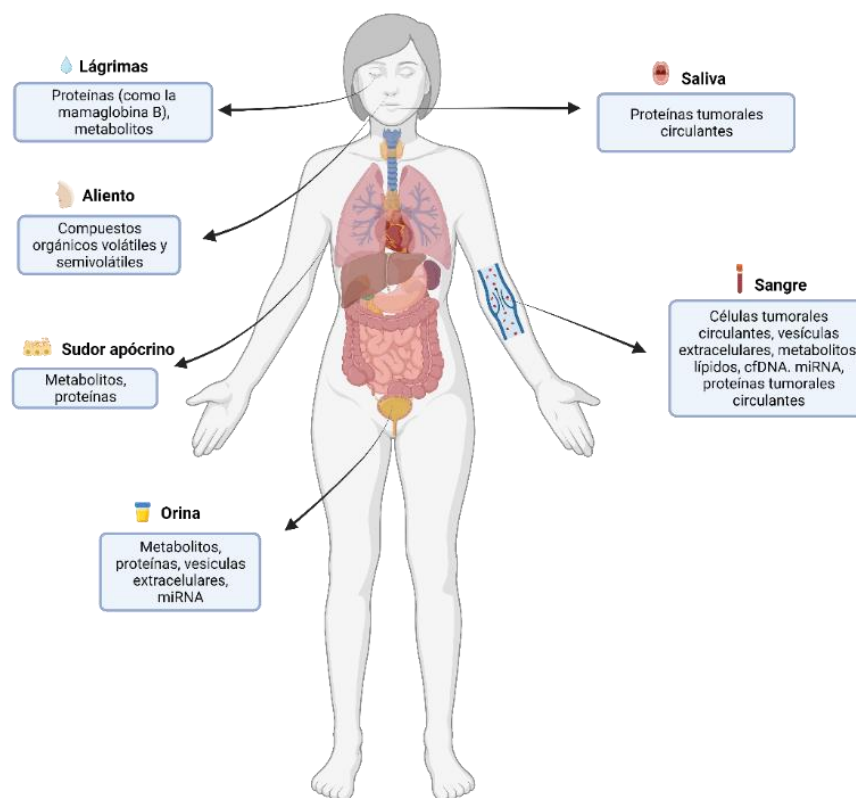


Ilustración 6. Resumen de las principales fuentes no invasivas de biomarcadores para la detección temprana del cáncer de mama y los biomarcadores que se pueden obtener de cada una de ellas. (Modificado de J. Li et al. 2020)

## 5.4 Metabolómica

La metabolómica es la más reciente de las ciencias ómicas y se refiere al estudio, identificación y cuantificación de los metabolitos, que son definidos como pequeñas moléculas (<1000 Da) que van desde especies inorgánicas hasta nucleótidos, carbohidratos, lípidos y aminoácidos. Los metabolitos son el producto de reacciones metabólicas o las consecuencias de la actividad de genes y proteínas (Cala et al. 2018, Wang et al. 2018).

Los análisis metabolómicos se pueden dividir en dos campos distintos para su investigación, no dirigida o huella dactilar y dirigida, la primera comprende una metodología simple y tiene como objetivo proporcionar una imagen completa de todos los metabolitos presentes o cuantificables en la muestra (concentraciones > 1µM) (Park et al. 2019, Vignoli et al. 2021), por lo tanto, es útil para la identificación de estados patológicos, la metabolómica dirigida, por su parte, cuantifica metabolitos específicos previamente identificados, lo que proporciona una comprensión más profunda de las vías metabólicas específicas en determinados procesos biológicos (Doğan, 2024). La metabolómica no dirigida se puede transformar fácilmente en dirigida mediante la adición de estándares internos con concentraciones conocidas (Crook & Powers, 2020).

Si bien los estudios de metabolómica pueden llevarse a cabo con diversos fluidos, la muestra biológica más utilizada es la sangre, cuyos derivados contienen todas las moléculas secretadas por diferentes tejidos en respuesta a distintos estímulos, condiciones o factores estresantes fisiológicos (Vignoli et al. 2021), un desafío importante para la determinación de los perfiles metabólicos de suero/plasma es la interferencia de una gran cantidad de proteínas séricas/plasmáticas (6-8g/dL), esto se puede superar mediante la eliminación física de las proteínas presentes en las muestras por diferentes métodos como la ultrafiltración, extracción en fase sólida o precipitación de proteínas utilizando disolventes orgánicos como metanol, acetonitrilo, acetona, ácido perclórico o ácido tricloroacético (Gowda & Raftery, 2021).

La orina es otra muestra ampliamente utilizada por sus concentraciones relativamente bajas de proteínas y altas de compuestos de bajo peso molecular, por ello, no suele requerir preprocesamiento de la muestra (Xu, 2021).

Recientemente se han utilizado enfoques metabolómicos para identificar posibles marcadores y vías metabólicas clave en varios tipos de cáncer, ya que se ha observado que las células cancerosas en proliferación muestran un comportamiento metabólico diferente en comparación con las células diferenciadas sanas (Park et al. 2019).

Las dos principales técnicas utilizadas para la identificación y cuantificación de metabolitos son la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas (EM). Ambas técnicas se utilizan ampliamente en estudios metabolómicos y cada una posee ventajas y limitaciones únicas, sin embargo, pueden considerarse complementarias (Park et al. 2019, Vignoli et al. 2021) la tabla 5 muestra las principales características de ambas técnicas.

*Tabla 5 Características generales de las técnicas RMN y EM (Xu, 2021, Emwas et al. 2019, Gowda & Raftery, 2021, Gowda & Raftery, 2023, Wishart et al. 2022)*

<b>Característica</b>	<b>RMN</b>	<b>EM</b>
Sensibilidad	Baja, mejorable con mayor intensidad de campo magnético, criofriado y microsondas	Alta, fácil detección de concentraciones de nM
Selectividad	Análisis no dirigido, existe superposición de picos	Análisis no dirigido, combinado con otras técnicas es una herramienta superior para el análisis dirigido
Reproductibilidad	Alto	Moderado
Preparación de la muestra	Mínima, solo se suele agregar disolvente de bloqueo deuterado	Demandante, requiere solventes y/o derivatización
Recuperación de muestra	No destructiva, se pueden realizar varios análisis sobre una misma muestra	Destructiva, pero necesita poca cantidad
Metabolitos detectables	Normalmente, menos de 200	Más de 500 metabolitos
Análisis cuantitativo	La intensidad de la señal es directamente proporcional a las concentraciones de metabolitos	La intensidad de la línea de EM no está correlacionada con las concentraciones
Cuantificación absoluta	Necesita estándar de concentración conocida	Necesita estándares etiquetados con isotopos y curvas estándar para cada metabolito

#### 5.4.1 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear es una técnica que se fundamenta en las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos, en la que es indispensable la presencia de un campo magnético de varios teslas de magnitud para generar estados discretos de energía. Se utiliza para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones como  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  y  $^{31}\text{P}$ , este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir, poseen espín. En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar, sin embargo, cuando se alinean con un campo magnético externo pueden adoptar dos orientaciones diferentes, una corresponde al nivel más bajo del núcleo (paralelo al campo magnético externo) y la otra está asociada al nivel de energía más alto del núcleo (antiparalelo al campo magnético externo). La diferencia entre los niveles de energía depende del

campo magnético aplicado, cuanto mayor sea el campo magnético, habrá mayor diferencia energética entre los dos estados del espín (Carreras, 2024).

Cuando los núcleos atómicos están bajo el efecto de un campo magnético, los dipolos magnéticos nucleares no están alineados estáticamente con este, sino que se mueven como una peonza (movimiento de precesión) alrededor de un eje paralelo a la dirección del campo, una vez que los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía entre los estados de ambos espines, el espectrómetro RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el espectro de RMN (González et al. 2022, Carreras, 2024)

En un espectro de RMN, los metabolitos con estructura similar aparecerán muy juntos, provocando una superposición espectral, situación que se agrava con la complejidad de las muestras biológicas y las variaciones en las concentraciones de metabolitos (desde  $\mu\text{M}$  hasta  $\text{mM}$ ) pueden aumentar aún más la dificultad de detectar específicamente uno de ellos ya que es probable que uno con alta concentración enmascare u oculte el pico de otro con menor concentración (Crook & Powers, 2020).

Por lo anterior, la identificación de metabolitos mediante RMN requiere conjuntos de desplazamientos químicos o espectros de referencia para compuestos puros así, al comparar los desplazamientos, espectros, intensidades de picos y/o patrones de acoplamiento obtenidos con los de referencia es posible identificar y cuantificar los metabolitos, si se dispone con los adecuados y un software suficientemente sofisticado se puede llevar a cabo en aproximadamente 30 minutos (Emwas et al. 2019). Actualmente se encuentran disponibles diversas bases de datos de libre acceso para el público, incluida la base de datos del metaboloma humano (HMDB), el banco de datos de resonancia magnética biológica (BMRB), la base de datos del consorcio de metabolómica Madison-Qingdao (MMCD) y la base de datos espectral AIST en Japón, por mencionar algunas.

La RMN acoplada a cromatografía líquida permite aprovechar los puntos fuertes de las técnicas de separación cromatográficas modernas como HPLC o UPLC para simplificar las mezclas biológicas, aunque estas técnicas no están exentas de limitaciones (Emwas et al. 2019). Uno de los mayores obstáculos a superar es la interferencia del disolvente, el uso de metanol-agua y acetonitrilo-agua permite eluir compuestos de una columna de HPLC y así obtener un espectro de RMN con picos intensos (Crook & Powers, 2020).

Los perfiles metabolómicos se pueden obtener mediante el análisis de espectros básicos de RMN unidimensionales que permiten la detección de todas las moléculas presentes en la muestra mayores al límite de detección o bidimensionales.

#### 5.4.1.1 *RMN 1D*

La RMN unidimensional (1D) es el método más utilizado en el campo de la metabolómica, debido a su facilidad de uso y alto rendimiento, no obstante la espectroscopia de mejora nuclear de Overharser (NOESY) y el Carr-Purcell-MeiboomGill (CPMG) son los experimentos de RMN de naturaleza complementaria, (Xu, 2021) la secuencia de pulsos NOESY  $^1\text{H}$  unidimensional permite la detección de todas las moléculas presentes con concentraciones mayores al límite de detección, incluidas las macromoléculas, en consecuencia, NOESY  $^1\text{H}$  1D requiere un paso de filtración preanalítica como la extracción con metanol o la ultracentrifugación para eliminar proteínas y lípidos, por ello suele utilizarse para muestras con bajo contenido macromoleculas como orina, células y extractos de tejido, alternativamente, la secuencia de pulsos spin-echo CPMG permite la detección selectiva de metabolitos de bajo peso molecular y es útil para muestras complejas con altas concentraciones de macromoléculas como el suero o el plasma (Vignoli et al. 2021, Gowda & Raftery, 2021, Crook & Powers, 2020).

En particular, CPMG produce un espectro similar a un NOESY después de la eliminación de macromoléculas por extracción con metanol, sin embargo, CPMG debe utilizarse con precaución debido a que presenta problemas similares a los de la ultrafiltración, es decir, cualquier metabolito unido a una proteína u otra biomolécula, puede provocar la pérdida de señal y, por lo tanto, una cuantificación inexacta (Crook & Powers, 2020).

Además de estos dos experimentos, existe la espectroscopia de correlación total selectiva o por sus siglas, TOCSY, donde se obtiene un espectro RMN  $^1\text{H}$  1D de un único metabolito preseleccionado de una muestra, es útil cuando la superposición de picos interfiere con la detección de metabolitos, por ejemplo, los metabolitos que están en concentraciones inferiores a otros componentes en dicha muestra (Crook & Powers, 2020).

Los espectros unidimensionales de RMN  $^1\text{H}$  son útiles para estudios metabolómicos debido a que, esta técnica, es altamente automatizable, muy confiable y rápida, los tiempos de recolección de esta técnica para un solo espectro suelen ser de unos pocos minutos. Con los equipos modernos, las muestras de RMN se pueden cargar y retirar de manera continua con intercambiadores de muestras robóticos que funcionan durante días o semanas seguidas. La información química contenida en un único espectro 1D de RMN  $^1\text{H}$  de un biofluido suele ser suficiente para identificar y cuantificar entre 50 y 100 metabolitos a la vez (Emwas et al. 2019).

Debido a que detectan un importante número de metabolitos, este alto nivel de señales puede oscurecer la medición confiable de las intensidades de pico, por lo que los espectros RMN 1D se pueden simplificar utilizando varias técnicas que incluyen análisis computacional, experimentos de RMN bidimensionales (2D), cromatografía líquida o detectando algunos otros núcleos además de  $^1\text{H}$  (Wishart et al. 2022).

#### 5.4.1.2 RMN 2D

La RMN es un campo en constante evolución y, además de la unidimensional, hay técnicas que están ganando relevancia en la metabolómica basada en RMN, como los métodos bidimensionales (2D), el giro de muestras con ángulo mágico de alta resolución (HRMAS), los diferentes métodos de hiperpolarización, los métodos de RMN 2D ultrarrápidos, las técnicas de desplazamiento puro y los enfoques de RMN híbridos (Emwas et al. 2019).

Las técnicas bidimensionales se utilizan cada vez más en la metabolómica, los experimentos RMN 2D mejoran significativamente la resolución espectral ya que distribuyen los picos en dos dimensiones y solucionan el problema de la superposición de estos en muestras biológicas complejas, además, ofrecen una precisión mejorada para la cuantificación ya que, los cambios estadísticamente relevantes de metabolitos poco abundantes se pueden caracterizar mejor (Gowda & Raftery, 2021, Gowda & Raftery, 2023).

Los experimentos RMN 2D comúnmente utilizados que involucran solo núcleos de  $^1\text{H}$  son la espectroscopia de correlación (COSY) y la espectroscopia de correlación total (TOCSY), otros experimentos que involucran núcleos como  $^{13}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}$  son la espectroscopia de coherencia cuántica múltiple heteronuclear (HSQC), la espectroscopia de correlación cuántica múltiple heteronuclear (HMQC) y la espectroscopia de correlación de enlaces múltiples heteronucleares (HMBC). Un reto importante para estos experimentos es la baja abundancia natural de  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$ , mientras que las técnicas que involucran  $^{13}\text{C}$  requieren un tiempo de adquisición de datos significativamente mayor, aquellos que involucran  $^{15}\text{N}$  son poco prácticos para usar en este campo debido a su sensibilidad extremadamente baja, sin embargo, los compuestos marcados con isótopos brindan oportunidades para medir  $^{15}\text{N}$  (Gowda & Raftery, 2021, Xu, 2021).

La RMN 2D aumenta significativamente el tiempo de análisis, mientras un análisis 1D tarda minutos, el 2D puede tardar desde horas hasta días, lo que es una limitación práctica para los estudios de RMN que involucran tamaños grandes de muestras (>100) (Crook & Powers, 2020).

Recientemente se han desarrollado métodos que permiten obtener espectros de RMN 2D rápidos y precisos en un periodo de tiempo comprable al necesario para generar espectros RMN 1D, uno de ellos es el muestreo no lineal (NLS) que reduce el número de incrementos detectados indirectamente manteniendo una buena resolución, otro método 2D rápido es la espectroscopia de Hadamard que requiere conocimiento previo de los metabolitos específicos en las muestras biológicas y sus cambios químicos, en este método la región de interés espectral se excita selectivamente y después sufre una transformación de Hadamard. Aunque estos métodos 2D poseen ventajas, son bastante complejos de implementar en estudios de metabolómica y la mayoría de ellos no son particularmente cuantitativos (Emwas et al. 2019).

#### 5.4.2 Espectroscopía de Masas (EM)

La espectrometría de masas (EM) es un método analítico que identifica moléculas mediante su relación masa-carga ( $m/z$ ). Los analitos se introducen en una fuente de ionización donde adquieren una carga positiva o negativa, posteriormente, los iones se clasifican y separan según la relación antes mencionada, finalmente se miden y envían a un sistema de datos donde se almacenan las relaciones  $m/z$ , así como su abundancia relativa. Un espectro de masas refleja esta relación de iones presentes en la muestra en función de sus intensidades, cada pico representa un componente mientras que la altura de los picos indica la concentración de este (Kim et al. 2021). La selección del tipo de ionización es de suma importancia ya que determina los tipos de metabolitos que se detectan. La ionización por electrospray (IES) es la más utilizada debido a que requiere temperaturas más bajas y es posible analizar metabolitos térmicamente inestables (Sun et al. 2021).

La EM ofrece una sensibilidad significativamente mayor que la RMN, por lo que permite el análisis simultáneo de cientos de metabolitos (Park et al. 2019).

En los análisis metabolómicos por EM, la preparación de las muestras afecta directamente la calidad y reproducibilidad de los datos obtenidos, si bien existen diversas técnicas disponibles, es necesario tener en cuenta el tipo de muestra y las propiedades de los metabolitos de interés. Por ejemplo, la preparación de la muestra puede ser mediante extracción, donde se utilizan disolventes que dependen de la polaridad de los metabolitos; precipitación para eliminar las proteínas o derivatización para modificar los metabolitos y garantizar que sean lo suficientemente volátiles para el análisis (Bauermeister et al. 2021)

Debido a la complejidad de las muestras biológicas usadas en metabolómica, la EM siempre se usa en combinación con técnicas de separación que generalmente son cromatografía de gases (CG) y cromatografía líquida (CL). La primera se basa entre un compuesto gaseoso probado y la fase estacionaria unida a líquido, los compuestos se separan debido a diferencias en el tiempo de retención, por lo tanto, CG es adecuada para separar compuestos volátiles y térmicamente estables, por el contrario, CL no requiere derivatización y podría detectar más metabolitos, además, CL de fase inversa es adecuada para separar compuestos ligeramente polares y no polares, la CL de interacción hidrófila funciona bien para separar compuestos fuertemente polares a ligeramente polares (Cheung et al. 2019).

##### 5.4.2.1 CG – EM

La cromatografía de gases (CG) acoplada a EM es una técnica óptima para el análisis de sustancias de pequeño peso molecular (<650 Da) (Danzi et al. 2023), es altamente sensible y específica para la separación y detección de metabolitos volátiles, sin embargo, dado que la mayoría de los metabolitos primarios con un papel fundamental en el metabolismo del cáncer tienen puntos de ebullición altos

(ácido láctico, ácido pirúvico, ácido málico, por ejemplo) es necesaria una derivatización (modificación estructural mediante reacciones químicas) con el objetivo de hacerlos lo suficientemente volátiles para que puedan ser analizados por CG-EM, este paso es, frecuentemente, rápido, con alto rendimiento y rompe el enlace de protones moleculares, disminuyendo el punto de ebullición y haciendo los metabolitos más estables, con la derivatización en CG-EM, también es posible analizar compuestos polares como ácidos grasos, aminoácidos, aminas y azúcares (Danzi et al. 2023, Sun et al. 2021, Zhang et al. 2020)

Debido a la capacidad de una sola columna, un método de separación unidimensional puede resolver un número limitado de metabolitos en una muestra biológica, por ello, frecuentemente se utiliza CG bidimensional en donde se acoplan en serie dos columnas con fases estacionarias de diferente selectividad, de esta manera, los analitos eluidos de la primer columna se transfieren a la otra, que normalmente es más corta y de mayor polaridad, con el objetivo de obtener mayor separación y una resolución mejorada. Esta técnica puede no ser adecuada para la metabolómica no dirigida debido a su capacidad máxima limitada y su largo tiempo de análisis (Xu, 2021, Zabalegui, 2023)

Si bien, la CG-EM presenta diversas ventajas, también requiere mucho tiempo en la preparación de muestras, lo que provoca degradación durante la operación e identificación de los metabolitos (Qiu et al. 2021)

#### 5.4.2.2 CL – EM

La cromatografía líquida (CL) es una técnica de separación ideal para estudiar matrices biológicas complejas, la CL acoplada a EM permite la caracterización de compuestos no volátiles o térmicamente lábiles con alto peso molecular que no es posible analizar con GC-EM (Danzi et al. 2023).

Al reducir el diámetro de las partículas de la columna (3-50  $\mu\text{M}$ ) y emplear alta presión para mejorar la velocidad de la fase móvil, es decir, con cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), ha sido posible hacer que la CL funcione a un modo altamente eficiente, también, se ha empleado el sistema de cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) utilizando columnas con partículas aún más pequeñas (<2  $\mu\text{M}$ ) y una presión más alta, aunque los bajos volúmenes de inyección y la vida útil de la columna no hacen que esta técnica sea muy utilizada (Danzi et al. 2023).

Las columnas de fase inversa (FI) es una de las técnicas más utilizadas gracias a que tienen las ventajas de alta resolución, buena repetibilidad y amplia cobertura de metabolitos, particularmente para el análisis de metabolitos de baja polaridad, además, el gradiente de fase móvil generalmente comienza con un alto porcentaje de agua y menos disolvente orgánico, lo que lo hace el más utilizado en metabolómica por ser compatible con el análisis de muestras biológicas acuosas (Sun et al. 2021).

La mayoría de los estudios de EM (~80%) utilizan CL, sin embargo, es una técnica que cuenta con importantes desafíos para el análisis, CL-EM incluye la supresión de iones y la formación de aductos que causan variación en las intensidades de los picos y mayor complejidad espectral respectivamente, para ayudar a superar estos desafíos se requieren protocolos analíticos estrictos y/o estándares internos marcados con isótopos (Gowda & Raftery, 2023).

El desarrollo de UPLC ha aumentado la resolución cromatográfica, la relación señal/ruido y la capacidad de pico en comparación con HPLC debido a que opera con presiones más altas (de 12000 a 15000 psi y 6000 psi para HPLC) y partículas de relleno más pequeñas (menos de 2  $\mu\text{m}$  y de 3-5  $\mu\text{m}$  para HPLC), por lo tanto, es una técnica más rápida y eficiente que permite obtener picos cromatográficos de hasta 3s de ancho (Zabalegui, 2023).

Además de estas técnicas, algunas otras también han logrado avances significativos en aplicaciones metabolómicas como la EM de inyección directa y la acoplada a electroforesis capilar, por ejemplo.

Dado que no existe una técnica analítica de EM universal para medir cada metabolito, debe de realizarse una cuidadosa selección para su investigación y considerar la resolución, sensibilidad, rendimiento y el costo (Zhang et al. 2020).

## 6 Resultados

En la búsqueda realizada de artículos publicados de 2018 a 2024, se encontraron 109 investigaciones como probables estudios potenciales, después de analizarlas y descartar duplicados, 23 cumplieron con todos los criterios de inclusión y exclusión establecidos para esta revisión.

En la tabla 6, se muestran los estudios de perfiles metabólicos en pacientes con cáncer de mama, analizados mediante RMN en donde se reportan los metabolitos alterados, el tipo y tamaño de muestra y los resultados obtenidos.

Tabla 6 Estudios metabólicos del CM analizados mediante RMN

Biomarcadores analizados	Tipo y tamaño de muestra	Metodología	Resultados	Especificidad Sensibilidad ABC	Referencia
Lactato, glutamato, lisina, glucosa, 2-hidroxibutirato	Plasma 72 CM (temprano y tardío)	<sup>1</sup> H 1D RMN <sup>1</sup> H TOCSY	↑ en CM temprano (estadio 0 - II)	- - -	Suman, et al. 2018
Formiato, glutamina	50 CS		↓ en CM tardío (estadio III - IV)		
Histamina, creatinina, glicolato, metilhistidina, taurina, N-óxido de trimetilamina, malonato, 2-oxoisocaproato, dimetilamina, glutamina, glutamato, alanina	Orina 106 CM 38 CS	<sup>1</sup> H RMN	↓ en CM	- - -	Men, et al. 2019
Creatina, glicina, serina, N-óxido de trimetilamina	Orina 40 CM 38 CS	<sup>1</sup> H RMN	↓ CM	- - 0.906 (panel)	Silva, et al. 2019
Glucosa, glutamina, citrato, acetoacetato	Suero 9 CMTN 86 CS	<sup>1</sup> H RMN	↑ en CMTN	- - -	Wojtowicz, et al. 2020
Lactato, alanina, tirosina, glutamato, acetona			↓ en CMTN		
Creatinina	Plasma 22 LB (RE+) 21 HER2+ (RE-)	<sup>1</sup> H RMN	↑ en RE+	71.4 % 77.3% -	Vignoli, et al. 2020
Alanina, tirosina	Suero 171 CM 69 CS	<sup>1</sup> H RMN	↑ en CM	- - -	Gumà, et al. 2021
D-glucosa, glicina, glicerol	Suero 53 CM	<sup>1</sup> H RMN	↑ en CM vs CS	- -	Zulkefly, et al. 2023
D-glucosa, glicina, glicerol, acetona, L-glutamina, 2-hidroxibutirato, metilmalonato, creatinina, succinato, piruvato, acetoacetato, 3-hidroxibutirato	56 TB 68 CS		↑ en CM comparado con TB (tumores benignos)	-	
L-carnitina, GPC, L-alanina			↓ en CM comprado con TB		

Abreviaciones y símbolos: CM: pacientes con cáncer de mama, CS: controles sanos, CMTN: pacientes con cáncer de mama triple negativo TB: tumores benignos, LB: luminal B, RE+: receptor de estrógeno positivo, HER2+: amplificación del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, RMN: resonancia magnética nuclear, TOCSY: espectroscopia de correlación total selectiva, ↑/↓: aumento/ disminución de la concentración del metabolito en los pacientes con CM, ABC: área bajo la curva. Panel hace referencia a la evaluación de todos los metabolitos en conjunto. Los datos estadísticos no proporcionados por los autores se representan con un guion.

En la tabla 7 se presentan las investigaciones enfocadas a los cambios metabólicos analizados mediante EM en pacientes con CM en distintas etapas y/o subtipos. En la tabla 6 se resumen los metabolitos, el tipo y tamaño de muestra que se estudió, la metodología de extracción e identificación y cuantificación, además del cambio que se observó en los metabolitos analizados.

*Tabla 7 Estudios de los cambios metabólicos del CM analizados mediante EM.*

Biomarcadores analizados	Tipo y tamaño de muestra	Metodología	Resultados	Especificidad Sensibilidad ABC	Ref.
Dimetilheptanoilcarnitina	Orina 31 CM	CG – EM	↓ en CM	86.2% 93.5%	Cala, et al. 2018
Ácido succínico	29 CS	CL– EM		0.915 (panel)	
Taurina	Suero 44 CM 38 TB 34 CS	UPLC – EM CG – EM	↑ en CM	- - 0.901	Wang, et al. 2018
Ácido glutámico			↑ en CM	- - 0.924	
Ácido etilmalónico			↓ en CM	- - 0.749	
Dimetilglicina			↑ en BE	- - -	
Diacetilespermina	Plasma 87 CMTN 115 CS	UPLC – EM	↑ CMTN	95% 15% 0.64	Fahrman, et al. 2019
N1-acetilespermina, leucina, glutamina, serina, espermidina, isoleucina, N1-acetilespermidina	Saliva 101 IDC 23 DCIS 42 CS	CL – EM	↑ en IDC comparado con CS	- - -	Murata, et al. 2019
Espermina			↑ en IDC comparado con DCIS	- - 0.766	
L-octanoilcarnitina	Plasma 70 CM 46 CS	HPLC – EM	↓ en CM ↓ en tumores T3 comparados con T2 y T1 ↑ ER+ y PR+ comparados con HER2+	- - 0.777	Park, et al. 2019
5-oxoprolina			↑ en CM ↓ N2 y N3 comparados con N0	- - 0.744	
Hipoxantina			↑ en CM	- - 0.716	

Ácido docosahexaenoico			↓ en CM	- - 0.856	
Formiato, sarcosina	Suero 68 HER2+	CL – EM	↓ en CM	-	Pietzke, et al. 2019
Serina, aspartato, arginina	50 CS		↑ en CM	-	
Ácido glutámico, ornitina, treonina, triptófano, sulfóxido de metionina, propionilcarnitina	Plasma 109 CM 50 CS	UHPLC – EM	↓ en CM	- - 0.80 (Panel)	Yuan, et al. 2019
Acetilcarnitina			↑ en CM		
3-hidroxiocetanoato, 3-hidroxiobutirato, estearato, 3-hidroxiodecanoato, linoleato, 10-nonadecenoato, dihomo-linoleato	Plasma 358 CM 138 CS	CL – EM CG – EM	↑ en CM	- - -	Zhao, et al. 2019
3-metilxantina, bilirrubina, 1-palmitoil-GPA (16:0), glucuronato, 1-(1-enil-estearoil)-2-dihomolinoleonil-GPE, urea, esfingomielina			↓ en CM		
Tetradecadienilcarnitin, tetradecanoilcarnitina, ácido 9, 12-linoléico, dodecanoilcarnitina	Suero 39 CM 21 CS	HPLC-EM	↓ en CM	81% 83% 0.839 (panel)	Kozar, et al. 2020
8-hidroxi-2'-desoxiguanosina 1-metiladenosina	Suero 120 CM 47 TB 55 CS	CG – EM	↑ en CM ↓ en etapas avanzadas	86.8% 88.8% 0.94 (panel)	Rashed, et al. 2020
1-metilguanosina			↑ en CM		
L-tirosina, L-arginina, PE(24:0), PE (22:0), PC (18:0)	Suero 22 IDC 10 CS	CL – EM	↑ IDC vs CS	- - -	Amiri-Dashatan, et al. 2022
Ácido quinurénico, 4-hidroxi prolina, L-prolina, 3-hidroxi butiril carnitina, mioinositol, 1-metilhistidina, TG (20:1), TG (22:0), PS (24:0), PS (22:0), LysoPE (14:0), LysoPE (20:1), LysoPE (24:0), PG (18:1), CL (18:0)			↓ en IDC vs CS		
Ácido glutámico	Suero 30 CM (carcinoma) 30 TB 20 CS	CL – EM	↑ en TB vs CS ↑ en CM vs TB	83.33% 86.67% 0.91	El-Toukhy, et al. 2022
Alanina, serina, prolina, valina, treonina, histidina, fenilalanina, arginina, tirosina, triptófano	Suero 20 CM 20 TB 20 CS	Extracción CL – EM	↓ CMTN vs CS y TB	100% 95% 0.999	Han, et al. 2022
Histamina, uracilo, timina, 3,4-dihidroxibencilamina, deshirofenilalanina	Suero 169 CM 21 TB	EM	↓ en CM	89% 89% 0.865	Huang, et al. 2022

Ácido L-glicérico, niacinamida	135 CS		↑ en CM		
Ácido citrazínico, PFAP-diPAP	Suero 20 HER2+ 30 CS	UPLC – EM	↑ en CM HER2+	- - -	Mao, et al. 2022
LFC 18:1, LFC 16:0, PE, ácido mirístico, AA, FA18:4+20, 9-KODE, ácido gamma-linolénico, arginina, fenilalanina, monooleína, N1-acetilespermina, dihidrotestosterona, 8,15-DiHETE, hexosa, hipoxantina, pregnenolona			↓ en CM HER2+	-	
1,2,3-trihidroxibenceno, Hyp – ser, 4-hidroxitriptamina, fenetilamina, 2,4-dihidroxipteridina, carnitina C10:0, carnitina C3:0, sorbitol 6-fosfato, glutatión oxidado 4-hidroxi-L-fenilglicina	Plasma 111 DCIS 92 etapas 0 y I 86 TB	Extracción CL – EM	↓ en CM	- - 0.792	Xu, et al. 2023
pantotenato, Tyr – Asn, N-acetilpirrolidina, ácido 6-aminocaproico, L- isoleucina, DL-leucina, L-triptófano, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido quinurénico, ácido isodesoxicólico			↑ en CM		

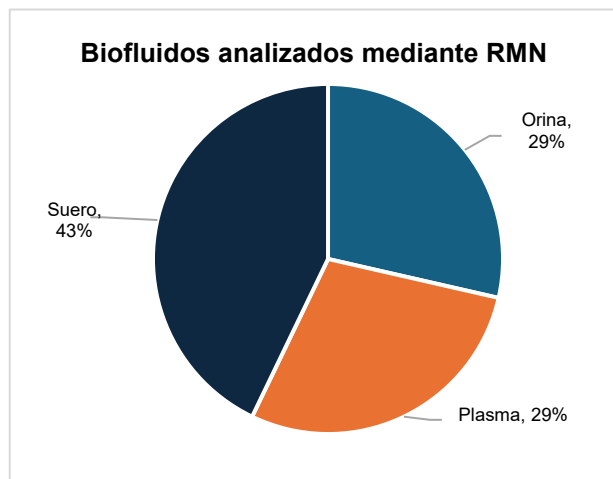
Abreviaciones y símbolos: LFC: lisofosfatidilcolina, PE: fosfatidiletanolamina, AA: ácido araquidónico, PC: fosfatidilcolina, TG: triglicérido, PS: fosfatidilserina, LysoPE: lisofosfatidiletanolamina, PG: fosfatidilglicerol, CL: cardiolipina, Hyp – Ser: hidroxiprolina-serina, Tyr-Asn: tirosina-asparagina, CM: pacientes con cáncer de mama, CS: controles sanos, TB: tumores benignos, IDC: carcinoma ductal invasivo, DCIS: Carcinoma ductal in situ, HER2+: amplificación del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, CMTN: cáncer de mama triple negativo, EM: espectrometría de masas, CG: cromatografía de gases, CL: cromatografía líquida, HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento, UHPLC: cromatografía líquida de ultra alto rendimiento, ↑/↓: aumento/ disminución de la concentración del metabolito en los pacientes con CM, ABC: área bajo la curva, T1/T2/T3: estadificación categoría T, N0/N2/N3: estadificación categoría N. Panel hace referencia a la evaluación de todos los metabolitos en conjunto. Los datos estadísticos no proporcionados por los autores se representan con un guion.

En 14 de los 23 estudios incluidos (60.87%) el tamaño de muestra fue superior a 115 individuos, mientras que los 9 estudios restantes (39.14%) incluyeron entre 32 y 95 mujeres. En 20 investigaciones se comparó biofluidos de pacientes con CM con los de mujeres sanas, de las cuales seis incluyeron un grupo adicional de mujeres con tumores benignos; 2 estudios compararon muestras exclusivamente de pacientes con CM frente a mujeres con tumores benignos y un estudio evaluó las diferencias entre dos subtipos de CM: Luminal B y HER2+.

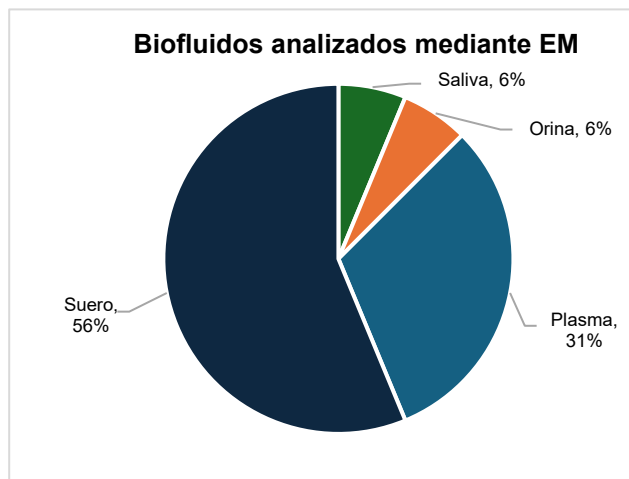
Muchas de las investigaciones incluidas en esta revisión no proporcionaron estadísticas de desempeño diagnóstico, es decir, sensibilidad, especificidad y área bajo la curva (ABC), mismas que permiten valorar la capacidad del o los biomarcadores para discriminar entre pacientes y controles. Particularmente, la ABC sirve de indicador ya que refleja la eficacia del modelo, valores cercanos a 1 indican una alta precisión, mientras que valores cercanos o menores a 0.5 sugieren un rendimiento similar al azar. Los estudios que sí incluyeron estos datos contaron con valores de ABC que oscilaron entre 0.64 y 0.94.

De los 23 estudios incluidos, 7 se analizaron mediante RMN y 16 con EM, en las gráficas 3 y 4 se muestran las frecuencias de los biofluidos estudiados en cada técnica.

Gráfica 3 Biofluidos analizados mediante RMN.



Gráfica 4 Biofluidos analizados mediante EM



En las fuentes consultadas se encontraron 134 metabolitos alterados en presencia de CM, los más reportados fueron alanina y glutamina en 5 artículos cada una; glucosa, ácido glutámico, arginina, carnitina, creatinina, glicina, glutamato, serina y tirosina en 3 artículos cada uno. De acuerdo con la tabla 8, la mayoría de estos metabolitos variaron entre investigaciones, es decir, algunos se encontraron al alza y en otros a la baja, siendo la glucosa y la carnitina, los únicos metabolitos que coincidieron en todos los estudios, la glucosa se encontró en aumento en los pacientes con CM temprano y CMTN, tanto en suero como en plasma, comparándolos con controles sanos y tumores benignos, mientras que la carnitina se encontró a la baja en carcinoma ductal y en CM estadio 0 – I, en suero y plasma, respectivamente.

Tabla 8 Metabolitos más frecuentes relacionados con el cáncer de mama

Metabolito	Estudios relacionados	Variación en cáncer de mama según biofluidos	
		Aumento	Disminución
Alanina	5	Suero	Orina, suero (CMTN), suero, plasma (RE+)
Glutamina	5	Suero (CMTN), suero, saliva (IDC)	Plasma (CM tardío), orina
Glucosa	3	Plasma (CM temprano), suero (CMTN), suero, suero	-
Ácido glutámico	3	Suero, suero	Plasma (CM)
Arginina	3	Suero, suero (IDC)	suero (HER2+)
Carnitina	3	-	Suero, plasma (carcinoma ductal, estadio 0-I)
Creatinina	3	Plasma (RE+), suero	Orina
Glicina	3	Suero, suero	Orina
Glutamato	3	Plasma (CM temprano)	Orina, suero (CMTN)
Serina	3	Saliva (IC), suero	Orina (CM)
Tirosina	3	Suero, suero (IDC)	Suero (CMTN)

\*Entre paréntesis se especifica el subtipo de CM que se analizó, si no se presenta, el estudio no distinguió entre subtipos. Cada biofluido mencionado en las columnas, representa el resultado de un estudio.

Abreviaturas: CM: cáncer de mama, CMTN: cáncer de mama triple negativo, RE+: receptor de estrógeno positivo, IDC: carcinoma ductal invasivo, HER2+: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano positivo.

Estos 134 metabolitos se importaron a la plataforma MetaboAnalyst para la identificación de las vías metabólicas afectadas, se obtuvo una lista de 21 vías, en la tabla 9 solo se enlistan las vías significativamente alteradas, es decir, con  $p < 0.005$ , una tasa de descubrimientos falsos (FDR)  $< 0.05$  y

el impacto (qué tan afectada se encuentra la vía según la posición e importancia de los metabolitos involucrados) cercano a 1.

Tabla 9 Vías metabólicas significativas relacionadas con el diagnóstico del cáncer de mama

Vía metabólica	p	FDR	Impacto
Biosíntesis de valina, leucina e isoleucina	6.5686E-6	3.1689E-04	0
Metabolismo de la arginina y la prolina	1.1351E-5	3.1689E-04	0.41744
Biosíntesis de arginina	1.1883E-5	3.1689E-04	0.2538
Metabolismo del glioxilato y del dicarboxilato	3.6672E-5	7.3344E-04	0.25927
Metabolismo del glutatión	1.1786E-4	0.0015715	0.14965
Metabolismo de la alanina, aspartato y glutamato	1.1786E-4	0.0015715	0.53446
Metabolismo de la glicina, serina y treonina	3.577E-4	0.004088	0.64371
Metabolismo del butanoato	0.003028	0.03028	0.11111
Metabolismo de la fenilalanina	0.003690	0.03125	0.5952
Metabolismo de la histidina	0.003907	0.03125	0.18852

FDR: tasa de falsos descubrimientos

En la ilustración 7 se muestra el diagrama de burbujas que indica las vías metabólicas de mayor impacto asociadas con los datos obtenidos, las cuales fueron el metabolismo de la arginina y la prolina, la biosíntesis de la arginina, el metabolismo del glioxilato y del carboxilato, el metabolismo del glutatión, el metabolismo de la alanina, aspartato y glutamato, el metabolismo de la glicina, serina y treonina y el metabolismo del butanoato, principalmente.

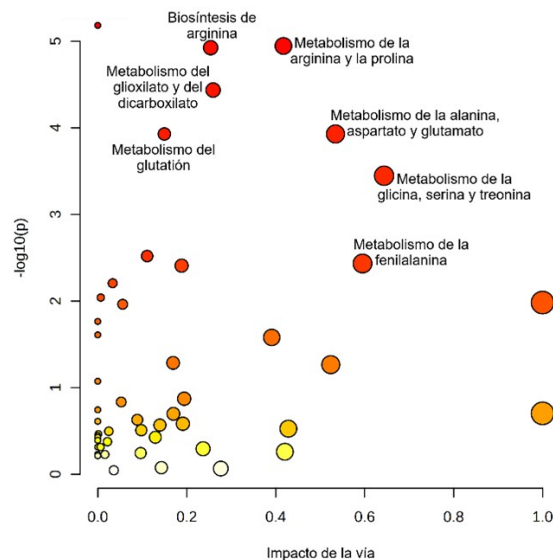


Ilustración 7. Mapa de vías metabólicas alteradas. Cada círculo corresponde a una vía metabólica, estas se encuentran ordenadas en función del valor p o significancia estadística (eje y) y los valores de impacto de la vía (eje x). Los valores de los ejes son directamente proporcionales a la intensidad del color de los círculos y el tamaño de estos, respectivamente.

Los subtipos de cáncer de mama analizados en los artículos consultados fueron de tipo temprano, tardío, CMTN, RE+, RP+, HER2+ e IDC, tras la comparación de estos, se hallaron diferencias entre los metabolitos alterados, la tabla 10 muestra los cambios específicos observados, así como la técnica utilizada. En dicha tabla se puede observar que, en etapas tempranas de CM se presenta un aumento de lactato, glutamato, lisina, glucosa y 2-hidroxi-butirato mientras que, en etapas tardías, una disminución de formiato y glutamina, asimismo, en el CMTN se observa principalmente una disminución

de múltiples aminoácidos. Los subtipos moleculares de CM se diferenciaron en diversos metabolitos, en RE+ y RP+ la octanoilcarnitina aumentó y en tumores HER2+ tanto aminoácidos como lisofosfatidilcolina disminuyeron; en IDC, los metabolitos que se encontraron disminuidos fueron, principalmente fosfolípidos como lisofosfatidiletanolamina y fosfatidilserina

Tabla 10 Metabolitos presentes en los subtipos/etapas del CM mencionados en las investigaciones analizadas

Subtipo/etapa de CM	Variación de metabolitos		Técnica
	Aumento	Disminución	
Temprano (estadio 0 – II)	Lactato, glutamato, lisina, glucosa, 2-hidroxiacetato	-	RMN
Tardío (estadio III - IV)	-	Formiato, glutamina	RMN
T3	-	Octanoilcarnitina	EM
N2 – N3	-	5-oxoprolina	EM
CMTN	Glucosa, glutamina, citrato, acetocitrato	Lactato, alanina, tirosina, glutamato, acetona	RMN
CMTN	-	Alanina, serina, prolina, valina, treonina, histidina, fenilalanina, arginina, tirosina, triptófano	EM
CMTN	Diacetilespermina	-	EM
RE+	Creatinina	-	RMN
RE+	Ácido glicoquenodesoxicólico	Alanina, LFC (16:1), valina, ácido 2-octenedioico	EM
RE+	Octanoilcarnitina	-	EM
RP+	Octanoilcarnitina	-	EM
HER2+	Ácido citrazínico, PFAP-diPAP	8,15-DiHETE, 9-KODE, ácido araquidónico, ácido gamma-linolénico, ácido mirístico, arginina, dihidrotestosterona, FA18:4+2O, fenilalanina, PE, hexosa, hipoxantina, LFC 18:1, LFC 16:0, monooleína, N1-acetilespermina, pregnenolona	EM
IDC	N1-acetilespermina, leucina, glutamina, serina, espermidina, isoleucina, N1- acetilespermidina, espermina	-	EM
IDC	L-tirosina, L-arginina, PE (24:0), PE (22:0), PC (18:0)	Ácido quinurénico, 4-hidroxi prolina, L- prolina, 3-hidroxi butiril carnitina, mioinositol, 1-metilhistidina, TG (20:1), TG (22:0), PS (24:0), PS (22:0), LysoPE (14:0), LysoPE (20:1), LysoPE (24:0), PG (18:1), CL (18:0)	EM

Abreviaciones: T3: estadificación categoría T, N2/N3: estadificación categoría N, CMTN: cáncer de mama triple negativo, RE+: receptor de estrógeno positivo, RP+: receptor de progesterona positivo, HER2+: amplificación del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, IDC: carcinoma ductal invasivo, LFC: lisofosfatidilcolina, PE: fosfatidiletanolamina, AA: ácido araquidónico, PC: fosfatidilcolina, TG: triglicérido, PS: fosfatidilserina, LysoPE: lisofosfatidiletanolamina, PG: fosfatidilglicerol, CL: cardiolipina, Hyp – Ser: hidroxiprolina-serina, Tyr-Asn: tirosina-asparagina.

## 7 Discusión

El cáncer de mama continúa siendo una de las principales causas de mortalidad entre mujeres a nivel mundial, lo que resalta la necesidad del desarrollo de tecnologías que permitan comprender mejor los cambios moleculares subyacentes a esta enfermedad.

En los últimos años, los avances en estudios metabolómicos mediante resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas han despertado un interés creciente por su potencial aplicación para el diagnóstico temprano y no invasivo del cáncer de mama a través de la identificación de biomarcadores.

En las investigaciones consultadas predominó el uso de EM, esto es asociado a que, mientras que la RMN es valorada por su capacidad para proporcionar un perfil detallado de metabolitos sin destruir la muestra además de no requerir pasos adicionales para la preparación de esta, su sensibilidad limitada puede dificultar la detección de biomarcadores que se encuentren en bajas concentraciones, la EM, por el contrario, presenta una sensibilidad notable, lo que permite la detección de metabolitos presentes en concentraciones muy bajas, lo que sugeriría su empleo para etapas tempranas del CM.

Según los estudios analizados de ambas técnicas, la sangre es, por excelencia, la fuente más recurrente de biomarcadores moleculares dado que contiene una amplia variedad de metabolitos. El suero posee ciertas ventajas sobre el plasma; su procesamiento es más rápido, no es necesario esperar a que la sangre coagule, la concentración de la mayoría de metabolitos en él es generalmente más alta y las muestras se ven menos afectadas por factores exógenos que en otros fluidos biológicos, sin embargo es necesario considerar los biomarcadores a analizar ya que, por ejemplo, ciertos aminoácidos, son propensos a la conversión durante la coagulación (Kiseleva et al. 2021, Rashed et al. 2020).

El análisis de los estudios muestra que los metabolitos mayormente alterados en pacientes con CM son aminoácidos (aa). Estos hallazgos indican alteraciones en metabolitos asociados a las vías que se encuentran involucradas en la síntesis de proteínas, conversión de glucosa y lípidos, así como la activación de vías de señalización clave, además, los aa también pueden facilitar modificaciones epigenéticas como la metilación, producir  $\alpha$ -cetoglutarato, participe en el ciclo del ácido tricarboxílico (ATC), y mantener el estado redox intracelular (Subramani et al. 2022). Por lo tanto, debido a la mayor demanda de nutrientes, los aa son fundamentales para la proliferación y progresión del cáncer (Cha et al. 2018, Liu et al. 2024).

La alanina y glutamina fueron los aa más mencionados en las investigaciones consultadas, con concentraciones en su mayoría, a la baja para la alanina y a la alta para la glutamina. En la glucosa y la carnitina, por el contrario, se observa la misma tendencia de variación, encontrándose en todas las investigaciones en aumento y disminución, respectivamente.

La disminución de alanina en pacientes con CM se asocia con su conversión a piruvato para su posterior participación en el ciclo del ATC, una fuente de energía importante para el crecimiento tumoral (Arenas et al. 2023), además, el CM puede afectar la expresión y actividad de la enzima GPT2 que está involucrada en la conversión de glutamato y piruvato en alanina (Panigoro et al. 2023).

La glutamina es una fuente importante de carbono y nitrógeno para sintetizar otros aa, lípidos y ácidos nucleicos (Wei et al. 2021), los niveles elevados de este aa pueden atribuirse a su función como metabolito anaplerótico que impulsa el ciclo del ATC (Lieu et al. 2020), además, puede funcionar como activador de la vía mTOR, mejorando la afluencia de aa (Cha et al. 2018, Nepstad et al. 2020), por el contrario, la glutamina a la baja podría ser indicio de que el ácido glutámico se está acumulando en el cuerpo, facilitando la proliferación de células epiteliales mamarias a través de la producción de ATP y la biosíntesis de nucleótidos, promoviendo la aparición del CM (Yang et al. 2020, Cha et al. 2018).

La glucosa, por su parte es el sustrato energético más importante para las células ya que constituye una fuente esencial de energía para satisfacer sus necesidades metabólicas (Zheng et al. 2022). Sun et al. 2019 demostraron que las altas concentraciones de glucosa en el CM promueven la proliferación celular, así como la metástasis. Estos resultados se vinculan con la expresión aumentada de los transportadores de glucosa GLUT1-6 y 12, lo que aumentaría su concentración intracelular y, que también existe una mayor expresión de enzimas relacionadas con la glucólisis debido a la activación de factores de transcripción como *c-MYC*, *p53* y HIF-1 (Shin & Koo, 2021).

La carnitina desempeña un papel importante en la modulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos participando en la  $\beta$ -oxidación, por ejemplo, y regulando la relación CoA/acil-CoA (Sun et al. 2020), cerca del 25% de la carnitina se sintetiza a partir de lisina y cetoglutarato, mientras que el resto se sintetiza a partir de fuentes dietéticas (Ozmen et al. 2017), debido al aumento de los requerimientos metabólicos en las células tumorales, se especula que la mayor parte de la carnitina se moviliza a los tejidos tumorales para la producción de energía, lo que disminuye su presencia en el suero y el plasma (Wang et al. 2024).

Por otro lado, el análisis de metabolitos demostró que las vías significativamente afectadas fueron el metabolismo de arginina, prolina, glioxilato, dicarboxilato, alanina, aspartato, glutamato, glicina, serina y treonina; así como la biosíntesis de arginina, todas estas vías participan en procesos como la homeostasis celular, biosíntesis de proteínas y nucleótidos, producción de energía a través del ciclo del ATC, regulan la homeostasis redox, favorecen la proliferación celular, la supervivencia tumoral y son capaces de activar vías de señalización como la vía mTOR, principalmente.

En el metabolismo de la arginina-prolina, la primera promueve la angiogénesis mediante la producción de óxido nítrico, reduce la proliferación de células T mediante sus derivados, se transforma en urea y ornitina, generando poliaminas como putrescina, espermidina y espermina, las cuales participan en la proliferación tumoral al aumentar la síntesis del ADN a través de la activación de enzimas como la ADN polimerasa, helicasas, ADN ligasas (Chen et al. 2024), además son capaces de asociarse con ácidos nucleicos, afectando la estructura de la cromatina (Lieu et al. 2020). La síntesis de prolina está directamente relacionada con la producción de colágeno en los fibroblastos mamarios asociados a cáncer, el metabolismo deficiente de la prolina da como resultado una deposición reducida de colágeno comprometiendo el crecimiento y la propagación metastásica del cáncer (Kay et al. 2023).

Asimismo, la alanina es capaz de convertirse en piruvato, una fuente de energía importante en el microambiente tumoral del CM (Arenas et al. 2023), mientras que el aspartato participa en el ciclo de la urea, sin embargo, cuando existe una disminución de la enzima ASS1, esto promueve la proliferación del cáncer mediante la desviación del sustrato aspartato hacia enzimas que catalizan las primeras tres reacciones en la vía de la síntesis de pirimidina, lo que resulta en una mayor progresión tumoral (Chen et al. 2024). Los tumores en condiciones de glucosa limitada, el glutamato actúa como un sustituto de esta, produciendo  $\alpha$ -cetoglutarato, intermediario importante en el ciclo del ATC (Chen et al. 2024).

El metabolismo de la serina-glicina contribuye a la metilación de genes y proteínas, a mantener la homeostasis redox (Chen et al. 2024), y es capaz de interactuar con diversas vías de señalización (Liu et al. 2024), la serina se metaboliza en 5,10-metilentetrahidrofolato (5,10-mTHF) mientras que la treonina en 5-metilentetrahidrofolato (5-mTHF), ambos importantes en el ciclo del folato, y, por ende, contribuyen significativamente a la regulación del ciclo de la metionina. Los residuos de serina, treonina y tirosina se han establecido como residuos para la fosforilación de histonas (Chen et al. 2024).

Tanto la glicina como el glutamato participan en la síntesis del glutatión (Liu et al. 2024), un antioxidante que protege la homeostasis celular de daños oxidativos, promoviendo la progresión del cáncer mediante la supresión de la activación de vías apoptóticas celulares (Desideri et al. 2019). El glutatión es necesario para la actividad de las glutatión-S-transferasas (GST), implicadas en la desintoxicación

de sustratos o productos de estrés oxidativo que pueden dañar el ADN, además de participar en la señalización de la vía MAPK para modular la apoptosis (Kennedy et al. 2020).

En condiciones sanas, el glutati6n se encuentra en equilibrio en sus formas oxidada y reducida, sin embargo, en condiciones de estr6s oxidativo, como el c6ncer, la proporci6n se favorece hacia la forma reducida, esta acumulaci6n es potencialmente t6xica para la c6lula ya que actúa como un prooxidante, promoviendo la supervivencia celular y la evasi6n de apoptosis (Desideri et al. 2019).

Si bien, los resultados de la comparaci6n entre metabolitos alterados en los diferentes subtipos y etapas no fueron evidentes, se rescataron algunos cambios notables.

La lisofosfatidilcolina (LFC) se encontr6 desregulada en los distintos subtipos moleculares; en los tumores RE+ se observ6 una disminuci6n de LFC 16:1 y en los tumores HER2+, LFC 18:1 y 16:0 se encontraron a la baja. La investigaci6n de Lebok P. et al. 2019, confirm6 que la enzima lisofosfatidilcolina aciltransferasa 1 (LPCAT1) se encuentra regulada positivamente en el c6ncer de mama ya que es importante en la progresi6n del tumor. LPCAT1 est6 implicada en la conversi6n de LFC a fosfatidilcolina (FC), por lo que se sugiere una relaci6n entre el aumento de expresi6n de LPCAT1 y la disminuci6n de LFC encontrada en esta revisi6n, sin embargo, no se encontr6 correlaci6n entre los subtipos moleculares y las variantes de LFC.

Los tumores RE+ y RP+ presentaron niveles elevados de octanoilcarnitina, mientras que en los tumores T3 se encontr6 una disminuci6n, sin embargo, no se encontraron estudios relevantes que asocien este metabolito con la expresi6n de los receptores hormonales.

El aumento de concentraci6n glutamina s6rica en CMTN se puede relacionar con una sobreexpresi6n de transportadores de aa como ASCT2 y LAT1. Comparado con otros subtipos, el CMTN es m6s dependiente de glutamina debido a la sobreexpresi6n de glutaminasa, que tambi6n se encuentra asociada con CM metast6sico de alto grado (Bel'skaya et al. 2023). Por el contrario, y de acuerdo con los resultados de Suman et al. 2018, la regulaci6n negativa de glutamina plasm6tica en CM tardío podría indicar una acumulaci6n de 6cido glut6mico, contribuyendo al desarrollo de la enfermedad debido a la mayor proliferaci6n de las c6lulas epiteliales mamarias por la producci6n de ATP y la biosíntesis de nucle6tidos (Yang et al. 2020, Bel'skaya et al. 2023).

La evidencia encontrada indica que, si bien existen cambios en los perfiles metabol6micos de biofluidos asociados a distintos subtipos y etapas de CM, estas firmas no son completamente específcas. A pesar de muchos estudios muestran patrones que perfilan este an6lisis como una herramienta para detectar alteraciones tempranas en los pacientes, la variabilidad entre individuos influenciada por el estadio, subtipo, tipo histol6gico e incluso el m6todo de an6lisis empleado, limita la capacidad para establecer biomarcadores universales a todos los pacientes.

## 8 Conclusiones

La sangre y el plasma se perfilan como los biofluidos m6s id6neos para la obtenci6n de perfiles metabol6micos debido a su accesibilidad, alta concentraci6n de metabolitos y capacidad para reflejar alteraciones fisiopatol6gicas, esto los convierte en candidatos ideales para el diagn6stico temprano de c6ncer de mama, no obstante, se requiere mayor investigaci6n para comparar la sensibilidad y especificidad de distintos biofluidos en ese contexto.

Tanto la RMN como la EM han demostrado ser herramientas altamente eficaces para la caracterizaci6n de perfiles metabol6micos en pacientes con c6ncer de mama. A pesar de que cada t6cnica presenta enfoques y fortalezas particulares, sus limitaciones abren la posibilidad de implementar estrategias combinadas que integren lo mejor de ambas, aumentando la precisi6n y sensibilidad del an6lisis.

Para avanzar hacia una aplicación clínica efectiva, es fundamental estandarizar los protocolos experimentales, desde la recolección de muestras hasta el procesamiento y análisis de datos, y reducir la variabilidad técnica y biológica, además, se requieren investigaciones multicéntricas con cohortes amplias y diversas que permitan validar la fiabilidad de los resultados.

Otro aspecto importante para considerar en estudios futuros es la necesidad de identificar el momento óptimo para la recolección de muestras en relación con las diferentes etapas del cáncer de mama, dado que es una enfermedad dinámica y es crucial determinar las condiciones y momentos adecuados para la obtención de los biofluidos, con la finalidad de detectar alteraciones específicas/metabolitos específicos.

El futuro de la metabolómica como herramienta diagnóstica en cáncer de mama depende de un esfuerzo continuo por superar las limitaciones actuales. La validación de biomarcadores específicos, la mejora de las técnicas analíticas y la optimización en la recolección de muestras son prioridades clave. La metabolómica tiene el potencial de transformar el diagnóstico temprano, contribuyendo a mejorar las tasas de supervivencia y favorecer tratamientos más personalizados y menos invasivos.

## 9 Referencias Bibliográficas

- ¿Qué es el grado del cáncer de seno? | *Grading Breast Cancer*. (2021, 8 noviembre). <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/compreension-de-un-diagnostico-de-cancer-de-seno/grados-del-cancer-de-seno.html>
- Alakwaa, F., Chaudhary, K., & Garmire, L. X. (2017). Deep Learning Accurately Predicts Estrogen Receptor Status in Breast Cancer Metabolomics Data. *Journal Of Proteome Research*, 17(1), 337-347. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00595>
- Ali, S., & Coombes, R. C. (2000). Estrogen receptor alpha in human breast cancer: occurrence and significance. *Journal Of Mammary Gland Biology And Neoplasia*, 5(3), 271-281. <https://doi.org/10.1023/a:1009594727358>
- Almansour, N. M. (2022). Triple-Negative Breast Cancer: A Brief Review About Epidemiology, Risk Factors, Signaling Pathways, Treatment and Role of Artificial Intelligence. *Frontiers In Molecular Biosciences*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.836417>
- Amiri-Dashatan, N., Yekta, R. F., Koushki, M., Oskouie, A. A., Esfahani, H., Taheri, S., & Kazemian, E. (2022). Metabolomic study of serum in patients with invasive ductal breast carcinoma with LC-MS/MS approach. *The International Journal Of Biological Markers*, 37(4), 349-359. <https://doi.org/10.1177/03936155221123343>
- Arenas, M., Fargas-Saladié, M., Moreno-Solé, M., Moyano-Femenia, L., Jiménez-Franco, A., Canela-Capdevila, M., Castañé, H., Martínez-Navidad, C., Camps, J., & Joven, J. (2023). Metabolomics and triple-negative breast cancer: A systematic review. *Heliyon*, 10(1), e23628. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23628>
- Barba, D., León-Sosa, A., Lugo, P., Suquillo, D., Torres, F., Surre, F., Trojman, L., & Caicedo, A. (2021). Breast cancer, screening and diagnostic tools: All you need to know. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 157, 103174. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103174>
- Bel'skaya, L. V., Gundyrev, I. A., & Solomatin, D. V. (2023). The Role of Amino Acids in the Diagnosis, Risk Assessment, and Treatment of Breast Cancer: A Review. *Current Issues In Molecular Biology*, 45(9), 7513-7537. <https://doi.org/10.3390/cimb45090474>
- Bermúdez Garcell, A. J., Serrano Gámez, N. B., Teruel Ginés, R., Leyva Montero, M. de L. Á., & Naranjo Coronel, A. A. (2019). Biología del cáncer. *Correo Científico Médico*, 23(4), 1394–1416. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1560-43812019000401394](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812019000401394)
- B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase [Homo sapiens (human)]*. (2022). NCBI Recuperado el 18 de febrero de 2024, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/673>
- BRCA1 DNA repair associated [Homo sapiens (human)]*. (2022). NCBI Recuperado el 13 de febrero de 2024, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/672>
- Breast Cancer HER2 status | What is HER2 status?* (2022, 25 agosto). American Cancer Society. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/breast-cancer-her2-status.html>
- Breast Cancer Hormone Receptor status | Estrogen receptor*. (2021, 8 noviembre). American Cancer Society. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/breast-cancer-hormone-receptor-status.html>
- Breast cancer screening*. (2023, 26 junio). National Cancer Institute. Recuperado el 24 de febrero de 2024, de <https://www.cancer.gov/types/breast/patient/breast-screening-pdq>

- Breast. (2016). En *AJCC Cancer Staging Manual* (8.<sup>a</sup> ed.). Mahul B. Amin, Stephen B. Edge, Frederick L. Greene, David R. Byrd, Robert K. Brookland, Mary Kay Washington, Jeffrey E. Gershenwald, Carolyn C. Compton, Kenneth R. Hess, Daniel C. Sullivan, J. Milburn Jessup, James D. Brierley, Lauri E. Gaspar, Richard L. Schilsky, Charles M. Balch, David P. Winchester, Elliot A. Asare, Martin Madera, Donna M. Gress, Laura R. Meyer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-40618-3\\_48](https://doi.org/10.1007/978-3-319-40618-3_48)
- Cala, M. P., Aldana, J., Medina, J., Sánchez, J., Guio, J., Wist, J., & Meesters, R. J. (2018). Multiplatform plasma Metabolic and lipid fingerprinting of breast cancer: a pilot control-case study in Colombian Hispanic women. *PLOS ONE*, *13*(2), e0190958. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190958>
- Cala, M. P., Aldana, J., Sánchez, J., Guio, J., & Meesters, R. J. (2018). Urinary metabolite and lipid alterations in Colombian Hispanic women with breast cancer: a pilot study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *152*, 234-241. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.02.009>
- Cancer Classification*. National Cancer Institute. Recuperado 15 de junio de 2024, de <https://training.seer.cancer.gov/disease/categories/classification.html>
- Cáncer de seno invasivo (IDC/ILC)*. (2021, 19 noviembre). <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/acerca/tipos-de-cancer-de-seno/cancer-invasivo-del-seno.html>
- Carcinoma ductal in situ (DCIS)*. (2021, 19 noviembre). American Cancer Society. Recuperado 20 de enero de 2024, de <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/acerca/tipos-de-cancer-de-seno/carcinoma-ductal-in-situ.html>
- Carcinoma lobulillar in situ| LCIS*. (2022, 25 enero). <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/afecciones-no-cancerosas-de-los-senos/carcinoma-lobulillar-in-situ.html>
- Carcinosarcoma*. (s. f.). National Cancer Institute. Recuperado 28 de abril de 2025, de <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/carcinosarcoma>
- Carreras, H. Z., PhD. (2024, 22 febrero). *NMR Spectroscopy Principles, Interpreting an NMR Spectrum and Common Problems*. Analysis & Separations From Technology Networks. <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/nmr-spectroscopy-principles-interpreting-an-nmr-spectrum-and-common-problems-355891>
- Cerma, K., Piacentini, F., Moscetti, L., Barbolini, M., Canino, F., Tornincasa, A., Caggia, F., Cerri, S., Molinaro, A., Dominici, M., & Omarini, C. (2023). Targeting PI3K/AKT/mTOR Pathway in Breast Cancer: From Biology to Clinical Challenges. *Biomedicine*, *11*(1), 109. <https://doi.org/10.3390/biomedicine11010109>
- Cha, Y., Kim, E., & Koo, J. (2018). Amino Acid Transporters and Glutamine Metabolism in Breast Cancer. *International Journal Of Molecular Sciences*, *19*(3), 907. <https://doi.org/10.3390/ijms19030907>
- Chen, J., Cui, L., Lu, S., & Xu, S. (2024). Amino acid metabolism in tumor biology and therapy. *Cell Death And Disease*, *15*(1). <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06435-w>
- Cheung, P. K., Hin, M., MA, Tse, H. F., Yeung, K. F., Tsang, H. F., Chu, M. K. M., Kan, C. M., Cho, W. C. S., Ng, L. B. W., Chan, L. W. C., & Wong, S. C. C. (2019). The applications of metabolomics in the molecular diagnostics of cancer. *Expert Review Of Molecular Diagnostics*, *19*(9), 785-793. <https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1656530>
- Clevenger, C. V., & Rui, H. (2022). Breast Cancer and Prolactin – New Mechanisms and Models. *Endocrinology*, *163*(10). <https://doi.org/10.1210/endocr/bqac122>

- Colomer, R., Aranda, I., Albanell, J., García-Caballero, T., Ciruelos, E., López-García, M. Á., Cortés, J., Rojo, F., Martín, M., & Palacios-Calvo, J. (2017). Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. *Clinical & Translational Oncology*, 20(7), 815-826. <https://doi.org/10.1007/s12094-017-1800-5>
- Crook, A. A., & Powers, R. (2020). Quantitative NMR-Based Biomedical Metabolomics: Current Status and Applications. *Molecules*, 25(21), 5128. <https://doi.org/10.3390/molecules25215128>
- Danzi, F., Pacchiana, R., Mafficini, A., Scupoli, M. T., Scarpa, A., Donadelli, M., & Fiore, A. (2023). To metabolomics and beyond: a technological portfolio to investigate cancer metabolism. *Signal Transduction And Targeted Therapy*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01380-0>
- De Rubis, G., Krishnan, S. R., & Bebawy, M. (2019). Liquid biopsies in Cancer diagnosis, monitoring, and Prognosis. *Trends in Pharmacological Sciences*, 40(3), 172-186. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.01.006>
- Desideri, E., Ciccarone, F., & Ciriolo, M. R. (2019). Targeting Glutathione Metabolism: Partner in Crime in Anticancer Therapy. *Nutrients*, 11(8), 1926. <https://doi.org/10.3390/nu11081926>
- Díaz-Beltrán, L., González-Olmedo, C., Luque-Caro, N., Díaz, C., Martín-Blázquez, A., Fernández-Navarro, M., Granados, A. O., Gálvez-Montosa, F., Vicente, F., Palacio, J., & Sánchez-Rovira, P. (2021). Human plasma Metabolomics for Biomarker Discovery: Targeting the molecular subtypes in breast cancer. *Cancers*, 13(1), 147. <https://doi.org/10.3390/cancers13010147>
- Doğan, H. O. (2024). Metabolomics: a review of liquid chromatography mass spectrometry-based methods and clinical applications. *Turkish Journal Of Biochemistry*, 49(1), 1-14. <https://doi.org/10.1515/tjb-2023-0095>
- El-Toukhy, S. E., El-Daly, S. M., Kamel, M. M., & Nabih, H. K. (2022). The diagnostic significance of circulating miRNAs and metabolite profiling in early prediction of breast cancer in Egyptian women. *Journal Of Cancer Research And Clinical Oncology*, 149(8), 5437-5451. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04492-2>
- Emwas, A., Roy, R., McKay, R. T., Tenori, L., Saccenti, E., Gowda, G. A. N., Raftery, D., Alahmari, F., Jaremko, Ł., Jaremko, M., & Wishart, D. S. (2019). NMR Spectroscopy for Metabolomics research. *Metabolites*, 9(7), 123. <https://doi.org/10.3390/metabo9070123>
- Estadificación del cáncer.* (2022, 14 octubre). Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/estadificacion>
- Estadificación del cáncer.* (2022, 19 febrero). <https://www.cancer.org/es/tratamiento/como-comprender-su-diagnostico/estadificaciondelcancer.html>
- Etapas del cáncer de seno | Comprender la estadificación del cáncer mamario.* (2021, 8 noviembre). <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/compreension-de-un-diagnostico-de-cancer-de-seno/etapas-del-cancer-de-seno.html>
- Fahrman, J. F., Vykoukal, J., Fleury, A., Tripathi, S., Dennison, J. B., Murage, E., Wang, P., Yu, C., Capello, M., Creighton, C. J., Do, K., Long, J. P., Irajizad, E., Peterson, C., Katayama, H., Disis, M. L., Arun, B., & Hanash, S. (2019). Association Between Plasma Diacetylspermine and Tumor Spermine Synthase With Outcome in Triple-Negative Breast Cancer. *JNCI Journal Of The National Cancer Institute*, 112(6), 607-616. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz182>
- Feng, Y., Dewanjee, S., Li, Y., Jha, N. K., Chen, Z., Kumar, A., Vishakha, Behl, T., Jha, S. K., & Tang, H. (2023). Advancements in clinical aspects of targeted therapy and immunotherapy in breast cancer. *Molecular Cancer*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01805-y>

- Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., Ji, X., Liu, W., Huang, B., Luo, W., Liu, B., Yan, L., Du, S., Vuppalapati, A., Luu, H. H., Haydon, R. C., He, T. C., & Ren, G. (2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes & Diseases*, 5(2), 77-106. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>
- González, M. A. G., Mendonza, E. S., Minsky, N. H. W., & Saucedo, A. L. (2022). Fundamentos y analogías para entender mejor la espectroscopía de RMN. *Educación Química*, 33(4), 3-13. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2022.4.0.81520>
- Gowda, G. A. N., & Raftery, D. (2021). NMR-Based Metabolomics. *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 19-37. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51652-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51652-9_2)
- Gowda, G. A. N., & Raftery, D. (2023). NMR Metabolomics Methods for Investigating Disease. *Analytical Chemistry*, 95(1), 83-99. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04606>
- Grado del tumor.* (2022, 1 agosto). Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/pronostico/hoja-informativa-grado-tumor>
- Gumà, J., Adrià-Cebrián, J., Ruiz-Aguado, B., Albacar, C., Girona, J., Rodríguez-Calvo, R., Martínez-Micaelo, N., Lam, E. W. F., Masana, L., & Guaita-Esteruelas, S. (2021). Altered Serum Metabolic Profile Assessed by Advanced 1H-NMR in Breast Cancer Patients. *Cancers*, 13(17), 4281. <https://doi.org/10.3390/cancers13174281>
- Guo, L., Kong, D., Liu, J., Zhan, L., Luo, L., Zheng, W., Zheng, Q., Chen, C., & Sun, S. (2023). Breast cancer heterogeneity and its implication in personalized precision therapy. *Experimental Hematology & Oncology*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s40164-022-00363-1>
- Hadi, N. I., Jamal, Q., Iqbal, A., Shaikh, F., Somroo, S., & Musharraf, S. G. (2017). Serum Metabolomic Profiles for Breast Cancer Diagnosis, Grading and Staging by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01924-9>
- Han, X., Li, D., Wang, S., Lin, Y., Liu, Y., Lin, L., & Qiao, L. (2022). Serum amino acids quantification by plasmonic colloidosome-coupled MALDI-TOF MS for triple-negative breast cancer diagnosis. *Materials Today Bio*, 17, 100486. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100486>
- Hart, V. E. L., Gautrey, H., Kirby, J. A., & Tyson-Capper, A. (2020). HER2 splice variants in breast cancer: investigating their impact on diagnosis and treatment outcomes. *Oncotarget*, 11(46), 4338-4357. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27789>
- Hayes, D. F. (2019). HER2 and Breast Cancer — A Phenomenal Success Story. *The New England Journal Of Medicine*, 381(13), 1284-1286. <https://doi.org/10.1056/nejmcibr1909386>
- Hedayatzadeh-Omran, A., Rafiei, A., Alizadeh-Navaei, R., Tehrani, M., Valadan, R., Moradzadeh, K., Panbechi, M., & Taghavi, S. M. (2015). Role of HER2 in Brain Metastasis of Breast Cancer: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention*, 16(4), 1431-1434. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.4.1431>
- Helguero, L. A., Faulds, M. H., Gustafsson, J., & Haldosén, L. A. (2005). Estrogen receptors alfa (ER $\alpha$ ) and beta (ER $\beta$ ) differentially regulate proliferation and apoptosis of the normal murine mammary epithelial cell line HC11. *Oncogene*, 24(44), 6605-6616. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208807>
- Horvath, E. (2021). Subtipos moleculares del cáncer mamario - lo que el radiólogo dedicado a imágenes mamarias debe saber. *Revista Chilena de Radiología*, 27(1), 17-26. <https://doi.org/10.4067/s0717-93082021000100017>

- Huang, Y., Du, S., Liu, J., Huang, W., Liu, W., Zhang, M., Li, N., Wang, R., Wu, J., Chen, W., Jiang, M., Zhou, T., Cao, J., Yang, J., Huang, L., Gu, A., Niu, J., Cao, Y., Zong, W., . . . Wang, H. (2022). Diagnosis and prognosis of breast cancer by high-performance serum metabolic fingerprints. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 119(12). <https://doi.org/10.1073/pnas.2122245119>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI (2023, 19 de octubre). *Estadísticas a propósito del día internacional de la lucha contra el cáncer de mama*. [Comunicado de prensa] <https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia/8498>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI (2024, 19 de octubre). *Estadísticas a propósito del día internacional de la lucha contra el cáncer de mama*. [Comunicado de prensa] <https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia/9346>
- Iqbal, N., & Iqbal, N. (2014). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Molecular Biology International*, 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/852748>
- Januškevičienė, I., & Petrikaitė, V. (2019). Heterogeneity of breast cancer: the importance of interaction between different tumor cell populations. *Life Sciences*, 239, 117009. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117009>
- Jiang, Q., Xiao, J., Hsieh, Y., Kumar, N. L., Han, L., Zou, Y., & Li, H. (2024). The Role of the PI3K/Akt/mTOR Axis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Biomedicines*, 12(7), 1610. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12071610>
- Kavarthapu, R., & Dufau, M. L. (2022). Prolactin receptor gene transcriptional control, regulatory modalities relevant to breast cancer resistance and invasiveness. *Frontiers In Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.949396>
- Kavarthapu, R., Anbazhagan, R., & Dufau, M. L. (2021). Crosstalk between PRLR and EGFR/HER2 Signaling Pathways in Breast Cancer. *Cancers*, 13(18), 4685. <https://doi.org/10.3390/cancers13184685>
- Kay, E. J., Zanivan, S., & Rufini, A. (2023). Proline metabolism shapes the tumor microenvironment: from collagen deposition to immune evasion. *Current Opinion In Biotechnology*, 84, 103011. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.103011>
- Kennedy, L., Sandhu, J. K., Harper, M., & Cuperlovic-Culf, M. (2020). Role of Glutathione in Cancer: From Mechanisms to Therapies. *Biomolecules*, 10(10), 1429. <https://doi.org/10.3390/biom10101429>
- Khan, M. A., Jain, V., Rizwanullah, M., Ahmad, J., & Jain, K. (2019). PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors in triple-negative breast cancer: a review on drug discovery and future challenges. *Drug Discovery Today*, 24(11), 2181-2191. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.09.001>
- Kim, S. J., Song, H. E., Lee, H. Y., & Yoo, H. J. (2021). Mass Spectrometry-based Metabolomics in Translational Research. *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 509-531. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-6064-8\\_19](https://doi.org/10.1007/978-981-33-6064-8_19)
- Kiseleva, O., Kurbatov, I., Ilgisonis, E., & Poverennaya, E. (2021). Defining Blood Plasma and Serum Metabolome by GC-MS. *Metabolites*, 12(1), 15. <https://doi.org/10.3390/metabo12010015>
- Kozar, N., Kruusmaa, K., Bitenc, M., Argamasilla, R., Adsuar, A., Takač, I., & Arko, D. (2020). Identification of Novel Diagnostic Biomarkers in Breast Cancer Using Targeted Metabolomic Profiling. *Clinical Breast Cancer*, 21(3), e204-e211. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2020.09.006>

- KRAS proto-oncogene, GTPase [Homo sapiens (human)]*. (2022). NCBI. Recuperado el 13 de febrero de 2024, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3845>
- Krump, N. A., & You, J. (2018). Molecular mechanisms of viral oncogenesis in humans. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(11), 684-698. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0064-6>
- Lebok, P., Von Hassel, A., Meiners, J., Hube-Magg, C., Simon, R., Höflmayer, D., Hinsch, A., Dum, D., Fraune, C., Göbel, C., Möller, K., Sauter, G., Jacobsen, F., Büscheck, F., Prien, K., Krech, T., Krech, R. H., Von Der Assen, A., Wölber, L., . . . Burandt, E. C. (2019). Up-regulation of lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (LPCAT1) is linked to poor prognosis in breast cancer. *Aging*, *11*(18), 7796-7804. <https://doi.org/10.18632/aging.102287>
- Lehmann, B. D., Bauer, J. A., Chen, X., Sanders, M. E., Chakravarthy, A. B., Shyr, Y., & Pietenpol, J. A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *Journal Of Clinical Investigation*, *121*(7), 2750-2767. <https://doi.org/10.1172/jci45014>
- Lehmann, B. D., Jovanović, B., Chen, X., Estrada, M. V., Johnson, K. N., Shyr, Y., Moses, H. L., Sanders, M. E., & Pietenpol, J. A. (2016). Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLOS ONE*, *11*(6), e0157368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157368>
- Li, J., Guan, X., Fan, Z., Li, C., Li, Y., Wang, X., Cao, W., & Liu, D. X. (2020). Non-Invasive biomarkers for early detection of breast cancer. *Cancers*, *12*(10), 2767. <https://doi.org/10.3390/cancers12102767>
- Li, Z., Wei, H., Li, S., Wu, P., & Mao, X. (2022). The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Drug Design Development And Therapy*, *Volume 16*, 305-314. <https://doi.org/10.2147/dddt.s336643>
- Lieu, E. L., Nguyen, T., Rhyne, S., & Kim, J. (2020). Amino acids in cancer. *Experimental & Molecular Medicine*, *52*(1), 15-30. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0375-3>
- Liu, J., Dang, H., & Wang, X. W. (2018). The significance of intertumor and intratumor heterogeneity in liver cancer. *Experimental & Molecular Medicine*, *50*(1), e416. <https://doi.org/10.1038/emm.2017.165>
- Liu, X., Ren, B., Ren, J., Gu, M., You, L., & Zhao, Y. (2024). The significant role of amino acid metabolic reprogramming in cancer. *Cell Communication And Signaling*, *22*(1). <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01760-1>
- Lucena, M. A., González, C., De Reyes Lartategui, S., Aragón, R. G., Barrón, M. S., Rubio, J. G., & Poyatos, P. T. (2021). Molecular classification of breast cancer. Treatment and prognosis implications. *Cirugía Andaluza*, *32*(2), 155-159. <https://doi.org/10.37351/2021322.9>
- Ma, J., Qin, L., & Li, X. (2020). Role of STAT3 signaling pathway in breast cancer. *Cell Communication And Signaling*, *18*(1). <https://doi.org/10.1186/s12964-020-0527-z>
- Manore, S. G., Doheny, D., Wong, G. L. H., & Lo, H. (2022). IL-6/JAK/STAT3 Signaling in Breast Cancer Metastasis: Biology and Treatment. *Frontiers In Oncology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.866014>
- Mao, C., Wang, M., Li, L., & Tang, J. (2022). Circulating metabolites serve as diagnostic biomarkers for HER2-positive breast cancer and have predictive value for trastuzumab therapy outcomes. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*, *36*(2). <https://doi.org/10.1002/jcla.24212>
- McGuire, A., Brown, J. A. L., Malone, C., McLaughlin, R., & Kerin, M. J. (2015). Effects of Age on the Detection and Management of Breast Cancer. *Cancers*, *7*(2), 908-929. <https://doi.org/10.3390/cancers7020815>

- Men, Y., Li, L., Zhang, F., Kong, X., Zhang, W., Hao, C., & Wang, G. (2019). Evaluation of heavy metals and metabolites in the urine of patients with breast cancer. *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.11206>
- Miricescu, D., Totan, A. R., Stănescu-Spînu, I., Bădoiu, S. C., Ștefani, C., & Greabu, M. (2020). PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Breast Cancer: From Molecular Landscape to Clinical Aspects. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(1), 173. <https://doi.org/10.3390/ijms22010173>
- Murata, T., Yanagisawa, T., Kurihara, T., Kaneko, M., Ota, S., Enomoto, A., Tomita, M., Sugimoto, M., Sunamura, M., Hayashida, T., Kitagawa, Y., & Jinno, H. (2019). Salivary metabolomics with alternative decision tree-based machine learning methods for breast cancer discrimination. *Breast Cancer Research And Treatment*, 177(3), 591-601. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05330-9>
- Nalbantoglu, S., (2019). Metabolomics: Basic Principles and Strategies. En Nalbantoglu, S., & Amri, H. (Eds) *Molecular Medicine* (pp. 137-146). BoD – Books on Demand.
- Nepstad, I., Hatfield, K. J., Grønningsæter, I. S., & Reikvam, H. (2020). The PI3K-Akt-mTOR Signaling Pathway in Human Acute Myeloid Leukemia (AML) Cells. *International Journal Of Molecular Sciences*, 21(8), 2907. <https://doi.org/10.3390/ijms21082907>
- Oncogene*. (2022). Genome.gov. Recuperado 10 de febrero de 2024, de <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Oncogene>
- Ozmen, H. K., Erdemci, B., Askin, S., & Sezen, O. (2017). Carnitine and adiponectin levels in breast cancer after radiotherapy. *Open Medicine*, 12(1), 189-194. <https://doi.org/10.1515/med-2017-0028>
- Pagliarini, R., Shao, W., & Sellers, W. R. (2015). Oncogene addiction: pathways of therapeutic response, resistance, and road maps toward a cure. *EMBO Reports*, 16(3), 280–296. <https://doi.org/10.15252/embr.201439949>
- Panigoro, S. S., Kurniawan, A., Ramadhan, R., Sukartini, N., Herqutanto, H., Paramita, R. I., & Sandra, F. (2023). Amino Acid Profile of Luminal A and B Subtypes Breast Cancer. *The Indonesian Biomedical Journal*, 15(3), 269-276. <https://doi.org/10.18585/inabj.v15i3.2109>
- Panneerselvam, K., Ishikawa, S., Krishnan, R., & Sugimoto, M. (2022). Salivary Metabolomics for Oral Cancer Detection: A Narrative Review. *Metabolites*, 12(5), 436. <https://doi.org/10.3390/metabo12050436>
- Panwar, V., Singh, A., Bhatt, M., Tonk, R. K., Azizov, S., Raza, A. S., Sengupta, S., Kumar, D., & Garg, M. (2023). Multifaceted role of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling pathway in human health and disease. *Signal Transduction And Targeted Therapy*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01608-z>
- Park, J. W., Shin, Y., Kim, T. H., Kim, D., & Lee, A. (2019). Plasma metabolites as possible biomarkers for diagnosis of breast cancer. *PloS One*, 14(12), e0225129. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225129>
- Patel, A., & Shah, S. (2022). Noninvasive Biomarkers: Emerging Trends in Early Detection of Breast Cancer. En *Breast Cancer: From Bench to Personalized Medicine* (pp. 125-143). [https://doi.org/10.1007/978-981-19-0197-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-19-0197-3_7)
- Pérdomo, S., Montealegre-Páez, L., Pacheco-Orozco, R. A., Martínez-Gregorio, H., Vaca-Paniagua, F., Ardila, J., Cayol, F., Oliver, J., Frecha, C., López, J., & Carreño, D. (2020). La biopsia líquida en el diagnóstico y monitoreo de pacientes oncológicos: oportunidades y retos en Latinoamérica. *Revista Colombiana de Cancerología*, 24(4), 164-177. <https://doi.org/10.35509/01239015.44>

- Pietzke, M., Arroyo, S. F., Sumpton, D., Mackay, G. M., Martin-Castillo, B., Camps, J., Joven, J., Menendez, J. A., & Vazquez, A. (2019). Stratification of cancer and diabetes based on circulating levels of formate and glucose. *Cancer & Metabolism*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40170-019-0195-x>
- Qiu, S., Wang, W., Zhang, A., & Wang, X. (2021). Mass Spectrometry-Based Metabolomics Toward Biological Function Analysis. *Mass Spectrometry-Based Metabolomics In Clinical And Herbal Medicines: Strategies, Technologies And Applications*, 157-170. <https://doi.org/10.1002/9783527835751.ch12>
- Rashed, R. E., Darwish, H., Omran, M. M., Belal, A., & Zahran, F. (2020). A novel serum metabolome score for breast cancer diagnosis. *British Journal Of Biomedical Science*, 77(4), 196-201. <https://doi.org/10.1080/09674845.2020.1784568>
- Risk factors: infectious agents*. (2019, 4 marzo). National Cancer Institute. Recuperado el 26 de enero de 2024, de <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/infectious-agents>
- Sánchez, M. (2022, 9 mayo). *Una mirada al cáncer desde la perspectiva molecular*. Sánchez Bouza | Revista Finlay. <http://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/1027>
- Sánchez, N. C. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Revista Médica Clínica las Condes*, 24(4), 553-562. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(13\)70659-x](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(13)70659-x)
- Sarı, E. K., & Yalçın, Ş. (2016). Clinical Aspects of Estrogen and Progesterone Receptors and ERBB2 Testing. En *Springer eBooks* (pp. 161-185). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-22843-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-22843-3_9)
- Sausa, S. L. M. (2019). Características clínico patológicas del cáncer de mama asociadas a la expresión del marcador celular Ki-67 en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, 2013-2017. *Anales de la Facultad de Medicina*, 80(4), 427-431. <https://doi.org/10.15381/anales.v80i4.16746>
- Scimeca, M., Urbano, N., Bonfiglio, R., Duggento, A., Toschi, N., Schillaci, O., & Bonanno, E. (2019). Novel Insights into Breast Cancer Progression and metastasis: A multidisciplinary opportunity to transition from biology to Clinical oncology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1872(1), 138-148. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.07.002>
- Shin, E., & Koo, J. S. (2021). Glucose Metabolism and Glucose Transporters in Breast Cancer. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.728759>
- Silva, C. L., Olival, A., Perestrelo, R., Silva, P., & Tomás, H. (2019). Untargeted Urinary 1H NMR-Based Metabolomic Pattern as a potential platform in breast cancer detection. *Metabolites*, 9(11), 269. <https://doi.org/10.3390/metabo9110269>
- Sos, J. E., Quiles, L. G., & Maiocchi, K. (2019). La 8.ª edición de la clasificación AJCC-TNM: nuevas aportaciones a la estadificación del cáncer de la unión esofagogástrica. *Cirugía Española*, 97(8), 432-437. <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2019.03.006>
- Subramani, R., Poudel, S., Smith, K., Estrada, A., & Lakshmanaswamy, R. (2022). Metabolomics of Breast Cancer: A Review. *Metabolites*, 12(7), 643. <https://doi.org/10.3390/metabo12070643>
- Suman, S., Sharma, R. K., Kumar, V., Sinha, N., & Shukla, Y. (2018). Metabolic fingerprinting in breast cancer stages through 1H NMR spectroscopy-based metabolomic analysis of plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 160, 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.024>

- Sun, C., Wang, F., Zhang, Y., Yu, J., & Wang, X. (2020). Mass spectrometry imaging-based metabolomics to visualize the spatially resolved reprogramming of carnitine metabolism in breast cancer. *Theranostics*, *10*(16), 7070-7082. <https://doi.org/10.7150/thno.45543>
- Sun, S., Sun, Y., Rong, X., & Bai, L. (2019). High glucose promotes breast cancer proliferation and metastasis by impairing angiotensinogen expression. *Bioscience Reports*, *39*(6). <https://doi.org/10.1042/bsr20190436>
- Sun, Y., Tang, H., & Wang, Y. (2021). Progress and Challenges in Quantifying Carbonyl-Metabolomic Phenomes with LC-MS/MS. *Molecules*, *26*(20), 6147. <https://doi.org/10.3390/molecules26206147>
- To, S. Q. G., Dmello, R. S., Richards, A. K., Ernst, M., & Chand, A. L. (2022). STAT3 Signaling in Breast Cancer: Multicellular Actions and Therapeutic Potential. *Cancers*, *14*(2), 429. <https://doi.org/10.3390/cancers14020429>
- Trabert, B., Sherman, M. E., Kannan, N., & Stanczyk, F. Z. (2019). Progesterone and Breast Cancer. *Endocrine Reviews*, *41*(2), 320-344. <https://doi.org/10.1210/edrv/bnz001>
- Understanding your pathology report: Breast cancer.* (2023, 23 julio). American Cancer Society. <https://www.cancer.org/treatment/understanding-your-diagnosis/tests/understanding-your-pathology-report/breast-pathology/breast-cancer-pathology.html>
- Uscanga-Perales, G. I., Santuario-Facio, S. K., & Ortíz-López, R. (2016). Triple negative breast cancer: Deciphering the biology and heterogeneity. *Medicina Universitaria*, *18*(71), 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.05.007>
- Vignoli, A., Muraro, E., Miolo, G., Tenori, L., Turano, P., Di Gregorio, E., Steffan, A., Luchinat, C., & Corona, G. (2020). Effect of Estrogen Receptor Status on Circulatory Immune and Metabolomics Profiles of HER2-Positive Breast Cancer Patients Enrolled for Neoadjuvant Targeted Chemotherapy. *Cancers*, *12*(2), 314. <https://doi.org/10.3390/cancers12020314>
- Vignoli, A., Risi, E., McCartney, A., Migliaccio, I., Moretti, E., Malorni, L., Luchinat, C., Biganzoli, L., & Tenori, L. (2021). Precision Oncology via NMR-Based Metabolomics: A Review on Breast Cancer. *International Journal Of Molecular Sciences*, *22*(9), 4687. <https://doi.org/10.3390/ijms22094687>
- Wang, H., Man, Q., Huo, F., Gao, X., Lin, H., Li, S., Wang, J., Su, F., Cai, L., Shi, Y., Liu, B., & Bu, L. (2022). STAT3 pathway in cancers: Past, present, and future. *MedComm*, *3*(2). <https://doi.org/10.1002/mco2.124>
- Wang, X., Zhao, X., Chou, J., Yu, J., Tao, Y., Liu, L., & Zhang, F. (2018). Taurine, glutamic acid and ethylmalonic acid as important metabolites for detecting human breast cancer based on the targeted metabolomics. *Cancer Biomarkers*, *23*(2), 255-268. <https://doi.org/10.3233/cbm-181500>
- Wang, Y., An, R., Yu, H., Dai, Y., Lou, L., Quan, S., Chen, R., Ding, Y., Zhao, H., Wu, X., Liu, Z., Wang, Q., Gao, Y., Xie, X., & Zhang, J. (2024). Largescale multicenter study of a serum metabolite biomarker panel for the diagnosis of breast cancer. *iScience*, *27*(7), 110345. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110345>
- Wang, Y., Wang, Q., Tang, C., Chen, H., Hu, G., Shao, J., Dong, X., Jin, L., & Wang, C. (2021). p-STAT3 expression in breast cancer correlates negatively with tumor size and HER2 status. *Medicine*, *100*(10), e25124. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000025124>
- Wei, Z., Liu, X., Cheng, C., Yu, W., & Yi, P. (2021). Metabolism of Amino Acids in Cancer. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.603837>

- What is cancer?* (2021, 11 octubre). National Cancer Institute. Recuperado 19 de enero de 2024, de <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- Wishart, D. S., Cheng, L. L., Copié, V., Edison, A. S., Eghbalnia, H. R., Hoch, J. C., Gouveia, G. J., Pathmasiri, W., Powers, R., Schock, T. B., Sumner, L. W., & Uchimiyama, M. (2022). NMR and Metabolomics—A Roadmap for the Future. *Metabolites*, 12(8), 678. <https://doi.org/10.3390/metabo12080678>
- Wojtowicz, W., Wróbel, A., Pyziak, K., Tarkowski, R., Balcerzak, A., Bębenek, M., & Młynarz, P. (2020). Evaluation of MDA-MB-468 Cell Culture Media Analysis in Predicting Triple-Negative Breast Cancer Patient Sera Metabolic Profiles. *Metabolites*, 10(5), 173. <https://doi.org/10.3390/metabo10050173>
- World Health Organization. (2023). *World health statistics 2023: Monitoring Health for the sdgs, sustainable development goals*. World Health Organization. Recuperado el 30 de enero de 2024, de <https://www.who.int/publications/i/item/9789240074323>
- World Health Organization: WHO. (2022, 3 febrero). *Cáncer*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- World Health Organization: WHO. (2024, 13 marzo). *Breast cancer*. Recuperado el 20 de marzo de 2024, de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
- Wu, M., Song, D., Li, H., Yang, Y., Ma, X., Deng, S., Ren, C., & Shu, X. (2019). Negative regulators of STAT3 signaling pathway in cancers. *Cancer Management And Research, Volume 11*, 4957-4969. <https://doi.org/10.2147/cmar.s206175>
- Xu, X. (2021). Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry for Cancer Metabolomics. *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 189-200. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51652-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51652-9_13)
- Xu, Y., Zhao, B., Xu, Z., Li, X., & Sun, Q. (2023). Plasma metabolomic signatures of breast cancer. *Frontiers In Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1148542>
- Yang, L., Wang, Y., Cai, H., Wang, S., Shen, Y., & Ke, C. (2020). Application of metabolomics in the diagnosis of breast cancer: a systematic review. *Journal Of Cancer*, 11(9), 2540-2551. <https://doi.org/10.7150/jca.37604>
- Yin, L., Jiang, D., Bian, X. W., & Yu, S. C. (2020). Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Research*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01296-5>
- Yuan, B., Schafferer, S., Tang, Q., Scheffler, M., Nees, J., Heil, J., Schott, S., Golatta, M., Wallwiener, M., Sohn, C., Koal, T., Wolf, B., Schneeweiß, A., & Burwinkel, B. (2019). A plasma metabolite panel as biomarkers for early primary breast cancer detection. *International Journal of Cancer*, 144(11), 2833-2842. <https://doi.org/10.1002/ijc.31996>
- Zabalegui, N. (2023). *Estrategias analíticas para estudios metabolómicos por espectrometría de masas. Aplicaciones en salud y química atmosférica*. [Tesis de doctorado, Universidad de Buenos Aires]. [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n7414\\_Zabalegui.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n7414_Zabalegui.pdf)
- Zakiryanova, G. K., Wheeler, S., & Shurin, M. R. (2018). Oncogenes in immune cells as potential therapeutic targets. *ImmunoTargets And Therapy, Volume 7*, 21-28. <https://doi.org/10.2147/itt.s150586>
- Zhang, X., Li, Q., Xu, Z., & Dou, J. (2020). Mass spectrometry-based metabolomics in health and medical science: a systematic review. *RSC Advances*, 10(6), 3092-3104. <https://doi.org/10.1039/c9ra08985c>

- Zhao, H., Shen, J., Moore, S. C., Ye, Y., Wu, X., Esteva, F. J., Tripathy, D., & Chow, W. H. (2019). Breast cancer risk in relation to plasma metabolites among Hispanic and African American women. *Breast Cancer Research And Treatment*, 176(3), 687-696. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05165-4>
- Zheng, X., Ma, H., Wang, J., Huang, M., Fu, D., Qin, L., & Yin, Q. (2022). Energy metabolism pathways in breast cancer progression: The reprogramming, crosstalk, and potential therapeutic targets. *Translational Oncology*, 26, 101534. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2022.101534>
- Zhu, K., Wu, Y., He, P., Fan, Y., Zhong, X., Zheng, H., & Luo, T. (2022). PI3K/AKT/mTOR-Targeted Therapy for Breast Cancer. *Cells*, 11(16), 2508. <https://doi.org/10.3390/cells11162508>
- Zulkefly, A., Azman, W. N. W., Omar, J., Mutalib, N. S. A., Syamsumir, D. F., Maulidiani, M., Abas, F., Yahya, M. M., Yamin, M. S., Rahman, W. F. W. A., & Din, T. A. D. A. T. (2023). Identification of Potential Biomarkers and Metabolic Changes in the Serum of Breast Lump Patients Among Kelantanese Based on 1H NMR Metabolomics. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.36877/pmmb.a0000392>