



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama. Revisión sistemática

Trabajo de Integración Curricular
previo a la obtención del título de
Licenciada en Laboratorio Clínico

Autor:

Ana Belén Gálvez Córdova

Director:

Marlon Rolando Bravo Bonilla, PhD

Loja- Ecuador

2024

Certificación



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Sistema de Información Académico
Administrativo y Financiero - SIAAF

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, **BRAVO BONILLA MARLON ROLANDO**, director del Trabajo de Integración Curricular denominado **Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama. Revisión sistemática**, perteneciente al estudiante **ANA BELEN GALVEZ CORDOVA**, con cédula de identidad N° **1105253619**.

Certifico:

Que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular**, habiendo realizado una revisión exhaustiva para prevenir y eliminar cualquier forma de plagio, garantizando la debida honestidad académica, se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Integración Curricular**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 25 de julio de 2024



MARLON ROLANDO
BRAVO BONILLA

F)

DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR



Certificado TIC/TT.: UNL-2024-001327

1/1
Educamos para Transformar

Autoría

Yo, **Ana Belén Gálvez Córdova**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido de la misma. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular en el Repositorio Digital Institucional - Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de Identidad: 1105253619

Fecha: 15 de agosto de dos mil veinticuatro.

Correo electrónico: ana.b.galvez@unl.edu.ec

Teléfono: 0984330200

Carta de autorización

Yo **Ana Belén Gálvez Córdova**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado **Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama. Revisión sistemática**, como requisito para optar el título de **Licenciada en Laboratorio Clínico**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 15 días del mes de agosto de dos mil veinticuatro.

Firma:



Autor: Ana Belén Gálvez Córdova

Cédula: 1105253619

Dirección: Barrio Yahuarcoma, calles Membrillos y Eucaliptos.

Correo electrónico: ana.b.galvez@unl.edu.ec

Celular: 0984330200

Datos complementarios:

Director del Trabajo de Integración Curricular:

Marlon Rolando Bravo Bonilla, PhD

Agradecimiento

Agradezco a mis padres por su apoyo incondicional en cada paso dado, por incentivarme a realizar cada actividad con dedicación, esfuerzo y humildad en base a todos los principios inculcados de mi vida.

También agradezco a mi director de Trabajo de Integración Curricular, Marlon Rolando Bravo Bonilla, PhD, cuya dedicación, conocimiento y paciencia han sido fundamentales para mi crecimiento académico. Gracias por compartir su experiencia y conocimientos, su guía ha sido fundamental para la culminación de este trabajo y estoy profundamente agradecida por ello.

Gracias a toda la planta docente que ha contribuido en mi formación académica y personal, quienes me inculcaron amablemente nuevos valores y fortalecieron mi espíritu, brindándome los conocimientos necesarios para hacerlo posible.

Ana Belén Gálvez Córdova

Índice de contenido

Portada.....	i
Certificación	ii
Autoría.....	iii
Dedicatoria	iii
Carta de autorización.....	iv
Agradecimiento	v
Índice de contenido	vi
Índice de tablas.....	viii
Índice de figuras	ix
Índice de anexos	x
1. Título.....	1
2. Resumen.....	2
2.1 Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1 Cáncer.....	6
4.1.1 Definición.....	6
4.1.2 Epidemiología	6
4.1.3 Bases Moleculares.....	7
4.2 Cáncer de Mama.....	9
4.2.1 Definición.....	9
4.2.2 Clasificación Molecular	9
4.2.3 Diagnóstico.....	11
4.3 Citometría de Flujo	11
4.3.1 Fundamento	11
4.3.2 Citometría de Flujo en Cáncer de Mama	12
5. Metodología	13
5.1 Diseño del Estudio.....	13
5.2 Criterios de Elegibilidad.....	13
5.2.1 Criterios de Inclusión	13
5.2.2 Criterios de Exclusión	13
5.3 Fuentes de Información	13
5.4 Estrategia de Búsqueda y Selección del Estudio	13
5.5 Proceso de Recopilación y Extracción de Datos	16

5.6	Lista de Datos	16
5.7	Evaluación de la Calidad de los Estudios	16
5.7.1	Riesgo de Sesgo entre los Estudios	16
5.8	Evaluación de la Calidad de la Revisión Sistemática	17
5.9	Síntesis de resultados	17
6.	Resultados	18
7.	Discusión.....	22
8.	Conclusiones	26
9.	Recomendaciones	27
10.	Bibliografía.....	28
11.	Anexos.....	35

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Biomarcadores moleculares más comunes que se aplican en la citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.....</i>	<i>19</i>
Tabla 2. <i>Definición de los patrones moleculares del cáncer de mama en base a la expresión de biomarcadores obtenidos mediante citometría de flujo.</i>	<i>21</i>
Tabla 2.1. <i>Patrones moleculares del cáncer de mama en base a la expresión de biomarcadores obtenido mediante citometría de flujo.....</i>	<i>21</i>

Índice de figuras

Figura 1. <i>Distribución de casos y muertes de los cánceres más comunes a nivel mundial para ambos sexos en 2022.</i>	7
Figura 2. <i>Expresión de ER, PR y HER2 en citometría de flujo.</i>	12
Figura 3. <i>Flujograma de búsqueda y selección de los estudios según modelo PRISMA</i>	15
Figura 4. <i>Biomarcadores moleculares que se aplican en citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.</i>	20

Índice de anexos

Anexo 1. <i>Tabla de características de los estudios.</i>	35
Anexo 2. <i>Evaluación de la calidad de los estudios con la herramienta JBI.</i>	38
Anexo 3. <i>Evaluación de la calidad de la revisión sistemática.</i>	39
Anexo 4. <i>Emisión de pertinencia.</i>	40
Anexo 5. <i>Asignación de Director de Trabajo de Integración Curricular.</i>	41
Anexo 6. <i>Certificación de traducción del Abstract.</i>	42

1. Título

Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama.

Revisión sistemática

2. Resumen

El cáncer de mama constituye una enfermedad multifactorial y heterogénea que representa la cuarta causa de mortalidad en mujeres a nivel mundial, en Ecuador causa el 13,6% de muertes en relación a todos los tipos de cáncer, esto debido a un diagnóstico tardío lo que imposibilita un tratamiento rápido y eficiente. Es por ello que se destaca la importancia y necesidad de implementar nuevos métodos analíticos que respalden los métodos actuales en el diagnóstico molecular de cáncer de mama, para reducir costos y tiempo en la entrega de resultados. El propósito de esta investigación fue establecer cuáles son los biomarcadores moleculares más comunes, así como los patrones moleculares del cáncer de mama obtenidos mediante citometría de flujo. Para ello se realizó una revisión sistemática que incluyó un total de 15 artículos luego de una búsqueda exhaustiva de publicaciones en bases de datos ampliamente reconocidas como Pubmed, Scopus y LILACS. Para el cribado se aplicó el método PRISMA, seleccionando estudios publicados a partir del año 2014. Se evaluaron los criterios metodológicos y de calidad de los artículos incluidos y de la revisión sistemática con ayuda de la herramienta JBI y la declaración PRISMA, evidenciando un bajo riesgo de sesgo. Se identificaron los biomarcadores moleculares más comunes, siendo los receptores hormonales y HER2 los principales, así como biomarcadores adicionales (Ki-67 y CK 5/6), también se definieron los subtipos intrínsecos de cáncer de mama, Luminal A, Luminal B HER-, Luminal B HER+, HER2 enriquecido, Triple negativo basal y no basal. En conclusión, el inmunofenotipado con citometría de flujo puede complementar a la inmunohistoquímica para un diagnóstico más rápido y seguro de CM, teniendo en cuenta que el retraso en el diagnóstico y tratamiento sigue siendo un problema importante.

Palabras clave: biomarcadores, cáncer de mama, citometría de flujo, subtipos

2.1 Abstract

Breast cancer is a multifactorial and heterogeneous disease that represents the fourth cause of mortality in women worldwide, in Ecuador it causes 13.6% of deaths in relation to all types of cancer, this is due to a late diagnosis which prevents a fast and efficient treatment. This is why it is important and necessary to implement new analytical methods that support the current methods in the molecular diagnosis of breast cancer, to reduce costs and time in the delivery of results. The purpose of this research was to establish which are the most common molecular biomarkers, as well as the molecular patterns of breast cancer obtained by flow cytometry. For this purpose, a systematic review was performed including a total of 15 articles after an exhaustive search of publications in widely recognized databases such as Pubmed, Scopus and LILACS. For the screening, the PRISMA method was applied, selecting studies published from 2014 onwards. The methodological and quality criteria of the included articles and the systematic review were evaluated with the help of the JBI tool and the PRISMA statement, showing a low risk of bias. The most common molecular biomarkers were identified, being hormone receptors and HER2 the main ones, as well as additional biomarkers (Ki-67 and CK 5/6), intrinsic breast cancer subtypes were also defined, Luminal A, Luminal B HER-, Luminal B HER+, HER2 enriched, Triple negative basal and non-basal. In conclusion, immunophenotyping with flow cytometry may complement immunohistochemistry for a faster and safer diagnosis of CM, considering that delay in diagnosis and treatment remains a major problem.

Key words: biomarkers, breast cancer, flow cytometry, subtypes

3. Introducción

El cáncer de mama (CM) se desarrolla cuando las células epiteliales que forman parte de los ductos y lóbulos mamarios, se empiezan a multiplicar sin control a causa de una mutación, si estas células no se controlan adquieren capacidad metastásica y pueden llegar a causar la muerte (World Health Organization, 2024).

Según el Global Cancer Observatory (GLOBOCAN), en el año 2022 el CM representó la segunda causa de incidencia de cáncer a nivel mundial, con un estimado de 2,3 millones de casos nuevos, y la cuarta causa de mortalidad por cáncer en todo el mundo, con 666 000 muertes. En América Latina y el Caribe se diagnosticó CM a 219 684 mujeres, mientras que 59 701 fallecieron a causa de la misma; con respecto a Ecuador, la estimación de CM fue de 3 903 nuevos casos y un total de 1 154 muertes, esto representó una proporción anual del 23% en relación a todos los tipos de cáncer y una mortalidad del 13,6% (Bray et al., 2024; Global Cancer Observatory, 2024).

Este tipo de cáncer es más habitual en mujeres de cualquier edad a partir de la pubertad, en países en vías de desarrollo las tasas son mayores en aquellas que son adultas, a diferencia de los países desarrollados, donde las mujeres postmenopáusicas son las afectadas; también existen otros factores de riesgo que intervienen en el padecimiento de CM, como lo son los factores genéticos, factores ambientales y de estilo de vida, manifestando así su origen multifactorial (Palmero et al., 2021). El CM es etiológica, histopatológica y genéticamente una enfermedad heterogénea, lo que genera la necesidad de una terapia personalizada (Beňačka et al., 2022).

Hoy en día, el diagnóstico de CM se realiza mediante exámenes de imagen seguidos de una biopsia del nódulo en sospecha de malignidad, si el resultado de la biopsia corrobora la existencia de una población de células malignas, el nódulo se extirpa y examina en busca de biomarcadores que permitan caracterizar el subtipo molecular del cáncer, etapa de diagnóstico crucial, ya que proporciona información relevante para el tratamiento y pronóstico de la enfermedad (Wopereis et al., 2021).

El Consenso de St. Gallen, ha realizado la clasificación molecular del CM de acuerdo al patrón de expresión de los receptores de progesterona (PR), receptores de estrógeno (ER), receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y el marcador de proliferación Ki-67. Teniendo en cuenta la expresión o ausencia de los receptores antes mencionados el CM

se ha clasificado desde el punto de vista molecular en cuatro subtipos intrínsecos: Luminal A, Luminal B, HER2 enriquecido y Triple negativo (Evilla et al., 2023).

Según Wopereis et al. (2021), la mayoría de laboratorios aún realiza la clasificación molecular del CM por inmunohistoquímica, ya que se trata de un método económico que se implementa y estandariza fácilmente, sin embargo, se encuentra limitado por el largo tiempo que demora en obtener resultados, así como la imposibilidad de evaluar varios marcadores simultáneamente. Es por ello que existe la necesidad de implementar nuevos métodos analíticos que respalden los métodos actuales, por lo que, en los últimos años investigadores se han enfocado en el uso de la citometría de flujo (CF) para el análisis de tumores sólidos, esto gracias a que es un método capaz de realizar un análisis multiparamétrico de cada célula y clasificarlas en diferentes poblaciones según la expresión de biomarcadores clave, proporcionando así una recopilación de datos rápida, sencilla y precisa.

Por lo tanto, surge la siguiente interrogante: ¿Cuáles son los biomarcadores más importantes dentro de la citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama?

En la actualidad, estudios científicos han permitido conocer que esta tecnología en conjunto con el análisis morfológico e inmunohistoquímico podría superar las limitaciones individuales de cada una, proporcionando resultados confiables en el menor tiempo posible (Wopereis et al., 2021). Motivo por el cual se considera importante la realización de la siguiente revisión sistemática, sobre todo para ampliar el conocimiento sobre el papel de la CF en el CM, así como la actualización de información acerca de esta técnica para el seguimiento y control del mismo.

Por lo expuesto anteriormente, este trabajo tiene como objetivo principal establecer cuáles son los biomarcadores moleculares más comunes, así como los patrones moleculares del cáncer de mama obtenidos mediante citometría de flujo, todo ello mediante una revisión de artículos científicos.

4. Marco Teórico

4.1 Cáncer

4.1.1 Definición

Según la Organización Mundial de la Salud (2022), el cáncer representa a un extenso grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo, las mismas son originadas por la transformación de células normales en células incapaces de controlar su crecimiento, provocada por complejos cambios en el material genético llamados mutaciones (Chacón, 2009). Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos, donde encuentran un lugar apropiado para continuar su crecimiento ocasionando metástasis que en muchas ocasiones es la causa de muerte de los individuos afectados (Sánchez, 2013).

4.1.2 Epidemiología

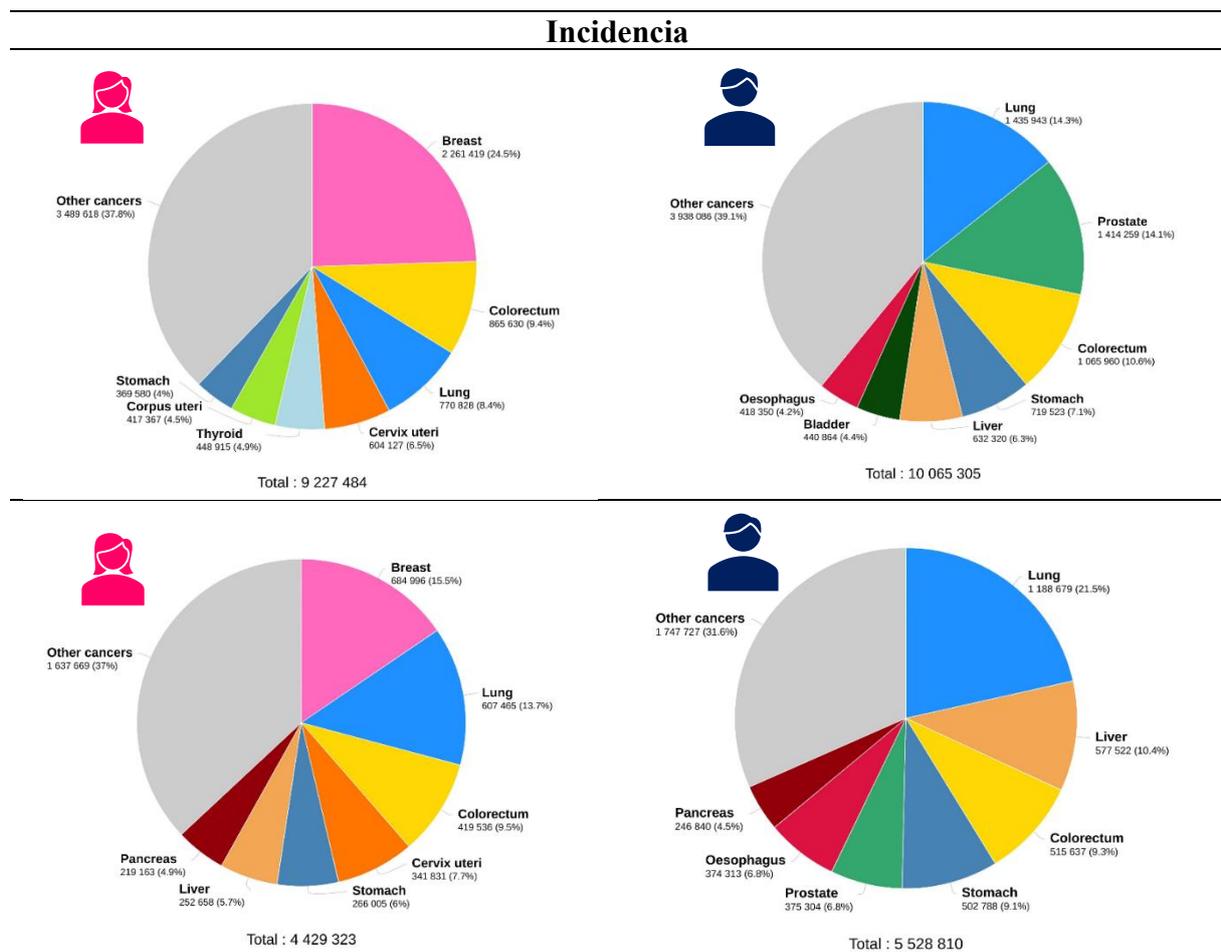
En los últimos años la mortalidad por cáncer ha ido rápidamente en aumento, algunas de las razones incluyen el envejecimiento y crecimiento de la población, así como cambios en la prevalencia y distribución de los principales factores de riesgo (Bray et al., 2018).

Según Global Cancer Observatory (2024), se estima que durante el año 2022 a nivel mundial se produjeron 20 millones de casos nuevos de cáncer, de los cuales 9 664 889 se detectaron en mujeres y 10 311 610 en hombres, mientras que el número de muertes sumó 9,7 millones en todo el mundo, 4 313 548 correspondientes a mujeres y 5 430 284 a hombres (**Figura 1**).

Como se observa en la **Figura 1**, el cáncer más común diagnosticado en mujeres es el de mama (incidencia del 23,8%), así como la principal causa de muerte por cáncer (15,4%), seguido por el cáncer de pulmón y colorrectal tanto en casos de cáncer como en muertes. Mientras que en hombres el cáncer de pulmón es el cáncer más frecuente (incidencia 15,3%) así como muertes (22,7%), seguido por el cáncer de próstata y colorrectal para los casos nuevos y el cáncer de hígado y colorrectal para las muertes (Bray et al., 2024).

Según datos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el cáncer más común entre las mujeres de las Américas es el de mama, llegando a ocupar el segundo lugar en causar muertes. De acuerdo a las estadísticas presentadas en Global Cancer Observatory (2024), solo en nuestro país se estima un diagnóstico de 3 903 mujeres con cáncer de mama a lo largo del 2022, asimismo, los datos epidemiológicos de SOLCA en ese mismo año lo señalan como la tercera causa de muerte en mujeres ecuatorianas (Ministerio de Salud Pública, 2022).

Figura 1. Distribución de casos y muertes de los cánceres más comunes a nivel mundial para ambos sexos en 2022.



Nota. Figura extraída y modificada de *Global Cancer Statistics*, por Bray et al., 2024.

4.1.3 Bases Moleculares

La carcinogénesis es el proceso mediante el cual una célula normal se convierte en cancerosa debido a mutaciones en el material genético de la célula (Mitrus et al., 2012). En condiciones normales el sistema inmunitario dispone de mecanismos de inmunovigilancia tumoral que le permiten eliminar las células tumorales, sin embargo, algunas de ellas pueden desarrollar características nuevas que les permiten evadir estos mecanismos y desarrollar cáncer (Vesely et al., 2011).

Existe evidencia que indica que la tumorigénesis consta de un proceso de varios pasos y éstos se ven reflejados en alteraciones genéticas que son encargadas de la transformación progresiva de células normales en malignas. Hanahan y Weinberg en el año 2000, describieron seis características distintivas del cáncer: 1. autosuficiencia en las señales de crecimiento, 2. insensibilidad a las señales inhibitoras del crecimiento, 3. evasión de las señales programadas

para muerte celular (apoptosis), 4. potencial replicativo ilimitado, 5. angiogénesis sostenida, 6. invasión y metástasis tisular (Sánchez, 2013).

En primer lugar, a diferencia de las células que forman los tejidos normales, en las células cancerosas los mecanismos que regulan la entrada en el ciclo celular y la posterior división celular están fuera de control. Esta pérdida de homeostasis se debe principalmente a la aparición de mutaciones o al aumento de la expresión de receptores de tirosina quinasa de la superficie celular. Estos cambios permiten a la célula tumoral mantener su ciclo celular siempre activo lo que le confiere la característica de “autosuficiencia en las señales de crecimiento” (Baines et al., 2011; Hanahan & Weinberg, 2011).

Existen varias formas por las que las células tumorales pueden volverse “insensibles a las señales inhibitoras de crecimiento”, pero las dos más estudiadas son las mutaciones en la proteína retinoblastoma (pRB) y la proteína p53. La proteína pRB es responsable de regular el paso de la fase G1 a la fase S del ciclo celular, se ha observado que esta proteína está mutada en el 100% de los casos de retinoblastoma, mientras que en pulmón, vejiga, osteosarcoma, hígado y esófago también está mutada, pero en menor medida (Hanahan & Weinberg, 2011). El factor de transcripción p53 es un factor de transcripción que, al igual que pRB, regula el ciclo celular, la funcionalidad de esta proteína es crítica ya que tiene la capacidad de inducir la reparación del ADN cuando se ha producido un daño o puede iniciar el proceso de apoptosis si el daño es irreparable, esta proteína está mutada en el 50% de los cánceres humanos (Hanahan & Weinberg, 2011; Sánchez, 2013).

La homeostasis de un tejido depende del equilibrio entre la proliferación y la muerte celular, un equilibrio que se lleva a cabo mediante un mecanismo de muerte celular programada (apoptosis). La “evasión de la apoptosis” es otro rasgo distintivo de los cánceres humanos que favorece la formación y progresión del tumor, así como la resistencia al tratamiento. Las células tumorales evaden la apoptosis activando programas antiapoptóticos y de supervivencia celular, que bloquean la muerte celular (Hanahan & Weinberg, 2011; Sánchez Bouza et al., 2022).

En condiciones normales, la mayoría de las células tiene un número limitado de divisiones celulares, un fenómeno denominado límite de Hayflick. Las células tumorales tienen un “potencial replicativo ilimitado” porque expresan telomerasa, que añade segmentos repetitivos a los extremos del ADN, impidiendo que se acorte. Esta proteína no se encuentra en la mayoría de las células normales, mientras que en las células tumorales está presente en aproximadamente el 90% de ellas. La expresión de esta proteína se ve potenciada por la

presencia de mutaciones en la proteína p53 y permite a las células tumorales convertirse en inmortales (Hanahan & Weinberg, 2011; Khan Academy, 2020).

La formación de nuevos vasos sanguíneos denominado “angiogénesis”, es necesaria para suministrar nutrientes y oxígeno, así como para eliminar productos de desecho. En consecuencia, las células tumorales mantienen un mecanismo de angiogénesis que está mediado por diferentes factores de crecimiento y citoquinas, como los factores de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 8 (IL-8) (Hanahan & Weinberg, 2011; Sánchez, 2013).

La mayoría de las muertes relacionadas con el cáncer se deben a la capacidad de las células tumorales para la “invasión y metástasis tisular”. La invasión se produce cuando la célula tumoral invade el tejido cercano, mientras que el proceso por el que las células tumorales se extienden lejos del tumor primario se denomina metástasis (Hanahan & Weinberg, 2011). Dos de las proteínas mejor caracterizadas relacionadas con esta capacidad son la E-cadherina y la N-cadherina. Estas proteínas son esenciales para la adhesión celular a la matriz extracelular y se ha demostrado que el aumento de la expresión de N-cadherina y la disminución de la expresión de E-cadherina desempeñan un papel central en la migración e invasión de las células tumorales. Otro fenómeno relacionado con las células invasoras es el cambio fenotípico hacia células mesenquimales, un proceso denominado Transición Epitelio-Mesénquima (Sánchez, 2013; Troncoso et al., 2017).

4.2 Cáncer de Mama

4.2.1 Definición

Según la OMS (2023), el cáncer de mama abarca una variedad de neoplasias malignas que tienen lugar en las glándulas mamarias, esta enfermedad se produce cuando células epiteliales alteradas de la mama se empiezan a multiplicar sin control y adquieren la capacidad de formar tumores, que al no ser tratados a tiempo pueden llegar a invadir el tejido mamario circulante y luego diseminarse a órganos linfáticos cercanos o distantes, es por ello que la detección temprana y tratamiento son de vital importancia para mejorar los resultados y supervivencia de este tipo de cáncer (Arellano-Zúñiga et al., 2023).

4.2.2 Clasificación Molecular

El cáncer de mama (CM) es un tipo de cáncer con diferentes presentaciones entre las mujeres, sobre la base en evidencias moleculares e histológicas, dependiendo del número de marcadores y sus combinaciones, en 2011, el consenso de expertos de St. Gallen adoptó un

enfoque basado en subtipos haciendo uso de los niveles de expresión de receptores hormonales (receptor de estrógeno (ER) o receptor de progesterona (PR)), receptor epidérmico humano 2 (HER2) y el índice de proliferación celular (Ki-67) (Barzaman et al., 2020; Gao & Swain, 2018). En el consenso de St. Gallen del 2013 definió a los subtipos moleculares de CM en Luminal A, Luminal B, HER2 enriquecido y Triple negativo (Horvath, 2021).

Subtipo Luminal A

Constituye entre el 40% y 50% de los cánceres de mama, se define como ER positivo, PR positivo, HER2 negativo y $Ki-67 \leq 20\%$, es el más común, menos agresivo y con buen pronóstico, ya que al expresar ER, presentan una alta tasa de respuesta a la hormonoterapia añadida al tratamiento quirúrgico, radioterapia o quimioterapia que pueda requerir, sin embargo, no se beneficia del uso de agentes quimioterapéuticos (Gao & Swain, 2018; Horvath, 2021).

Subtipo Luminal B

Presentan una menor expresión de genes relacionados con ER, pero una mayor expresión de genes relacionados a la proliferación ($Ki-67 \geq 20\%$) así como una expresión variable de PR y HER2. Responden de manera favorable al tratamiento quimioterapéutico junto a la hormonoterapia, llegando a representar el 20%-30% de los cánceres de mama, sin embargo son de peor pronóstico en comparación al subtipo Luminal A (Horvath, 2021; Tsang & Gary, 2020).

Subtipo HER2 enriquecido

Según Tsang & Gary (2020), este subtipo constituye aproximadamente el 15%-20% de los carcinomas de mama, se caracteriza por la sobreexpresión de los genes asociados a HER2 y suele tener un curso clínico agresivo, sin embargo, responde muy bien a la terapia dirigida por lo que mejora considerablemente su pronóstico.

Subtipo Triple negativo

Carecen de expresión de genes relacionados con ER, PR y HER2, también muestran sobreexpresión de genes relacionados con la proliferación, y representan el 15% de los cánceres mamarios. Los pacientes con cáncer de mama triple negativo tienen mal pronóstico, y con mayor probabilidad de sufrir recaídas en los 5 años siguientes al diagnóstico (Horvath, 2021; Tsang & Gary, 2020).

4.2.3 Diagnóstico

4.2.3.1 Diagnóstico Molecular. La respuesta a la terapia y el resultado clínico del cáncer de mama se ve afectada al tratarse de una enfermedad heterogénea, por lo que, en la actualidad los métodos histopatológicos convencionales junto con las pruebas moleculares se integran para clasificar los subtipos intrínsecos del cáncer de mama. Las pruebas moleculares permiten identificar un determinado conjunto de genes como biomarcadores que ayudan a predecir el pronóstico de la enfermedad así como la eficacia del tratamiento (Kashyap et al., 2022). La introducción de las técnicas de microarreglos de ADN y la secuenciación masiva, han tenido implicaciones importantes en la investigación del cáncer de mama, permitiendo analizar de manera simultánea la expresión de múltiples genes así como relacionar estos resultados con parámetros clínicos (Maycotte et al., 2020).

4.2.3.2 Diagnóstico de Subtipos Intrínsecos. El diagnóstico de cáncer de mama se realiza mediante evaluación clínica, estudios de imagen y biopsia, el análisis de este último por inmunohistoquímica se considera un estándar en el abordaje del cáncer de mama, al brindar la aproximación en la clasificación molecular de la enfermedad, dado que evalúa el estado de los receptores ER, PR y HER2 para el subtipo intrínseco (Maycotte et al., 2020; Valle-Solís et al., 2019).

4.3 Citometría de Flujo

4.3.1 Fundamento

La citometría de flujo permite analizar y cuantificar de manera simultánea múltiples características celulares a medida que son transportadas en un fluido e incididas por un haz de luz, esta tecnología utiliza láseres como fuentes de luz para producir señales de luz fluorescente que son leídas por detectores como fotodiodos. Después estas señales se convierten en señales electrónicas que analiza una computadora y graba la manera en que la célula dispersa el haz de luz y emite fluorescencia (McKinnon, 2018; Pérez-Lara et al., 2018).

Las principales ventajas del citómetro de flujo constituyen el poder leer miles de células por segundo con la posibilidad de regular la velocidad de análisis, de tal manera que la convierte en una tecnología capaz de realizar un análisis multiparamétrico en cuestión de horas. El tipo de muestra que puede utilizarse es muy diverso e incluye sangre, líneas celulares, organelos celulares, vesículas extracelulares y líquidos corporales, entre otros (Sánchez-Torres et al., 2022). Algunos de los análisis que esta tecnología puede realizar incluye el conteo celular, detección de especies reactivas del oxígeno (ROS), tiempos de duplicación, análisis de ciclo

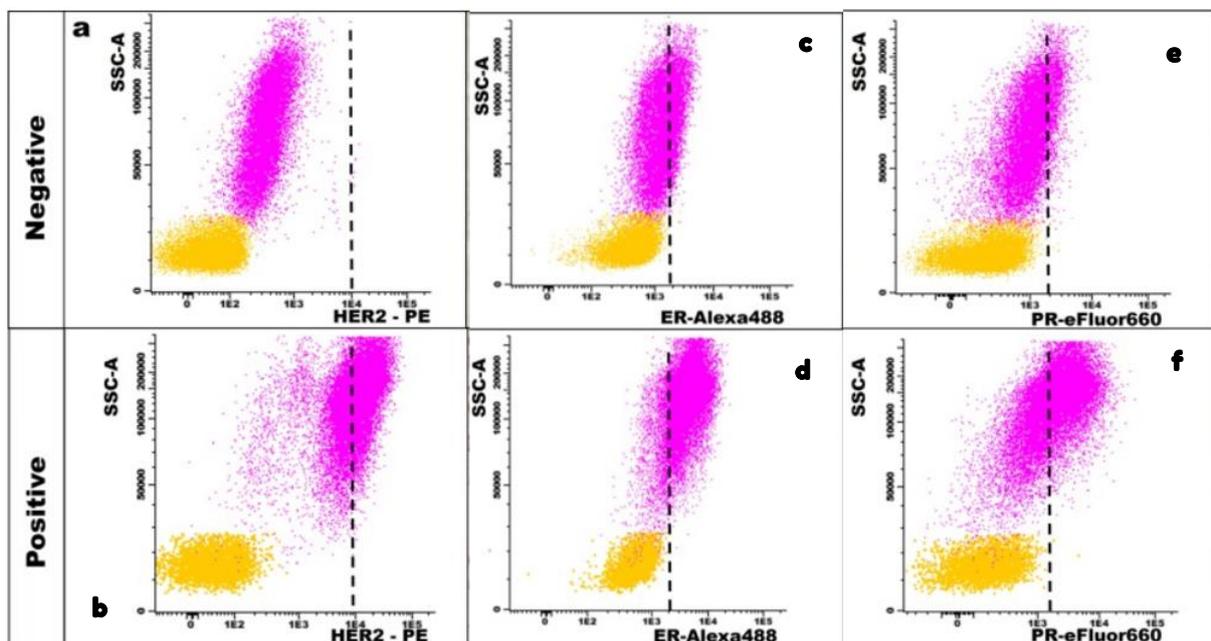
celular, análisis de apoptosis y necrosis, ensayos de internalización, entre otros (Pérez-Lara et al., 2018)

4.3.2 Citometría de Flujo en Cáncer de Mama

Gracias al inmunofenotipado por citometría de flujo es posible realizar un análisis multiparamétrico simultáneo de cada célula y clasificarlas en diferentes poblaciones según su expresión, dado que este método se basa en la detección de antígenos a partir de células aisladas y fijadas suspendidas en medio líquido mediante anticuerpos conjugados con fluorocromos, las células marcadas empiezan a fluir individualmente a través de un rayo láser, lo que permite identificar las características celulares y los patrones de expresión (Wopereis et al., 2021).

Para determinar el patrón de expresión ER y PR en las células tumorales, se compara sus intensidades de fluorescencia con las de los linfocitos, que no expresan los marcadores relevantes para el diagnóstico de cáncer de mama. Es así que los fluorocromos utilizados en relación al marcador para la clasificación molecular del cáncer de mama son, Alexa Fluor 488 a 490 nm para el marcadore ER, eFluor 660 a 633 nm para PR y Ficoeritrina (PE) a 575 nm para HER2 (Thermo Fisher, 2021, 2024; Wopereis et al., 2021).

Figura 2. Expresión de ER, PR y HER2 en citometría de flujo.



Nota. El desplazamiento de la población tumoral más allá de la línea de corte en el panel (b, d, f) confirma la positividad de los distintos receptores.

5. Metodología

5.1 Diseño del Estudio

Revisión sistemática de la literatura.

5.2 Criterios de Elegibilidad

Para el desarrollo del presente estudio los criterios de elegibilidad se realizaron a través de una estructura especial integrada por cuatro elementos diferenciados, denominado modelo PICO: **(P)** Población. **(I)** Intervención. **(C)** Comparación. **(O)** Outcomes (resultados) (Martínez et al., 2016). Sobre la pregunta de investigación planteada, se presenta de la siguiente manera:

Población: mujeres con diagnóstico de cáncer de mama

Intervención: no aplica

Comparación: no aplica

Resultados: biomarcadores más importantes en citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.

5.2.1 Criterios de Inclusión

- Artículos publicados a partir del año 2014.
- Estudios observacionales y experimentales.
- Publicaciones registradas en inglés y español.
- Publicaciones orientadas a biomarcadores que se aplican en la citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.
- Artículos con texto completo.
- Artículos de libre acceso.

5.2.2 Criterios de Exclusión

- Literatura gris.

5.3 Fuentes de Información

Se realizó la búsqueda de información en las bases de datos: Pubmed, Scopus, Lilacs.

5.4 Estrategia de Búsqueda y Selección del Estudio

Para la identificación y búsqueda de las publicaciones se aplicó el método PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) (Page et al., 2021). Para la búsqueda de la información se utilizaron los términos MeSH (*Medical Subject Headings*) “breast cancer”, “flow cytometry”, “tumor biomarkers”, y los Descriptores en

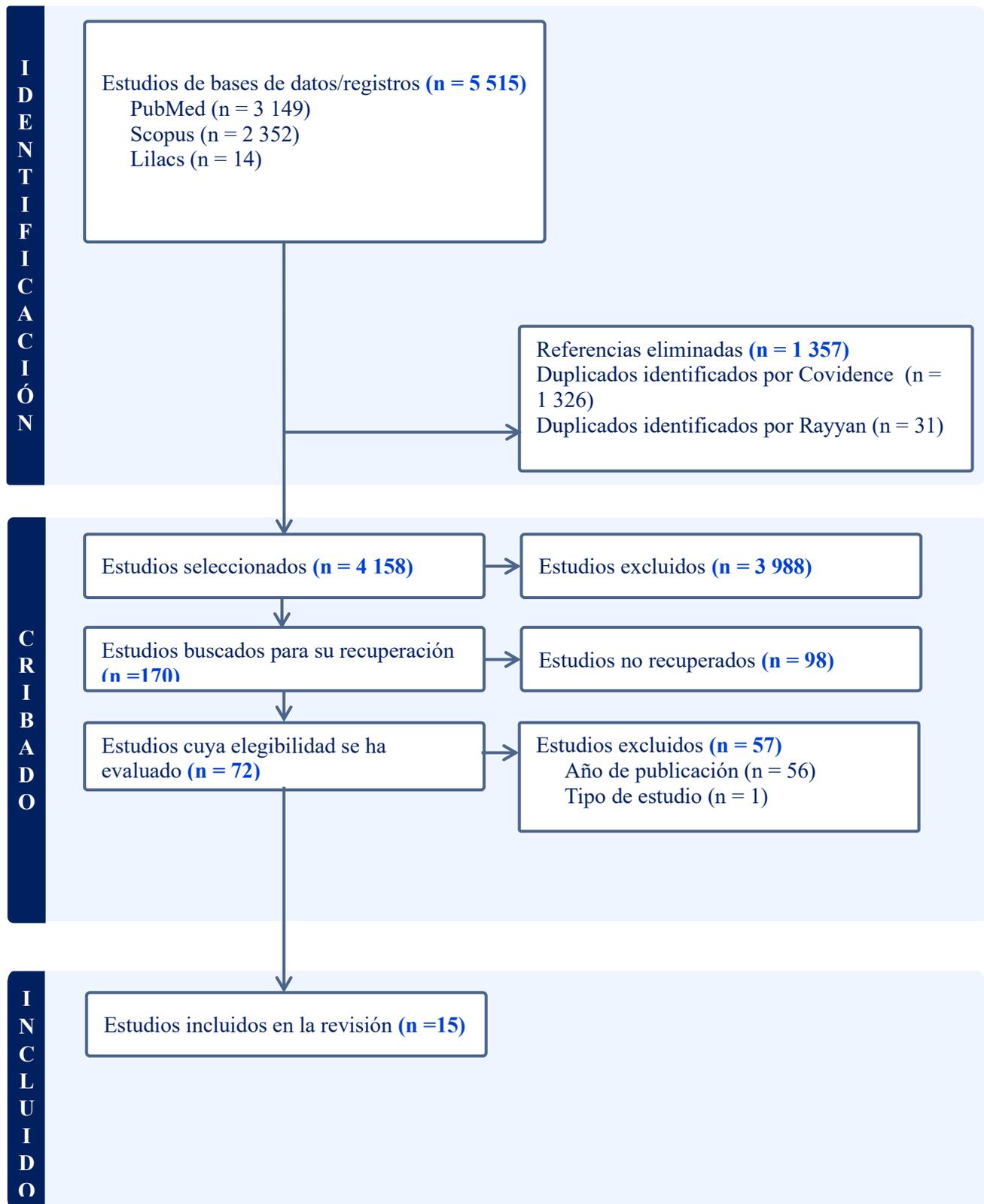
Ciencias de la Salud (DeCs) “cáncer de mama”, “citometría de flujo”, “biomarcador tumoral”, “marcadores”, estos fueron asociados a través del operador booleano AND. Las combinaciones de búsqueda fueron:

- ((breast cancer) AND (flow cytometry)) AND (tumor biomarkers)
- ((breast cancer) AND (flow cytometry)) AND characterization
- molecular patterns AND (flow cytometry)) AND (breast cancer)
- ((cáncer de mama) AND (citometría de flujo)) AND (biomarcador tumoral)
- ((citometría de flujo)) AND caracterización molecular AND (cáncer de mama)

Para esta revisión sistemática, fueron seleccionados artículos en inglés y español publicados en los últimos 10 años.

Se obtuvo un total de 5 515 estudios mediante la búsqueda en bases de datos (Pubmed= 3 149, Scopus= 2 352, Lilacs= 14). Se llevó a cabo un proceso de cribado inicial, utilizando las herramientas Covidence (Kellermeyer et al., 2018) para la eliminación de duplicados y Rayyan (Kellermeyer et al., 2018) para verificar que no hubiera quedado ningún duplicado, además de realizar las demás etapas de cribado. Después de eliminar los duplicados, se obtuvieron 4 158 estudios. Luego, se recuperó un total de 170 artículos relevantes que fueron seleccionados de acuerdo con el título y resumen; después, se obtuvo un total de 72 estudios con texto completo que se analizaron para la elegibilidad. Después de examinar los artículos completos, 57 se excluyeron por no dar cumplimiento con los criterios de inclusión; finalmente los artículos restantes (n= 15) fueron seleccionados para esta revisión. El diagrama de flujo del proceso de búsqueda bibliográfica se encuentra detallado en la **Figura 2**.

Figura 3. *Flujograma de búsqueda y selección de los estudios según modelo PRISMA.*



Nota. Tomado y modificado de *Diagrama de flujo PRISMA 2020*, por Page et al, 2021, Science Direct.

5.5 Proceso de Recopilación y Extracción de Datos

Con el listado final de los artículos seleccionados, se procedió a extraer la información más relevante, elaborando una tabla de extracción de datos (**Anexo 1**), en donde se registraron las características principales de cada artículo, como: título, autor/es, año, tipo de estudio, población, objetivos, y DOI/URL, esto permitió recopilar la información sistematizada para su análisis posterior.

De los 15 artículos seleccionados para la revisión, 9 fueron estudios experimentales, 2 de tipo analítico de corte transversal, 2 de utilidad clínica y 2 estudios de casos y controles. Además, en el año 2014 existen alrededor de un 6,66% (n=1) de publicaciones, en el 2015 un 6,66% (n=1), en el 2018 un 20% (n=3), en el 2020 un 13,33% (n=2), en el 2021 un 20% (n=3), en el 2022 un 26,66% (n=4), y en el 2024 un 6,66% (n=1).

En general, la población más estudiada fueron mujeres adultas de edad media de 50 años. En lo que respecta a las muestras, las líneas celulares, sangre periférica y tejidos fueron los más analizados.

5.6 Lista de Datos

Se definieron las variables a considerar en cada uno de los estudios para dar respuesta a los objetivos planteados en la presente investigación.

5.7 Evaluación de la Calidad de los Estudios

5.7.1 *Riesgo de Sesgo entre los Estudios*

Se evaluó el riesgo de sesgo de la calidad de los estudios incluidos en este análisis mediante la herramienta JBI (Joanna Briggs Institute) en función del tipo de estudio. El riesgo de sesgo de los estudios se determinó con los siguientes puntos: bajo riesgo de sesgo si el 70% o más de las respuestas calificaron sí, riesgo moderado si entre el 50% y el 69% de las preguntas calificaron sí y alto riesgo de sesgo si las calificaciones afirmativas fueron inferiores al 50% (Barker et al., 2023).

La evaluación individual de la calidad de los estudios se detalla en el **Anexo 2**. Se evaluó un total de 15 estudios para determinar su calidad metodológica, mismos fueron calificados con un sesgo bajo, lo que indica un rigor metodológico adecuado y una fiabilidad en sus resultados, garantizando así la integridad y validez de los hallazgos obtenidos en esta revisión.

5.8 Evaluación de la Calidad de la Revisión Sistemática

La presente revisión sistemática fue rigurosamente evaluada en cuanto a su calidad y la calidad de sesgos (**Anexo 3**). En general, se observó un bajo riesgo de sesgo, lo cual indica que se siguieron de manera adecuada las pautas establecidas en la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses), que utiliza una lista de 27 ítems que aborda las secciones de introducción, metodología, resultados, discusión y otra información de un informe de revisión sistemática (Page et al., 2021). Para dar a conocer el grado de cumplimiento, a cada ítem de la lista de verificación se le asignó una de las siguientes respuestas: “Si” para cumplimiento total, “Parcial” para cumplimiento parcial y “No” para incumplimiento; posterior a esto, considerando aquellos ítems con el cumplimiento total, se evaluó el riesgo de sesgo de la siguiente manera: $\geq 70\%$ representa un sesgo bajo, 50-96% sesgo moderado y $<50\%$ sesgo alto, obteniendo un valor final de 74,07% que representa un riesgo de sesgo bajo. De este modo podemos indicar que el cumplimiento adecuado de estas pautas contribuyó a que la ejecución de esta revisión sistemática se haya realizado de manera confiable asegurando su validez, reproducibilidad e imparcialidad en los resultados alcanzados.

5.9 Síntesis de resultados

Para la síntesis de resultados, los artículos seleccionados se presentaron en tablas y gráficas según las variables que se indicaron durante la revisión sistemática, analizando los biomarcadores que se aplican en la citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.

6. Resultados

Se presentan los resultados obtenidos a partir del análisis de los artículos incluidos en esta revisión sistemática. Los hallazgos se han organizado y detallado en tablas y figuras en función de cada uno de los objetivos planteados en este estudio, con el fin de proporcionar una visión clara y completa de las conclusiones alcanzadas. Por ende, en el presente trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica con el uso de diferentes bases de datos como: Pubmed, Scopus y Lilacs, resultando en una recopilación de 15 artículos finales que ayudaron a dar respuesta a los objetivos planteados.

De esta manera, en lo que respecta al cumplimiento del primer objetivo, todos los estudios incluidos (n=15) que comprenden los años 2014-2024 proporcionaron información relevante acerca de los biomarcadores moleculares utilizados en CF para el estudio y caracterización molecular del CM, tal como se observa en la **Tabla 1**. Se emplearon varios biomarcadores moleculares que fueron diferenciados en receptores (ER, PR y HER2), CDs (cluster of differentiation), citoqueratinas y la categoría otros que incluye al marcador Ki-67 y PMP (micropartículas derivadas de plaquetas). Para ello los autores Hosonaga et al., (2014), Bao et al., (2020), Haghbeen et al., (2021), Wopereis et al., (2021) y Silva et al., (2022) mencionan que los biomarcadores más comunes e importantes determinados mediante CF para la caracterización del CM son los receptores, las citoqueratinas (CK) y el marcador Ki-67, mientras que, Mazel et al., (2015), Bliss et al., (2018), Meng et al., (2018), Saunus et al., (2028), Karimi et al., (2020), Cattin et al., (2021), Ekström et al., (2022), Hamed et al., (2022), Orafa et al., (2022) y Heger et al., (2024) proponen al resto de biomarcadores para el estudio del CM, como los CDs y las PMP. Esta misma información se representa en la **Figura 4**.

Tabla 1. Biomarcadores moleculares más comunes que se aplican en la citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.

Nº	Autor/es	Año de publicación	Resultados
1	Hosonaga et al.	2014	Receptor: HER2 CDs: CD24
2	Mazel et al.	2015	CDs: PD-L1
3	Bliss et al.	2018	CDs: CD44; CD24
4	Meng et al.	2018	CDs: CD4; CD8
5	Saunus et al.	2018	CDs: CD49f; CD24; CD44
6	Bao et al.	2020	Receptor: ER CDs: CD24; CD44
7	Karimi et al.	2020	Citoqueratina: CK19
8	Cattin et al.	2021	CDs: CD117; CD45RO; CD4
9	Haghbeen et al.	2021	Receptores: ER; PR; HER2 Otros: PMP
10	Wopereis et al.	2021	Receptores: ER; PR; HER2
11	Ekström et al.	2022	CDs: CD29; CD146
12	Hamed et al.	2022	CDs: CD8; CD20; PD-L1 (CD274)
13	Silva et al.	2022	Receptores: ER; PR; HER2 Citoqueratinas: CK5/6 Otros: Ki-67
14	Orafa et al.	2022	Citoqueratina: CK19
15	Heger et al.	2024	CDs: CD45; CD11b; CD16; CD14

Nota: **ER:** Receptor de estrógeno; **PR:** Receptor de progesterona; **HER2:** Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; **Ki67:** Marcador de proliferación celular; **PMP:** Micropartículas derivadas de plaquetas; **CDs:** clusters of differentiation.

Figura 4. Biomarcadores moleculares que se aplican en citometría de flujo para la caracterización molecular del cáncer de mama.

BIOMARCADORES MOLECULARES	Receptores	ER PR HER2	Caracterización molecular
	Citoqueratinas	CK 5/6 CK 19	
	CDs	CD29 CD146 CD117 CD45RO CD4 CD8 CD44 CD24 CD20 CD274 CD49f CD45 CD11b CD16 CD14	
	Otros	Ki-67 PMP	
CITOMETRÍA DE FLUJO			

Nota: **ER:** Receptor de estrógeno; **PR:** Receptor de progesterona; **HER2:** Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; **Ki67:** Marcador de proliferación celular; **PMP:** Micropartículas derivadas de plaquetas; **CDs:** clusters of differentiation.

Con respecto al segundo objetivo, se formuló la **Tabla 2** y la **Tabla 2.1**, que indican los resultados obtenidos para la definición de los patrones moleculares del CM en base a la expresión de biomarcadores obtenidos mediante CF. Los artículos que aportaron al cumplimiento de este objetivo fueron 5, que corresponden a los años 2014-2022, los mismos detallan a 4 patrones moleculares del CM: Luminal A, Luminal B, HER2 enriquecido y Triple negativo, asimismo se mencionan a 4 subcategorías: Luminal B HER-, Luminal B HER+, Triple negativo basal y Triple negativo no basal, que son distinguidos gracias a los biomarcadores moleculares antes descritos.

Tabla 2. Definición de los patrones moleculares del cáncer de mama en base a la expresión de biomarcadores obtenidos mediante citometría de flujo.

N°	Autor/es	Año de publicación	Biomarcadores moleculares	Patrones moleculares
1	Hosonaga et al.	2014	- HER2	Luminal A: ER+; PR+; HER-; Ki-67↓
6	Bao et al.	2020	- ER	Luminal B HER-: ER+; PR-; HER-; Ki-67↑
9	Haghbeen et al.	2021	- ER - PR - HER2	Luminal B HER2+: ER+; PR-/++; HER+; Ki-67 ↓/↑
10	Wopereis et al.	2021	- ER - PR - HER2	HER2 enriquecido: ER-; PR-; HER2+
13	Silva et al.	2022	- ER - PR - HER2 - CK 5/6 - Ki-67	Tiple negativo basal: ER-; PR-; HER2-; CK5/6+ Triple negativo no basal: ER-; PR-; HER2-; CK5/6-

Nota: **ER:** Receptor de estrógeno; **PR:** Receptor de progesterona; **HER2:** Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; **Ki67:** Marcador de proliferación celular.

Tabla 2.1. Patrones moleculares del cáncer de mama en base a la expresión de biomarcadores obtenido mediante citometría de flujo.

Patrones moleculares	Subcategorías	Biomarcadores moleculares*
Luminal A		ER+; PR+; HER-; Ki67↓
Luminal B	Luminal B HER2-	ER+; PR-; HER-; Ki67↑
	Luminal B HER2+	ER+; PR-/++; HER+; Ki67 ↓/↑
HER+		ER-; PR-; HER2+; Ki67↑
Triple negativo	Triple negativo basal	ER-; PR-; HER2-; Ki67↑; CK5/6+
	Triple negativo no basal	ER-; PR-; HER2-; Ki67↑; CK5/6-

Nota: **ER:** Receptor de estrógeno; **PR:** Receptor de progesterona; **HER2:** Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; **Ki67:** Marcador de proliferación celular; **CK:** citoqueratinas.

*De acuerdo al consenso de Saint Gallen del 2013, para que Ki-67 se considere alto debe ser ≥20%.

7. Discusión

El cáncer de mama (CM), con una incidencia cada vez mayor se ha convertido en el tipo de cáncer más diagnosticado y con más defunciones entre las mujeres en todo el mundo. Debido a que existen pocos factores de riesgo establecidos para la enfermedad que son modificables, el control del CM se ha centrado en aumentar el acceso al diagnóstico precoz y en mejoras en el tiempo del mismo (Bray et al., 2024). Es por ello que, en los últimos años se ha hecho uso del inmunofenotipado por citometría de flujo (CF) para el estudio y apoyo al diagnóstico de CM, debido a la rapidez del análisis de muestras y la evaluación simultánea de varios marcadores en todas las células (Wopereis et al., 2021).

De acuerdo a los resultados expuestos, a pesar de que existen múltiples marcadores para el estudio y clasificación del cáncer de mama, autores concuerdan que los más importantes y predominantes son los biomarcadores clásicos que se aplican en CF para la caracterización molecular del CM, los cuales incluyen receptores ER, PR y HER2. Beňačka et al. (2022) y Tsang & Gary (2020) mencionan que, por su lado, ER y PR son receptores nucleares de estrógenos y progesterona que estimulan el crecimiento del epitelio mamario normal y neoplásico, se expresan en el 75% de todos los cánceres de mama y cuando están presentes son indicadores de buena respuesta a la terapia hormonal. Con respecto a HER2, su alteración en células normales puede dar lugar a una sobreexpresión, conduciendo a la proliferación y crecimiento del tumor, la presencia de este receptor se asocia con una evolución clínica agresiva y un mal pronóstico, llegando a representar el 15% de los cánceres de mama. Asimismo, la falta de ER y PR elimina el control de retroalimentación hormonal sobre el crecimiento y diferenciación celular, lo que provoca que el CM presente una alta actividad mitótica y no responda a la terapia hormonal, además, la falta de HER2 hace que el CM sea tolerante a la terapia monoclonal dirigida, por lo que se convierte en el tipo de cáncer mucho más agresivo y de peor pronóstico. Restrepo et al. (2023) afirma que la evaluación de estos receptores ha permitido llevar a cabo la clasificación molecular del CM, guía importante en la predicción de la respuesta a determinadas terapias.

Silva et al. (2022) en contraste con Beňačka et al. (2022) mencionan que los biomarcadores adicionales utilizados para la caracterización molecular del CM, incluyen Ki-67 y citoqueratinas basales (CK5/6, CK14, CK19). La proliferación celular siempre ha tenido un papel en la clasificación tumoral y por lo tanto es parte de los factores pronósticos y

predictivos, al tratarse de una de las características fenotípicas en que difieren los subtipos genéticos del CM.

Según estudios realizados en Europa y América Latina el índice de proliferación Ki-67 es un factor pronóstico independiente de supervivencia libre de enfermedad y de supervivencia específica, los cánceres con elevada expresión de Ki-67 presentan con frecuencia un mayor tamaño tumoral, mayor grado histológico, ausencia de receptores hormonales, mayor expresión de HER2 y más tumores de tipo triple negativo (Escalona & Torre, 2022). Por el contrario, Fernández et al. (2021) y Untch et al. (2013) mencionan que actualmente el uso de Ki-67 como factor pronóstico o predictivo es controvertido, esto se debe principalmente a la falta de consenso sobre qué niveles de Ki-67 son considerados de peor pronóstico y a que se basa en un método que genera mucha variabilidad de interpretación entre laboratorios. Sin embargo, el Consenso Internacional de Expertos de St. Gallen 2013 explica también la importancia de la utilización del Ki-67 como marcador fenotípico para diferenciar los subtipos luminales del CM (Untch et al., 2013).

Por otro lado, Silva et al. (2022), Beňačka et al. (2022) y Wang et al. (2021) exponen en sus estudios que la expresión de las CK es específica de cada tejido y se utiliza para identificar el origen de los tumores humanos, la presencia de CK5/6, CK14, CK18 y CK19 son unos de los marcadores de diagnóstico de cáncer de mama Triple negativo (CMTN). En particular, CK5/6 es un biomarcador molecular importante para el reconocimiento de CMTN y puede ser un factor independiente que influye en su pronóstico. Además, al agregar este biomarcador a la detección de este tipo de cáncer es económico y clínicamente conveniente.

A pesar que hay biomarcadores que se los utiliza de manera independiente como el ki-67, en la mayoría autores se debe agrupar receptores hormonales como Ki-67.

Gracias al desarrollo de tecnologías de análisis genómico y a la identificación de patrones de expresión génica por microarreglos de ADN, se ha podido identificar que cada CM es único y tiene diferente firma genética, es por ello que para permitir una identificación precisa de los subgrupos más agresivos, una de las clasificaciones más sencillas se basa en las propiedades tumorales intrínsecas del CM, por lo que en el estudio de Horvath (2021) se definieron 4 clases mayores: subtipo Luminal A, Luminal B, Her2 enriquecido, y Triple negativo. Sin embargo, Hosonaga et al. (2014); Bao et al. (2020); Wopereis et al. (2021) en contraste con Horvath (2021), sobre la base de los biomarcadores antes descritos, el CM se ha

clasificado en: Luminal A, Luminal B (HER-/HER+), HER2 enriquecido, Triple negativo (basal y no basal).

De acuerdo con Tsang & Gary (2020), los subgrupos Luminal A y B se caracterizan por presentar perfiles de expresión génica parecidos a los de las células epiteliales de mama. Luminal A representa entre el 40% y el 50% de los cánceres de mama invasivos, expresan niveles altos de receptores hormonales (ER y PR), tienen una expresión baja de HER2 y presentan niveles bajos de Ki-67 por lo que responden mejor a la terapia hormonal, convirtiéndose en el subtipo con mejor pronóstico, por el contrario, Luminal B representa entre el 20 y el 30% de los casos, este subtipo es ER positivo, y a diferencia de Luminal A, expresa niveles altos de Ki-67 y el estado de PR y HER-2 es variable, por ende, su respuesta a la terapia endocrina, así como su pronóstico no son tan buenos. Beňačka et al. (2022) al igual que Wopereis et al. (2021) clasificó en su estudio a los CM con niveles altos de ER, PR y HER2 en una subcategoría especial, denominada Luminal B HER+, también conocido como CM triple positivo. Por otro lado, el subtipo HER2 enriquecido comprende entre el 15% y 20% de todos los CM invasivos y tiene la característica de presentar baja expresión de los receptores ER y PR, este tipo de cáncer se asocia con un peor pronóstico, pero responde adecuadamente a la terapia dirigida. Por último, el CMTN es ER, PR y HER2 negativos, representa el 15% de los cánceres mamarios y ha sido subclasificado en CMTN basal y no basal, que como ya se describió anteriormente, existen biomarcadores moleculares que ayudan a diferenciarlos.

Además de las moléculas específicas del tumor, los avances en metodologías moleculares, precisión analítica y sensibilidad ha permitido buscar “huellas” tumorales primarias o metastásicas en la sangre y otros fluidos corporales. Esto debido a que las células tumorales suelen perder partes del tejido normal, pero producen moléculas que se pueden emplear como biomarcadores, por ejemplo, macromoléculas circulantes libres (ARN, ADN, proteínas), microARN circulantes, antígenos circulantes de carcinoma y células tumorales circulantes (Beňačka et al., 2022).

Según Wopereis et al. (2021), aunque se dispone de métodos avanzados, como el análisis de microarrays, o pruebas moleculares multigénicas como MammaPrint o BluePrint, la mayoría de laboratorios realiza la clasificación molecular del CM mediante inmunohistoquímica (IHC) por los beneficios que presenta, sin embargo, se encuentra limitada por el largo tiempo en la obtención de resultados, así como la imposibilidad de evaluar varios marcadores simultáneamente y el número pequeño de células analizadas por muestra. Por lo

tanto, existe una gran demanda de nuevos métodos analíticos que apoyen a los métodos actuales, proporcionando una detección más rápida de células cancerosas.

Es por todo lo expuesto que se sugiere que el inmunofenotipado con CF puede complementar a la inmunohistoquímica para un diagnóstico más rápido y seguro de CM, teniendo en cuenta que el retraso en el tratamiento y el diagnóstico sigue siendo un problema importante; además, la inversión en la mejora del diagnóstico no solo beneficia a los pacientes, sino que genera ahorros a los sistemas de salud.

Limitaciones

En esta revisión sistemática se identificaron algunas limitaciones, una de ellas la exclusión de algunos estudios elegibles debido a la falta de acceso libre por lo que se dificultó la obtención de información. Asimismo, no todos los estudios proporcionaron datos acerca del tema de investigación lo cual constituyó un desafío al momento de interpretar y contextualizar los resultados obtenidos. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, la relevancia de este trabajo radica en su capacidad para arrojar luz sobre los avances del inmunofenotipado por CF para la clasificación molecular del CM.

8. Conclusiones

Los estudios que aportaron información para esta revisión sistemática indican que los biomarcadores moleculares más comunes para caracterizar el CM mediante CF son los receptores hormonales (RE y PR), el receptor HER2, marcador de proliferación celular Ki-67 y CK 5/6.

A pesar del gran número de biomarcadores disponibles para el estudio de cáncer de mama, se siguen usando los receptores hormonales y el receptor HER2 para definir los patrones moleculares, los mismos que son Luminal A, Luminal B (HER-/HER+), HER2 enriquecido y Triple negativo (basal y no basal).

9. Recomendaciones

De acuerdo con la investigación realizada y sus resultados, se considera importante estandarizar el marcador de proliferación Ki-67 en los laboratorios, ya que se trata de un biomarcador molecular importante en la diferenciación de subcategorías del cáncer de mama luminal.

También se recomienda el uso de esta tecnología en apoyo a la inmunohistoquímica para reducir costos y aumentar beneficios en la mejora de resultados.

10. Bibliografía

- American Cancer Society. (2021). *Terapia hormonal para el cáncer de seno*. American Cancer Society. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/tratamiento/terapia-hormonal-para-el-cancer-de-seno.html>
- Arellano-Zúñiga, D. M., Dolores-Raymundo, H. G., & García-Matamoros, Y. A. (2023). DETECTIVES DEL CÁNCER: USO DE BIOMARCADORES TUMORALES EN LA DETECCIÓN Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE SENO. *RD-ICUAP*, 9(27), 68–78. <http://rd.buap.mx/ojs-dm/index.php/rdicuap/article/view/1183/1241>
- Baines, A. T., Xu, D., & Der, C. J. (2011). Inhibition of Ras for Cancer Treatment: The Search Continues. *Future Medicinal Chemistry*, 3(14), 1787–1808. <https://doi.org/10.4155/FMC.11.121>
- Bao, N., Yen Thi-Kim, N., Yong Moon, J., Meran Keshawa, E., & Kim Cho, S. (2020). Pentadecanoic Acid, an Odd-Chain Fatty Acid, Suppresses the Stemness of MCF-7/SC Human Breast Cancer Stem-Like Cells through JAK2/STAT3 Signaling. *Nutrients*, 12(6). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nu12061663>
- Barker, T. H., Stone, J. C., Sears, K., Klugar, M., Leonardi-Bee, J., Tufanaru, C., Aromataris, E., & Munn, Z. (2023). Revising the JBI quantitative critical appraisal tools to improve their applicability: an overview of methods and the development process. *JBI Evidence Synthesis*, 21(3), 478–493. <https://doi.org/10.11124/JBIES-22-00125>
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., & Farahmand, L. (2020). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International Immunopharmacology*, 84, 106535. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2020.106535>
- Beňačka, R., Szabóová, D., Guľašová, Z., Hertelyová, Z., & Radoňák, J. (2022). Classic and New Markers in Diagnostics and Classification of Breast Cancer. *Cancers*, 14(21), 5444. <https://doi.org/10.3390/CANCERS14215444>
- Bliss, S., Sunirmal, P., Pobiaryn, P., Seda, A., Garima, S., Saumya, P., Holly, H., Neha, S., Cunha, M., Engelberth, D., Greco, S., Margarete, B., Kucia, M., Kakar, S., Ratajczak, M., & Pranela, R. (2018). Evaluation of a developmental hierarchy for breast cancer cells to assess risk-based patient selection for targeted treatment. *Sci Rep*, 8(1), 367-. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18834-5>

- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424.
<https://doi.org/10.3322/CAAC.21492>
- Bray, F., Laversanne, | Mathieu, Hyuna, |, Phd, S., Ferlay, J., Siegel Mph, R. L., Soerjomataram, I., Ahmedin, |, & Dvm, J. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21834>
- Cattin, S., Fellay, B., Calderoni, A., Christinat, A., Negretti, L., Biggiogero, M., Badellino, A., AL, S., Tsoutsou, P., AF, P., & Rüegg, C. (2021). Circulating immune cell populations related to primary breast cancer, surgical removal, and radiotherapy revealed by flow cytometry analysis. *Breast Cancer Res*, 23(1), 64-.
<https://doi.org/10.1186/s13058-021-01441-8>
- Chacón, M. (2009). CÁNCER: REFLEXIONES ACERCA DE INCIDENCIA, PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y MITOS (CANCER: REFLEXIONS ABOUT INCIDENCE, PREVENTION, TREATMENTS AND MYTHS). *CUADERNOS FHyCS-UNJu, Nro*, 37, 181–193.
- Ekström, K., Crescitelli, R., HI, P., Johansson, J., Lässer, C., & R, O. B. (2022). Characterization of surface markers on extracellular vesicles isolated from lymphatic exudate from patients with breast cancer. *BMC Cancer*, 22(1), 50-.
<https://doi.org/10.1186/s12885-021-08870-w>
- Escalona, G., & Torre, N. (2022). Comportamiento clínico-epidemiológico del cáncer de mama. *Revista Estudiantil HolCien*, 3(3).
<https://revholcien.sld.cu/index.php/holcien/article/view/231/126>
- Evilla Olmos, J. M., Álvarez Beltrán, W. A., Velásquez García, Y., Garrido Zea, E. F., Escudero Cardona, D. E., & Bonilla Sepúlveda, O. A. (2023). Subtipos intrínsecos de cáncer de mama y factores pronósticos en un centro de referencia en Medellín, Colombia. Estudio descriptivo. *Medicina y Laboratorio*, 27(3), 199–209.
<https://doi.org/10.36384/01232576.652>
- Fernández-Tortolero, Á., Reigosa-Yániz, A., Fernández-Tortolero, Á., & Reigosa-Yániz, A. (2021). Subtipos del carcinoma luminal de mama según el consenso de Saint Gallen en

- un grupo de pacientes venezolanas. *Biomédica*, 41(3), 531–540.
<https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.5496>
- Gao, J. J., & Swain, S. M. (2018). Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *The Oncologist*, 23(5), 556–565.
<https://doi.org/10.1634/THEONCOLOGIST.2017-0535>
- Global Cancer Observatory. (2024). *Global Cancer Observatory*. <https://gco.iarc.fr/en>
- Haghbeen, M., A, H. T., Kamravan, M., & A, S. J. (2021). Platelet-Derived Procoagulant Microparticles as Blood-based Biomarker of Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*, 22(5), 1573–1579. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.5.1573>
- Hamed, M., Gouida, M., Abd El-Aziz, S., & El-Sokkary, A. (2022). Evaluation PD-L1, CD8 and CD20 as early predictor and tracking markers for breast cancer (BC) in Egypt. *Heliyon*, 8(5), e09474-. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09474>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1), 57–70.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2011.02.013/ATTACHMENT/68024D79-3A9C-46C4-930B-640934F11E2E/MMC1.PDF>
- Heger, L., GF, H., Amon, L., Nimmerjahn, F., Bäuerle, T., Maier, A., Erber, R., Hartmann, A., CC, H., Ruebner, M., Huebner, H., Fasching, P., MW, B., & Dudziak, D. (2024). Unbiased high-dimensional flow cytometry identified NK and DC immune cell signature in Luminal A-type and triple negative breast cancer. *Oncoimmunology*, 13(1), 2296713-. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2023.2296713>
- Horvath, E. (2021). Subtipos moleculares del cáncer mamario-lo que el radiólogo dedicado a imágenes mamarias debe saber. *Chil Radiol*, 27(1), 17–26.
- Hosonaga, M., Arima, Y., Sugihara, E., Kohno, N., & Saya, H. (2014). Expression of CD24 is associated with HER2 expression and supports HER2-Akt signaling in HER2-positive breast cancer cells. *Cancer Sci*, 105(7), 779–787. <https://doi.org/10.1111/cas.12427>
- Karimi, N., Oloomi, M., & Orafa, Z. (2020). Circulating Tumor Cells Detection in Patients with Early Breast Cancer Using MACS Immunomagnetic Flow Cytometry. *Avicenna J*

Med Biotechnol, 12(3), 148–156. NS -

- Kashyap, D., Pal, D., Sharma, R., Garg, V. K., Goel, N., Koundal, D., Zaguia, A., Koundal, S., & Belay, A. (2022). [Retracted] Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. *BioMed Research International*, 2022(1), 9605439. <https://doi.org/10.1155/2022/9605439>
- Kellermeyer, L., Harnke, B., & Knight, S. (2018). COVIDENCE AND RAYYAN. *Medical Library Association*, 106(4), 580–583. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001350>
- Khan Academy. (2020). *El cáncer y el ciclo celular*. <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cell-communication-and-cell-cycle/regulation-of-cell-cycle/a/cancer>
- Martínez, J., Ortega, V., & Muñoz, F. (2016). El diseño de preguntas clínicas en la práctica basada en la evidencia. Modelos de formulación. *Enfermería Global*, 15(43), 431–438.
- Maycotte, P., Medina-Benítez, D., Ramírez-Torres, N., López-Muñoz, E., Mendoza-García, A. V., Cortés-Hernández, P., & Anaya-Ruiz, M. (2020). [Molecular diagnosis of breast cancer: prognostic and therapeutic implications]. *Revista Medica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 58(Supl 1), S62–S74. <https://doi.org/10.24875/RMIMSS.M20000116>
- Mazel, M., Jacot, W., Pantel, K., Bartkowiak, K., Topart, D., Cayrefourcq, L., Rossille, D., Maudelonde, T., Fest, T., & Alix-Panabières, C. (2015). Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. *Mol Oncol*, 9(9), 1773–1782. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.05.009>
- McKinnon, K. M. (2018). Flow Cytometry: An Overview. *Current Protocols in Immunology*, 120(1), 5.1.1–5.1.11. <https://doi.org/10.1002/CPIM.40>
- Meng, S., Li, L. I., Zhou, M., Jiang, W., Heng, N. I. U., & Yang, K. (2018). Distribution and prognostic value of tumor-infiltrating T cells in breast cancer. *Molecular Medicine Reports*, 18(5), 4247–4258. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9460>
- Ministerio de Salud Pública. (2022). *Cáncer de mama: riesgos, síntomas y tratamiento oportuno*. <https://www.salud.gob.ec/cancer-de-mama-riesgos-sintomas-y-tratamiento-oportuno/>
- Mitrus, I., Bryndza, E., Sochanik, A., & Szala, S. (2012). Evolving models of tumor origin

and progression. *Tumour Biology : The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 33(4), 911–917.

<https://doi.org/10.1007/S13277-012-0389-0>

OMS. (2022). *OMS / Cáncer*. WHO. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

OMS. (2023). *OMS / Cáncer de mama*. WHO. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>

Orafa, Z., Karimi, N., Keyvani, S., & Oloomi, M. (2022). Quantitative CK19 biomarker detection in breast cancer cell lines. *J Med Life*, 15(2), 188–195.

<https://doi.org/10.25122/jml-2021-1101>

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Revista Española de Cardiología*, 74(9), 790–799. <https://doi.org/10.1016/J.RECESP.2021.06.016>

Palmero, J., Lassard, J., Juárez, L., & Medina, C. (2021). Cáncer de mama: una visión general. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 19(3), 354–360. <https://doi.org/10.35366/101727>

Pérez-Lara, J. C., Wendolaine, S.-C., Romero-Ramírez, H., & Rodríguez-Alba, J. C. (2018). Fundamentos de Citometría de flujo: Su aplicación diagnóstica en la investigación biomédica y clínica. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 18(2), 41–52. <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2018/muv182d.pdf>

Restrepo-Mejía, M., Guarín-García, A. M., Bonilla-Sepúlveda, Ó. A., Rincón-Medina, M., & Biol, L. M. B. A. (2023). Respuesta tumoral a la quimioterapia neoadyuvante en subtipos moleculares de cáncer de mama en Medellín, Colombia. Estudio de cohorte retrospectivo. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 74(2), 143. <https://doi.org/10.18597/RCOG.3925>

Sánchez-Torres, L. E., Espinosa-Bonilla, A., & Diosdado-Vargas, F. (2022). La citometría de flujo, un universo de posibilidades en el ámbito veterinario. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 13(3), 763–786. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i3.5985>

- Sánchez Bouza, M. de J., Sánchez Frenes, P., Ayala Reina, Z. E., Sánchez Sánchez, P. J., Santos Solís, M., Sánchez Bouza, M. de J., Sánchez Frenes, P., Ayala Reina, Z. E., Sánchez Sánchez, P. J., & Santos Solís, M. (2022). Una mirada al cáncer desde la perspectiva molecular. *Revista Finlay*, *12*(2), 208–220.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342022000200208&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Sánchez, C. N. (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)
- Saunus, J., Smart, C., Kutasovic, J., Johnston, R., Kalita-de Croft, P., Marizca, M., Rozali, E., Vargas, A., Reid, L., Lorsy, E., Cocciardi, S., Seidens, T., McCart Reed, A., Dalley, A., Wockner, L., Johnson, J., Sarkar, D., Askarian-Amiri, M., Simpson, P., ... Lakhani, S. (2018). Multidimensional phenotyping of breast cancer cell lines to guide preclinical research. *Breast Cancer Res Treat*, *167*(1), 289–301. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4496-x>
- Silva, A., Rodrigues, C., Ferreira, I., Santos, L., Santos, D., Araújo, T., Canto, P., CE, P., LR, G., & YCP, M. (2022). A Novel Detection Method of Breast Cancer through a Simple Panel of Biomarkers. *Int J Mol Sci*, *23*(19). <https://doi.org/10.3390/ijms231911983>
- Thermo Fisher. (2021). *Alexa Fluor 488 dye | Thermo Fisher Scientific - EC*.
<https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/alex-fluor-488.html>
- Thermo Fisher. (2024). *eFluor 660 dye | Thermo Fisher Scientific - EC*.
<https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/efluor-660.html>
- Troncoso, D., Madariaga Perpiñan, I., Aldana Mancera, S. A., Herreño Pachón, A. M., Chaparro Ramírez, V. P., Molina Camargo, M. L., Rey Vargas, L., Ramírez Rodríguez, A. C., Montoya Estupiñan, C. F., Valderrama Álvarez, A., Cañas Arboleda, A., & Rojas Moreno, A. P. (2017). Transición epitelio mesénquima: de lo molecular a lo fisiológico. *Universitas Médica*, *58*(4). <https://doi.org/10.11144/JAVERIANA.UMED58-4.TEMM>
- Tsang, J., & Gary, M. (2020). Molecular Classification of Breast Cancer. *Wolters Kluwer Healthb*, *27*(1), 27–35. <https://sci-hub.ru/10.1097/PAP.0000000000000232>

- Untch, M., Gerber, B., Harbeck, N., Jackisch, C., Marschner, N., Möbus, V., Von Minckwitz, G., Loibl, S., Beckmann, M. W., Blohmer, J. U., Costa, S. D., Decker, T., Diel, I., Dimpfl, T., Eiermann, W., Fehm, T., Friese, K., Jänicke, F., Janni, W., ... Welt, A. (2013). 13th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2013: Primary Therapy of Early Breast Cancer Evidence, Controversies, Consensus - Opinion of a German Team of Experts (Zurich 2013). *Breast Care*, 8(3), 221–229.
<https://doi.org/10.1159/000351692>
- Valle-Solís, A. E., Miranda-Aguirre, A. P., Mora-Pérez, J., Pineda-Juárez, J. A., Gallardo-Valencia, L. E., Santana, L., Cervantes-Sanchez, G., & Cárdenas-Cárdenas, E. (2019). Supervivencia en cáncer de mama por subtipo mediante inmunohistoquímica: Un estudio retrospectivo. *Gaceta Médica de México*, 155(91), S50–S55.
<https://doi.org/10.24875/GMM.19005133>
- Vesely, M. D., Kershaw, M. H., Schreiber, R. D., & Smyth, M. J. (2011). Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual Review of Immunology*, 29, 235–271.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-031210-101324>
- Wang, Z., Liu, L., Li, Y., Song, Z., Jing, Y., Fan, Z., & Zhang, S. (2021). Analysis of CK5/6 and EGFR and Its Effect on Prognosis of Triple Negative Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 10, 575317. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.575317/BIBTEX>
- Wopereis, S., Walter, L. O., Vieira, D. S. C., Ribeiro, A. A. B., Fernandes, B. L., Wilkens, R. S., & Santos-Silva, M. C. (2021). Evaluation of ER, PR and HER2 markers by flow cytometry for breast cancer diagnosis and prognosis. *Clinica Chimica Acta*, 523, 504–512. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.11.005>
- World Health Organization. (2024). *Breast cancer*. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer?gad_source=1&gclid=EAIaIQobChMI755bn3hQMvYRaBR1D7ArZEAAYASABEGI1WPD_BwE

11. Anexos

Anexo 1. *Tabla de características de los estudios.*

N°	Título	Autor/es	Año de publicación	Tipo de estudio	Población	Objetivos	URL/DOI
1	A Novel Detection Method of Breast Cancer through a Simple Panel of Biomarkers.	Silva et al.	2022	Experimental	- Primera fase: 87 pacientes (25 mujeres con enfermedad mamaria benigna y 62 con cáncer de mama). - Segunda fase: 23 pacientes (6 mujeres de control, 6 diagnosticadas con enfermedad mamaria benigna y 11 con cáncer de mama).	Desarrollar un panel de biomarcadores para el seguimiento del diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama, mediante la detección de marcadores epiteliales y mesenquimales en CTC.	https://doi.org/10.3390/ijms231911983
2	Characterization of surface markers on extracellular vesicles isolated from lymphatic exudate from patients with breast cancer.	Ekström et al.	2022	Experimental	7 pacientes con cáncer de mama (líquido de drenaje linfático).	Aislar y caracterizar las VE del líquido seroso procedente de la axila y determinar si se podrían identificar biomarcadores potenciales del cáncer de mama.	https://doi.org/10.1186/s12885-021-08870-w
3	Circulating immune cell populations related to primary breast cancer, surgical removal, and radiotherapy revealed by flow cytometry analysis.	Cattin et al.	2021	Analítico de corte transversal	11 pacientes con cáncer de mama primario no metastásico (sangre periférica).	Analizar el fenotipo de los leucocitos sanguíneos de pacientes de CM precoz mediante citometría de flujo.	https://doi.org/10.1186/s13058-021-01441-8
4	Circulating Tumor Cells Detection in Patients with Early Breast Cancer Using MACS Immunomagnetic Flow Cytometry.	Karimi et al.	2020	Utilidad clínica	35 pacientes con cáncer de mama y 35 muestras control (muestras sanguíneas).	Diagnosticar CTC enriquecidas y examinadas mediante citometría de flujo, evaluar la especificidad y sensibilidad de los métodos.	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7368115/
5	Distribution and prognostic value of tumor-infiltrating T cells in breast cancer.	Meng et al.	2018	Analítico de corte transversal	72 pacientes con cáncer de mama (muestras quirúrgicas).	Evaluar la distribución y la interacción de los subconjuntos de células T infiltrantes de tumores en el CM.	https://doi.org/10.3892/2Fmmr.2018.9460

6	Evaluation of a developmental hierarchy for breast cancer cells to assess risk-based patient selection for targeted treatment.	Bliss et al.	2018	Experimental	Líneas celulares/20 pacientes cáncer de mama (muestras de sangre).	Desarrollar una jerarquía de BCC para evaluar la selección de pacientes basada en el riesgo para un tratamiento específico.	https://doi.org/10.1038/s41598-017-18834-5
7	Evaluation of ER, PR and HER2 markers by flow cytometry for breast cancer diagnosis and prognosis.	Wopereis et al.	2021	Utilidad clínica	- Muestras quirúrgicas de CM (50 pacientes) Líneas celulares MCF-7 (tipo luminal A) y SKBR3 (HER2-positivo).	Validar la inmunofenotipificación por citometría de flujo para investigar marcadores diagnósticos y pronósticos del CM.	https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.025
8	Evaluation PD-L1, CD8 and CD20 as early predictor and tracking markers for breast cancer (BC) in Egypt.	Hamed et al.	2022	Casos y controles	50 pacientes egipcias diagnosticadas con cáncer de mama (muestras sanguíneas y tejidos) y 15 pacientes control sano (muestras de sangre).	Evaluar PD-L1, CD8 y CD20 como biomarcadores de predicción temprana del cáncer de mama.	https://doi.org/10.1016%2Fj.heliyon.2022.e09474
9	Expression of CD24 is associated with HER2 expression and supports HER2-Akt signaling in HER2-positive breast cancer cells.	Hosonaga et al.	2014	Experimental	Células 231-Luc con expresión HER2.	La coexpresión de CD24 con HER2 podría estar asociada con la resistencia terapéutica de las células HER2-positivas.	https://doi.org/10.1111%2Fcas.12427
10	Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells.	Mazel et al.	2015	Experimental	Líneas celulares de cáncer de mama (SKBR3, MCF7, MDA-MB-231) /pacientes con cáncer de mama (sangre periférica).	Demostrar la expresión de PD-L1 en las CTC.	https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.05.009
11	Multidimensional phenotyping of breast cancer cell lines to guide preclinical research.	Saunus et al.	2018	Experimental	36 líneas celulares de cáncer de mama.	Actualización de la clasificación de líneas celulares de cáncer de mama, incorporando perfiles proteicos unicelulares, análisis de expresión dirigida y mapeo de vías funcionales.	https://doi.org/10.1007/s10549-017-4496-x
12	Pentadecanoic Acid, an Odd-Chain Fatty Acid, Suppresses the Stemness of MCF-7/SC Human Breast Cancer Stem-Like Cells through	Bao et al.	2020	Experimental	Línea celular MCF-7/células similares a células madre (SC).	Exploración de la actividad anticancerígena del ácido pentadecanoico y los mecanismos moleculares subyacentes responsables de esta actividad en células madre de cáncer de mama humano MCF-7-7SC	https://doi.org/10.3390/nu12061663

	JAK2/STAT3 Signaling. Platelet-Derived Procoagulant Microparticles as Blood-based Biomarker of Breast Cancer.	Haghbeen et al.	2021	Casos y controles	30 pacientes con cáncer de mama y 20 pacientes controles (muestras de sangre).	Investigar los niveles de micropartículas derivadas de plaquetas en pacientes con cáncer de mama.	https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.5.1573
14	Quantitative CK19 biomarker detection in breast cancer cell lines.	Orafa et al.	2022	Experimental	Lineas celulares de cáncer de mama humano (MCF7, SKBR3, MDA-MB-231, T47D) y línea celular de cáncer de cuello uterino (HeLa).	Cuantificar la expresión de CK19 en diferentes líneas celulares mediante citometría de flujo.	https://doi.org/10.25122%2Fjml-2021-1101
15	Unbiased high-dimensional flow cytometry identified NK and DC immune cell signature in Luminal A-type and triple negative breast cancer.	(Heger et al., 2024)	2024	Experimental	43 pacientes con cáncer de mama para muestreo de tejido.	Descifrar el perfil genético de las células inmunitarias de los diferentes subtipos de cáncer de mama basándose en citometría de flujo.	https://doi.org/10.1080/2162402x.2023.2296713

Nota. CTC: células tumorales circulantes; VE: vesículas extracelulares; CM: cáncer de mama; BBC: células del cáncer de mama; CK19: citoqueratina 19; CD: clusters of differentiation; PD-L1: CD 274; HER2: receptor 2 de crecimiento epidérmico humano; ER: receptor de estrógeno; PR: receptor de progesterona; NK: células asesinas naturales; DC: células dendríticas.

Anexo 2. *Evaluación de la calidad de los estudios con la herramienta JBI.*

Número de artículo	Autor	JBI%	Riesgo de sesgo
1	Cattin et al.	100	Bajo
2	Meng et al.	75	Bajo
3	Karimi et al.	90	Bajo
4	Wopereis et al.	100	Bajo
5	Hamed et al.	100	Bajo
6	Haghbeen et al.	100	Bajo
7	Silva et al.	100	Bajo
8	Ekström et al.	75	Bajo
9	Bliss et al.	100	Bajo
10	Hosonaga et al.	75	Bajo
11	Mazel et al.	75	Bajo
12	Saunus et al.	75	Bajo
13	Bao et al.	100	Bajo
14	Orafa et al.	100	Bajo
15	Heger et al.	75	Bajo

Nota: JBI: Joanna Briggs Institute

Anexo 3. Evaluación de la calidad de la revisión sistemática.

		Lista de verificación	Sí	Parcial	No	
Título	1	Título	X			
Resumen	2	Resumen estructurado	X			
Introducción	3	Justificación	X			
	4	Objetivos	X			
Métodos	5	Criterios de elegibilidad	X			
	6	Fuentes de información	X			
	7	Estrategia de búsqueda	X			
	8	Proceso de selección de estudios	X			
	9	Proceso de extracción de datos	X			
	10	Lista de datos	X			
	11	Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales	X			
	12	Medidas de efecto				X
	13	Métodos de síntesis			X	
	14	Evaluación del sesgo en la publicación	X			
Resultados	15	Evaluación de la certeza de la evidencia	X			
	16	Selección de estudios	X			
	17	Características de los estudios	X			
	18	Riesgo de sesgo entre los estudios	X			
	19	Resultados de estudios individuales	X			
	20	Resultados de la síntesis		X		
	21	Sesgos en la publicación				X
	22	Certeza de evidencia				X
	Discusión	23	Discusión	X		
	Otra información	24	Registro y protocolo			X
25		Financiación	X			
26		Conflicto de intereses			X	
27		Disponibilidad de datos, códigos y otros materiales	X			
		Total	20	2	5	
		%	74,07	7,4	18,53	

Nota: PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis.

$$\%PRISMA = \frac{20}{27} \times 100\% = 74,07\%$$

% PRISMA	Riesgo de sesgo
≥ 70%	Bajo
50-69%	Moderado
< 50%	Alto

Anexo 4. Emisión de pertinencia.



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Memorando Nro.: UNL-FSH-CLC-2024-0009E-M

Loja, 02 de febrero de 2024

PARA: Señorita:
Ana Belén Gálvez Córdova.
**ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA.**

ASUNTO: Traslado de informe de pertinencia

Por medio del presente, me permito correr traslado el Oficio emitido por la Lic. Marlon Rolando Bravo Bonilla, PhD., docente de la Carrera de Laboratorio Clínico, con respeto a la estructura, coherencia y pertinencia del tema de investigación: "Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama. Revisión Sistemática", de su autoría, con la finalidad de que se siga el proceso, quedando aprobado el mismo por parte de esta dependencia; y, se continúe con el proceso correspondiente de conformidad a los Art.225, 226, 227, 228, 229 y 230 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Particular que me permito comunicar para fines pertinentes

Atentamente,



SANDRA ELIZABETH
FREIRE CUESTA

Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta

**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO
CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA- UNL.**

Referencia: Correo electrónico
Anexo Archivo Secretaría de la Carrera
Elaborado por: Sandra Freire. **DIRECTORA DE CARRERA**

Anexo 5. Asignación de Director del Trabajo de Integración Curricular.



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Memorando N°. UNL-FSH-DCLC-2024-39-M
Loja, 16 de abril de 2024

PARA: Doctor

Marlon Bravo Bonilla

**DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA-UNL.**

ASUNTO: Designación de Directora del Trabajo de Integración Curricular

Por medio del presente, y dando cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 228 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, aprobado el 27 de enero de 2021" una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Dirección le ha designado Director para el Trabajo de Integración Curricular, titulado: "**Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama. Revisión sistemática**", de autoría de la Srta. Ana Belén Gálvez Córdova.

Particular que me permito comunicar para fines pertinentes

Atentamente,



SANDRA ELIZABETH
FREIRE CUESTA

Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta

**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO
CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA- UNL.**

Archivo Cc. Ana Belén Gálvez Córdova
Secretaría de la Carrera
SFC/ tsc.

Anexo 6. Certificación de traducción del Abstract.



Juan Pablo Ordóñez Salazar
CELTA-Certified English Teacher,
traductor e intérprete.

Certificación de traducción al idioma inglés.

JUAN PABLO ORDÓÑEZ SALAZAR.
CELTA-certified English teacher, traductor e intérprete.

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés, del resumen de tesis titulado: **“Aplicación de la citometría de flujo en la caracterización molecular del cáncer de mama. Revisión sistemática”**, de autoría de la estudiante Ana Belén Gálvez Córdova, con número de cédula 1105253619, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor a la verdad, y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 23 de julio del 2024

1103601090 Firmado digitalmente
por 1103601090 JUAN
PABLO ORDÓÑEZ
SALAZAR
Fecha: 2024.07.31
12:29:34 -05'00'

Juan Pablo Ordóñez Salazar

DNI: 110360109-0

Código de Perito de la Judicatura: 12298374

Celular: +593 994290147

CELTA – CERTIFIED ENGLISH TEACHER, TRADUCTOR E INTÉRPRETE