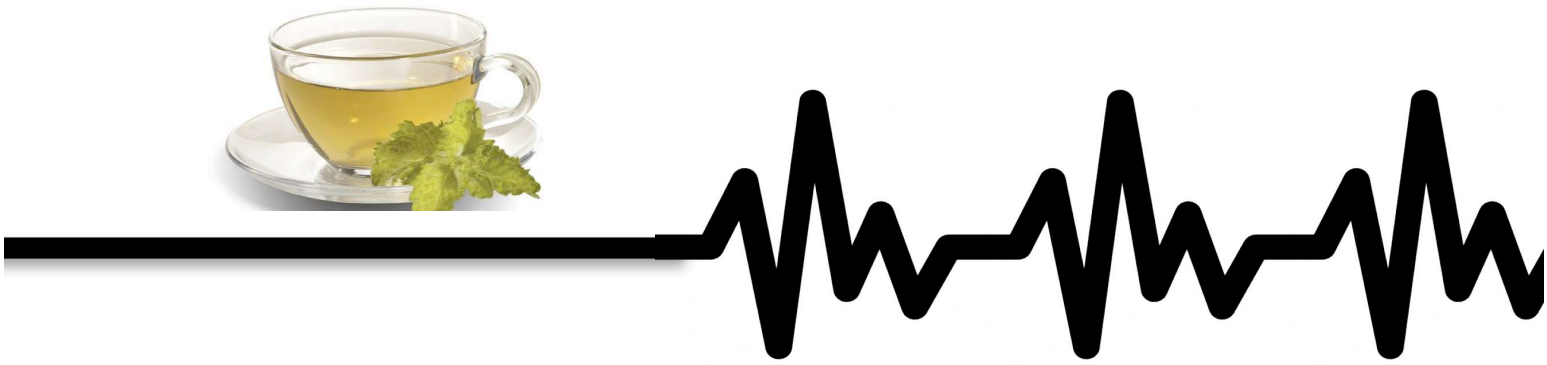
Té verde

Proyecto de futuro contra el cáncer de mama



Pseudónimo: Skitx

Año: 2015-2016

ÍNDICE

RESUMEN **1**

AGRADECIMIENTOS ..... Error! Bookmark not defined.

INTRODUCCIÓN **3**

1. CÁNCER **4**

2. CÁNCER DE MAMA **5**

2.1. CARCINOGÉNESIS DEL CÁNCER DE MAMA 5

2.1.1. INCIDENCIA DE CARCINÓGENOS 5

2.1.2. MUTAGÉNESIS 6

2.1.3. METÁSTASIS 7

2.2. CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE MAMA 9

2.2.1. CLASIFICACIÓN TNM 9

2.2.2. CLASIFICACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA 9

2.3. ESTADIOS DEL CÁNCER DE MAMA 10

3. QUIMIOTERAPIA **11**

3.1. FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS 11

4. TÉ VERDE **12**

4.1. VITAMINA B 12

4.2. VITAMINA C 12

4.3. TEÍNA Y TEANINA 13

4.4 POLIFENOLES-CATEQUINAS-EGCG 13

5. ENSAYO DE CITOTOXICIDAD **15**

5.1. PROCESAMIENTO DE DATOS OBTENIDOS EN EL ENSAYO DE CITOTOXICIDAD 15

5.1.1. ENSAYO CON EL CULTIVO CELULAR PN32 16

5.1.2. ENSAYO CON EL CULTIVO CELULAR $PN33_1$ 17

5.1.3. ENSAYO CON EL CULTIVO CELULAR $PN33_2$ 17

5.1.4. MEDIA ARITMÉTICA DE LOS TRES ENSAYOS 18

6. CONCLUSIÓN **20**

BIBLIOGRAFÍA **21**

INTRODUCCIÓN

Hoy en día el cáncer de mama es una enfermedad muy frecuente en la sociedad y el hecho de que aún no se haya encontrado una curación es alarmante para muchos. Es por eso que me he planteado una visión distinta de cómo afrontar el cáncer de mama mediante la alimentación, surgiendo así mi hipótesis: ¿es el té verde influyente en la curación del cáncer de mama paralelamente a la quimioterapia?

Tuve claro el tema de esta monografía en unos campamentos en los cuales una monitora, estudiante de enfermería, nos explicó una historia de una chica que gracias a una alimentación alternativa fue capaz de curarse del cáncer. Me pareció asombroso el hecho de que la alimentación pudiese combatir una enfermedad que no tenía ni tiene curación. El tema de esta monografía tiene cierta importancia social ya que cada vez la incidencia del cáncer de mama es mayor y cualquier idea razonable sirve para poder investigar sobre ello y ver si hay alguna posibilidad, por remota que sea, de encontrar una curación. También tiene beneficios sociales ya que da un conocimiento más amplio a la sociedad sobre la importancia de la alimentación y que en la mayoría de los casos somos lo que comemos.

Esta monografía es de biología, específicamente del cáncer de mama y he utilizado una metodología apropiada para poder entender todos los conceptos correctamente y ser capaz de expresarlo con claridad. Primeramente, busqué información en libros y webs sobre el cáncer de mama, sus generalidades y, también, de la quimioterapia ya que es un tratamiento con muchos efectos secundarios y por el cual podríamos combinar con la alimentación. Después pensé que podría llevar a cabo alguna práctica en el laboratorio, pero para eso tenía que saber si realmente había algún componente del té verde que podría llegar a influir en la curación del cáncer de mama. Por tanto, investigué sobre los componentes del té verde y a partir de los resultados recurrí a buscar datos de prácticas realizadas con células de cáncer de mama y el té verde.

1. CÁNCER[1]

Nuestro organismo está en continuo cambio; las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen o sufren el ataque de algún virus o sustancias nocivas, mueren, y células nuevas las reemplazan. Cuando este equilibrio se pierde aparece el cáncer.

Se denomina cáncer al conjunto de enfermedades que tienen en común una división anormal y descontrolada de las células. Es consecuencia de una proliferación incontrolada de células que se diseminan a los tejidos de alrededor, al contrario de los tumores benignos, que no son capaces de invadir otros tejidos circundantes. Este proceso se llama metástasis; pero para que se lleve a cabo las células cancerígenas deben ser capaces de cruzar la lámina basal[2]. Se sirven de su habilidad para remodelar el entramado de vasos sanguíneos y linfáticos, proceso llamado angiogénesis.

El cáncer tiene unos rasgos distintivos que lo hacen una enfermedad única, como podemos observar en la Figura 1.

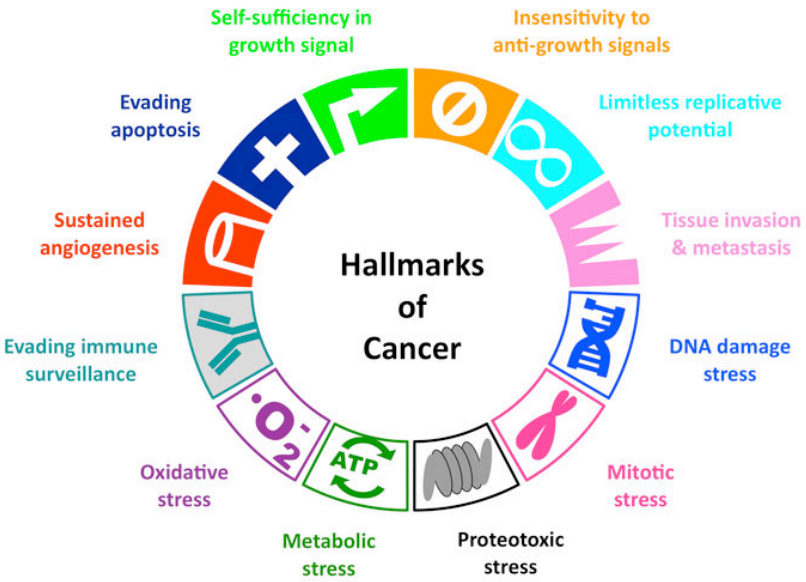


Figura 1. Generalidades del cáncer **Fuente:** http://elledgelab.med.harvard.edu/?page_id=305

Hay distintos tipos de cáncer según la zona del cuerpo afectada. En esta monografía nos centraremos principalmente en el cáncer de mama. Este causa una proliferación incontrolada en el tejido de la glándula mamaria, que se disemina a otros órganos cumpliendo así la definición de cáncer. El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente entre las mujeres de todo el mundo según la Asociación Española Contra el Cáncer.

---

[1] ASOCIACIÓN ESPAÑOLA CONTRA EL CÁNCER. *Incidencia.* [en línea]. https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/CancerMama/Paginas/incidencia.aspx : 2 Septiembre 2014 [Consulta: 14 agosto 2015]

[2] Lámina basal: Especialización de la matriz extracelular que separa el epitelio y el tejido conjuntivo.

2. CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es el tumor maligno que se origina en el tejido de la glándula mamaria. La mama es una glándula cuya función principal es la producción de leche durante el período de lactancia. Está rodeada de tejido graso que le da consistencia y volumen. A su vez, está formada por lóbulos y lobulillos unidos entre si por los conductos galactóforos que transportan la leche que se produce en los lóbulos hacia el pezón. Además, encontramos vasos sanguíneos que proporcionan sangre a la glándula y vasos linfáticos que se encargan de recoger la linfa y confluyen en los ganglios linfáticos[3].

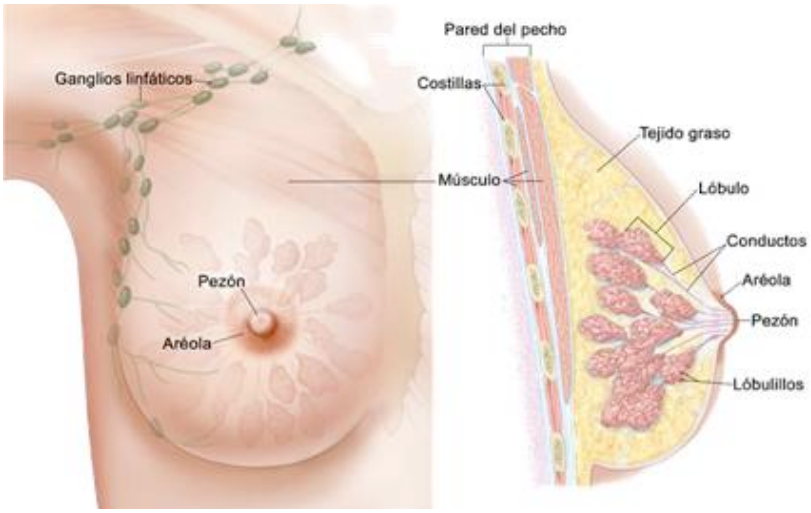


Figura 2. Fisiología y anatomía del seno **Fuente:** http://www.cancer.gov/espanol/tipos/seno

2.1. CARCINOGÉNESIS DEL CÁNCER DE MAMA[4]

La carcinogénesis es el proceso por el cual el cáncer se genera. El cáncer de mama sigue los mismos criterios. Consta de tres fases básicas: la incidencia de carcinógenos[5], la mutagénesis y la metástasis.

2.1.1. INCIDENCIA DE CARCINÓGENOS

Podemos diferenciar tres clases de carcinógenos que causan distintas mutaciones: los químicos, que producen cambios locales en la secuencia de nucleótidos; las radiaciones ionizantes, que causan roturas y translocaciones de los cromosomas; finalmente, los virus, que provocan cáncer al introducir ADN ajeno en el interior de la célula.

En el caso del cáncer de mama el carcinógeno principal es mayoritariamente las radiaciones ionizantes, aunque también se puede dar algún caso de carcinógenos químicos. Mayoritariamente se da el cáncer a causa de una mutación previa hereditaria. Esto es debido a que cuando sufrimos mutaciones, si solo afecta a una copia del gen, nuestro

[3] Ganglios linfáticos: Son pequeñas formaciones redondeadas, los más cercanos a la mama se encuentran en las axilas y a ambos lados del esternón.

[4] Información extraída de: BRUCE, ALBERTS. "Cáncer". En BRUCE, ALBERTS. *Biología molecular de la célula.* Estados Unidos: Omega, 2010, p.1345-1384.

[5] Carcinógeno: Factor o exposición del entorno de una persona que contribuye al desarrollo de mutaciones genéticas que promueven el cáncer.

organismo es capaz de reaccionar y solucionar el problema; en cambio, si ya se tiene una mutación heredada es más fácil que la mutación se acabe convirtiéndose en un cáncer.

2.1.2. MUTAGÉNESIS[6]

Una vez la mutación ha tenido lugar, esta debe ser irreversible. Es decir, nuestras células padecen mutaciones constantemente, pero pueden ser revertidas por unos mecanismos de corrección de errores que actúan durante la replicación del ADN de las células. Estos mecanismos consisten en que la ADN polimerasa actúa como exonucleasa[7], primero eliminando los nucleótidos y luego llena el espacio vacío con nuevos nucleótidos. El ADN ligasa es el encargado de unir los fragmentos resultantes.

Para corregir la mutación, la célula también puede optar por una segunda opción que es llevar a cabo la apoptosis, implicada en el control del desarrollo y el crecimiento celular. La muerte celular es inducida por una cascada de transducción de señales, más concretamente una cascada enzimática. Hay muchos inductores de apoptosis, pero uno de los más importantes es el supresor de tumores p23 ya que puede provocar daños irreparables al ADN de la célula. Para ello induce la expresión del gen bax y éste a su vez es transcrito y traducido y se forma la proteína Bax[8]. La proteína junto con Bcl-2 (Bax deriva de esta proteína) libera un citocromo c y éste se une con Apaf-1[9], de tal manera que el complejo formado une dos moléculas de procaspasa 9. Esta se autoactiva y genera caspasas 9 que en consecuencia activan a caspasas efectoras como la procaspasa 3. Bcl-2 es un factor antiapoptótico, mientras que Bax es un factor proapoptótico: el equilibrio entre estos factores determinará el futuro de la célula. Si la célula está destinada a llevar a cabo la apoptosis, las caspasas efectoras son las decisivas al final de este proceso. Son las encargadas de romper las proteínas estructurales, de fragmentar el ADN y el núcleo mediante la degradación del citoesqueleto y la lámina nuclear. (Figura 3.)

No obstante, las células cancerígenas se caracterizan por ser capaces de evadir la apoptosis ya que la mutación producida se da en supresores de tumores como p23, p53... En el caso de que se produjese en el gen supresor de tumores p23 no se llevaría a cabo la apoptosis ya que este es necesario e imprescindible. Por consiguiente, pasaría lo mismo con p53, ya que su tarea, además de detener la reproducción celular cuando se ha detectado una mutación en el genoma de la célula, es la misma que la de p23. De esta manera evaden la apoptosis las células cancerígenas y se convierten en invasivas.

---

[6] Información extraída de: MÜLLER-STERL, WERNER. "Ciclo celular y muerte celular programada". En MÜLLER-STERL, WERNER; [versión española por Josep Joan Centelles Serra]. *Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida.* Barcelona: Reverté, 2008, p.447-457.

[7] Exonucleasa: Es una enzima que se encarga mayoritariamente de la hidrólisis, ya que separa los nucleótidos uno a uno rompiendo el enlace fosfodiester tanto del extremo 3' como 5'.

[8] Proteína Bax: Es la encargada de regular la liberación del citocromo c, una enzima que transporta electrones en la respiración mitocondrial.

[9] Apaf-1: Es una proteína importante para llevar a cabo la apoptosis, es la abreviación de Apoptosi protease-activating factor-1

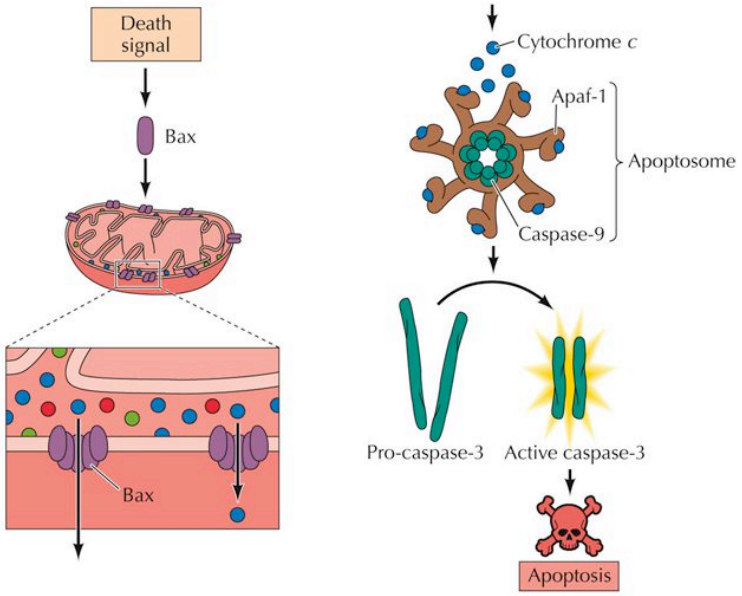


Figura 3. Esquema de la apoptosis celular **Fuente:** http://slideplayer.es/slide/3204479/

Normalmente, las mutaciones que dan lugar a un cáncer (incluido el cáncer de mama) son aquellas que afectan a proto-oncogenes y a genes supresores de tumores, ya que estos están relacionados con el control de la reproducción celular e inhiben o aceleran este proceso. Los proto-oncogenes son genes que aceleran y estimulan la proliferación; por consiguiente, el cáncer hace que estos genes se vuelvan hiperactivos; así consiguen una proliferación incontrolada de las células. Es una mutación de efecto dominante; es decir, que tan solo es necesario el cambio en una de las dos copias del gen.

Referente a los supresores de tumores, su función es inhibir la reproducción celular. El cáncer muta a los supresores de tumores para impedir que detengan la reproducción. Se trata de una mutación de efecto recesivo ya que es necesario el cambio en las dos copias del gen.

Al final de esta fase obtenemos una célula con el ADN dañado con una mutación irreversible.

2.1.3. METÁSTASIS

Un tumor maligno siempre lleva a cabo la metástasis, hecho que lo diferencia de un tumor benigno. La metástasis es un proceso por el cual las células cancerígenas se diseminan a los tejidos u órganos circundantes. Como ya hemos dicho anteriormente, para que se lleve a cabo este proceso es importante destacar que las células cancerosas tienen que ser capaces de cruzar la lámina basal y se ayudan de la angiogénesis.

La angiogénesis es el proceso por el cual se forman nuevos vasos sanguíneos y linfáticos a partir de vasos preexistentes. No es un proceso exclusivo del cáncer, también tiene mucho que decir en el desarrollo embrionario, aportando al nuevo ser los nutrientes necesarios. De la misma manera ocurre en el caso del cáncer; las células necesitan un aporte nutritivo y una fuente de oxígeno. A medida que el tumor va creciendo, gracias a las fuentes de nutrientes y de oxígeno, se necesitan más fuentes para proveer lo necesario para que las células puedan seguir proliferando al mismo ritmo y no morir. Por lo tanto, la angiogénesis es necesaria para el crecimiento de un tumor. (Figura 4.)

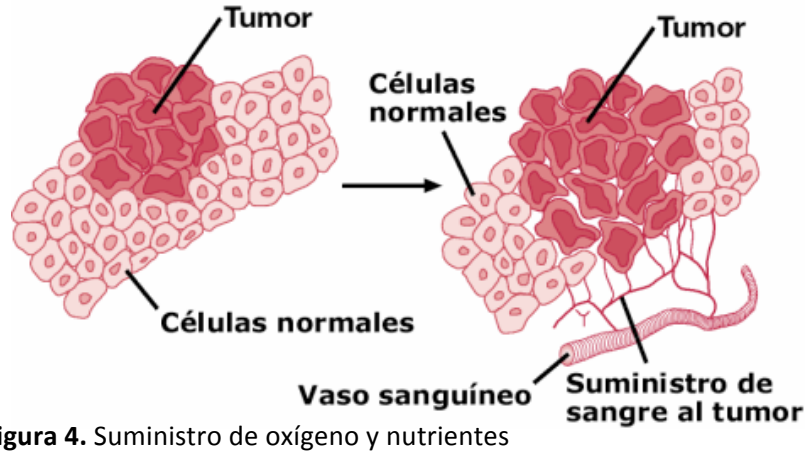


Figura 4. Suministro de oxígeno y nutrientes

Fuente: http://muybio.com/sabemos-que-el-cancer-se-puede-evitar-con-la-alimentacion-alcalina

La angiogénesis se lleva a cabo por los siguientes pasos: las células endoteliales de la mama proliferan, migran y se ensamblan formando un laberinto de capilares pequeños (vasculogénesis). Estos se expanden de manera progresiva formando una red organizada de vasos grandes que se ramifican formando otros más pequeños. Los nuevos vasos se recubren con células de músculo liso que regulan la contracción y dilatación de los vasos sanguíneos (Figura 5.). Una vez formados los nuevos vasos, las células del tumor son capaces de infiltrarse en la vascularización sanguínea o linfática y diseminarse a otros tejidos u órganos, estableciéndose allí y formando nuevos tumores secundarios, es decir, haciendo metástasis. (Figura 6.)

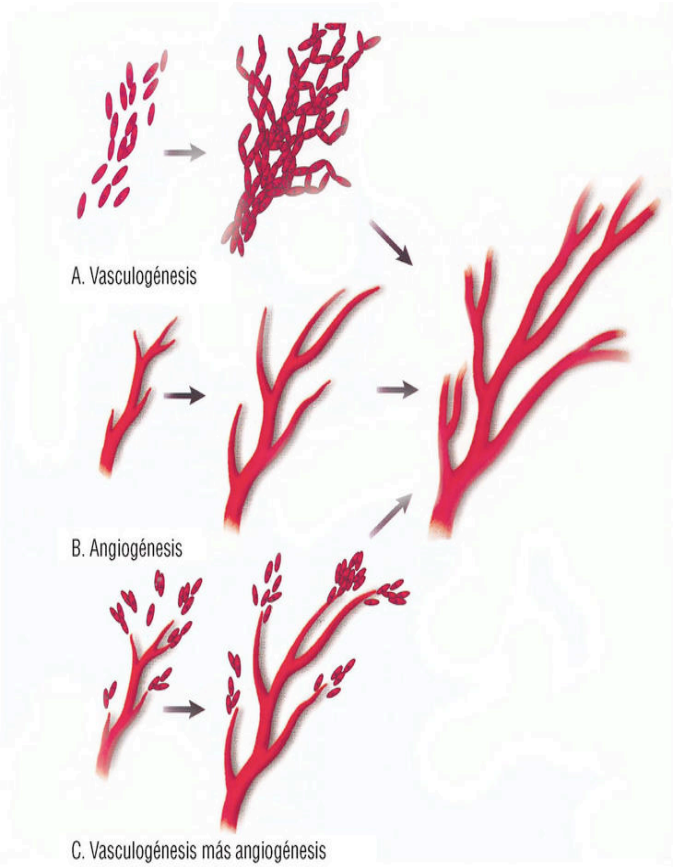


Figura 5. Angiogénesis
Fuente: http://www.revespcardiol.org/es/efecto-las-estatinas-induccionangiogenesis/articulo/13035235/

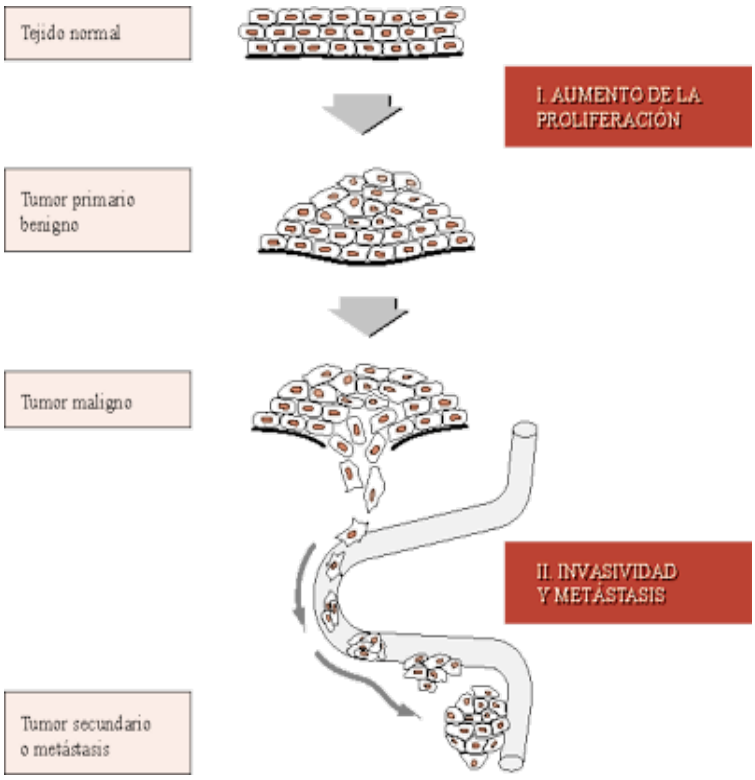


Figura 6. Metástasis
Fuente: http://www.angelfire.com/tx2/neptuno/dgl1b.html

En el cáncer de mama, cuando se produce metástasis y crece el tumor, podemos observar tres tipos de crecimiento: el crecimiento local, la diseminación linfática y la diseminación hematógena.

En el crecimiento local las células cancerígenas se diseminan proliferando invasivamente hacia otras estructuras vecinas como la pared torácica. En la diseminación linfática, cómo dice su nombre, las células del tumor se introducen en el interior de los vasos linfáticos y se diseminan al resto del cuerpo. Finalmente, en la diseminación hematógena las células cancerígenas se expanden por los vasos sanguíneos hacia los huesos y pulmones mayoritariamente. El tumor que se origina a causa de la metástasis del cáncer de mama se llama tumor secundario.

Es en este punto en el que el cáncer de mama se convierte en invasivo. Existen dos tipos de cáncer de mama invasivo: el carcinoma ductal (incidencia del 80%) y el carcinoma lobulillar (incidencia del 10%). El primero se origina en las células que revisten los conductos galactóforos; en cambio, el segundo se origina en las células de los lobulillos mamarios. Ambos dan lugar a metástasis, pero se inician en diferentes puntos del seno.

2.2. CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE MAMA

2.2.1. CLASIFICACIÓN TNM

Según tres aspectos del cáncer de mama; el tamaño del tumor (T), la afectación de los ganglios linfáticos (N) y la afectación a otros órganos (M), clasificamos el cáncer de mama según el sistema TNM.

	T	**N**	**M**
0	Tumor primario no determinado.	No hay afectación de los ganglios linfáticos.	No hay existencia de metástasis
1	Tumor igual o inferior a 2 cm	Afectación de 1 a 3 ganglios linfáticos.	Hay metástasis
2	Tumor está entre 2 y 5 cm	Afectación de 4 a 9 ganglios linfáticos.	-
3	Tumor es mayor de 5 cm	Afectación mayor de 10 ganglios linfáticos.	-
4	Tumor expande hacia la piel o la pared torácica	-	-

Figura 7. Clasificación TNM **Datos:** https://www.aecc.es/ (fases) [Consulta: 11 octubre 2015]

2.2.2. CLASIFICACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA

Para poder realizar esta clasificación se deben llevar a cabo dos pruebas: la prueba de receptores de estrógenos y progesterona y la de HER2.

La prueba de HER2 consiste en detectar si hay niveles elevados de la proteína promotora de crecimiento HER2. Se efectúa a través de la inmunohistoquímica, un procedimiento en el que se añaden anticuerpos especiales en la muestra e identifican las proteínas. Esto causa que la muestra cambie de color si hay unos niveles elevados de la proteína. Los resultados se dan según 0, 1+, 2+ o 3+. Se tratará de HER2+ si los resultados son 2+ y 3+, y HER2- los resultados de 0 y 1+.

La prueba de receptores de estrógenos y de receptores de progesterona se lleva a cabo al analizar el tumor extirpado. Los cánceres ER+ son aquellos que contienen receptores de estrógenos, en cambio, los cánceres PR+ son aquellos que contienen receptores de progesterona. Los estrógenos y la progesterona son hormonas que pueden ayudar a la proliferación celular.

Según sean positivos o negativos a estas pruebas podremos diferenciar cuatro tipos distintos de cáncer: luminal A, luminal B, HER2 positivo y triple negativo o basal like. (Figura 8.) Siendo un caso especial HER2 positivo porque no se lleva a cabo la prueba de receptores de estrógenos y progesterona por el hecho que ya es por si mismo un tipo de cáncer de mama.

Luminal A	HER2-/ ER+ o PR+/ Ki67-[10]
Luminal B	HER2-/ ER+ o PR+/ Ki67+
HER2 positivo	HER2+
Triple negativo	HER2-/ ER- y PR-

Figura 8. Tipos de cáncer según clasificación inmunohistoquímica [Consulta: 18 octubre de 2015]
Datos: http://ww5.komen.org/BreastCancer/SubtypesofBreastCancer.html

2.3. ESTADIOS DEL CÁNCER DE MAMA

Los estadios son importantes ya que nos indican cuán evolucionado está el cáncer de mama. Según el estadio, se decide cuál es el mejor tratamiento para el paciente.

Estadios	Evolución
Estadio 0	Muestra lesiones pre maligna, células mutadas localizadas y no hay diseminación.
Estadio I	No hay afectación linfática ni de otros órganos y el tumor es menor a 2 cm.
Estadio II	Puede haber o no afectación linfática, pero no de otros órganos y el tumor mide entre 2 y 5 cm.
Estadio III	Hay afectación linfática de los ganglios axilares y puede extenderse a la pared torácica y afectar a otros órganos.
Estadio IV	El paciente padece metástasis.

Figura 9. Estadios del cáncer y su afectación en el paciente
Datos:https://www.aecc.es/SOBREELCANCER/CANCERPORLOCALIZACION/CANCERMAMA/Paginas/fases.aspx [Consulta: 30 agosto 2015]

[10] Ki67: Es una proteína necesaria para la proliferación celular. Ki67- quiere decir que la proteína no está presente, mientras que si es Ki67+ la proteína si que está presente.
De: SCHOLZEN,T. *The Ki-67 protein: from the known and the unknown.* [en línea]. www.pubmed.gov : Pubmed, [Consulta: 18 octubre 2015]

3. QUIMIOTERAPIA

La quimioterapia es un tratamiento del cáncer de mama[11] para estadios más avanzados o con mal pronóstico con el fin de conseguir la curación del cáncer o la reducción del tumor. Esta modalidad terapéutica consiste en erradicar todas las células que componen el tumor utilizando fármacos antineoplásicos o quimioterapéuticos por vía intravenosa. La función de estos es destruir las células en división celular, consecuentemente, las células malignas son más sensibles al tratamiento porque proliferan muy rápidamente. Un inconveniente es que el tratamiento también actúa sobre las células sanas, y puede causar efectos secundarios. Por esta razón, es necesario que el tratamiento se administre en forma de ciclos, alternando periodos de descanso con periodos de tratamiento. Antes de volver a empezar el ciclo es necesario que se haga un control de sangre para saber si los niveles de leucocitos y plaquetas están normalizados, y poder volver a empezar el ciclo. Este suele durar de 2 a 3 semanas y se repite durante un periodo de 3 a 6 meses.

Su indicación principal es la afectación ganglionar o si existen factores de mal pronóstico, después de la cirugía. Este tratamiento adyuvante[12] consigue terminar con todas las células malignas que han podido quedar después del primer tratamiento. En los casos de tumores de gran tamaño o de mal pronóstico existe la posibilidad de hacer quimioterapia antes de la cirugía, tratamiento neoadyuvante, que por una parte tiene los mismos resultados que el adyuvante. Por otra parte, tiene dos beneficios: uno es que el tumor reduce su tamaño a causa de los fármacos y su extirpación es más fácil, y, también, el médico es capaz de observar cómo se comporta el tumor ante los ataques de las drogas de la quimioterapia.

3.1. FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Se ha observado que la quimioterapia es más efectiva si se usan combinaciones de fármacos. En España la que más se utiliza es la CMF (combinación de Cyclophosphamide (Cytoxan®), Metotrexate y Fluorouracil (5-FU)). Pero no existe una sola combinación que sea la mejor, ya que se usan fármacos distintos según el paciente, ya que no todos los cánceres de mama son iguales, sino que dependen de su evolución y de su huésped.
La figura 10. muestra una tabla de los fármacos que se usan según el desarrollo tumoral.
En el caso de los fármacos del cáncer de mama avanzado a veces se utiliza un solo fármaco.

Cáncer de mama precoz	Cáncer de mama avanzado
Doxorubicin/Adriamycin®	Docetaxel
Epirubicin/Ellence®	Paclitaxel
Paclitaxel/Taxol®	Platinum agents (cisplatin, carboplatin)
Docetaxel/Taxotere®	Vinorelbine (Navelbine®)
Fluorouracil (5-FU)	Capecitabine (Xeloda®)
Cyclophosphamide (Cytoxan®)	Liposomal doxorubicin (Doxil®)
Carboplatin	Gemcitabine (Gemzar®)
-	Mitoxantrone
-	Ixabepilone (Ixempra®)
-	Albumin-bound paclitaxel (nab-paclitaxel or Abraxane®)
-	Eribulin (Halaven®)

Figura 10. Tabla de los fármacos usados en la quimioterapia [Consulta: 12 octubre 2015]
Datos: http://www.cancer.org/cancer/breastcancer/detailedguide/breast-cancer-treating-chemotherapy

[11] También existe la radioterapia, la cirugía y la hormonoterapia.

[12] Tratamiento adyuvante: es un tratamiento llevado a cabo después de un primer tratamiento con la intención de reducir el riesgo de recidiva del cáncer de mama.

4. TÉ VERDE[13]

El té verde es una infusión que se obtiene de sumergir las hojas de la planta *Camellia sinensis* en agua. Es un elemento muy tradicional en la dieta de China, Japón, India… Hoy en día su consumo se ha universalizado a causa de sus beneficios referentes a la salud. Su composición principal consta de vitamina B y C, teína, teanina (aminoácidos), y polifenoles tipo catequinas. La figura 11. muestra la cantidad que aporta una taza de té verde (400 ml) de sus componentes principales.

Componentes	Cantidad
Vitamina B2	0,05 mg
Vitamina B3	0,2 mg
Vitamina B6	0,01 mg
Vitamina C	6 mg
Teanina	4-6%
Teína	8-10 mg
Catequinas	30-45%

Figura 11. Información nutricional del té verde
Datos: http://www.natursan.net/informacion-nutricional-te/ [Consulta: 19 octubre 2015]

Con el fin de poder llevar a cabo una práctica en el laboratorio y determinar si realmente el té verde influye en la curación del cáncer de mama, debemos analizar cada uno de estos componentes.

4.1. VITAMINA B[14]

La vitamina B es una biomolécula que debe incluirse en la dieta ya que los seres humanos no la podemos sintetizar. El té verde contiene la vitamina B2, B3 Y B6. Respecto la vitamina B2 (riboflavina), su función principal en nuestro organismo es la transferencia de protones en la respiración celular.
La presencia de la vitamina B3 (ácido nicotínico) permite la transferencia de protones en procesos de oxidación, una función muy parecida a la de la vitamina B2.
Por lo que respecta a la vitamina B6 (piridoxina) participa en la transferencia de grupos amino en el metabolismo de los aminoácidos.
Si el ser humano no obtiene suficiente cantidad de la vitamina B puede padecer dermatitis, pelagra (trastornos del aparato digestivo, sistema nerviosa y piel) e inflamación de la lengua.

4.2. VITAMINA C

La vitamina C o ácido ascórbico es necesaria para sintetizar las fibras de colágeno que conforman una gran parte de los tejidos del cuerpo. Debido a causas evolutivas, los seres humanos no pueden sintetizar esta vitamina a causa de una mutación en el gen GLO. Consecuentemente, si no hay un incorporación a la dieta de esta vitamina se puede padecer escorbuto[15].

---

[13] Información proporcionada por la Dra. Anna Ros Vilallonga.

[14] Información de: ALCAMÍ, JOSÉ [et al]. "Metabolismo celular i del ser vivo". En ALCAMÍ, JOSÉ [et al]. *Biología 2.* Madrid: Ediciones SM, 2011, 386 páginas. p.183

[15] Los síntomas del escorbuto son principalmente hemorragias, mala cicatrización, afectación de las encías… Todo relacionado con la falta de colágeno.

4.3. TEÍNA Y TEANINA

La teína[16] es un alcaloide que actúa como droga estimulante y, por tanto, es adictiva. A causa de la teína debemos regular la cantidad de té verde que tomamos al día porque puede ser perjudicial para la salud. Aún así, el té verde es uno de les tés que tiene la concentración de teína más baja.

La teanina es un aminoácido que favorece la estimulación de los fármacos citoestáticos[17] de la quimioterapia mediante su hidrólisis que da lugar a glutamato y etilamina. El glutamato es capaz de llegar al cerebro y estimular los receptores de las células y, consecuentemente, los fármacos son captados más fácilmente por los receptores.

4.4 POLIFENOLES-CATEQUINAS-EGCG[18]

Los polifenoles son compuestos químicos que presentan una estructura molecular con uno o varios anillos fenólicos[19]. Es el componente más abundante en el té verde. Un tipo específico de polifenoles son las catequinas de las cuales las epigalocatequinas galato actúan como anitoxidantes[20] junto a otros tipos.

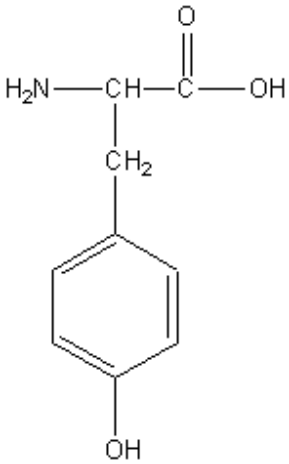
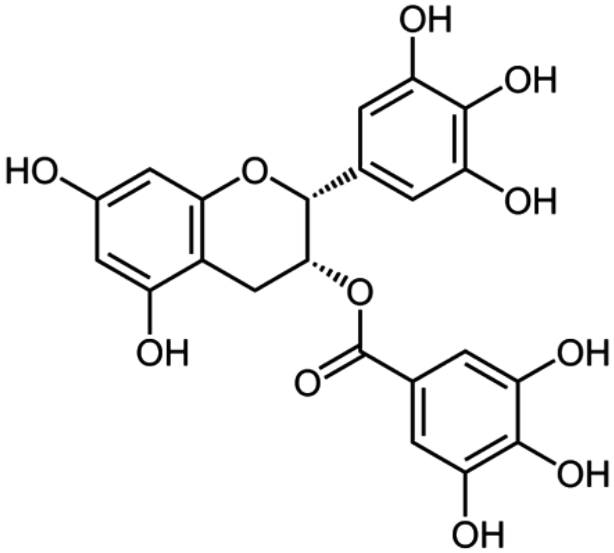


Figura 12. Compuesto fenólico
Fuente:http://enriquezespinoza.blogspot.com.es/2014_06_01_archive.html



Epigalocatequina-3-galato

Figura 13. Estructura de la epigalocatequina galato
Fuente: https://noticiasdeabajo.wordpress.com

---

[16] La teína es un nombre que adopta la cafeína por el hecho que en 1819 se pensó que eran dos sustancias distintas. Por tanto, la cafeína y la teína son la misma sustancia.

[17] Fármacos citoestáticos: Su función es dejar la célula cancerígena en una fase de quiescencia (fase G0 del ciclo celular), es decir, no permite que se reproduzca pero no las mata.

[18] Información de: ESTEBAN, J. *Las catequinas, los antioxidantes por excelencia del té.* [en línea].http://te.innatia.com/c-propiedades-del-te/a-que-son-las-catequinas-del-te-y-que-propiedades-tienen-para-la-salud-2422.html: Innatia, [Consulta: 20 octubre 2015].

[19] Anillos fenólicos: Se trata de un compuesto orgánico formado por un grupo fenol unido a un anillo aromático y un grupo funcional. (Figura 12.)

[20] Antioxidante: Es un compuesto químico capaz de unirse a un radical libre y neutralizarlo.

El cáncer de mama aparece en un medio con cantidades elevadas de radicales libres. Estos compuestos químicos tienen una alta energía de reacción ya que han perdido o ganado un electrón a causa de radiaciones ionizantes capaces de romper enlaces homolíticamente[21]. Si en el cuerpo hay un exceso de radicales libres, estos pueden llegar a dañar el ADN y originar el cáncer. Los radicales libres más importantes y abundantes son los llamados ROS[22].

Las epigalocatequinas galeto (EGCG) actúan como antioxidantes de manera que reaccionan con los radicales libres de oxigeno (ROS) y disminuyen su concentración, hecho que causa que estos componentes sean anticancerígenos y ayuden a prevenir el cáncer de mama. Pero una vez aparece el cáncer de mama las EGCG siguen siendo útiles ya que no permiten que se produzcan más mutaciones ni destrucción de células sanas a causa de los radicales libres. Además, las EGCG son capaces de inhibir las uroquinasas[23] y, consecuentemente, no permiten la angiogénesis, evaden la metástasis y estimulan la muerte celular por falta de oxígeno y nutrientes.

De todos los componentes del té verde observamos que la teanina y las EGCG pueden tener un papel muy importante en la curación del cáncer. Las EGCG conforman un 30-45% del té verde, mientras que la teanina tan solo un 4-6%. Por esta razón procederemos a llevar a cabo un ensayo de citotoxicidad con las EGCG, ya que al tener una proporción mayor tendrán una mejor aplicación si realizan algún efecto sobre el cáncer de mama.

[21] Ruptura homolítica: Es una forma de romper enlaces entre átomos de tal manera que cada átomo resultante tiene sus orbitales semiplenos, ni vacíos ni llenos.

[22] ROS: Es un tipo de radical libre que contiene el elemento oxígeno. Radical libre de oxígeno.

[23] Uroquinasa: Es una enzima de la cual las células cancerígenas dependen para poder proliferar y dar a cabo angiogénesis.

5. ENSAYO DE CITOTOXICIDAD[24]

Esta práctica se utiliza para determinar la citotoxicidad o viabilidad de la EGCG mediante métodos colorimétricos. Antes de poder realizar el ensayo se debe llevar a cabo un subcultivo[25] de células de cáncer de mama (triple negativo) que nos proporcionará la dilución para poder realizar el ensayo. Cuando las células del subcultivo han llevado a cabo un número determinado de pases se transfieren las células, que se encontraban en un 60-70% de confluencia, en la caja de 96 pozos.

Cada pozo debe tener el mismo número de células (2000) y cantidad de medio de cultivo, pero cada columna de pozos tiene una concentración de EGCG distinta. Seguidamente se dejan reponer las células durante 48 horas y, finalmente, se añade la sustancia MTT que será reducida por las células vivas y dará lugar a formazán que tiene un color púrpura. Mediante un espectrofotómetro[26] podemos cuantificar el color y determinar la absorbancia y, consecuentemente, la viabilidad de la EGCG mediante una fórmula:

$$\frac{\textbf{Media aritmética de la absorbancia de pozos con la misma concentración de EGCG}}{\textbf{Media aritmética de la absorbancia del grupo de control}} \; x\ 100$$

5.1. PROCESAMIENTO DE DATOS OBTENIDOS EN EL ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

Los datos mostrados a continuación han sido proporcionados por el grupo de investigación liderado por la Dra. Teresa Puig de la UdG[27] y los he analizado con el fin de extraer una conclusión.

Se ha realizado el ensayo de citotoxicidad tres veces, para minimizar el margen de error y ser más precisos, con un cultivo pn32 y dos de pn33. En los tres casos, el resultado se debe comparar con un grupo control, al cual no se le ha incorporado EGCG, para poder determinar la viabilidad. La variable dependiente del ensayo es la mortalidad de las células del cáncer de mama triple negativo, mientras que la variable independiente es la concentración de EGCG en µM[28]. Por otro lado tenemos la variables controladas como la temperatura que se mantiene constante a los 37,5 ºC. También debemos controlar la concentración de células en cada pozo (2000 células/pozo).

Los resultados del ensayo no serán concluyentes hasta que se comparen con los resultados del ensayo repetido tres veces, es decir, podremos interpretar y extraer conclusiones de las tablas y gráficas de la media aritmética de las tres prácticas.

---

[24] Información proporcionada por Ariadna Sarrats Carbó componente del grupo de investigación de Dra. Teresa Puig (UdG).

[25] La realización de un subcultivo de células es un proceso sencillo. Primeramente debemos cultivar en una placa de Petri células del cáncer de mama y dejarlas dos o tres días juntamente con un medio de cultivo. Después se debe realizar el pase porque sino las células padecerían estrés celular al estar la placa de Petri confluyente. El pase necesita la intervención de una enzima llamada tripsina que permite despegar las células. Seguidamente se realiza una dilución con un número pequeño de células despegadas y se vuelve a iniciar todo el proceso. El número de pases que se realizan en un cultivo celular se denomina pn(número de pases), por ejemplo pn10 (se han realizado 10 pases).

[26] Espectrofotómetro: Es un instrumento que proyecta un haz de luz sobre una muestra y mide la luz absorbida.

[27] UdG: Universidad de Girona.

[28] µM: Unidad que mide la concentración molar en micromoles/litro.

5.1.1. ENSAYO CON EL CULTIVO CELULAR PN32

Grupo control:

µM EGCG	0
Absorbancia	0,864
	0,927
	0,959
	0,947
	1,064
	0,958
Media aritmética	0.953

Figura 14. Valores de la absorbancia en el grupo control pn32 de células de cáncer de mama triple negativo, juntamente con su media aritmética.

Grupo experimental pn32:

µM EGCG	**70**	**90**	**100**	**130**	**150**	**180**	**200**	**250**
Absorbancia	0,795	0,752	0,741	0,672	0,408	0,362	0,243	0,128
	1,012	0,836	0,776	0,683	0,488	0,297	0,162	0,09
	1,002	0,962	0,802	0,764	0,551	0,337	0,182	0,091
Media aritmética	0,936	0,850	0,773	0,706	0,482	0,332	0,196	0,103
% viabilidad	98,234	89,176	81,098	74,104	50,603	34,831	20,528	10,806
% mortalidad	1,766	10,824	18,902	25,896	49,397	65,169	79,472	89,194

Figura 15. Valores de la absorbancia en el grupo experimental pn32 de células de cáncer de mama triple negativo, juntamente con su media aritmética, viabilidad y mortalidad.

Cálculos de la media aritmética, la viabilidad y la mortalidad[29]:

-Media aritmética (70 µM)

$$\frac{\mathbf{0,795 + 1,012 + 1,002}}{\mathbf{3}} = \mathbf{0,936}$$

-Viabilidad (70 µM)

$$\frac{\mathbf{0.936}}{\mathbf{0.953}}\boldsymbol{x}\mathbf{100} = \mathbf{98,234\%}$$

-Mortalidad (70 µM)

$$\mathbf{100 - viabilidad;} \qquad \mathbf{100 - 98,234 = 1,766\%}$$

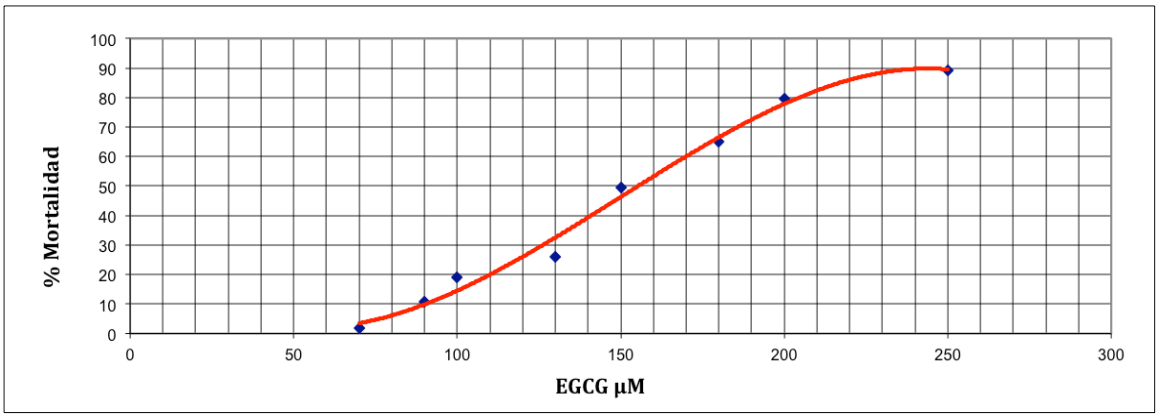


Figura 16. Gráfica que relaciona la mortalidad celular con la concentración de EGCG.

[29] Todos los cálculos son iguales en los tres ensayos, pero cambian los valores.

5.1.2. ENSAYO CON EL CULTIVO CELULAR $PN33_1$

Grupo control:

µM EGCG	**0**
Absorbancia	0,791
	0,821
	0,741
	0,745
	0,85
	0,774
Media aritmética	0,787

Figura 17. Valores de la absorbancia en el grupo control $pn33_1$ de células de cáncer de mama triple negativo, juntamente con su media aritmética.

Grupo experimental $pn33_1$:

µM EGCG	**70**	**80**	**100**	**130**	**160**	**180**	**200**	**250**
Absorbancia	0,534	0,809	0,748	0,683	0,599	0,302	0,204	0,097
	0,705	0,785	0,816	0,55	0,445	0,345	0,213	0,082
	0,576	0,702	0,635	0,558	0,361	0,318	0,203	0,098
Media aritmética	0,605	0,765	0,733	0,597	0,468	0,322	0,207	0,092
% Viabilidad	76,874	97,247	93,139	75,858	59,509	40,873	26,260	11,732
% Mortalidad	23,126	2,753	6,861	24,142	40,491	59,127	73,740	88,268

Figura 18. Valores de la absorbancia en el grupo experimental $pn33_1$ de células de cáncer de mama triple negativo, juntamente con su media aritmética, viabilidad y mortalidad.

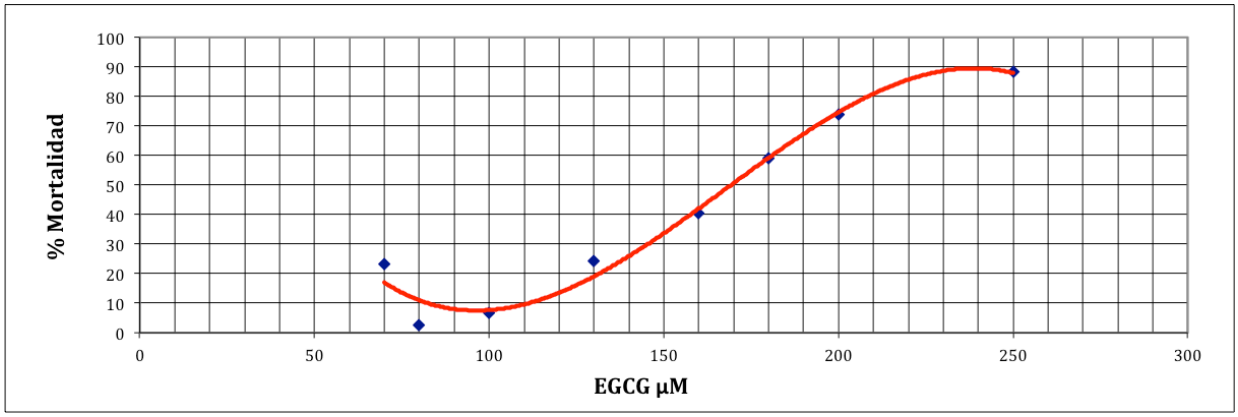


Figura 19. Gráfica que relaciona la mortalidad celular con la concentración de EGCG.

5.1.3. ENSAYO CON EL CULTIVO CELULAR $PN33_2$

Grupo control:

µM EGCG	**0**
Absorbancia	0,706
	0,802
	0,785
	0,686
	0,811
	0,733
Media aritmética	0,754

Figura 20. Valores de la absorbancia del grupo control $pn33_2$ de células de cáncer de mama triple negativo, juntamente con su media aritmética.

Grupo experimental $pn33_2$:

µM EGCG	70	80	100	130	160	180	200	250
Absorbancia	0,442	0,582	0,615	0,415	0,363	0,209	0,153	0,09
	0,728	0,685	0,713	0,567	0,371	0,25	0,179	0,089
	0,709	0,678	0,636	0,475	0,447	0,248	0,165	0,092
Media aritmética	0,626	0,648	0,655	0,486	0,394	0,236	0,166	0,090
% Viabilidad	83,086	86,005	86,845	64,426	52,222	31,262	21,977	11,983
% Mortalidad	16,914	13,995	13,155	35,574	47,778	68,738	78,023	88,017

Figura 21. Valores de la absorbancia en el grupo experimental $pn33_2$ de células de cáncer de mama triple negativo, juntamente con su media aritmética, viabilidad y mortalidad.

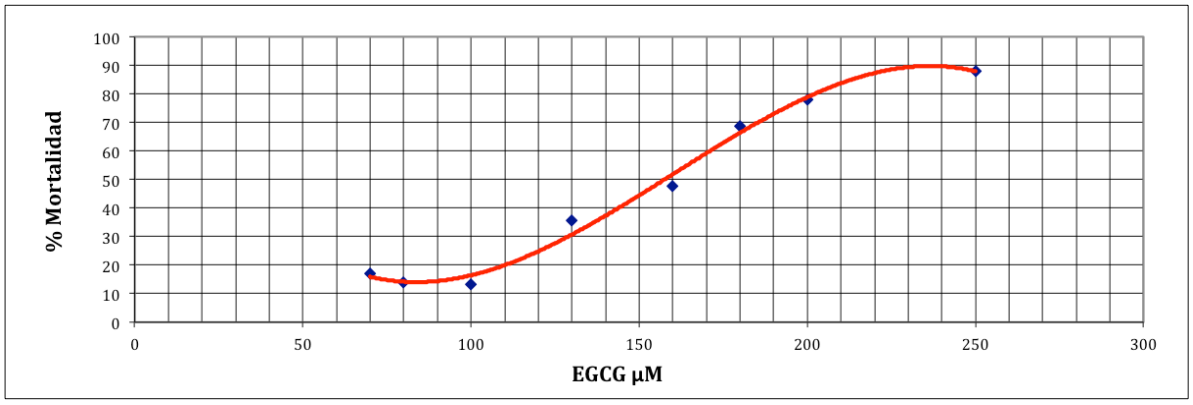


Figura 22. Gráfica que relaciona la mortalidad celular con la concentración de EGCG.

5.1.4. MEDIA ARITMÉTICA DE LOS TRES ENSAYOS

EGCG	70	80	100	130	160	180	200	250
Mortalidad 1	1,77	10,82	18,90	25,90	49,40	65,17	79,47	89,19
Mortalidad 2	23,13	2,75	6,86	24,14	40,49	59,13	73,74	88,21
Mortalidad 3	16,91	14,00	13,16	35,57	47,78	68,74	78,02	88,02
Media aritmética	13,94	9,19	12,97	28,54	45,89	64,34	77,08	88,47

Figura 23. Valores de la mortalidad de los tres ensayos según la concentración de EGCG y su media aritmética.

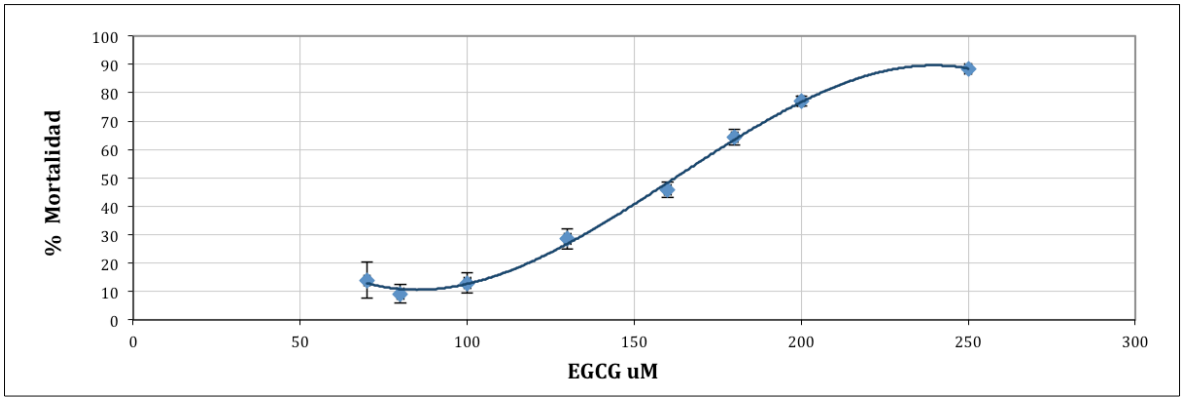


Figura 24. Gráfica que relaciona la media aritmética de la mortalidad celular con la concentración de EGCG.

La figura 24. permite extraer resultados más concluyentes ya que es más preciso al representar las medias aritméticas de los tres ensayos. Los resultados obtenidos permiten relacionar la concentración de EGCG con la mortalidad de las células del cáncer de mama triple negativo y observar si tiene alguna influencia sobre ellas. Se observa un incremento de mortalidad celular debido al aumento de concentración de EGCG, ya que las demás variables controladas como es el caso de la temperatura se mantienen constantes a lo largo de todo el ensayo (37,5ºC). Por esta razón podemos decir que la única variable que influye en la mortalidad de las células cancerígenas es la concentración de EGCG. Inicialmente, cuando la concentración es de 70 µM, se observa una mayor mortalidad que cuando es de 80 µM. Luego va aumentando progresivamente hasta que llega al punto máximo de mortalidad que es de 88% con una concentración de 250 µM. Observando la gráfica podemos obtener la IC50[30] del ensayo de citotoxicidad que es de 160 µM y nos permitirá deducir la cantidad necesaria de EGCG para que tenga algún efecto sobre el cáncer de mama.

[30] IC50: Nos indica la eficacia de un compuesto químico y la concentración necesaria del compuesto para inhibir o estimular el 50% de la proliferación celular.

6. CONCLUSIÓN

Mediante los resultados del ensayo de citotoxicidad podemos decir que el té verde interviene en la curación del cáncer de mama junto a la quimioterapia. Observamos que cuanta más concentración de EGCG más mortalidad hay de las células del cáncer de mama y, por tanto, no proliferan ni provocan metástasis. El hecho de inhibir la proliferación celular, estimula la apoptosis y, consecuentemente, que el cáncer de mama no sea agresivo y, junto los fármacos de la quimioterapia poder llegar a curar el cáncer de mama. Además de las EGCG que tienen un papel muy importante, también debemos tener en cuenta que la teanina, en una proporción mucho inferior, estimula los fármacos de la quimioterapia. Los dos componentes del té verde dan lugar a una situación muy favorable para terminar con el cáncer de mama.

Pero para que el té verde pueda llegar a repercutir de manera rápida y realmente eficaz, se necesitan grandes concentraciones de EGCG. La IC50 encontrada mediante el ensayo de citotoxicidad nos indica que para inhibir el 50% de la proliferación de 2000 células es necesaria una concentración de 160µM de EGCG. Para poder alcanzar el 50% de mortalidad se necesitaría beber mucho té verde, pero eso supondría una ingestión de teína muy elevado que resultaría perjudicial para la salud. Por esta razón no podemos empezar a beber grandes cantidades de té verde, pero es recomendable que las personas con cáncer de mama beban tres tazas de té verde al día (450 mg EGCG) ya que tiene una influencia sobre el cáncer de mama muy pequeña pero la tiene. Es importante destacar que el té verde no reemplaza a la quimioterapia sino que ayuda e interviene juntamente con el tratamiento a curar el cáncer.

Al llevar a cabo esta monografía he observado que a partir del té verde se pueden llevar a cabo otras investigaciones como plantear la creación de comprimidos de EGCG para inhibir la proliferación. Mejorar el efecto del EGCG cambiando su estructura molecular y así conseguir una molécula más eficaz. He comprendido que el mundo de la investigación ha evolucionado mucho pero que aún puede conseguir logros mayores.

BIBLIOGRAFÍA

- ALCAMÍ, JOSÉ [et al]. "Metabolismo celular i del ser vivo". En ALCAMÍ, JOSÉ [et al]. Biología 2. Madrid: Ediciones SM, 2011, 386 páginas. p.183.

- AMERICAN CANCER SOCIETY. *Chemotherapy for breast cancer.* [en línea]. http://www.cancer.org/cancer/breastcancer/detailedguide/breast-cancer-treating-chemotherapy : American cancer society, 25 octubre 2014, 6 de octubre 2015 [Consulta: 12 octubre 2015].

- ARMIJO MORENO, MIGUEL. *El proceso metastásico. II: diseminación tumoral directa, linfática y hemática (1ª parte).* [en línea]. http://actasdermo.org/es/el-proceso-metastasico-ii-diseminacion/articulo/13003498/ : Actas, Junio 1999, [Consulta: 1 setiembre 2015].

- ASOCIACIÓN ESPAÑOLA CONTRA EL CÁNCER. *Incidencia.* [en línea]. https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/CancerMama/Paginas/incidencia.aspx : 2 Septiembre 2014 [Consulta: 14 agosto 2015].

- BREAST CANCER ORGANISATION. *Análisis de inmunohistoquímica (IHQ).* [en línea]. http://www.breastcancer.org/es/sintomas/analisis/tipos/ihq : Breast cancer organisation, 26 marzo 2014, [Consulta: 18 octubre 2015].

- BRUCE, ALBERTS. "Cáncer". En BRUCE, ALBERTS. *Biología molecular de la célula.* Estados Unidos: Omega, 2010, p.1345-1384.

- ESTEBAN, J. *Las catequinas, los antioxidantes por excelencia del té.* [en línea]. http://te.innatia.com/c-propiedades-del-te/a-que-son-las-catequinas-del-te-y-que-propiedades-tienen-para-la-salud-2422.html: Innatia, [Consulta: 20 octubre 2015].

- FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, ODILE. *Mis recetas anticáncer alimentación y vida anticáncer.* Navarra: Ediciones Urano, 2013.

- KOMEN, SUSAN. *Breast Cancer Subtypes.* [en línea]. http://ww5.komen.org/BreastCancer/SubtypesofBreastCancer.html : Komen, 2 mayo 2014, [18 octubre 2015].

- MÜLLER-STERL, WERNER. "Ciclo celular y muerte celular programada". En MÜLLER-STERL, WERNER; [versión española por Josep Joan Centelles Serra]. *Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida.* Barcelona: Reverté, 2008, p.447-457.

- NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. *NCCN Oncology Research Program (ORP).* [en línea]. http://www.nccn.org/clinical_trials/clinicians.aspx : National comprehensive cancer network, [Consulta: 12 octubre 2015].

- PÉREZ, CHRISTIAN. *Informacion nutricional del te.* [en línea]. http://www.natursan.net/informacion-nutricional-te/ : Natursan, [Consulta: 2 octubre 2015]

- QUIÑONES, M, et al. *Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular.* [en línea]. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009 : Consolider ingenio, enero 2012, [Consulta: 19 octubre 2015].

- SCHOLZEN,T. *The Ki-67 protein: from the known and the unknown.* [en línea]. www.pubmed.gov : Pubmed, [Consulta: 18 octubre 2015].