



**EL CÁNCER
DE MAMA
UNA VISIÓ COMPLETA**

**PSEUDÒNIM:
LOS ÀNGELES**

Agraïments

Primer de tot, voldria agrair als meus pares el seu suport incondicional i els seus consells que han contribuït a la realització d'aquest treball. En segon lloc, vull donar les gràcies a tots aquells professionals i centres de recerca que han fet possible l'elaboració de les parts pràctiques. A l'Eduard Valera i el Dr Ruggero Cortini, dos investigadors del Centre de Regulació Genòmica (CRG) que vaig conèixer mitjançant el programa de Joves i Ciència, per ensenyar-me a programar amb Python i van fer possible el desenvolupament del programa informàtic inclòs en aquest treball. A la Dra Catalina Falo, una metgessa de l'Institut d'Oncologia de Catalunya (ICO), per permetre'm assistir a la seva consulta amb pacients afectades de càncer de mama i facilitar-me l'elaboració dels quatre casos clínics. Clar està, també vull donar les gràcies a les pròpies pacients que van dipositar la seva confiança en mi en oferir-me els seus casos. A la Dra Bárbara Blanco, una investigadora de l'Institut de Bioenginyeria de Barcelona (IBEC) a qui vaig tenir accés mitjançant el programa Bojos per la Bioenginyeria, per oferir-me l'oportunitat de dur a terme les pràctiques dels cultius de cèl·lules en el seu laboratori i amb la seva ajuda. Per acabar, vull agrair al meu tutor del treball haver-me guiat i aconsellat durant tot el desenvolupament del treball per tal d'obtenir el millor resultat possible.

Índex

1.	Introducció.....	5
1.1.	Motivacions.....	5
1.2.	Hipòtesis.....	6
1.3.	Objectius.....	10
2.	Marc teòric.....	11
2.1.	Cronologia i dades del càncer.....	12
2.2.	Tipus de càncers i característiques generals.....	13
2.3.	El càncer de mama.....	18
2.3.1.	Epidemiologia del càncer de mama.....	18
2.3.2.	Carcinogènesi i desenvolupament del tumor.....	24
2.3.3.	Estadificació i tipus de càncer de mama.....	34
2.3.4.	Diagnòstic i símptomes del càncer de mama.....	42
2.3.5.	Tractaments més comuns contra el càncer de mama.....	46
3.	Material i mètodes.....	57
3.1.	Enquesta sobre el coneixement i la incidència del càncer de mama.....	57
3.1.1.	Part 1: com d'informats estem sobre el càncer de mama?.....	57
3.1.2.	Part 2: experiència personal amb el càncer de mama.....	60
3.2.	Programa per a la diferenciació de cèl·lules benignes i cèl·lules malignes del càncer de mama.....	61
3.2.1.	Possibles classificadors.....	65
3.3.	Anàlisi de quatre casos clínics de càncer de mama.....	66
3.3.1.	Cas 1: Isabel, 73 anys.....	67
3.3.2.	Cas 2: Carmen, 56 anys.....	70
3.3.3.	Cas 3: Inés, 60 anys.....	72
3.3.4.	Cas 4: Àngela, 62 anys.....	75
3.4.	Estudi de la configuració de cèl·lules tumorals en ambients 3D.....	78
3.4.1.	Hidrogels per al cultiu 3D de cèl·lules tumorals de mama.....	78
3.4.2.	Preparació de les cèl·lules, el medi de cultiu i la solució Pre-Gel per encapsular en l'hidrogel pel cultiu 3D.....	80
3.4.3.	Tincions i tractament amb fàrmacs.....	84
3.4.4.	LDH del sobrenedant.....	89

4.	Resultats i discussió.....	91
4.1.	Resultats de l'enquesta.....	91
4.1.1.	Resultats de la part 1.....	91
4.1.2.	Resultats de la part 2.....	98
4.1.3.	Conclusions sobre el coneixement i la incidència del càncer de mama.....	103
4.2.	Resultat del programa informàtic.....	104
4.2.1.	Eficàcia i taxa d'encert del programa.....	105
4.2.2.	Valoració dels classificadors.....	106
4.2.3.	Conclusions sobre l'eficàcia i aplicacions del programa.....	109
4.3.	Resultats de la comparació dels casos clínics amb el protocol elaborat en el marc teòric.....	110
4.3.1.	Conclusions de la comparació.....	112
4.4.	Resultats de l'estudi de les cèl·lules tumorals en ambients 3D.....	113
4.4.1.	Configuració en 3D de les cèl·lules tumorals.....	114
4.4.2.	Eficàcia dels fàrmacs en ambients 2D i 3D.....	115
4.4.3.	Conclusions sobre l'estudi de la configuració de cèl·lules tumorals en ambients 3D.....	120
5.	Conclusions.....	121
6.	Referències.....	123
6.1.	Bibliografia.....	123
6.2.	Webgrafia.....	124
7.	Annexos.....	127
7.1.	Programa informàtic dissenyat.....	127
7.2.	Instruccions per l'ús de Biogelx™ en pols.....	130
7.3.	Descripció de les cèl·lules tumorals de càncer de mama MCF-7...	132
7.4.	Glossari terminològic.....	135

1. Introducció

1.1. Motivacions

En un bon principi, no era la meva intenció escriure un treball de recerca sobre el càncer de mama, sinó que contemplava altres opcions que, en el moment, em semblaven interessants. Tanmateix, tenia la intenció de dur a terme una part experimental amb la qual pogués confirmar o desmentir una hipòtesi formulada anteriorment, és a dir, volia produir un treball seguint el mètode científic. A més, a poder ser, volia que la temàtica del meu treball de recerca estès relacionada amb la biologia, però que també tractés els camps de la química i les matemàtiques, encara que només fos superficialment.

Em trobava en una situació en la qual el treball que em plantejava no tenia part pràctica possible, quan el projecte de Bojos per la Bioenginyeria, en el qual participo, em va oferir certes opcions de pràctiques de laboratori amb l'objectiu de fer un treball de recerca. Com és evident, vaig decidir inscriure'm en aquelles opcions que em van semblar interessants i que m'anaven bé de dates, i vaig acabar rebent una pràctica sobre la formació d'hidrogels pel cultiu 3D de cèl·lules tumorals de càncer de mama. Així, amb una part pràctica del meu gust ben definida, vaig decidir centrar-me en el càncer de mama per desenvolupar el marc teòric del treball, ja que em semblava un tema de gran importància i alhora molt actual. Un cop ja havia decidit i anunciat el tema definitiu del meu treball de recerca, una companya de classe em va oferir l'ajuda de la seva mare per dur-lo a terme, la qual exerceix la professió d'oncòloga a l'Institut Català d'Oncologia (ICO) i està especialitzada en el càncer de mama. Així va ser com vam acordar que podria assistir a la seva consulta dos dies per tal de visitar pacients i conèixer els seus casos clínics de primera mà. D'aquesta manera, la part pràctica del meu treball es va expandir de l'estudi de les cèl·lules tumorals de càncer de mama, a l'estudi del procés de diagnòstic i tractament del propi càncer de mama. Per tot això, vaig considerar que seria interessant tractar el conjunt de tots els aspectes del càncer de mama per tal de relacionar millor les diferents parts del treball i poder-ne fer una revisió completa. Per tant, vaig dissenyar una enquesta orientada a la incidència del càncer de mama, de manera que així el meu treball cobrés també aquest aspecte. Així, un cop vaig tenir decidides totes les

parts pràctiques del meu treball, que jo ja considerava suficientment complet, vaig tenir la meravellosa sort que se'm va presentar una altra oportunitat única. En el moment, jo estava realitzant una estada al Centre de Regulació Genòmica a partir del programa Joves i Ciència, la qual tractava la bioinformàtica, la programació i l'anàlisi de dades, quan vaig tenir la idea d'aplicar un tipus de programa en el que havia estat treballant al càncer de mama. Així, amb l'assessorament dels investigadors responsables del projecte, vaig poder desenvolupar el programa informàtic que presento en aquest treball, que és capaç de discernir les cèl·lules benignes de la mama de les cèl·lules malignes del càncer de mama.

D'aquesta manera, ja tenia una part pràctica molt completa i que tractava el càncer de mama des de molts punts de vista diferents, oferint una visió més completa de la malaltia, especialment del seu diagnòstic i del seu tractament. En conseqüència, el marc teòric que introdueix el context en el qual es mou la part pràctica del treball havia de tractar també els aspectes més importants del càncer de mama. En conjunt, seria prou encertat afirmar que la temàtica d'aquest treball ha estat decidida en part per l'atzar i en part per la voluntat de voler tractar tants aspectes com fos possible del càncer de mama, per tal d'obtenir un resultat tan complet com pogués.

1.2. Hipòtesis

Aquest treball aspira a revisar de forma completa i extensa tants aspectes del càncer de mama com sigui possible, i, per tant, consta d'una part pràctica també molt àmplia i amb diferents aspectes. Per tant, s'ha considerat necessari fer una hipòtesi general per tot el treball en conjunt, i fer quatre hipòtesis secundàries, cadascuna a partir d'un fragment diferent de les parts pràctiques.

En primer lloc, a partir dels resultats de la enquesta, per una banda, s'aspira a determinar el coneixement real dels enquestats sobre el càncer i el càncer de mama per tal de contrastar-lo amb el coneixement que ells mateixos afirmen tenir. A més, en el cas que els enquestats considerin que es troben en estat de desinformació respecte el càncer de mama, es demana una valoració de certes propostes que s'haurien de millorar per tal de promoure la divulgació científica d'aquest tema. Per altra banda, l'enquesta també aspira a establir unes certes estadístiques a partir de

les dades proporcionades pels enquestats, de manera que es puguin comparar amb les dades oficials d'Espanya i dels Estats Units. Per tant, la hipòtesi proposada per aquesta secció és la següent:

“Els individus de l’ambient en el qual ha circulat l’enquesta no saben tant del càncer i del càncer de mama com afirmen saber, cosa que provoca que en aquest ambient la incidència i la mortalitat del càncer de mama siguin més elevades que a l’ambient mitjà espanyol i estatunidenc.”

Aquesta hipòtesi comprèn tots els objectius de les diverses preguntes de l’enquesta en una sola afirmació amb una relació de conseqüència-cause. Es planteja que la desinformació dels individus enquestats sigui la causa de l’augment en incidència i mortalitat, ja que provoca una detecció dels càncers de mama més tardana i, per tant, menys eficaç.

La segona part pràctica que dona lloc a una hipòtesi és un programa informàtic d’un tipus d’Intel·ligència Artificial que és capaç de diferenciar amb bastanta certesa cèl·lules benignes de la mama de cèl·lules malignes de càncer de mama a partir de certes característiques de la seva morfologia. Aquest programa dona lloc a uns gràfics formats a partir de classificadors que separen les cèl·lules benignes de les malignes mitjançant diferents mètodes que apliquen els paràmetres donats de diferents maneres. Per tant, l’objectiu d’aquest fragment de la part pràctica és poder determinar quin classificador és el més adequat en aquest cas, analitzar el seu rendiment i la seva certesa, i, fins i tot, especular si aquest mètode podria tenir una aplicació en el diagnòstic del càncer de mama. Per tot això, la hipòtesi descrita per aquesta secció de la part pràctica és la següent:

“El programa dissenyat té una taxa d’encert per sobre del 90% i, dels classificadors que utilitza, el LDA és el més precís per discernir les cèl·lules benignes de la mama de les cèl·lules malignes, de manera que en un futur proper es podria utilitzar com a mètode de diagnòstic del càncer de mama.”

Aquesta hipòtesi agrupa els diversos objectius d’aquest fragment de la part pràctica i fins i tot proposa el propi programa com un producte aplicable a la medicina actual.

La tercera hipòtesi surt de la secció de la part pràctica de caire més mèdic, en què es descriuen amb precisió els casos clínics de quatre pacients amb diferents tipus de càncers de mama. Aquests casos clínics inclouen la història oncològica sencera de la pacient en qüestió des del debut del seu càncer fins a l'actualitat i la valoració de l'autor i de la Dra Faló, l'oncòloga responsable de les consultes, a partir d'un examen físic de la pacient i de la seva pròpia descripció dels seus símptomes. D'aquesta manera, es pot comparar el procediment seguit per la Dra Faló i els altres experts responsables dels casos amb el procediment estandarditzat en el marc teòric a partir de la recerca bibliogràfica. En conjunt, aquests objectius resulten en la hipòtesi descrita a continuació:

“Els casos clínics descrits segueixen meticulosament el protocol estandarditzat elaborat en el treball per a cada tipus de càncer, tant al principi del diagnòstic com en estadis més tardans, i, per tant, pot elaborar-se un model absolut per a tots els casos.”

La hipòtesi descrita comprèn els diferents objectius proposats per a aquesta secció de la part pràctica i dona lloc a una comparació bastant completa del protocol teòric amb el protocol seguit a la pràctica.

Per acabar, l'última hipòtesi està formulada a partir d'una secció de la part pràctica que consisteix en uns cultius cel·lulars amb tècniques 2D i tècniques 3D per mesurar les diferències entre aquests dos ambients. Els hidrogels pel cultiu 3D de cèl·lules tumorals de mama estan dissenyats per mimetitzar les condicions del microambient tumoral per tal de facilitar l'estudi dels tumors de mama. Per fer això, aquesta part pràctica conté diverses tincions per observació sota microscopi, que permeten veure les diferències entre un ambient 2D i un ambient 3D. A més, les pràctiques inclouen l'administració d'un medicament quimioterapèutic a les cèl·lules en diferents concentracions i en els dos ambients diferents, per veure si l'acció del fàrmac és diferent en un medi de cultiu 2D i en un medi de cultiu 3D que simuli les condicions d'un tumor en el cos humà. Per tant, la hipòtesi formulada per a aquesta part pràctica és la següent:

“La configuració de les cèl·lules en un cultiu 2D i en un hidrogel 3D és diferent, de manera que els fàrmacs quimioterapèutics que en cultius 2D són capaços d’eliminar gran part de les cèl·lules tumorals, en microambients 3D similars als que es formen en el cos humà tenen una eficiència menor.”

D’aquesta manera, la hipòtesi formulada comprèn la comparació d’ambients 2D i 3D i la seva relació amb el microambient format naturalment en el cos humà, així que presenta els avantatges i les carències de les tècniques de recerca actuals contra el càncer de mama.

En conjunt, totes aquestes parts pràctiques i les seves hipòtesis corresponents aporten informació sobre un aspecte diferent del càncer de mama i com es podria guanyar eficiència en la seva execució. L’enquesta està orientada, en certa manera, a conèixer els pacients potencials del càncer de mama i a conscienciar-los per tal d’aconseguir un diagnòstic més ràpid i eficient. El programa informàtic té com a objectiu optimitzar el procés de diagnòstic del càncer de mama amb cèl·lules obtingudes mitjançant biòpsia. D’aquesta manera es podria automatitzar el procediment i reduir el nombre d’experts que, d’altra manera, s’haurien de dedicar a analitzar les cèl·lules. L’estudi dels casos clínics aspira a ser utilitzat per elaborar un model que determini el tractament adequat en cada cas concret, la qual cosa també eliminaria la necessitat de tenir tants experts treballant en elaborar un procediment personalitzat per a cada pacient. Finalment, les pràctiques de cultius cel·lulars en diferents ambients obren el camí al desenvolupament de medicaments més eficaços contra el càncer de mama, de manera que podria augmentar significativament la seva supervivència mitja. A més, tota la part pràctica està en concordança amb el marc teòric, que revisa i explica detalladament tots els aspectes importants del càncer de mama, de manera que fa possible un enteniment molt més complet de les explicacions pràctiques. Tot aquest conjunt de parts teòriques i pràctiques tenen un objectiu comú, el qual s’expressa a la hipòtesi descrita a continuació:

“És altament probable que en un futur proper s’optimitzi el procés de diagnòstic i tractament del càncer de mama a partir de la millora de certs aspectes i de l’automatització de certs processos.”

Aquesta hipòtesi aconsegueix formar un conjunt en el qual participen les hipòtesis de totes les diferents parts pràctiques de manera activa i trobar un objectiu comú per a totes. És més, la verificació o negació d'aquesta hipòtesi dependrà en gran part de la verificació o negació de cadascuna de les altres hipòtesis. Per acabar, també cal destacar la majoria de parts pràctiques, com el cultiu de cèl·lules en 2D i 3D, l'enquesta o el programa informàtic, no només són aplicables al càncer de mama sinó també als diferents tipus de càncer en general.

1.3. Objectius

Com s'ha pogut observar a l'apartat anterior mitjançant les hipòtesis plantejades, l'objectiu principal d'aquest treball és dur a terme una revisió completa del càncer de mama per tal d'optimitzar el seu procés de diagnòstic i de tractament. Per fer això, és necessari poder confirmar o negar les quatre hipòtesis que tracten una part pràctica concreta, la qual cosa constitueix un altre objectiu del treball: utilitzar el mètode científic i el raonament lògic per extreure conclusions vàlides que recolzin o contradiguin les hipòtesis mencionades. A més a més, un altre objectiu d'aquest treball és conèixer diferents camps d'estudi que es tracten en el treball, com són la biomedicina, la medicina, l'estadística i la informàtica. Aquest coneixement de diferents camps d'estudi m'ajudarà a prendre la decisió conscient a l'hora de decidir quin grau universitari estudiar. Finalment, aquest treball també contempla com a objectiu la producció d'un marc teòric complert i esclaridor. Per tal de facilitar l'enteniment tant d'aquest marc teòric com de les parts pràctiques, el treball compta amb diversos peus de pàgina i un glossari terminològic (al final dels annexos), en el qual s'inclouen totes els termes de vocabulari específic considerats complicats, marcats en el text en cursiva. No obstant, és important tenir en compte que poden aparèixer certes expressions en cursiva, com *in vivo* o *in situ*, que s'escriuen així perquè són en llatí, i no estan incloses al glossari.

2. Marc teòric

Una de les preocupacions capitals de la societat actual és la salut, que permet arribar a un estat de benestar en el qual els individus porten una vida individual, social i econòmicament productiva. En països relativament subdesenvolupats o en vies de desenvolupament, la cura de la salut passa, en primer lloc, per mantenir-se hidratats i mínimament ben alimentats. En canvi, en països desenvolupats, com que l'alimentació adequada no és un bé escàs, la preocupació principal ha estat monopolitzada per les malalties de tots els tipus. Una malaltia és una alteració de l'estat d'un organisme o d'algun òrgan que dificulta les seves funcions vitals, fins i tot, podent resultar en la mort. Des de les malalties agudes que només ens provoquen un lleuger maldecap fins a les malalties cròniques que ens poden causar la mort, els humans estan decidits a combatre-les. Això es pot veure clarament en l'ingent nombre de centres d'investigació que estudien diverses malalties arreu del món. No obstant, per sobre de totes les infeccions, malalties hereditàries i malformacions, unes certes malalties destaquen per la seva incidència i mortalitat: els càncers. La definició bàsica de càncer descriu aquest mot com el conjunt de malalties en les quals es produeix un creixement descontrolat d'algunes cèl·lules de l'organisme. Per tant, el càncer com a tal no és una sola malaltia sinó que és el conjunt de diverses malalties que, tot i tenir una naturalesa semblant, poden actuar de maneres molt diverses i en qualsevol part del cos. D'aquesta manera, és impossible englobar les característiques de tots els tipus de càncer en una sola explicació, motiu pel qual en aquest treball en més d'una ocasió s'especifiquen característiques, efectes i tractaments de tipus concrets de càncers, enlloc de referir-se al càncer com un conjunt. Més enllà, cada tipus de càncer encara es divideix en subtipus de càncer que afecten diferents parts de l'òrgan en qüestió, o que ho fan de maneres diferents. Generalment, la majoria dels càncers apareix en forma de tumor, una massa de cèl·lules amb alteracions que proliferen de manera descontrolada. En el cas que el tumor no envaeixi altres teixits i no presenti alteracions significatives a les cèl·lules, s'anomena tumor benigne i no és cancerós. En canvi, si el tumor és invasiu i presenta alteracions evidents en la morfologia de les seves cèl·lules, s'anomena tumor maligne, és cancerós i pot posar en perill la vida de l'individu. En concret, aquest treball es centra en l'estudi del càncer de mama, és a dir, en tot el procés de creixement, diagnòstic i tractament d'un tumor

maligne situat a la mama. És per això que la gran majoria del marc teòric es centra en els diversos aspectes del càncer de mama, ja que per poder-lo entendre és necessari veure'l des de tants punts de vista com sigui possible. També és per això que les explicacions del marc teòric comencen amb la descripció de certs aspectes del càncer en general.

2.1. Cronologia i dades del càncer

Les primeres referències al càncer (FAYED, Lisa. MANDAL, Ananya) han estat trobades en el papir de Edwin Smith, uns pergamins que formen part d'un antic llibre egipci sobre cirurgia i que, segons diferents fonts, podrien datar d'entre el 1500 a.c i el 3000 a.c. Aquests pergamins contenen informació sobre vuit casos de tumors de pit que van ser tractats amb una tècnica de cauterització similar a la cirurgia actual anomenada "el trepant de foc". No obstant això, el mot càncer i la seva definició no van ser concretats fins a un mil·lenni després, a l'Antiga Grècia. Primerament, Hipòcrates (460-370 a.c), un reputat metge grec, va denominar els tumors amb el mot "karkinos", cosa que es traduiria com a carcí o carcinoma. No va ser fins a uns segles després quan Celsus (50-28 a.c), un metge romà, va traduir aquest terme grec a càncer, la seva paraula corresponent en llatí. Finalment, Galen (130-200 d.c) va utilitzar la paraula grega "oncos", que significa inflar-se, per denominar els tumors. Podem reconèixer aquesta arrel grega en mots com oncologia, oncòleg, oncòloga i oncogèn.

Durant l'Edat Mitjana, la societat va patir un enorme retrocés, de manera que les teories antigues sobre el càncer es van mantenir durant més d'un mil·lenni més. El següent avenç en aquesta matèria va ser una conseqüència de la invenció de l'autòpsia: el 1628 William Harvey va introduir la pràctica d'obrir cadàvers humans, el que va desembocar en una gran ampliació en el coneixement de l'anatomia i la fisiologia humanes, i sobretot de com el cos humà processa les malalties. El 1761 Joan Morgagni de Pàdua va establir l'autòpsia com una pràctica regular per determinar la causa de mort d'un individu, cosa que va incrementar l'estudi de malalties i dolències físiques, entre elles el càncer. A partir d'aquest moment, tant la medicina com la tecnologia van començar a créixer de manera exponencial, i, per tant, també ho va fer l'estudi del càncer. Van desenvolupar-se noves teories sobre

la seva causa, es va entendre molt millor el seu funcionament i van produir-se nous fàrmacs i tractaments, com s'explica en els següents apartats. El 1838, es va descriure que el teixit cancerós estava conformat per cèl·lules amb la morfologia alterada, i va descriure's la seva causa com a lesions cel·lulars. A partir d'aquí, per ajudar a assolir l'objectiu de curar i, fins i tot, prevenir el càncer i totes les seves variants van sorgir centres de recerca a tot el món, com el Institut Nacional de Càncer (1937), centre de recerca capdavanter contra el càncer, o el Vall d'Hebron Institut d'Oncologia, situat a la pròpia Barcelona. No és estrany que existeixin tants centres de recerca que tinguin com a prioritat la investigació contra els càncers, ja que són les malalties que més persones afecten. Es calcula que l'any 2018, a Espanya es van diagnosticar 18,1 milions de nous casos de càncer, i que aproximadament el 38,4% de les persones reben aquest mateix diagnòstic en algun moment de la seva vida (WCRF). Tanmateix, no seria correcte pensar que els càncers tenen una gran incidència a l'actualitat perquè han començat a aparèixer ara i que abans no existien, sinó que el més probable és que ja existissin prèviament (com s'explica en aquest mateix apartat), però la majoria de gent no vivia suficient temps per desenvolupar-los i la medicina no estava suficientment desenvolupada per reconèixer-los.

2.2. Tipus de càncers i característiques generals

En aquest apartat es mostren les dues classificacions més comunes en les quals es separen els tipus de càncer i tumors: una segons l'òrgan o teixit del cos on s'origina el càncer i l'altra segons el tipus de cèl·lula que forma el càncer.

Primer, seguint la primera classificació, es resumeixen els tretze tipus de càncer més comuns, ordenats segons la seva incidència en la població de manera decreixent (Taula 1). En la classificació s'inclouen només aquells càncers que representen més d'un 2,5% del total de càncers que afecten a la població, que en total sumen el 75,3% dels càncers, és a dir, més de $\frac{3}{4}$ parts del total. En total, segons aquesta classificació, existeixen 191 tipus de càncer, si es tenen en compte tots aquells càncers poc freqüents i poc coneguts, però no els seus subtipus. A més, cada tipus de càncer va acompanyat de certes característiques com el percentatge que representen, els seus factors de risc o els seus símptomes més habituals.

Tanmateix, és necessari mencionar que no s'inclouen els càncers de pell no melanomes com un sol tipus de càncer, ja que es consideren tipus de càncers massa diversos. No obstant, si es consideressin els càncers de pell conjuntament, ocuparien una posició molt elevada a la taula.

En el cas del percentatge que representa cada càncer, també s'indica quins són els tres càncers amb més incidència en homes i en dones per separat, per tal d'evidenciar aquesta diferència com un factor de risc. En relació a la incidència en la població, les dades proveïdes fan referència al conjunt de tots els països del món,

Taula 1. Classificació dels càncers més comuns segons l'òrgan o teixit que afecten.

- 1) **Factors de risc**^a: a) Més freqüent en homes. b) Més freqüent en dones. c) Més freqüent en certes ètnies. d) Més freqüent en certs grups sanguinis. e) Més freqüent a edats avançades. f) Susceptibilitat genètica (gens i mutacions heretades). g) Antecedents familiars. h) Història personal amb el càncer. i) Tabaquisme. j) Alcoholisme. k) Sedentarisme. l) Sobrepès i obesitat. m) Certes dietes. n) Contaminació ambiental. o) Exposició a certes substàncies químiques. p) Exposició a radiacions. q) Danys o irritacions en algun òrgan. r) Certes anomalies hormonals. s) Certes malalties o infeccions. t) Implants i operacions prèvies. u) Certs tractaments, medicines o suplementos.
- 2) **Síntomes més habituals**: a) Pèrdua de pes. b) Pèrdua de la gana. c) Debilitat i fatiga. d) Nàusees i vòmits. e) Febre i suors. f) Dolors (principalment, pectorals, abdominals o ossis). g) Inflamacions localitzades i altres anomalies a la pell. h) Tos, ronquera, disfonia o sibilància. i) Esputs sanguinolents i afectacions a l'hora de respirar. j) Episodis de bronquitis i pneumònia. k) Coàguls a la sang. l) Diabetis. m) Convulsions. n) Canvis en els hàbits intestinals. o) Indigestió, sensació de plenitud o ardor d'estómac. p) Sagnats rectals, vaginals, a l'orina o al semen. q) Disfunció erèctil, incontinència o problemes a l'hora d'orinar. r) Anèmia. s) *Icterícia*.
- 3) **Tractaments més comuns**: a) Cirurgia. b) Radioteràpia. c) Quimioteràpia. d) Hormonoteràpia. e) Immunoteràpia. f) Fàrmacs dirigits. g) Trasplantament de cèl·lules mare. h) Tractament amb vacunes. i) *Crioteràpia*. j) *Ablació i embolització*. k) *Tractaments endoscòpics*. l) *Radioiode*. m) *Teràpia intravesical*.

^a Inclou tant aquells factors de risc que es poden canviar i millorar com aquells contra els quals no es pot fer res.

^b Es pressuposa que tots els càncers poden ser letals, en major o menor mesura. No obstant, la seva letalitat no es considera un símptoma.

Taula de creació pròpia.

Tipus de càncer	Percentatge dels càncers	Nombre de diagnòstics el 2018	Supervivència 5 anys després del diagnòstic	Factors de risc (1)	Síntomes més habituals (2)	Tractaments més comuns (3)
Càncer de pulmó	12,3% (1r en homes i 3r en dones)	2.093.876	19%	a), e), f), i), j), k), n), o)	a), c), f), h), i), j)	a), b), c), f)
Càncer de mama	12,3% (1r en dones)	2.088.849	gairebé 90%	b), c), e), f), g), h), j), k), l), o), p), r), s), t), u)	a), c), f), g), p)	a), b), c), d), f)
Càncer colorectal	10,6% (3r en homes i 2n en dones)	1.800.977	65%	a), c), e), f), i), j), k), l), m), q), s)	a), c), f), n), p)	a), b), c), e), f), j)
Càncer de pròstata	7,5% (2n en homes)	1.276.106	98%	c), e), f), s)	f), n), p), q)	a), b), c), d), h), i)
Càncer d'estómac	6,1%	1.033.701	31%	a), c), d), e), f), g), i), l), m), s), t)	a), b), d), f), g), o), p), r)	a), b), c), e), f)
Càncer de fetge i del conducte biliar intrahepàtic	5,0%	841.080	18%	a), c), f), i), j), l), o), q), s)	a), b), d), f), g), o), s)	a), b), c), e), f), j)
Càncer d'esòfag	3,4%	572.034	19%	a), e), h), i), j), l), m), o), q), s)	a), c), d), f), h), p), r)	a), b), c), e), f), k)
Càncer cervical (cèrvix uterí)	3,3%	569.847	67%	g), i), l), m), o), r), s), u)	f), p)	a), b), c), e), f)
Càncer de la glàndula tiroides	3,3%	576.233	98%	b), g), h), m), p), s)	f), g), h), i)	a), b), c), d), f), l)
Càncer de bufeta	3,2%	549.393	77%	a), c), e), g), h), i), o), q), s), u)	a), b), f), g), p), q)	a), b), c), e), f), m)
Limfoma No Hodgkin (NHL)	3,0%	509.590	71%	a), c), e), g), l), m), o), p), s), t)	a), c), e), f), g), h), i), o)	a), b), c), e), f), g)
Càncer de pàncrees	2,7%	458.918	8%	a), e), f), i), l), o), s)	a), d), f), g), k), l), s)	a), b), c), e)
Leucèmia	2,6%	437.033	90% (aguda) o 60-80% (crònica)	f), g), i), j), l), o), p), s), u)	a), c), d), e), f), g), h), i), m)	a), b), c), e), f), g)

mentre que, en relació a la supervivència cinc anys després del diagnòstic, les dades fan referència únicament a la població dels Estats Units d'Amèrica (en percentatge). Les dades de la supervivència cinc anys després del diagnòstic s'han recollit en aquest país en concret perquè d'aquesta manera es pot observar fins a quin punt es poden tractar aquestes malalties en un país desenvolupat i capdavanter en diverses disciplines científiques, és a dir, amb totes les tècniques i materials disponibles actualment. A més, la gran quantitat de població que concentren els Estats Units d'Amèrica, tot i ser un país desenvolupat, permeten que els percentatges siguin més precisos que en altres països desenvolupats amb menys població. Finalment, en el cas dels factors de risc, dels símptomes i dels tractaments establerts per a cada càncer, només s'indiquen aquells que són més comuns i que s'ha de tenir més en compte.

A continuació es mostra la segona classificació dels tipus de tumors¹, que, com ja s'ha mencionat, els separa segons el tipus de cèl·lula que els origina, és a dir, segons el seu tipus histològic (SANITAS).

- **Carcinoma:** tipus de càncer que s'inicia en un conjunt de cèl·lules pertanyents a la pell o a un teixit epitelial. En el cas que aquestes cèl·lules no es disseminin als teixits veïns sans, el tumor s'anomena carcinoma *in situ*, i és molt fàcil de retirar mitjançant cirurgia. Tanmateix, és possible que el tumor es dissemini a altres teixits i formi un carcinoma d'un altre tipus. Un dels tipus més comuns de carcinomes són els adenocarcinomes, els quals afecten a zones de l'epiteli d'òrgans amb funció secretora.
- **Sarcoma:** tipus de càncer que s'inicia a l'os o a teixits tous del cos, com el cartílag, els vasos sanguinis, el teixit adipós, el múscul, el teixit fibrós o altres teixits connectius. Els subtipus dels sarcomes s'anomenen amb el prefix del teixit concret on s'originen, per exemple, un osteosarcoma s'origina a l'os i un liposarcoma s'origina al teixit adipós (greix).
- **Leucèmia:** tipus de càncer que comença al teixit on es genera la sang, és a dir, la medul·la òssia i que produeix una quantitat excessiva de glòbuls, tant

¹ Aquesta classificació diferencia tipus de tumors, i no de càncers, ja que alguns dels tipus poden resultar ser simplement tumors benignes i, per tant, no cancerosos (són els assenyalats com a tumors).

blancs com vermells. Depenent de si afecta eritròcits (glòbuls vermells) o leucòcits (glòbuls blancs i els seus subtipus), i del seu temps d'actuació, es classifiquen els diferents tipus de leucèmia.

- **Limfoma:** tipus de càncer que comença a les cèl·lules del sistema immunitari i que es divideix en dos grans tipus: els limfomes Hodgkin i els limfomes no Hodgkin. Els primers afecten a un tipus cel·lular molt concret anomenat Reed-Sternberg i els segons afecten a qualsevol altre tipus de cèl·lula del sistema immunitari. Per tant, els limfomes no Hodgkin encara es poden classificar en més subtipus segons la cèl·lula en concret que els origina i segons el seu temps d'actuació.
- **Mieloma múltiple:** tipus de càncer que s'inicia a les cèl·lules plasmàtiques, un tipus de leucòcits que produeixen *anticossos* (immunoglobulina).
- **Melanoma:** tipus de càncer que sorgeix a els melanòcits, tipus de cèl·lula que produeix el pigment melanina. El tipus més comú de melanoma és el de la pell, però també pot afectar altres teixits pigmentats, com l'ull o l'intestí.
- **Tumors en el sistema nerviós central:** tipus de tumor que afecta a les cèl·lules del cervell o de la medul·la espinal, i que, per tant poden tenir un gran efecte en les funcions cognitives o motrius.
- **Tumors a les cèl·lules germinals:** tipus de tumor poc comú que, com el seu nom indica, afecta les cèl·lules germinals, les quals només es troben en el fetus, ja que després es desenvolupen com l'aparell reproductor (SCH). Per tant, aquest tipus de càncer pot afectar les gònades i el seu entorn de, principalment, nens i població jove.
- **Tumors neuroendocrins:** tipus de tumor que afecta cèl·lules que alliberen hormones a la sang a partir de senyals del sistema nerviós (PUENTE BLANCO, Rebeca, *et al.*). Uns dels seus subtipus més comuns són els tumors carcinoides, que normalment afecten al sistema gastrointestinal.

Els tipus de càncers que es repeteixen a les dues classificacions són aquells que es produeixen en un tipus de cèl·lula determinada que només es troba en un òrgan o teixit concret. Un exemple d'aquests càncers tan concrets d'un sol tipus de cèl·lula i teixit és la leucèmia, que com que només es pot produir a la medul·la òssia, i, per tant, a la sang, no té intersecció amb altres òrgans o teixits del cos.

2.3. El càncer de mama

El càncer de mama (PRAT, Aleix, *et al.*) és un tipus de càncer en el qual les cèl·lules de la mama es reproduïxen i proliferen sense control ni regulació del sistema immunitari fins a formar un tumor². El càncer de mama és el càncer més freqüent en dones i el segon més freqüent en el total entre homes i dones, com ja s'ha vist a la Taula 1. Tot i ser tan freqüent en dones, el càncer de mama té una taxa de supervivència relativament elevada, ja que, a menys que hi hagi metàstasi, té un diagnòstic positiu. A continuació, es descriuen amb cura tots els aspectes importants del càncer de mama: la seva epidemiologia, com es forma i desenvolupa un tumor de mama, els tipus i classificacions en els quals es pot dividir, com es duu a terme un diagnòstic d'aquest càncer, quins símptomes té, i quins tractaments se li apliquen en cada situació.

2.3.1 Epidemiologia del càncer de mama

L'epidemiologia és una branca de les ciències de la salut que estudia la relació entre una certa malaltia i les poblacions humanes a les que afecta. Per tant, l'epidemiologia del càncer de mama estudia la distribució, la freqüència, les causes i els efectes d'aquest tipus de càncer en relació amb el medi físic de les poblacions afectades. En concret, en aquest apartat es descriuran els dos trets més importants de l'epidemiologia del càncer de mama: la seva incidència, freqüència i supervivència, i els seus factors de risc.

Incidència i supervivència 5 anys després del diagnòstic

Aquest apartat proporciona diverses dades en relació amb la incidència i la supervivència 5 anys després del diagnòstic del càncer de mama tant a nivell global, com a Espanya, com als Estats Units (AECC. WCRF. CÁNCER NET. SEOM). Primer de tot, les dades a escala mundial ofereixen una visió absoluta de tot el conjunt de països del món. En canvi, la informació a nivell d'Espanya contribueixen

² En certs casos no es forma una tumoració sòlida, sinó una inflamació general de la mama, per exemple (veure Apartat 2.3.3).

a tenir una visió més propera de l'epidemiologia del càncer de mama. Per acabar, les dades a nivell dels Estats Units proporcionen la visió de com afecta aquesta malaltia a un país altament desenvolupat i amb una població significativament nombrosa. D'aquesta manera, es poden contrastar diferents dades actuals de diferents zones per tal d'obtenir una visió general més precisa.

A nivell mundial, el càncer de mama és el càncer més comú en dones, constituint un 25,4% dels càncers en dones, si no es tenen en compte els càncers de pell no melanomes com un sol conjunt. A més, és el segon càncer més comú del conjunt d'homes i dones, ja que constitueix un 12,3% del total de càncers. En total, l'any 2018 van diagnosticar-se **2.088.849 casos** de càncer de mama en el món. Aquesta xifra està en concordança amb l'increment de diagnòstics de càncers de mama del 0,3%/any aproximadament, que es manté estable des de fa 10 anys. Per altra banda, en aquest mateix període de temps la mortalitat del càncer de mama 5 anys després del diagnòstic ha disminuït un 1,8%/any aproximadament, gràcies a la innovació en tractaments. A nivell d'Espanya, s'han comptabilitzat 32.825 diagnòstics de càncer de mama l'any 2018, cosa que representa un augment del 30% des de l'any 2012, quan no s'arribava als 26.000 diagnòstics anuals. Per altra banda, des del 2012 a Espanya la supervivència 5 anys després del diagnòstic també ha augmentat considerablement, d'un 82,8% de supervivència el 2012 al quasi 90% de supervivència actual (89,9%). Finalment, a nivell dels Estats Units, s'estima que l'any 2019 es diagnosticaran 271.270 nous casos de càncer de mama, mentre que 42.260 persones moriran d'aquesta mateixa malaltia. Es calcula que un **12,8% de les dones** estatunidenques té, ha tingut o tindrà càncer de mama en algun moment de la seva vida, el que vindria a ser una de cada vuit dones. A més, la supervivència cinc anys després del diagnòstic del càncer de mama als Estats Units és del 89,6% (ACS). En concret, la supervivència 5 anys després del diagnòstic de càncer de mama localitzat o *in situ*, que representa el 62% dels diagnòstics, és del 98,8%. Per altra banda, la supervivència del càncer de mama regional, que representa el 30% dels diagnòstics, és del 85,5% i la supervivència del càncer de mama distant o metastàtic, que representa el 6% dels diagnòstics, és del 27,4%. Per acabar, l'últim 2% dels diagnòstics el constitueixen els diagnòstics d'estadis desconeguts, amb una supervivència mitja del 54,5%.

Factors de risc

El càncer de mama, com tot els càncers, té diversos factors de risc més o menys comuns que fan possible la seva enorme incidència en la població, els quals s'expliquen a continuació (MCPHERSON, Klim; STEEL, CaMa; DIXON, J. M.). En aquest apartat, els factors de risc del càncer de mama es classifiquen en factors de risc que no es poden canviar i factors de risc relacionats amb l'estil de vida, a més de possibles factors amb efectes poc clars en el risc de càncer de mama.

Els factors de risc del càncer de mama que no es poden canviar són aquells inherents a qüestions genètiques o naturals en la persona en qüestió, de manera que no tenen res a veure amb la seva conducta. Per començar, el càncer de mama és **molt més comú en dones** que en homes, tant que els casos de càncer de mama dones representen més del 99%, i els casos de càncer de mama en homes menys de l'1%. Per exemple, a Estats Units, del total de 271.270 diagnòstics de càncer de mama estimats per l'any 2019, 268.600 són en dones i 2.670 són en homes, a més de l'estimació de 500 defuncions en homes per càncer de mama i 41.760 en dones. Els estudis estimen que una de cada vuit dones aproximadament ha tingut, té o tindrà càncer de mama en algun moment de la seva vida, mentre que només un de cada 883 homes passa per aquesta mateixa situació. És per tot això que es considera que ser una dona és el principal factor de risc del càncer de mama. Un altre factor de risc del càncer de mama important és que és **més comú en certes ètnies**. En les ètnies americana, índia americana i nativa d'Alaska s'han aproximat 79,5 casos/100.000 habitants, en l'ètnia hispànica 97,2 casos/100.000 habitants, i en l'ètnia asiàtica i pacífica 100,1 casos/100.000 habitants. En canvi, en l'ètnia negra s'estimen 124,0 casos/100.000 habitants, en l'ètnia blanca 130,5 casos/100.000 habitants, i en l'ètnia no hispànica 132,6 casos/100.000 habitants. En el conjunt de totes les ètnies s'estimen 127,5 casos/100.000 habitants, una abundància relativa per sota de només les ètnies blanca i no hispànica. A més, el risc de càncer de mama **augmenta amb l'edat**, especialment a partir dels 55 anys. Per sota dels 20 anys d'edat el percentatge de casos s'aproxima al 0%, entre els 20 i els 34 anys es troba l'1,9% dels casos, entre els 35 i els 44 anys es troba el 8,4%, entre els 45 i els 54 anys es troba el 20,1%, entre els 55 i els 64 anys es troba el 25,6%, entre els 65 i els 74 es troba el 24,8%, entre els 75 i els 84 anys es troba el 13,7%, i per sobre

dels 84 anys es troba el 5,6% dels casos. L'edat mitjana en que es diagnostica càncer de mama són els 62 anys, i l'etapa en la qual és més probable rebre un diagnòstic de càncer de mama oscil·la entre els 45 i els 70 anys. Aquesta etapa crítica coincideix amb l'etapa de la menopausa en les dones, cosa que també influeix en el diagnòstic, de manera que els diagnòstics premenopàusics són més desfavorables que els postmenopàusics, ja que les dones postmenopàusiques no tenen l'activitat hormonal de les dones premenopàusiques. A més a més, el càncer de mama és més freqüent en dones que han tingut una **menstruació precoç**, és a dir, més aviat dels 11 anys, o una **menopausa tardana**, és a dir, més tard dels 55 anys. Això és un factor de risc del càncer de mama perquè contribueix a l'increment d'anys amb activitat hormonal (quan es té la menstruació), cosa que pot influir enormement en el desenvolupament d'un càncer de mama. En canvi, la menstruació tardana i la menopausa precoç redueixen lleugerament el risc de càncer de mama, ja que es redueix l'etapa d'activitat hormonal. Un altre factor de risc a tenir en compte és la presència d'un **teixit de la mama més dens de l'habitual**, cosa que multiplica per 2 el risc de càncer de mama. A més d'augmentar les possibilitats de tenir càncer de mama, els teixits de mama densos dificulten la detecció del càncer en les mamografies. Alguns factors que poden afectar positivament o negativament el desenvolupament d'un teixit de la mama dens són l'edat, la menopausa, els embarassos, la genètica i l'ús de certs medicaments i hormones. Altres **condicions benignes de la mama** també poden tenir un cert risc de desenvolupar càncer de mama. Primerament, pot tractar-se de lesions no proliferatives, com una *hiperplàsia lleu*, *fibrosis* i *quistes*, *calcificacions* o un únic *virus del papil·loma humà (VPH)*. En segon lloc, pot tractar-se de lesions proliferatives sense anormalitats cel·lulars, com una hiperplàsia habitual o diversos VPHs alhora. Finalment, es pot tractar de lesions proliferatives amb anormalitats cel·lulars, com una *displàsia* a la mama. Aquestes condicions de la mama poden multiplicar el risc de càncer de mama per entre una i cinc vegades. A més, **els antecedents personals i familiars de càncer de mama** també poden afavorir el desenvolupament d'aquesta malaltia. En el cas que un individu ja hagi tingut càncer de mama, és lleugerament més probable que en torni a tenir un de nou (això és diferent d'un nou brot del càncer inicial). Per altra banda, encara que només el 15% d'individus amb càncer de mama tenen un familiar amb aquest mateix càncer, és més probable tenir-ne si es té un familiar molt proper amb aquest càncer. Un altre factor de risc que té una estreta relació amb els familiars és

la presència de **mutacions a certs gens** heretades dels progenitors. Es pot trobar més informació de les mutacions que afecten uns gens concrets a l'apartat 2.3.2. Finalment, l'**exposició a radiacions en el pit i a un fàrmac anomenat dietilestilbestrol** també pot ser un gran factor de risc del càncer de mama. Principalment, l'exposició a radiacions pot haver estat causada per tractaments amb radioteràpia per altres tipus de càncer. No obstant, les radiacions en el pit només poden propiciar el desenvolupament de càncer de mama en individus per sota dels 40 anys, i tenen més efecte en dones que encara no tenen pits completament desenvolupats, per sota dels 20 anys. Respecte al dietilestilbestrol, és un fàrmac que es donava a les dones entre el 1940 i el 1970 aproximadament per propiciar un embaràs sa, i que, segons estudis posteriors, té efectes molt perjudicials. Tants l'exposició a les radiacions com al dietilestilbestrol es tenen en compte com a factors que no es poden canviar perquè eren tractaments utilitzats en el passat que, un cop es va descobrir que eren perjudicials, es van parar d'utilitzar.

En segon lloc, els factors de risc del càncer de mama relacionats amb l'estil de vida són aquells que sí que es poden canviar modificant certs hàbits personals. El primer i més comú factor de risc que es pot canviar és l'**alcoholisme**, és a dir, el consum d'alcohol crònic. Està demostrat que les persones que consumeixen entre dos i tres begudes alcohòliques diàries tenen un risc d'un 20% més de tenir càncer de mama, a més del risc d'altres càncers i malalties. A més, el **sobrepès i l'obesitat** després de la menopausa també poden constituir un factor de risc pel càncer de mama. En dones postmenopàusiques, el teixit adipós (greix) s'ocupa de tota la producció d'estrògens, ja que els ovaris han parat de produir-ne. Per això, un excés de greix corporal pot provocar una activitat hormonal excessiva i augmentar el risc de desenvolupament de càncer de mama. No obstant, s'ha demostrat que depenent de quan s'ha engreixat l'individu i en quines zones del cos s'acumula el greix, aquestes condicions poden tenir més o menys efecte en el desenvolupament de càncer de mama. Un factor relacionat amb el pes i que té gran impacte en la salut és a quantitat d'exercici físic que es realitza, ja que el **sedentarisme** és un factor de risc important del càncer de mama, entre d'altres malalties. Encara que no és clar del tot quins efectes té sobre el desenvolupament de càncer de mama, es creu que els seus efectes en la massa corporal, la regulació hormonal i el balanç energètic poden tenir aquests efectes. Una altra activitat que pot tenir efectes sobre el desenvolupament

de càncer de mama en dones és el fet de **passar o no per un embaràs**. En alguns tipus de càncer de mama, no tenir fills o tenir-los després dels 30 anys pot incrementar les possibilitats de desenvolupar càncer de mama, mentre que en altres tipus tenir fills augmenta el risc de desenvolupar el càncer. Per altra banda, **alletar** els fills, durant un període prolongat durant un any i mig o dos anys, pot reduir lleugerament el risc de càncer de mama, ja que donar de mamar pot reduir els cicles menstruals d'una dona i, per tant, l'etapa d'activitat hormonal. Per tant, altres processos que augmenten l'activitat hormonal en el cos de la dona també afavoreixen el desenvolupament de càncer de mama, com per exemple els **tractaments anticonceptius**. Això inclou anticonceptius orals, injeccions anticonceptives, implants anticonceptius, dispositius intrauterins (DIUs) i anells vaginals, entre d'altres. L'activitat hormonal afegida d'aquests dispositius pot afavorir el desenvolupament de càncer de mama a l'usuari durant l'etapa en que són utilitzats i els 5 o 10 anys posteriors, depenent del producte. Per altra banda, els **implants de pit** de silicona poden propiciar el càncer de mama, ja que poden derivar en la formació de teixits cicatricials, que poden proliferar com a cèl·lules canceroses. A més, els implants de pit estan estretament relacionats amb un tipus de càncer anomenat limfoma anaplàstic de cèl·lules grans associat a implants de pit. Finalment, el risc de desenvolupar càncer de mama també es veu augmentat en dones que han rebut hormonoteràpia com a tractament per a altres càncers o malalties. Tant les teràpies hormonals que utilitzen estrògens com les que utilitzen estrògens i progesterona semblen augmentar les possibilitats de desenvolupar càncer de mama, ja que augmenten l'activitat hormonal de l'usuari.

A banda dels factors de risc ja explicats, s'han proposat altres activitats que podrien augmentar el risc de desenvolupar càncer de mama, però el efecte de les quals encara no és del tot clar. Per exemple, es creu que diferents dietes i, per tant, diferents suports vitamínics poden tenir efectes sobre el càncer de mama. També podrien tenir aquests efectes certs productes químics de l'ambient, el tabaquisme i, fins i tot, els treballs amb torns de nit. Per altra banda, hi ha certs factors de risc del càncer de mama falsos sobre els quals es pot trobar informació per internet però que realment no tenen cap efecte sobre aquest càncer, com demostren els estudis oficials. Alguns exemples són els antitranspirants, l'ús de subjectador o l'avortament.

2.3.2 Carcinogènesi i desenvolupament del tumor

Tot el procés en el qual es passa de tenir un grup de cèl·lules normals a tenir un tumor maligne s'anomena **carcinogènesi**. La carcinogènesi comença amb la mutació de certs gens que regulen, a grans trets, la proliferació de les cèl·lules i acaba amb el control que aquestes cèl·lules tumorals exerceixen sobre el seu microambient abans de proliferar a altres teixits. Totes les substàncies i processos que indueixen o afavoreixen l'aparició de càncer es qualifiquen com a carcinogèniques o tumorigèniques, com per exemple les mutacions que produeixen el càncer.

Genètica del càncer de mama

Els càncers són malalties genètiques, és a dir, els produeixen mutacions en els gens que provoquen que s'expressin de forma incorrecta i donin lloc a proteïnes no funcionals en algun sentit (ARANGO PRADO, María del Carmen; RODRÍGUEZ-PADILLA, Cristina. KASPER, *et al.* MCPHERSON, Klim; STEEL, CaMa; DIXON, J. M.) . Existeixen diversos tipus de mutacions que, en afectar certs gens, poden produir càncer, les quals es separen bàsicament en mutacions puntuals i reorganitzacions cromosòmiques.

Les mutacions puntuals són totes aquelles mutacions que només comporten el canvi o modificació d'un sol *nucleòtid*. N'hi ha tres d'importants:

- **Mutacions de sentit erroni (“Missense mutations”)**: mutació en la qual una base és substituïda per una altra, donant lloc a un *aminoàcid* diferent i, per tant, a una proteïna que serà diferent de la codificada a l'ADN i tindrà una funció diferent.
- **Mutacions sense sentit (“Nonsense mutations”)**: mutació en la qual una base és substituïda per una altra de manera que dona lloc a un aminoàcid STOP que finalitza el procés de traducció abans d'haver acabat de traduir la cadena sencera. Aquesta mutació dona lloc a proteïnes tallades per la meitat, i, per tant, no funcionals.
- **Mutacions al marc de lectura (“Frameshift mutations”)**: mutació que deriva de l'addició o la supressió d'un aminoàcid, alterant així els codons que

es formen a partir d'aquell punt. Per tant, aquest tipus de mutació puntual també afecta a tots els aminoàcids que venen després de la mutació i canvia completament la funció de la proteïna.

Les reorganitzacions cromosòmiques constitueixen tots aquells canvis en la posició dels fragments dels cromosomes que poden afectar la cadena d'ADN mentre està compactada en cromosomes. A continuació s'expliquen els quatre més comuns:

- **Grans deleccions:** supressió d'una seqüència de l'ADN que comporta la pèrdua d'algun producte funcional, és a dir, de la funció realitzada per algun gen. Aquest fenomen s'anomena pèrdua d'*heterozigositat*, ja que es perd un al·lel sencer d'un gen del cromosoma.
- **Amplificació de l'ADN:** múltiples replicacions d'un fragment d'ADN que resulten en la sobreexpressió del producte genètic de la proteïna codificada en aquell fragment de ADN.
- **Translocacions de fragments d'ADN:** separació d'un fragment del cromosoma que posteriorment es col·loca en un altre cromosoma completament aleatori, de manera que altera la seqüència genètica.
- **Inversions de seccions dels cromosomes:** procés en el qual una secció d'un braç d'un cromosoma inverteix la seva orientació, de manera que es llegeix al revés i codifica per proteïnes completament diferents.

Aquestes mutacions tan diverses que poden dur al càncer poden ser obtingudes de dues diferents maneres: poden adquirir-se o poden ser heretades genèticament (veure Factors de Risc a l'apartat 2.3.4). Les mutacions del genoma es poden adquirir per exposició a substàncies i radiacions carcinogèniques, com el tabac o els rajos UV, o per la transmissió de virus oncogènics o altres agents biològics. En canvi, les mutacions només poden ser heretades si els progenitors les tenen a les cèl·lules germinals i les has transmès a la descendència. A més, existeixen certes síndromes que afavoreixen l'aparició de càncer a l'individu, i que són hereditàries. Per això, no és estrany que ens trobem famílies d'alt risc on trobem diversos membres amb el mateix tipus de càncer. A més, a banda de les mutacions genètiques explicades, també poden tenir lloc modificacions epigenètiques, és a dir, canvis en l'expressió de l'ARN missatger. Les marques epigenètiques que regulen

l'expressió d'un gen poden estar danyades i fer que o bé aquest gen no s'expressi o bé que es sobreexpressi, cosa que pot donar lloc a un càncer.

Naturalment, tant les mutacions puntuals com les reorganitzacions cromosòmiques poden tenir lloc a qualsevol gen del cos, i només mutacions en uns determinats gens poden causar càncer. Els gens que, quan muten, poden causar càncer són aquells que tenen una funció relacionada amb la proliferació o reparació de les cèl·lules i l'*apoptosi*. Primer de tot, es pot tractar de mutacions a **protooncogens**, és a dir, a gens que afavoreixen la proliferació de les cèl·lules i que, en mutar, fan que augmenti el nombre de cèl·lules resultants. Un cop un protooncogèn ha mutat, se l'anomena **oncogèn**. La transformació de protooncogens a oncogens és una mutació dominant, i per tant només cal que un progenitor la transmeti per tal que sigui efectiva. Les mutacions que activen oncogens més habitualment són o bé les mutacions puntuals o bé l'amplificació o translocació de l'ADN, ja que aquestes mutacions poden fer que es sobreexpressi la funció d'aquests oncogens. En segon lloc, pot haver-hi mutacions en **gens oncosupressors**, que són gens que s'ocupen de l'apoptosi, bàsicament. En el cas que aquests gens mutin de manera que es trobin inactius, no podran realitzar la funció d'eliminació de les cèl·lules que no proliferin adequadament, així donant lloc a un càncer. Aquest tipus de mutació és recessiva, i, per tant, és necessari que estigui tant a l'al·lel patern com a l'al·lel matern per tal que sigui efectiva. Les mutacions que inactiven gens oncosupressors més habitualment són les mutacions puntuals i les grans delecions, ja que aquestes mutacions els poden fer perdre completament la seva funció. Finalment, el càncer pot ser provocat a partir de mutacions en **gens reparadors de l'ADN**, és a dir, gens que s'ocupen de la reparació d'errors a la seqüència genètica. En el cas que aquests gens no puguin complir la seva funció, les cèl·lules anormals podran proliferar lliurement i podran donar lloc a càncer. Aquesta mutació és recessiva, ja que és necessari que vingui tant de l'al·lel matern com del patern. Les mutacions que inactiven gens reparadors de l'ADN, com que funcionen de la mateixa manera que els gens oncosupressors, són també les mutacions puntuals així com les grans delecions. Un exemple de gens reparadors de l'ADN que en mutar provoquen càncer són els gens BRCA1 i BRCA2, ja que en quedar inactivats poden provocar càncer de mama i càncer d'ovari. Encara que les mutacions en els gens BRCA1 i BRCA2 són les que més efecte tenen en el desenvolupament de càncer de mama,

mutacions menys comunes en altres gens també poden tenir el mateix efecte. Per exemple, pot tractar-se d'una mutació en el gens CHEK2 i ATM, els quals, respectivament, s'ocupen de reparar l'ADN danyat i contribueixen en l'apoptosi. Els gens TP53 i PTEN, en canvi, s'ocupen de regular el creixement de la cèl·lula, i la seva mutació pot derivar en una proliferació cel·lular descontrolada. Per altra banda, es pot tractar de mutacions en gens que complementen l'activitat d'altres gens, com és el cas del gen PALB2, que interacciona amb el gen BRCA2. Per acabar, les mutacions també poden afectar gens que, en veure's modificats, poden propiciar el desenvolupament de diversos tipus de càncer, entre ells el de mama, com per exemple, els gens CDH1 i STK11.

A més a més, és important remarcar que les mutacions genètiques que tenen les cèl·lules tumorals s'acumulen en aquestes cèl·lules. Per tant, com més mutacions acumulen les cèl·lules d'un tumor, més capacitat de proliferació té, i, per tant, més avançat és l'estadi del càncer en que es troba, com s'explica més profundament a l'apartat 2.3.3. Tanmateix, no és estrany que les cèl·lules d'un mateix tumor pateixin varies mutacions, ja que una de les principals característiques de les cèl·lules tumorals és la seva inestabilitat genòmica. El fet que les cèl·lules tumorals siguin inestables genòmicament deriva principalment dels errors en el seu control i la seva reparació provocats per la mutació genètica que va transformar aquestes cèl·lules normals a tumorals en primer lloc. No obstant, la inestabilitat genòmica d'aquestes cèl·lules pot derivar també d'altres causes, com la pèrdua d'ADN dels *telòmers*. A més, les lleis de Darwin són aplicables a les cèl·lules tumorals, de manera que les cèl·lules que tenen mutacions desfavorables moren, mentre que les que tenen mutacions que afavoreixen la proliferació sobreviuen i proliferen. Així, a mesura que es reproduïxen, les cèl·lules tumorals acumulen mutacions i, per tant, avancen d'estadi en la seva proliferació.

Un altre factor de les cèl·lules tumorals a tenir en compte, a banda de la inestabilitat genòmica, és la inflamació tumorigènica. La **inflamació tumorigènica** és el fenomen que fa possible la creació d'un microambient pel tumor que li aporti suport nutricional i funcional, entre d'altre necessitats bàsiques perquè pugui proliferar. En conjunt, la inestabilitat genòmica i la inflamació tumorigènica de les cèl·lules

tumorals són el que fa possible que els tumors es formin adequadament i es desenvolupin completament per totes les seves fases, explicades a continuació.

Proliferació inicial del tumor

Un cop el tumor ja ha començat a proliferar (SÁNCHEZ, N. Catherine), la primera característica de les cèl·lules tumorals a tenir en compte és la seva **independència a les senyals que estimulen el creixement**. Es caracteritza a les cèl·lules tumorals d'aquesta manera perquè, per les mutacions que tenen, segueixen amb el procés de proliferació quan paren de rebre les senyals que les estimulen a proliferar-se. Les mutacions que produeixen aquesta proliferació automàtica poden actuar de diverses maneres: fent la cèl·lula hipersensible amb receptors extrems perquè segueixi trobant estímuls de proliferació encara que hagin cessat o induint-la a crear ella mateixa els estímuls que rep, entre d'altres mecanismes. A més, les cèl·lules tumorals també es caracteritzen per la seva **insensibilitat als estímuls que inhibeixen el seu creixement**. Aquest aspecte de les cèl·lules tumorals és complementari amb la seva independència a les senyals que estimulen el creixement, ja que, mentre que la primera característica descriu que les cèl·lules poden continuar proliferant tot i no rebre l'ordre corresponent, aquest últim aspecte mostra la insensibilitat les cèl·lules als estímuls que aturen la proliferació cel·lular. És a dir, les mutacions de certs gens de les cèl·lules tumorals eviten que puguin expressar correctament la proteïna encarregada de rebre l'estímul que indica el final de la proliferació. A aquestes dues característiques es suma l'**evasió de l'apoptosi**, que, com el seu nom indica, és la capacitat de les cèl·lules tumorals d'evitar autoinduir-se la mort cel·lular quan no són capaces de dur a terme la seva funció. Les mutacions que afecten la execució de l'apoptosi en cèl·lules tumorals poden tenir tres efectes: l'alteració en el balanç de proteïnes proapoptòtiques i antiapoptòtiques, la disminució de l'activitat de *caspases* o la fallada de la senyalització del receptor de mort. Aquest tipus de fallades es produeix a causa de la hiperpolarització dels *canals iònics de potassi*, així inhibint els receptors de mort.

Un altre mecanisme característic de la cèl·lula tumoral és l'**activació d'un potencial de replicació immortal** mitjançant un procés anomenat **immortalització**. Aquest procés el duu a terme un enzim anomenat *telomerasa* i consisteix en l'addició de

segments extrems d'ADN als telòmers dels cromosomes per tal d'evitar el seu escurçament i, en conseqüència, l'envelliment de la cèl·lula. Això fa possible que les cèl·lules tumorals puguin seguir dividint-se més enllà del *límit de Hayflick*, el punt a partir del qual una cèl·lula no pot patir més divisions cel·lulars, amb l'excepció de les cèl·lules germinals i les tumorals. Un cop una cèl·lula normal passa el límit de Hayflick para de proliferar i o bé entra en estat de *senescència* o bé mor per apoptosi. Per tant, el procés d'immortalització consisteix a aturar l'envelliment de la cèl·lula per tal que pugui seguir proliferant de manera indefinida. El conjunt de totes les característiques explicades fins ara resulten en la pèrdua de la *homeòstasi* tissular, que regula el cicle cel·lular i la proliferació de les cèl·lules tumorals, és a dir, resulten en un augment de la taxa de proliferació de les cèl·lules tumorals sense cap mena de control.

Creixement del tumor i microambient tumoral

Un cop les cèl·lules tumorals ja han proliferat gràcies a l'acció de totes les mutacions necessàries, el tumor modifica el seu microambient en funció de les seves necessitats (ÁLVARO, Tomás; NOGUERA-SALVÁ, Rosa; FARIÑAS-GUERRERO, Fernando. ARANGO PRADO, María del Carmen; RODRÍGUEZ-PADILLA. NOGUERA, Rosa, *et al.*). Tots els òrgans i teixits tenen un microambient determinat, que generalment està format per la seva matriu extracel·lular (ECM) i tot allò que hi està immers, conjuntament anomenat estroma, i que té la funció de facilitar el creixement i la progressió del tumor. La ECM és un suport estable per les cèl·lules on estan immersos els vasos sanguinis i els *vasos limfàtics*, les fibres nervioses vegetatives i les cèl·lules estromals que sintetitzen la pròpia ECM. A més, conté altres elements microambientals que regulen les senyals bioquímiques i, per tant, el comportament cel·lular i el líquid intersticial, que fa possible la difusió de substàncies i la homeòstasi tissular, ja que regula les forces externes i les senyals bioelèctriques. Totes les característiques del microambient d'un teixit o òrgan canvien segons la funció que compleixi el teixit o òrgan al que ens referim, de manera que es modifiquen les seves propietats mecàniques i morfològiques, entre d'altres. Els tumors tenen un microambient molt específic i diferenciat, cosa que fa que es comportin com un organisme independent al cos en el que es troben. El **microambient tumoral** pot actuar d'aquesta manera ja que desenvolupa un camp

morfogenètic propi (a causa de les mutacions que fan possible que actui de manera independent), un subsistema bioelèctric coherent que regula les senyals elèctriques del tumor i independència dels estímuls externs. Per dur a terme aquesta reconfiguració topogràfica de la ECM i el microambient, diversos factors s'accionen, com els *fibroblasts* associats als tumors, les *cèl·lules glials* o el sistema immune.

Un dels processos més importants en l'adaptació del microambient al tumor és l'**activació de l'angiogènesi**, és a dir, la formació de vasos sanguinis immersos a la ECM del tumor per tal de proveir les cèl·lules tumorals d'oxigen i nutrients (KASPER, *et al.*). A banda de la formació de nous conductes capil·lars com a últim pas, l'angiogènesi també inclou els següents passos previs: l'estimulació de cèl·lules endotelials amb factors de creixement, la degradació de la ECM mitjançant *proteases*, la proliferació de les cèl·lules endotelials i la seva migració fins el tumor. L'angiogènesi es produeix quan les cèl·lules tumorals es troben en una situació d'*hipòxia*, cosa comuna en tumors de més d'un mil·límetre. Aquest és el llindar a partir del qual les cèl·lules tumorals es troben hipòxiques, ja que el límit de difusió de l'oxigen en els teixits (un cop ja ha abandonat els capil·lars sanguinis) és d'aproximadament 100 μm i, per tant, quan el radi del tumor sobrepassa considerablement aquest límit, l'oxigen no s'arriba a difondre fins les cèl·lules tumorals de l'interior. Aquestes condicions d'hipòxia, juntament amb la presència de lesions i mutacions genètiques presents en el càncer, indueixen la síntesi d'unes proteïnes, com les de la família VEGF (Factor de Creixement de l'Endoteli Vascular), que estimulen les cèl·lules precursoras endotelials per tal que formin vasos sanguinis. Aquests vasos sanguinis alimenten i nodreixen el tumor, i, alhora, propicien la metàstasi, ja que connecten el torrent sanguini directament amb les cèl·lules tumorals. A més, a diferència dels vasos sanguinis normals, la microvascularització tumoral és completament caòtica, amb vasos molt permeables i ramificats, establerts en un mosaic de cèl·lules tumorals i cèl·lules endotelials.

Els canvis de condicions de les cèl·lules tumorals i dels seus microambients van acompanyats de canvis a diversos mecanismes i processos cel·lulars. Un d'aquests canvis és la **reprogramació del mecanisme energètic**, és a dir, un canvi en el *metabolisme* de la cèl·lula. Algunes de les mutacions que afecten les cèl·lules tumorals i la escassetat d'oxigen condueixen a un canvi de metabolisme concret

anomenat efecte Warburg, que consisteix en la substitució de la respiració cel·lular per la glicòlisi. La glicòlisi és un procés metabòlic a través del qual cada molècula de glucosa és oxidada a dues molècules d'àcid pirúvic (o piruvat), de manera que, a diferència de la respiració cel·lular, es pot dur a terme en condicions de poc oxigen. A més, la glicòlisi en cèl·lules tumorals comporta la sobreexpressió de transportadors de glucosa (principalment GLUT1) per assegurar que l'oxidació tingui reactius constants i pugui produir energia sense interrupció. Aquesta modificació en el metabolisme cel·lular i el que comporta té l'objectiu de complir les demandes biosintètiques i bioenergètiques, que es veuen augmentades considerablement per la elevada taxa de creixement i proliferació cel·lular. Alhora, protegeix a la cèl·lula de fluctuacions en la quantitat d'oxigen captada causades per les irregularitats de l'angiogènesi, ja que la glicòlisi es pot seguir duent a terme en condicions d'hipòxia. A banda de la reprogramació del metabolisme cel·lular, també es produeixen canvis a la ECM. Augmenta l'índex proliferatiu de diversos tipus d'estructures, com els fibroblasts associats al càncer (CAF), els miofibroblasts, els fibroblasts peritumorals i les cèl·lules estromals reactives. Aquesta alta taxa de proliferació, juntament amb l'increment de quantitat d'actina i fibres de col·lagen constitueixen un augment de la rigidesa de la ECM, que augmenta paral·lelament al progrés del tumor. A més a més, com altres estudis (IDIBELL) demostren, els fibroblasts del microambient tenen altres funcions, com, per exemple, dificultar l'acció de la quimioteràpia mitjançant l'alentiment de la proliferació de les cèl·lules tumorals.

Finalment, un altre factor, el qual influeix enormement al desenvolupament i la proliferació del tumor, és l'**acció del sistema immunitari**. El sistema immunitari es divideix en dos subsistemes: el sistema immunitari innat, que inclou els *macròfags*, els *granulòcits*, les *cèl·lules dendrítiques* i les *cèl·lules NK*; i el sistema immunitari adaptatiu, que inclou els leucòcits (glòbuls blancs) de tot tipus. Tots aquests tipus de cèl·lules estan immerses, en major o menor quantitat, en el microambient tumoral i es coordinen amb senyals moleculars i factors solubles. Les cèl·lules immunitàries del sistema immunitari innat s'activen mitjançant *l·ligands*, mentre que els leucòcits del sistema immunitari adaptatiu s'activen mitjançant *antígens* que corresponen als anticossos dels leucòcits. En el cas particular dels tumors, quan l'homeòstasi tissular és alterada per la carcinogènesi, el sistema immunitari té dos efectes sobre les cèl·lules tumorals. En primer lloc, es desencadena una resposta immune de control

antitumoral dirigida a les cèl·lules tumorals, les quals expressen un patró proteic diferent al de les cèl·lules normals, a causa de les mutacions que les diferencien. Per tant, el sistema immunitari innat mitjançant lligands i el sistema immunitari adaptatiu mitjançant antígens eliminen totes les cèl·lules tumorals que detecten. Tanmateix, com que les cèl·lules tumorals tenen el mateix origen i pertanyen al mateix individu que les cèl·lules normals, comparteixen gran part del material genètic amb elles, i, per tant, algunes cèl·lules poden presentar immunotolerància i sobreviure a l'acció del sistema immunitari. Aquest procés de selecció a través del qual només sobreviuen les cèl·lules tumorals que no detecta el sistema immunitari s'anomena **immunoedició**. Les cèl·lules supervivents, per una banda, poden reproduir-se i proliferar automàticament després de la immunoedició o, per l'altra, poden entrar en un estat de dormància funcional, en el qual no proliferen però tampoc moren. Un altre escenari en el qual el sistema immunitari no pot complir la seva funció d'eliminar les cèl·lules tumorals té lloc quan l'acció citotòxica dels limfòcits T, un tipus de leucòcit, és suprimida. Aquest tipus de supressió de la resposta immune es produeix a causa d'alteracions en antígens o molècules inhibidores de l'activació T (dels limfòcits T), que minven l'acció del sistema immunitari adaptatiu. A més a més d'aquestes possibles evasions de l'acció immune sobre el tumor, el sistema immunitari també provoca una inflamació crònica de la zona afectada, cosa que, en lloc de perjudicar el tumor, l'afavoreix, ja que li proporciona espai per créixer i desenvolupar el seu microambient. En conjunt, el sistema immunitari té un paper decisiu en el creixement del tumor i del seu microambient, i, per tant, a més d'utilitzar les cèl·lules immunitàries com a biomarcadors per indicar el progrés tumoral, cada cop es desenvolupen més teràpies contra el càncer basades en la immunoteràpia.

A partir del nivell de desenvolupament dels factors mencionats en aquest apartat, es distingeixen diferents **graus d'alteració de l'estroma tumoral** (NOGUERA, Rosa, *et al.*), que indiquen l'evolució del tumor en concret i del seu microambient:

- **Grau 1 o grau lleu:** l'estroma consisteix en una ECM laxa i porosa amb poca resposta immunitària i sense modificació del sistema vascular. Això només és possible amb una petita quantitat de cèl·lules tumorals.
- **Grau 2 o grau moderat:** la ECM ja és moderadament rígida i poc porosa, el que permet una menor difusió d'agents terapèutics. Està present una certa

resposta inflamatòria, que, en proporcionar més espai pel creixement, comporta inicis de la modificació de la vasculatura. Aquest augment en el nombre vasos sanguinis que arriben al tumor afavoreix la migració tumoral.

- **Grau 3 o grau sever:** alta rigidesa estromal amb una ECM molt poc porosa i molt poca difusió d'agents terapèutics. Alta resposta inflamatòria, angiogènesi completa i alta probabilitat de migració tumoral per els vasos de nova creació.

Invasió i metàstasi

En l'àmbit del càncer, la gran majoria de morts són produïdes per càncers metastàtics (ACS), i no pel tumor inicial sol. De fet, en el càncer de mama, quan una pacient presenta un càncer metastàtic, l'únic que es pot fer és intentar aturar-lo el màxim temps possible i donar cures pal·liatives, ja que el més probable és que la metàstasi sigui la causa de la mort de la pacient. Com s'ha vist anteriorment en aquest apartat, l'acumulació de mutacions provoca la optimització d'algunes cèl·lules tumorals per realitzar certes funcions, en aquest cas, la invasió del teixit circumdant i de zones llunyanes. És per això que algunes cèl·lules desenvolupen la capacitat d'invasió a partir de mutacions com la disminució de l'expressió de l'E-cadherina en carcinomes, una proteïna que proporciona capacitat d'adhesió a les cèl·lules entre elles i amb la ECM, de manera que, quan disminueix, les cèl·lules mutades perden l'ancoratge i es disseminen més fàcilment. A més, una característica pròpia de les cèl·lules tumorals amb capacitat invasiva és un canvi en el fenotip per assemblar-se més a les cèl·lules *mesenquimàtiques*, mitjançant un procés anomenat **Transició Epiteli-Mesenquimal (TEM)**. En aquest procés, les cèl·lules perden unions adherents, augmenten l'expressió d'enzims que degraden la ECM i canvien la seva morfologia epitelial per assemblar-se a fibroblasts, per exemple, disminuint el seu mòdul elàstic per tal de passar per espais més tancats. A més, els fibroblasts i altres cèl·lules del microambient també es veuen modificats per tal de propiciar la carcinogènesi avançada i metàstasi.

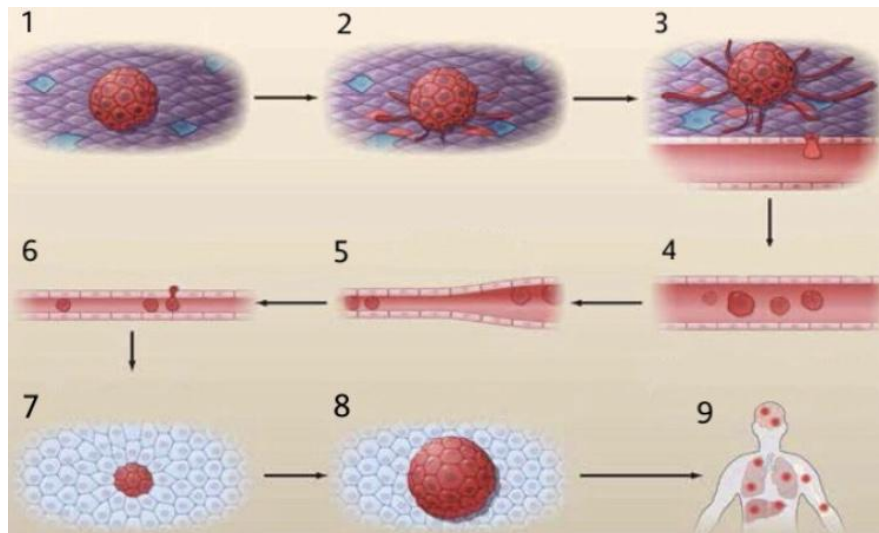


Figura 1. Fases del procés cascada Invasió-Metàstasi.

1 Tumor inicial. 2 Invasió local. 3 Intravasació. 4 Sobrevida en circulació. 5 Detenció a zones distants. 6 Extravasació. 7 Formació de micrometàstasis. 8 Colonització metastàtica. 9 Metàstasi macroscòpica clínicament detectable.

Imatge treta de la font ACS.

L'establiment d'una metàstasi a distància és un procés que té diverses fases consecutives anomenades **cascada invasió-metàstasi** (figura 1): el tumor primari comença la invasió local i la intravasació en els vasos sanguinis o limfàtics, on transiten fins a extravasar en els teixits d'una altra zona del cos, on formen micrometàstasis, petits nòduls de cèl·lules canceroses que poden créixer fins a formar tumors macroscòpics clínicament detectables, majoritàriament a l'os o al pulmó.. Tot aquest procés tan complicat rarament finalitza en una metàstasi efectiva, ja que només el 0,01% de les cèl·lules amb capacitat invasiva ho aconseguen, és a dir, 1 de cada 10.000 cèl·lules circulants. A més, aquestes cèl·lules circulants poden quedar en els vasos sanguinis o limfàtics durant un temps indefinit i causar metàstasi, per exemple, 20 anys després del tractament exitós del tumor inicial. Aquest tipus de cèl·lules s'anomenen **cèl·lules latents**, ja que queden en estat de latència durant llargs períodes de temps.

2.3.3. Estadificació i tipus de càncer de mama

En aquest apartat, es descriuen, per una banda, els diferents estadis en els quals es pot trobar un càncer en el moment del diagnòstic i pels que pot passar durant el seu desenvolupament complet. Per altra banda, es classifiquen els tipus més

rellevants del càncer de mama en les dues classificacions més freqüents i alhora útils per tal de decidir el tractament adequat en cada cas. La primera classificació discerneix els tipus de càncer de mama segons la zona de la mama que afecta, la forma i estructura del tumor i la seva invasivitat. En canvi, la segona classificació es basa en el tipus molecular de les cèl·lules tumorals per determinar els diferents tipus de càncer. La combinació de les dues classificacions, sumada a l'estadificació del càncer, aporta la informació necessària per conèixer l'estat i les condicions del càncer en qüestió i poder assignar-li el tractament més adequat.

Estadificació

L'estadificació és el procés que té per objectiu identificar la situació de propagació o extensió en la que es troba la malaltia en qüestió, en aquest cas el càncer de mama (FAUCI, Anthony; *et al.* KASPER, *et al.* GEICAM). És imprescindible tenir present l'estadificació del càncer de mama per tal de poder escollir un tractament adequat pel pacient, ja que conèixer com d'estès està el càncer en cada cas és necessari per destriar entre tractaments més localitzats o més sistèmics³. En conjunt, l'estadificació del càncer de mama comprèn tres aspectes: el tumor primari (T), els *ganglis limfàtics* regionals (N) i la metàstasi distant (M). L'aspecte del **tumor primari** es centra en mesurar la massa inicial de cèl·lules canceroses per tal de conèixer el seu creixement. Per altra banda, l'aspecte dels **ganglis limfàtics regionals** es refereix al grau d'afectació dels ganglis limfàtics propers, és a dir, té en compte el nombre i la posició dels ganglis afectats. El fet de tenir un gangli afectat també s'anomena adenopatia. Finalment, l'aspecte de la **metàstasi distant** simplement té en compte si el càncer s'ha disseminat a altres parts del cos mitjançant metàstasi o no. Tots aquests aspectes tenen diferents graus de desenvolupament i afectació, que es mostren a la Taula 2. A més, la combinació dels tres aspectes en diferents graus dona lloc als 5 diferents estadis en els quals es pot trobar el càncer de mama, com també es pot observar a la Taula 2. Un altre

³ És important no confondre l'estadi del càncer amb el seu grau: mentre que l'estadi és l'evolució a nivell del cos sencer, el grau del càncer s'observa a microscopi i depèn el nombre de mitosis que han fet les cèl·lules observades. Grau I significa que les cèl·lules del tumor han fet una sola mitosi, grau II que n'han fet al voltant de 10, i grau III que n'han fet al voltant de 20.

Taula 2. Estadificació del càncer de mama

Taula de creació pròpia amb la comparació de Taules extretes de les fonts FAUCI, Anthony; *et al.* KASPER, *et al.* GEICAM.

Tumor primari (T)

T0	Sense evidència de tumor primari
TIS	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor ≤2 cm
T1a	Tumor >0,1 cm, però ≤0,5 cm
T1b	Tumor >0,5 cm, però ≤1 cm
T1c	Tumor >1 cm, però ≤2 cm
T2	Tumor >2 cm, però ≤5 cm
T3	Tumor >5 cm
T4	Extensió a la paret toràcica, inflamació, lesions satèl·lit, ulceracions

Ganglis limfàtics regionals (N)

N0	Sense metàstasi histològica a ganglis limfàtics regionals
N1	Metàstasi histològica als ganglis homolaterals, mòbils
N2	Metàstasi histològica als ganglis homolaterals en conglomerat o fixes
N3	Metàstasi als ganglis mamaris interns homolaterals

Metàstasi distant (M)

M0	Sense metàstasi distant
M1	Metàstasi distant (inclou la disseminació a ganglis supraclaviculars homolaterals o ipsolaterals)

Agrupació d'estadis

Estadi 0	TIS	N0	M0
Estadi I	T1	N0	M0
Estadi IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Estadi IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
	T0	N2	M0
Estadi IIIA	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
	T4	Qualsevol N	M0
Estadi IIIB	Qualsevol T	N3	M0
	Qualsevol T	Qualsevol N	M1

fet a tenir en compte és que l'avenç d'un estadi al següent i, per tant, la proliferació del càncer, coincideix amb l'acumulació de mutacions que presenta. Com més mutacions tenen els gens de les cèl·lules canceroses, més capaces de proliferar i d'estendre's són, de manera que poden avançar d'un estadi al següent, com es menciona a l'apartat 2.3.2. Un altre factor lligat a l'avenç d'un estadi a un altre és la

supervivència 5 anys després del diagnòstic, que, com es veu a l'apartat 2.3.1, és inversament proporcional a l'estadi del càncer de mama en el moment del diagnòstic. Això significa que com més avançat és l'estadi del càncer en el moment del diagnòstic, més baixa és la supervivència 5 anys del diagnòstic del càncer en aquell estadi.

Tipus de càncer de mama segons zona afectada

La primera classificació discerneix, primerament, el tipus de teixit de la mama afectat pel tumor i, per tant, també la zona afectada (GEICAM). A més té en compte la invasivitat dels teixits circumdants del tumor per discernir uns tipus de càncer de mama dels altres. Finalment, també té en compte com es desenvolupen els càncers i quina forma adopten les cèl·lules canceroses quan proliferen. És important tenir en compte que tots aquests càncers poden derivar en una expansió als ganglis limfàtics i fins i tot en metàstasi, encara que uns tipus en tenen més risc que d'altres. A més, la gran majoria d'aquests tipus de càncer de mama poden tenir lloc en homes, a més de dones, si bé és molt poc comú.

En primer lloc, es troben els diferents tipus de carcinoma a la mama, és a dir, els càncers que comencen en un teixit epitelial de la mama, que pot ser tant intern com extern. Dintre dels carcinomes de mama, es pot parlar de diferents subtipus de carcinoma segons la zona del pit on s'inicien (Figura 2) i, més enllà, se'ls pot classificar segons la seva invasivitat. Primer de tot, un carcinoma que s'inicia en els conductes làctics de la mama s'anomena carcinoma ductal, mentre que si el carcinoma s'inicia a els lòbuls de la mama, s'anomena carcinoma lobular. Per altra banda, el tumor pot estendre's als teixits circumdant, cas en el que s'anomena tumor invasiu, o pot no fer-ho, cas en el que s'anomena tumor *in situ* o no invasiu. Per tant, segons aquestes dues classificacions, existeixen quatre carcinomes de mama principals, descrits a continuació:

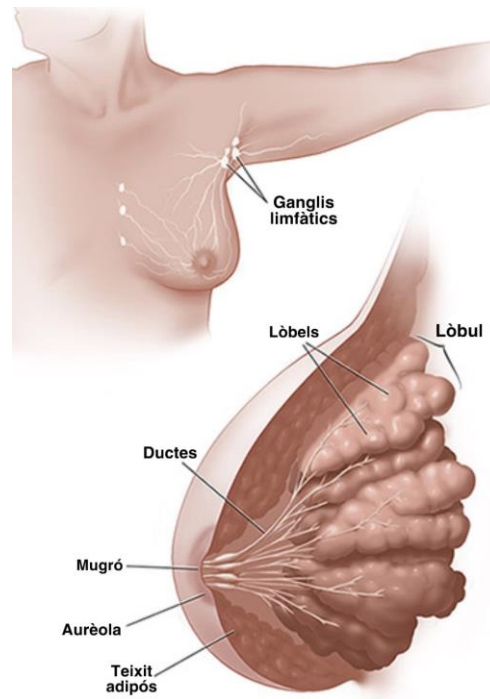


Figura 2. Anatomia mamària normal.

Aquesta imatge ofereix un suport al lector per entendre on s'originen els tipus de càncers de mama. Imatge traduïda i modificada a partir de la imatge original aconseguida a la font GEICAM.

- **Carcinoma ductal *in situ* (CDIS):** tumor cancerós a la mama que, com el seu nom indica, s'ha originat al conducte làctic i no s'ha propagat als teixits mamaris circumdants. El CDIS no posa en perill la vida, però té una gran probabilitat de derivar en un tumor invasiu.
- **Carcinoma ductal invasiu (CDI):** tumor cancerós a la mama que, com el seu nom indica, s'ha originat al conducte làctic i s'ha propagat als teixits mamaris circumdants. Amb el temps, el CDI pot proliferar fins els ganglis limfàtics i probablement fer metàstasi. A més, el CDI és el càncer de mama més freqüent de tots, ja que representa aproximadament el 80% del total de càncers de mama diagnosticats. Finalment, és important remarcar que el CDI inclou diferents subtipus segons la forma i estructura que adopti el tumor, com el carcinoma tubular, el carcinoma medul·lar, el carcinoma mucinós, el carcinoma papil·lar i el carcinoma cribiforme.
- **Carcinoma lobular *in situ* (CLIS):** tumor cancerós a la mama que, com el seu nom indica, s'ha originat als lòbuls de la mama i no s'ha propagat als teixits mamaris circumdants. Com que el CLIS només afecta els lòbuls

mamaris i no prolifera fora d'ells, els experts debaten sobre si considerar-lo un càncer o simplement una displàsia amb risc de derivar en càncer.

- **Carcinoma lobular invasiu (CLI):** tumor cancerós a la mama que, com el seu nom indica, s'ha originat als lòbuls de la mama i s'ha propagat als teixits mamaris circumdants. La probabilitat que el CDI prolifere als ganglis limfàtics i que faci metàstasi a altres parts del cos després d'un cert temps és relativament elevada.

A part dels carcinomes, existeixen altres tipus de càncers de mama menys freqüents que no s'originen a un teixit epitelial de la mama, els quals s'expliquen a continuació:

- **Càncer de mama inflamatori (CMI):** tipus de càncer de mama que comença amb l'envermelliment i la inflamació de la mama, en lloc d'un tumor sòlid distingible. El CMI és poc freqüent però molt agressiu i té un desenvolupament molt ràpid, així que cal tractar-lo el més aviat possible.
- **Malaltia del mugró de Paget:** tipus de càncer de mama en el qual s'acumulen cèl·lules canceroses en el mugró o al seu voltant i que, en el 97% dels casos comporta un altre càncer de mama, o bé CDIS o bé algun càncer invasiu. No obstant, no està clar com comença la malaltia del mugró de Paget, però la teoria més respectada diu que el càncer s'origina a les cèl·lules del propi mugró, cosa que explica perquè també hi ha casos de la malaltia del mugró de Paget sense altres càncers de mama.
- **Tumors o cistosarcomes fil·loides:** tipus poc comú de càncer de mama en el qual es desenvolupen tumors amb forma de fulla que creixen amb rapidesa. Tot i això, en la majoria de casos els tumors fil·loides no es disseminen fora de la mama.

Tipus de càncer de mama segons marcadors moleculars

La segona classificació es basa en els marcadors moleculars que estan presents únicament en les cèl·lules tumorals (GEICAM. ARRECHEA IRIGOYEN, M.A. *et al.* AECC), els quals aporten una informació complementària a les característiques morfològiques i immunohistoquímiques proporcionades per la primera classificació. Els marcadors moleculars poden trobar-se en quantitats per sobre del normal en les cèl·lules canceroses, condició causada per les mutacions presents en els gens, com

els protooncogens, que poden donar lloc als canvis que alteren les cèl·lules tumorals, com s'explica a l'apartat 2.3.2. Per tant, els diferents tipus moleculars tenen diferents gens mutats associats, ja que són el producte d'aquestes mutacions. Els tractaments dissenyats per a un càncer amb un marcador molecular concret s'anomenen teràpies diana. En el càncer de mama principalment s'utilitzen els següents marcadors i receptors:

- **Receptors Hormonals (RH):** inclou els **Receptors d'Estrògens (RE)** i els **Receptors de Progesterona (RP)**, les principals hormones secretades en el cos de les dones. En el cas que aquest marcador sigui positiu, això significa que les cèl·lules tumorals tenen receptors per hormones (estrògens o progesterona) que afavoreixen el creixement tumoral.
- **Receptor del factor de creixement Epidèrmic Humà tipus 2 (HER2):** aquest receptor és una proteïna que promou el creixement en el exterior de totes les cèl·lules mamàries. Quan hi ha alts nivells del receptor HER2 (és positiu), és probable que el tumor sigui de creixement ràpid, ja que aquest receptor s'associa a tumors de mama més agressius.
- **Marcador de proliferació cel·lular Ki67:** aquest marcador molecular, com el seu nom indica, s'utilitza per estimar el percentatge de cèl·lules en divisió en el tumor en el moment de la prova. El percentatge de proliferació cel·lular en cèl·lules normals es troba per sota del 20%. Per tant, si aquest marcador és igual o major que el 20%, és probable que el tumor tingui un desenvolupament més ràpid.

A més a més, existeixen altres marcadors moleculars que s'utilitzen per discernir alguns tipus de càncer d'altres, ja que són característiques de només algun tipus de càncer. Un exemple són les *citoqueratines* CK5/6 i CK14, el gen p63 i la proteïna EGFR, una sèrie de gens i proteïnes característiques del càncer de mama basal o triple negatiu. Les citoqueratines CK5/6 i CK14 són dues citoqueratines característiques de la capa basal, el gen p63 és un oncosupressor i la proteïna EGFR és un receptor del factor de creixement epidèrmic, com el marcador HER2.

Els tipus de càncer de mama segons tipus molecular presenten diferents combinacions de marcadors moleculars, cosa que dona lloc a diferents característiques i diferents teràpies en cada cas. Les diferents combinacions dels

marcadors moleculars de cada tipus de càncer es poden revisar a la Taula 3. Per altra banda, les característiques de cada tipus de càncer s'expliquen a continuació:

Taula 3. Tipus de receptors presents en cada tipus molecular de càncer de mama.

Taula de creació pròpia.

	RE (RH)	RP (RH)	HER2	Ki67	Altres
Luminal A	+	+/-	-	<20%	indiferent
Luminal B	+ +	+/- +/-	- +	≥20% indiferent	indiferent indiferent
HER2-positiu	-	-	+	indiferent	indiferent
Triple negatiu o basal	-	-	-	indiferent	CK5/6+, CK14+, p63+, EGFR+
Normal	-	-	-	indiferent	CK5/6-, CK14-, p63-, EGFR-

- **Luminal A:** representa del 25 al 50% dels càncers de mama, i és el tipus molecular amb millor pronòstic. Es caracteritza per una alta activitat hormonal causada per l'expressió del gen del RE i gens associats (LIV 1 i ciclina D1), i de citoqueratines de baix pes molecular (CK7, CK8, CK18, etc.).
- **Luminal B:** representa del 25 al 45% dels casos de càncer de mama, i té un bastant bon pronòstic. De la mateixa manera que el tipus Luminal B, té una alta activitat hormonal i es caracteritza per l'expressió del gen del RE, dels seus gens associats i de les mateixes citoqueratines de baix pes molecular. A més, el tipus Luminal B és separa en els subtipus **Luminal B1** i **Luminal B2**, que, tot i tenir uns marcadors tumorals lleugerament diferent, tenen unes característiques similars.
- **HER2-positiu:** representa del 5 al 15% dels càncers de mama diagnosticats, i té un molt mal pronòstic, ja que mostra una sobreexpressió de gens associats a c-erbB-2, un marcador de mal pronòstic. A més, presenta alteracions d'altres gens com el GATA4 i el topoisomerasa II α , gens de *proteòlisi* i angiogènesi respectivament.
- **Basal o triple negatiu:** representa del 10 al 20% dels diagnòstics de càncer de mama i és un càncer molt agressiu. Es caracteritza per l'absència de

receptors hormonals i del marcador HER2. En canvi, presenta una sobreexpressió de les citoqueratines CK5/6 i CK14, el gen p63 i el marcador EGFR. A més, el tipus basal o triple negatiu s'associa a una abundància de mutacions genètiques per sobre del normal, com per exemple la mutació del gen BRCA1.

- **Normal:** representa del 0 al 5% dels casos de càncer de mama i és un càncer amb una aparença molt similar a la d'un teixit de mama normal. Mostra una forta expressió dels gens normalment expressats en teixit adipós i una baixa expressió de gens epitelials luminals. Per tant, no expressa cap dels gens mutats que expressen els altres tipus moleculars del càncer de mama.

A banda dels marcadors moleculars principals de càncer de mama, existeixen altres receptors poc freqüents en el càncer de mama que poden alterar les seves característiques morfològiques. Un exemple de marcador que pot estar present són els marcadors neuroendocrins, que, quan s'expressen en més del 50% de la població cel·lular constitueixen un Tumor NeuroEndocrí (TNE). El TNE de mama, és una entitat estranya que la OMS defineix com un grup de tumors de característiques morfològiques similars a les d'aquells trobats al conducte gastrointestinal i pulmonar (PUENTE BLANCO, Rebeca, *et al.*).

2.3.4. Diagnòstic i símptomes del càncer de mama

Diagnòstic del càncer de mama

El diagnòstic del càncer de mama és un procés complicat i que implica diverses proves per tal de verificar o negar la presència d'un tumor cancerós a la mama (FAUCI, Anthony, *et al.* KASPER, *et al.* EVISCIENCE). A més, el procés de diagnòstic del càncer de mama, de la mateixa manera que algunes de les seves característiques, és diferent per dones premenopàusiques i en dones postmenopàusiques. Tot el procés de diagnòstic, a més d'estar explicat a continuació està representat en forma de diagrama a la figura 3.

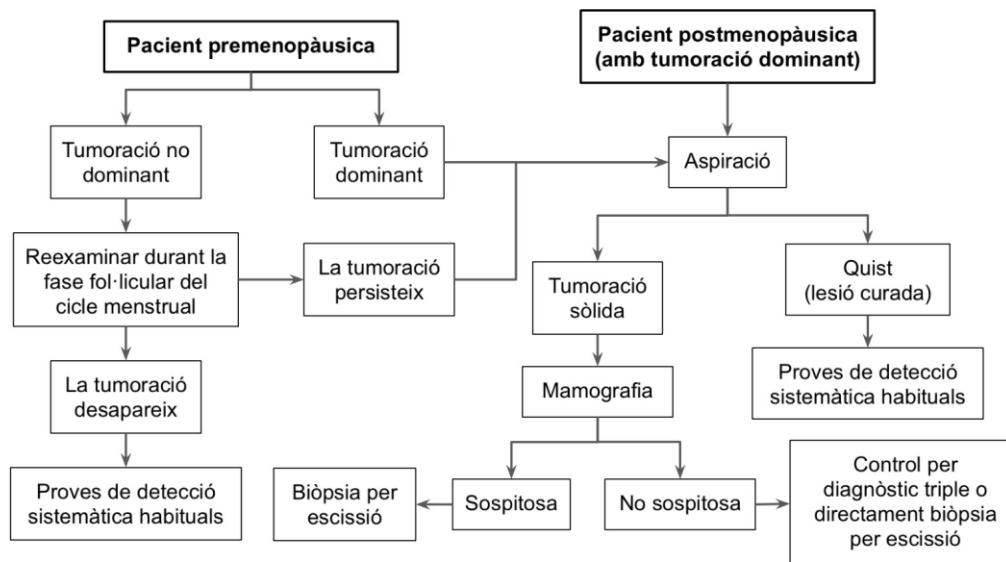


Figura 3. Diagrama del procediment de diagnòstic del càncer de mama.

Figura de creació pròpia a partir de diagrames de les fonts FAUCI, Anthony, *et al.* KASPER, *et al.* EVISCIENCE.

Generalment, els tumors de mama es detecten, primerament, per palpació de la zona afectada. Per això, és important inculcar l'hàbit de palpar-se a un mateix per tal d'identificar els tumors tan aviat com sigui possible i poder actuar en conseqüència. En dones premenopàusiques la palpació de la massa observada pot resultar en la detecció d'una tumoració dominant o no dominant. El fet que la tumoració sigui dominant significa que la seva mida i les seves altres característiques indiquen que pot ser un tumor cancerós. En canvi, si la tumoració no és dominant, el més probable és que no constitueixi cap risc de càncer. En el cas que la tumoració sigui dominant s'hauria de procedir a la següent prova, l'aspiració o biòpsia per aspiració amb agulla fina de la massa tumoral. En el cas que no ho sigui, és necessari tornar a examinar la massa mitjançant palpació de dos a quatre setmanes més tard, quan la pacient es trobi en una fase menstrual anomenada *fase fol·licular*. Si, després d'aquest segon examen, la tumoració persisteix, també es realitza una prova d'aspiració. Si, en canvi, la tumoració desapareix, es descarten els riscos de desenvolupar càncer de mama, però es realitzen deteccions de rutina per assegurar que no reaparegui la massa. Per altra banda, en dones postmenopàusiques únicament es troben tumoracions dominants i, per tant, es realitza automàticament la prova de l'aspiració. La biòpsia per aspiració amb agulla fina consisteix en una punció i extracció amb agulla fina del

teixit o líquid de la massa anormal per analitzar-ne les característiques en el microscopi. Això inclou comprovar la presència o absència de *líquid hemàtic* i d'una massa residual, a més de si la massa presenta reacumulació de líquid després de l'aspiració. El procediment que es segueix per realitzar una aspiració està representat a la figura 4, i pot resultar en el diagnòstic d'un quist o d'una tumoració sòlida. En el cas que es diagnostiqui un quist, es descarta el risc de tumor cancerós i només s'ha de realitzar proves de detecció sistemàtica de rutina. En canvi, si es diagnostica una tumoració sòlida s'ha de procedir a realitzar una mamografia, és a dir, una exploració amb rajos X de la glàndula mamària que permet visualitzar-ne les estructures internes. Si la massa, examinada mitjançant una mamografia, sembla sospitosa es realitza automàticament una biòpsia per escissió, que té l'objectiu d'aclarir completament si la massa és un tumor cancerós. La biòpsia per escissió és un procediment quirúrgic que consisteix a extirpar la massa sospitosa per poder observar-la al microscopi. En canvi, si la massa analitzada sembla no sospitosa o "benigna", és possible que es realitzi tant una biòpsia per escissió com un diagnòstic triple. El diagnòstic triple és la suma de les proves de palpació de la zona, una mamografia i una biòpsia per aspiració amb agulla fina, seguint un procediment que s'explica a la figura 5. Les tres tècniques que formen el diagnòstic

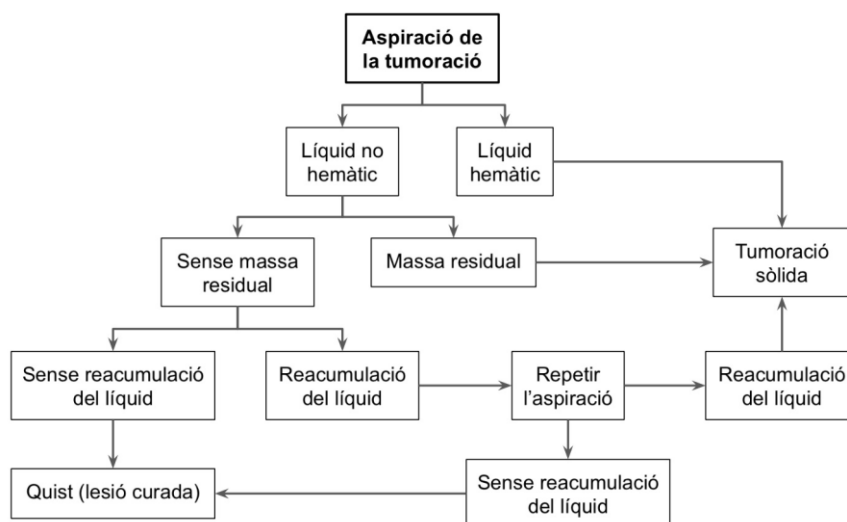


Figura 4. Diagrama del procediment d'una aspiració del tumor

Figura de creació pròpia a partir de diagrames de les fonts FAUCI, Anthony, *et al.* KASPER, *et al.* EVISCIENCE.

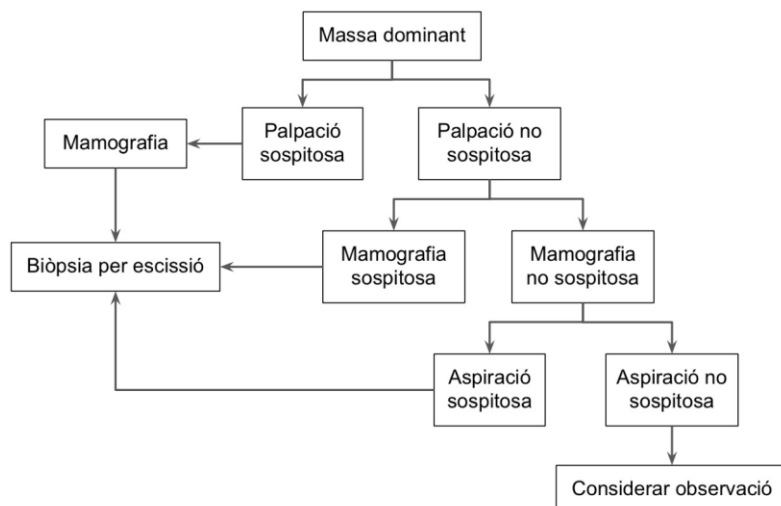


Figura 5. Diagrama del procediment del diagnòstic triple.

Figura de creació pròpia a partir de diagrames de les fonts FAUCI, Anthony, *et al.* KASPER, *et al.* EVISCIENCE.

triple, conjuntament, tenen l'objectiu d'ometre la biòpsia per escissió, la qual requereix cirurgia. Finalment, depenent del resultat d'aquestes últimes proves es determina si la pacient necessita un tractament o no, i, en cas afirmatiu, quina teràpia ha de seguir.

Síntomes del càncer de mama

La detecció d'una massa irregular a la mama que sigui considerada cancerosa majoritàriament va acompanyada de diversos altres símptomes i signes propis del càncer de mama (PRAT, Aleix, *et al.*). Aquests símptomes poden variar lleugerament segons el tipus de càncer de mama, tant molecular com segons zona. No obstant, la gran majoria de càncers de mama comparteixen unes característiques molt similars, les quals es descriuen breument a continuació. Primer de tot, s'ha de tenir en compte l'aparició d'un **tumor o massa a la mama**, el qual pot tenir diferents característiques en relació a la duresa, la forma i el fet de causar dolor. A més, l'aparició d'aquest tumor ve acompanyat de **diversos canvis** en les característiques habituals dels teixits de la mama, com inflamacions, irritacions, sagnats, o alteracions del mugró. Aquestes propietats característiques de mames afectades per càncer es veu representades a la figura 6.

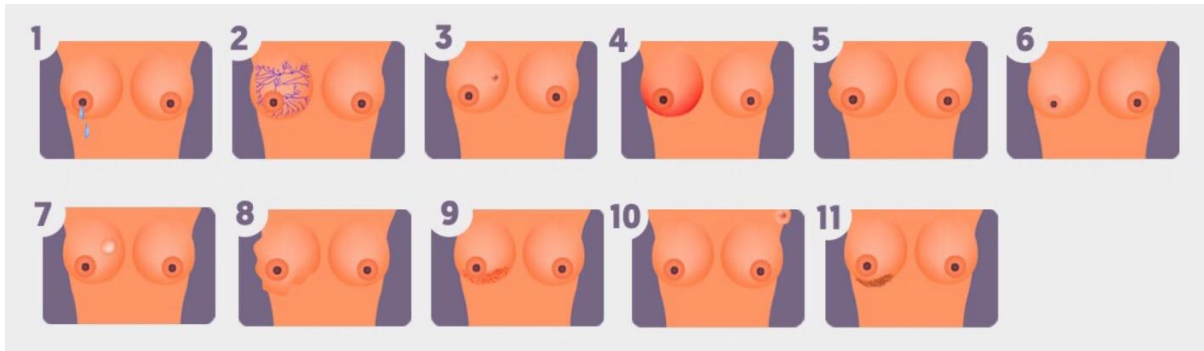


Figura 6. Representació conceptual de les alteracions de tot tipus dels teixits de la mama com a conseqüència del càncer de mama.

La imatge mostra les diferents afeccions que pot presentar la mama o el mugró com un símptoma del càncer de mama, a més d'un possible dolor en aquesta zona. Primerament, és possible que la pacient produeixi descàrregues pel mugró de líquids diferents a llet (1) o que tingui unes venes fàcilment visibles a la superfície de la mama (2). En segon lloc, també poden aparèixer masses tumorals sòlides (3), envermelliment o inflamació de la pell (4), o un enfonsament d'una regió de la mama (5). També pot presentar certa retracció del mugró o canvis en la seva forma i el color de l'àrèola (6), o crostes i ferides a la pell (7). Per altra banda, també poden aparèixer canvis a la forma de la mama (8) i irritacions de la pell o canvis en la seva textura (9). Per acabar, si hi ha metàstasi histològica, els ganglis limfàtics regionals poden estar inflamats (10), i també pot haver-hi un engruiximent o enduriment del mugró i del teixit epidèrmic de la mama (11).

Figura editada a partir de la figura original de la font BREAST CANCER.

Per altra banda, el càncer de mama també té diversos **símptomes menys localitzats** i més amplis que afecten altres òrgans o el funcionament del cos sencer. Per exemple, el fet de tenir càncer en una mama habitualment dificulta la mobilitat del braç del mateix costat que la mama afectada. El càncer de mama també provoca que l'individu pateixi una pèrdua de pes considerable i inintencionada i que es trobi en un estat de fatiga constant. A més, origina dolors ossis i vaginals, a banda dels localitzats a la mama, i pot, fins i tot, causar desequilibris hormonals.

2.3.5. Tractaments més comuns contra el càncer de mama

En últim lloc, en aquest apartat es descriuen amb detall els diferents tractaments que s'utilitzen per tractar el càncer de mama (KASPER, *et al.*). A més, s'especifica en quines situacions s'ha d'escollir cada tractament a partir del tipus de càncer de mama segons l'estadi en que es troba i segons les dues classificacions possibles. D'aquesta manera, és possible determinar el millor tractament en cada cas de

càncer de mama per tal d'obtenir uns millors resultats i d'intentar evitar la seva recurrència. No obstant, abans de poder discernir en quins casos s'aplica cada tractament és important entendre el funcionament de cada tractament en concret. Per una banda, es poden utilitzar tractaments localitzats, és a dir, tractaments dirigits específicament a la zona del tumor i que no afecten a la resta del cos. Per altra banda, també existeixen els tractaments sistèmics, els quals sí que es dirigeixen a tot el cos i no només a la zona del tumor inicial. Els tractaments localitzats inclouen la cirurgia i la radioteràpia, mentre que els tractaments sistèmics inclouen la quimioteràpia, la hormonoteràpia i totes les teràpies dirigides.

Tractaments localitzats

Com que només afecten la zona del tumor inicial, els tractaments localitzats generalment s'utilitzen per eliminar aquesta massa tumoral tant en tumors *in situ* com en tumors que han envaït altres zones o han fet metastasi (en aquests últims casos també és necessari un tractament sistèmic). Són els següents:

- **Cirurgia:** consisteix a realitzar una operació instrumental o manual a quiròfan per tal d'extreure el tumor de mama i més o menys part de l'àrea que l'envolta. Depenent de quanta part de la mama s'extirpi, es diferencien diferents tipus de cirurgies de la mama. La **lumpectomia o cirurgia de preservació de la mama** és una cirurgia que únicament elimina el tumor i el teixit circumdant, de manera que no afecta massa la forma general de la mama. A més, en alguns casos, també s'extreuen alguns ganglis limfàtics per analitzar-los i decidir si s'ha de canviar el tractament. En canvi, la **mastectomia o cirurgia amb extirpació completa de la mama**, com el seu nom indica, és una cirurgia que extreu, no només el tumor, sinó també tot la mama. A més, es diferencien diversos tipus de mastectomia, alguns dels quals també inclouen l'extracció de ganglis o de músculs propers a la mama. A causa de la gran part de la mama que s'extreu i de la clara cicatriu que deixa la mastectomia, després d'aquesta operació es sol realitzar una reconstrucció de la mama.
- **Radioteràpia:** consisteix en el tractament del tumor mitjançant l'emissió de radiacions ionitzants d'alta freqüència. En el cas de la radioteràpia, també es diferencien diferents teràpies que utilitzen les radiacions de diferents maneres. En primer lloc, la **radiació externa**, que pot ser **parcial o total**,

depenent de si afecta només a la zona del tumor o a la mama sencera. La radiació externa consisteix a irradiar la mama amb dos feixos radioactius externs des de dos fonts de tractament oposades i enfrontades. Un d'aquests feixos comença en el costat extern de la mama i està orientat cap a la meitat del tòrax, i l'altre comença a la meitat del tòrax i acaba en el costat extern de la mama. A més d'aquests dos feixos bàsics, en certs casos en que els ganglis limfàtics estan afectats, s'utilitzen feixos addicionals per irradiar diferents zones. En segon lloc, es pot utilitzar la **radiació interna o braquiteràpia**, que es basa en l'ús d'implants de materials radioactius col·locats a prop del tumor mitjançant cirurgia. En el cas que l'implant es col·loqui en una cavitat propera al tumor, la teràpia es qualifica com a **intracavitària**, però si l'implant es col·loca directament en el teixit on hi ha el tumor, la teràpia es qualifica com a **intersticial**. L'últim tipus de radioteràpia és la **radiació intraoperatòria (RIO)**, que es duu a terme immediatament després d'una lumpectomia, encara a quiròfan. Un cop s'ha extret el tumor i el teixit circumdant, s'irradia el teixit on es trobava el tumor amb un feix radioactiu, de manera que l'afecta de forma més directa que la radiació externa habitual.

Tractaments sistèmics

Són aquells tractaments que, a més d'afectar a la zona del tumor, afecten a tot el cos, així que majoritàriament s'utilitzen en càncers que han proliferat fora de l'àrea inicial i han fet metàstasi, a més d'eliminar el tumor inicial amb un tractament localitzat. Tot i això, en alguns casos també es poden utilitzar per debilitar un tumor inicial i poder extirpar-lo amb més facilitat.

- **Quimioteràpia:** consisteix a administrar una medicació generalment de manera oral o intravenosa i amb regularitat, la qual ataca les cèl·lules que es troben en un estat proliferatiu accelerat, és a dir, que es reproduïxen amb rapidesa, com és el cas de les cèl·lules tumorals. És per això que la quimioteràpia també provoca la pèrdua de cabells, entre d'altres efectes secundaris. Existeixen diversos tipus de fàrmacs quimioterapèutics, cadascun amb un funcionament lleugerament diferent i, per tant, amb efectes secundaris diferents. A partir d'aquests efectes secundaris, del tipus

molecular del càncer, de l'estadi en que es troba i de si la pacient és premenopàusica o postmenopàusica es tria un tipus de quimioteràpia o un altre. Les quimioteràpies més comunes s'enumeren a continuació⁴: Adriamicina (doxorubicina), Ellence (epirubicina), Cytosan (ciclofosfamida), Taxotere (docetaxel), Taxol (paclitaxel), Xeloda (capecitabina), Ixempra (ixabepilona), Mexate (metotrexat) i Aducil (fluorouracil o 5-FU), entre d'altres. Per tal d'obtenir millors resultats, aquests medicaments quimioterapèutics es poden combinar entre ells i amb teràpies dirigides, com es veu més tard en aquest mateix apartat. A més, com ja s'ha vist anteriorment, la quimioteràpia s'utilitza com a teràpia complementària a les teràpies localitzades de diverses maneres. En el cas que la quimioteràpia s'apliqui després de la cirurgia per eliminar les cèl·lules tumorals romanents i reduir la recurrència del càncer, la quimioteràpia es qualifica com a **adjuvant**. Per altra banda, la quimioteràpia **neoadjuvant** es duu a terme abans de la cirurgia per reduir la mida del tumor abans de poder extirpar-lo.

- **Hormonoteràpia:** consisteix a utilitzar certs fàrmacs per reduir la recepció d'estrògens i progesterona de les cèl·lules per tal que no estiguin tan estimulades a créixer i proliferar. Clarament, l'hormonoteràpia només s'utilitza contra càncers amb receptors hormonal positius, ja que són els únics càncers que es veuen afectats per la concentració d'hormones en el medi. Existeixen diferents fàrmacs hormonoterapèutics que funcionen de maneres diferents però assoleixen el mateix objectiu, els quals es descriuen a continuació. Primerament, els **Moduladors Selectius dels Receptors d'Estrògens (MSRE)**, com el Nolvadex (tamoxifè), actuen com els propis estrògens, adherint-se en els receptors d'estrògens, incapacitant-los i així evitant que els estímuls de creixement arribin a la cèl·lula. En segon lloc, també s'usen **Inhibidors de l'Aromatasa**, uns fàrmacs hormonoterapèutics que redueixen la concentració d'estrògens en el cos. Aquests fàrmacs només funcionen en dones postmenopàusiques, ja que per reduir la quantitat d'estrògens ataquen la seva producció a les glàndules suprarenals i al teixit

⁴ En tots els tractaments sistèmics apareixen exemples de fàrmacs concrets, els quals s'anomenen amb dos noms, el segon dels quals s'escriu entre parèntesi. Aquest segon nom entre parèntesi és el nom genèric del medicament, és a dir, el nom científic de la substància química. En canvi, els noms que els precedeixen són els noms comercials del mateix medicament, és a dir, el nom amb el qual l'empresa propietària ha batejat el producte.

adipós, que produeixen gran part dels estrògens un cop els ovaris passen a ser inactius (menopausa). Uns exemples molt utilitzats són Verzenios (abemaciclib)⁵, Arimidex (anastrozol), Aromasin (exemestà) i Femara (letrozol). Un altre tipus d'hormonoteràpia són els **Antagonistes dels Receptors d'Estrògens (ARE)**, com per exemple el Faslodex (fulvestrant). Aquest tipus de fàrmac destrueix els receptors d'estrògens de les cèl·lules tumorals per tal que no puguin rebre els estímuls hormonals i créixer. Finalment, en dones premenopàusiques també és comú l'**extirpació temporal o definitiva de l'ovari**, de manera que disminueix la producció hormonal de la dona afectada. Les extirpacions temporals de l'ovari es duen a terme mitjançant tractaments hormonals, com Zoladex (goserelina) o Lupron (leuprolida), els quals anul·len la producció d'estrògens de l'ovari. En canvi, la extirpació definitiva de l'ovari o **ovariectomia** es duu a terme mitjançant cirurgia i consisteix en la seva extracció.

- **Teràpies dirigides:** totes aquelles teràpies que ataquen alguna característica o algun marcador concret de les cèl·lules tumorals del càncer de mama per tal d'evitar que algun procés important es dugui a terme. El marcador molecular concret al que es dirigeix una teràpia dirigida s'anomena **blanc terapèutic**. Un clar exemple de teràpia dirigida són les **teràpies dirigides a HER2**, és a dir, aquells tractaments que tenen com a objectiu bloquejar d'alguna manera els receptors HER2 perquè la cèl·lula no pugui rebre senyals de creixement. Un exemple és Herceptin (trastuzumab), que actua a la superfície de la cèl·lula bloquejant les senyals químiques que estimulen a la cèl·lula. Un altre tractament dirigit a aquest mateix blanc terapèutic s'anomena Tykerb (lapatinib) i, a diferència de Herceptin, actua a l'interior de la cèl·lula evitant que les *cinases* puguin funcionar correctament, de manera que no es transmet la senyal de creixement. Una tercera teràpia dirigida a HER2, la qual funciona de manera similar a Herceptin, és Perjeta (pertuzumab), ja que també bloqueja els receptors HER2. És clar que aquestes teràpies només s'utilitzen contra càncers amb receptors HER2 positius, però depenent de les seves característiques i de les dels pacients

⁵ Verzenios (abemaciclib) és un tractament quimioterapèutic revolucionari desenvolupat a Espanya molt recentment (posat a la venda l'any 2019), que alenteix la velocitat de la progressió del tumor a la meitat.

es tria un medicament o altre. Per exemple, com que Herceptin afecta al cor, no s'administra a pacients amb dolències cardíques i només en casos especials es barreja amb tractaments quimioterapèutics. Tykerb, per altra banda, només es pot administrar alhora que un medicament quimioterapèutic concret, Xeloda (capecitabina). A més, alguns d'aquests medicaments es poden utilitzar de diferents maneres, com també és el cas de Herceptin, que es pot ajuntar amb una quimioteràpia concreta anomenada emtansina, de manera que formen un nou medicament anomenat Kadcycla (T-DM1 o trastuzumab emtansina). En aquest medicament, el trastuzumab funciona únicament com a vehicle de la quimioteràpia emtansina fins a les cèl·lules amb sobreexpressió de HER2. A més de les teràpies dirigides a HER2, també existeixen teràpies dirigides altres blancs terapèutics. Un clar exemple són les **teràpies dirigides a FCEV (Factor de Creixement Endotelial Vascular)**, una proteïna que té la funció d'estimular l'angiogènesi. La principal teràpia dirigida a FCEV és Avastin (bevacizumab), que s'adhereix a les proteïnes FCEV i les inhabilita a realitzar la seva funció. A més, Avastin es pot administrar únicament alhora que la quimioteràpia Taxol (paclitaxel). No obstant, l'any 2018 es va anunciar que els efectes del medicament Avastin no estan demostrats, però no es va retirar del mercat. Un altre tractament possible és la **teràpia dirigida a mTOR (blanc de rapamicina dels mamífers)**, una proteïna que participa en el creixement i la supervivència de les cèl·lules i que abunda en cèl·lules canceroses. El medicament dirigit a mTOR s'anomena Afinitor (everolimus) i impedeix l'acció de mTOR, causant, en molts casos, la mort de les cèl·lules afectades. Generalment, Afinitor s'utilitza contra tumors amb receptors hormonals positius que han deixat de respondre a Arimitex, Aromasin o Femara, ja que en ells abunda la proteïna mTOR. Un altre tractament actualment molt utilitzat és la **teràpia dirigida a les cinases dependents de ciclins 4/6**, un tipus concret de cinases que controlen la divisió cel·lular. El medicament utilitzat contra aquestes cinases és Ibrance (palbociclib), un inhibidor de les cinases dependents de ciclins 4/6, que habitualment s'utilitza en càncers HER2-negatius i RH-positius alhora.

Tractament segons estadi i tipus de càncer

L'estadi en el qual es troba el càncer, el tipus molecular de càncer i el tipus de càncer de mama segons la zona que afecta determinen el camí que haurà de seguir el tractament per tal de curar el càncer en la mesura en què sigui possible i evitar-ne la recurrència. En conjunt, aquestes tres característiques del càncer, sumades a alguns altres aspectes, s'utilitzen per escollir el tractament òptim en cada cas, com s'esquematitza a la Taula 4.

En primer lloc, conèixer l'estadi en què es troba el càncer és important per tal de determinar l'agressivitat del tractament. Com més elevat és l'estadi en què es troba el càncer, més desenvolupat està el càncer en qüestió i, per tant, més agressiu i complet ha de ser el tractament aplicat. Si el tumor es troba en els estadis 0, I, II o III, segurament serà necessari aplicar un tractament localitzat i és possible que, sobretot en els últims estadis, es requereixi un tractament sistèmic. En el **estadi 0**, per començar, és possible que només es requereixi observació constant, però també poden ser necessàries tota mena de teràpies, des de cirurgia fins a hormonoteràpia. En el **estadi I** el tractament mínim que pot rebre la pacient és una lumpectomia, però, igual que en els altres estadis, també poden ser necessaris tractaments més agressius. En els **estadis II i III** ja és més probable que una mastectomia i radioteràpia siguin necessàries, i potser també algun tractament sistèmic, com la hormonoteràpia, les teràpies dirigides o, fins i tot, la quimioteràpia.

Taula 4. Tractaments segons tipus de càncer de mama en cada estadi i amb cada tipus molecular. L'eix vertical indica els diferents tipus de càncer segons la zona a la que afecten i en els diferents estadis en els quals pot trobar-se cada tipus de càncer. L'eix horitzontal indica els diferents tipus moleculars de càncer de mama segons els receptors que presenten. La taula ha estat elaborada per l'autor a partir dels tractaments descrits en aquest mateix apartat. En ella, apareixen els tractaments més comuns contra el càncer de mama: lumpectomia (L), mastectomia (M), radioteràpia (R), quimioteràpia (Q), quimioteràpia adjuvant (Qa), quimioteràpia neoadjuvant (Qn), hormonoteràpia (H), i teràpies dirigides al HER2 (HER2). Els signes de suma "+" afegixen altres tractaments en el ordre en el qual s'administren, els parèntesis "(" indiquen tractaments opcionals, i les comes "," indiquen una separació entre dues seqüències de tractaments possibles. És important recordar que aquesta taula ha esta elaborada a partir de la recerca realitzada per l'autor, de manera que els tractaments i les seves repeticions estan molt simplificats, i, evidentment, no és un protocol oficial que apliquin els metges.

^a En el CMI, l'últim tractament sistèmic (després de la radioteràpia) pot ser per evitar recurrència, si es troba en els Estadis I, II o III, o per eliminar la metàstasi, si es troba en l'Estadi IV.

^b Els tractaments de la malaltia del mugró de Paget es descriuen com es duen a terme si no hi hagués cap altre càncer de mama complementari. En el cas que sí que n'hi hagi, es recomana aplicar el tractament de Paget i el del tumor complementari junts.

Taula de creació pròpia

		Luminal A	Luminal B1	Luminal B2	HER2 -positiu	Triple negatiu	Normal
CDIS	Estadi 0	L + R (+H)	L + R (+H), L + R (+Q)	L + R (+H), L + R (+HER2)	L + R	L + R	L + R
CDI	Estadi I	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R
	Estadi II	M + R	M + R	M + R	M + R	M + R	M + R
	Estadi III	M + R (+H)	M + R (+H), M + R (+Q)	M + R (+H), M + R (+HER2)	M + R (+HER2)	M + R (+Q)	M + R (+Q)
	Estadi IV	M + R + H	M + R + H, M + R + Q	M + R + H, M + R + HER2	M + R + HER2	M + R + Q	M + R + Q
CLIS	Estadi 0	M (+H)	M (+H), M (+Q)	M (+H), M (+HER2)	M (+HER2)	M (+Q)	M (+Q)
CLI	Estadi I	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R
	Estadi II	M + R	M + R	M + R	M + R	M + R	M + R
	Estadi III	M + R (+H)	M + R (+H), M + R (+Q)	M + R (+H), M + R (+HER2)	M + R (+HER2)	M + R (+Q)	M + R (+Q)
	Estadi IV	M + R + H	M + R + H, M + R + Q	M + R + H, M + R + HER2	M + R + HER2	M + R + Q	M + R + Q
CMI^a	Estadis I, II, III i IV	Qn (+H) + M + R + H	Qn (+H) + M + R + H, Qn (+H) + M + R + Qa	Qn (+H) + M + R + H, Qn (+HER2) + M + R + HER2	Qn (+HER2) + M + R + HER2	Qn + M + R + Qa	Qn + M + R + Qa
Malaltia del mugró de Paget^b	Estadis 0, I, II i III	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R
Tumors fil·loides	Estadi 0	L (+R)	L (+R)	L (+R)	L (+R)	L (+R)	L (+R)
	Estadi I	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R	L + R
	Estadi II	M + R (+H)	M + R (+H), M + R (+Q)	M + R (+H), M + R (+HER2)	M + R (+HER2)	M + R (+Q)	M + R (+Q)
	Estadi III	M + R (+H)	M + R (+H), M + R (+Q)	M + R (+H), M + R (+HER2)	M + R (+HER2)	M + R (+Q)	M + R (+Q)

Finalment, en el **estadi IV**, com que hi ha metàstasi a distància, a més d'eliminar la massa tumoral inicial amb tractaments localitzats, és completament necessari aplicar tractaments sistèmics per eliminar els romanents de cèl·lules tumorals a la sang i per l'organisme.

En segon lloc, la classificació dels tipus de càncer de mama segons la zona que afecten és molt útil a l'hora de destriar el procediment a seguir per aplicar els tractaments adequats en l'ordre adequat. Depenent de la part de la mama i de la naturalesa i invasivitat del càncer es seguirà un procediment diferent per tal de tractar-lo. A continuació es descriuen els tractaments utilitzats per a cada tipus de càncer segons aquesta classificació en cadascun dels estadis en els quals es pot trobar el càncer en qüestió, ja que no tots els càncers poden trobar-se en tots els estadis⁶. Per començar, els **CDIS** s'acostuma a tractar amb teràpies localitzades, ja que és un càncer no invasiu. Per exemple, es pot tractar amb una lumpectomia sense tractaments complementaris, de manera que té entre un 25% i un 30% de probabilitat de causar recurrència. Tanmateix, és més comú complementar la lumpectomia amb radioteràpia, ja que la probabilitat de recurrència disminueix fins a un 15%. Per altra banda, el CDIS es pot tractar amb una mastectomia en casos en els quals el tumor supera una certa grandària i amb hormonoteràpia en uns casos concrets explicats en aquest mateix apartat. El **CDI**, que té lloc quan el CDIS envaeix els teixits circumdants, pot tractar-se de diferents maneres depenent de si s'ha estès als ganglis regionals o si ha fet metàstasi. En el cas que el tumor no s'hagi propagat als ganglis limfàtics regionals, el tractament més comú és una lumpectomia seguida de radioteràpia. En canvi, si hi ha metàstasi histològica als ganglis regionals, és més probable que es tracti CDI amb mastectomia i radioteràpia o, en alguns casos, amb hormonoteràpia. A més, si el CDI ha fet metàstasi a distància, es pot tractar amb quimioteràpia o teràpies dirigides. Per altra banda, en cas del **CLIS** l'objectiu del tractament és evitar que el tumor evolucioni a un càncer invasiu, ja que el tumor no invasiu no representa cap perill per si sol. Per tal d'assolir aquest objectiu el més comú és realitzar una mastectomia de les dues mames o, en certs casos que

⁶ És important entendre que el CDIS només pot trobar-se en l'Estadi 0, ja que és un carcinoma in situ. En el cas que envaeixi els teixits circumdants, afecti els ganglis regionals o faci metàstasi, el càncer deixa de ser CDIS i passa a ser CDI. Per tant, els tractaments descrits en aquest paràgraf només refereixen al CDIS en Estadi 0, cosa que també passa exactament igual amb el CLIS. També s'entén que tant el CDI com el CLIS només poden estar en estadis superiors a l'Estadi 0, ja que el seu estadi in situ és el CDIS i el CLIS respectivament. Per altra banda, el CMI es considera que no es pot trobar en l'Estadi 0, ja que no comença amb un tumor localitzat sinó amb la inflamació de tota la mama, així que pot trobar-se en l'Estadi I o superiors. Finalment, la malaltia del mugró de Paget i els tumors fil·loides es considera que poden arribar com a molt a l'Estadi III. En el cas de Paget, el tumor pot créixer i ser invasiu, però no pot fer metàstasi histològica als ganglis regionals no metàstasi distant, sinó que el tumor que s'escampa a distància és el segon tumor que acostuma a acompanyar a la malaltia del mugró de Paget. D'una manera similar, com que els tumors fil·loides no es disseminin fora de la mama en la gran majoria de casos, es considera que poden arribar com a màxim fins l'Estadi III.

s'expliquen més tard en aquest mateix apartat, aplicar una hormonoteràpia. En aquest cas concret de CLIS la hormonoteràpia més utilitzada és un MSRE, el tamoxifè, normalment comercialitzat com a Nolvadex. En el cas que el CLIS envaeixi els teixits circumdants, el tumor passa a ser un **CLI**, i, per tant, requereix teràpies més agressives. Les teràpies adequades per al CLI són similars a les del CDI: si no s'ha estès als ganglis limfàtics regionals s'aplica una lumpectomia seguida de radioteràpia, si s'ha estès es tracta amb mastectomia i radioteràpia (i en alguns casos hormonoteràpia), i si ha fet metàstasi es poden afegir quimioteràpia o teràpies dirigides, depenent del tipus de càncer. Per altra banda, el **CMI**, com que no està constituït per una tumoració sòlida i localitzada sinó per una inflamació regional, de manera que no pot trobar-se en Estadi 0, té un tractament bastant més delimitat. Per començar, s'administra quimioteràpia neoadjuvant i es realitza una mastectomia de la mama afectada. A més de la quimioteràpia, en certs casos, es poden administrar hormonoteràpies o certes teràpies dirigides, dintre de les quals destaca el Tykerb (lapatinib), una teràpia dirigida a HER2. Després de la mastectomia, el més comú és aplicar radioteràpia per eliminar les cèl·lules romanents de la tumoració inicial. Finalment, per evitar recurrència del càncer, es pot administrar quimioteràpia adjuvant, hormonoteràpia o Herceptin (trastuzumab), una teràpia dirigida al HER2, depenent de les característiques moleculars del càncer. A més, si el CMI ha fet metàstasi, és comú administrar a la pacient algun tractament sistèmic també depenent en el tipus molecular de càncer. En el cas de la **malaltia del mugró de Paget**, depenent de si va acompanyada d'un altre càncer de mama, es pot realitzar una simple lumpectomia amb radioteràpia complementària, si no hi ha evidència de més càncers, o una mastectomia, si n'hi ha. Generalment, per Paget sol, la lumpectomia amb radioteràpia acostuma a ésser suficient, però si la pacient presenta més càncers de mama s'acostuma a acompanyar la mastectomia amb tractaments sistèmics per evitar recurrència i, en certs casos, eliminar metàstasi. Finalment, en el cas dels **tumors fil·loides**, que acostumen a ser molt poc invasius i no solen causar metàstasi, només és necessari extirpar el tumor amb una lumpectomia o mastectomia depenent de la mida del tumor i, per evitar recurrència, afegir algun tractament complementari, com radioteràpia o hormonoteràpia.

Per acabar, la classificació del càncer de mama en tipus moleculars és absolutament necessària per determinar els tractaments sistèmics adequats en

cada cas. Si el càncer té receptors hormonals positius, la hormonoteràpia és un possible tractament. Si, en canvi, té receptors HER2 positius, és probable que el tractament més adequat sigui una teràpia dirigida a HER2. Per altra banda, si el tumor és agressiu i de creixement ràpid o no té altres marcadors moleculars positius, la quimioteràpia és la millor opció. Finalment, en altres casos concrets de tots els tipus menys el normal, també poden ser útils altres teràpies dirigides. Per tant, el tipus molecular de càncer de mama Luminal A s'acostuma a tractar amb hormonoteràpia, ja que és RH-positiu i HER2-negatiu, o amb teràpies dirigides a mTOR o a cinases dependents de les ciclines 4/6. En canvi, el tipus Luminal B pot tractar-se tant amb hormonoteràpia, com amb quimioteràpia o teràpies dirigides a HER2. En concret, el subtipus Luminal B1 habitualment es tracta amb hormonoteràpia o quimioteràpia, ja que només té els receptors hormonals positius i té un creixement prou ràpid. El subtipus Luminal B2 s'acostuma a tractar amb hormonoteràpia o teràpies dirigides a HER2, ja que és RH-positiu i HER2-positiu. Per altra banda, el tipus HER2-positiu, com el seu nom indica, principalment es tracta amb teràpies dirigides a HER2 i, en alguns casos, quimioteràpia. El tipus molecular basal o triple negatiu, en canvi, pràcticament sempre es tracta amb quimioteràpia, ja que, com que és de creixement molt ràpid, és altament sensible a aquest tractament. A més, no té els receptors necessaris per ser sensible a hormonoteràpia o teràpies dirigides a HER2, però sí que es pot tractar en certs casos amb altres teràpies dirigides. Finalment, el tipus normal, com que té uns marcadors idèntics als de les cèl·lules normals, no és sensible a cap altre tractament que la quimioteràpia.

3. Material i mètodes

En aquest apartat del treball es descriuen les diferents parts pràctiques que s'han dut a terme, totes elles orientades a la millora o optimització d'algun aspecte del càncer de mama. Abans d'iniciar la detallada descripció de les parts pràctiques, però, és important mencionar que dues fonts bibliogràfiques s'han utilitzat extensament durant tot el treball, i, per tant, no es poden citar a cada dada per la qual s'han utilitzat. Són els següents: NATIONAL CANCER INSTITUTE (NCI) i BREAST CANCER, ambdós citats a la bibliografia.

3.1. Enquesta sobre el coneixement i la incidència del càncer de mama

La primera secció de la part pràctica la constitueix una enquesta sobre el càncer de mama. Primer de tot, l'enquesta inclou una breu introducció explicativa, on es descriu el tema del treball, es demana la difusió de l'enquesta (sobretot amb adults) i es descriuen les parts de l'enquesta i el temps que es triga en respondre-la.

3.1.1. Part 1: com d'informat estem sobre el càncer de mama?

La primera part de l'enquesta aspira a estimar com d'informatada estan els ciutadans sobre el càncer i, en concret, sobre el càncer de mama. Per tant, totes les preguntes fan referència als coneixements dels enquestats, a qui es demana que responguin segons el que saben sense ajuda de recursos externs. Les preguntes d'aquesta part estan ordenades seguint una estructura de piràmide invertida, anant de preguntes més generals sobre el càncer a preguntes més concretes del càncer de mama. A més, aquesta part de l'enquesta inclou preguntes per tal de determinar el coneixement dels enquestats en l'àrea del càncer i del càncer de mama, i preguntes que demanen la valoració dels propis enquestats respecte el seu coneixement en aquest tema. A continuació, s'exposen les preguntes de la primera part de l'enquesta amb les opcions de resposta, la resposta correcta marcada en negreta (si n'hi ha) i el mode de resposta corresponent.

Pregunta: Quin percentatge de la població té, ha tingut o tindrà càncer en algun moment de la seva vida?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- 0-25%
- **25-50% (38,4%)**
- 50-75%
- 75-100%

Pregunta: Quants tipus de càncers creus que existeixen?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- Menys de 50
- 50-150
- **150-250 (191)**
- Més de 250

Pregunta: Quin percentatge de dones ha tingut, té o tindrà càncer de mama en algun moment de la seva vida?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- 0-10%
- **10-20% (12,8%)**
- 20-30%
- >30%

Pregunta: Quina taxa de supervivència (5 anys després del diagnòstic) té el càncer de mama?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- <70%
- 70-80%
- **80-90% (89,6%)**
- 90-100%

Pregunta: Sabies que el càncer de mama afecta tant a dones com a homes?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- Sí
- No

Pregunta: Consideres que saps què és i en què consisteix el càncer de mama?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- Sí, perfectament
- Sí, bastant
- Més o menys
- No gaire
- No, gens

Pregunta: Creus que t'hauries d'informar tant sobre el càncer de mama com sobre altres càncers?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- Sí, definitivament
- Potser una mica més
- No, no hi veig la necessitat
- No, ja en se bastant
- Altres⁷

Pregunta: Com creus que t'hauries d'informar sobre aquest tema?

Mode de resposta: Selecció de tantes respostes com es desitgi.

Possibles respostes:

- Ens haurien d'informar a l'escola
- Hi hauria d'haver més propaganda per part dels governs

⁷ La opció "Altres" ofereix la possibilitat a l'enquestat d'escriure la seva pròpia resposta personalitzada si no considera suficients les respostes proposades a l'enquesta.

- Assistint a xerrades i events
- Informant-me per internet
- No em cal informar-me més
- Altres

3.1.2. Part 2: experiència personal amb el càncer de mama

La segona part de l'enquesta s'adreça a l'experiència personal dels enquestats amb el càncer de mama. Tanmateix, tenint en compte que una porció considerable dels enquestats són massa joves per haver tingut càncer de mama, les preguntes estan plantejades de manera que es poden respondre en nom d'una tercera persona, cosa que també s'ha d'especificar. A més, aquesta part de l'enquesta és tota opcional excepte la primera pregunta, tant per tota aquella gent que no coneix a ningú amb càncer de mama i no poden respondre les preguntes com per aquells enquestats que són reticents a parlar del tema per qualsevol motiu. L'objectiu d'aquesta part de l'enquesta es poder contrastar les dades oficials de la incidència i l'epidemiologia del càncer de mama amb les dels enquestats. A continuació, s'exposen les preguntes de la segona part de l'enquesta amb les opcions de resposta i el mode de resposta corresponent.

Pregunta: Coneixes alguna persona que tingui o hagi tingut càncer de mama?

Mode de resposta: Selecció de tantes respostes com es desitgi.

Possibles respostes:

- Sí, jo
- Sí, un/a familiar
- Sí, un/a amic/ga
- Sí, un/a conegut/da llunyà/na
- No (en aquest cas no responeu les preguntes següents)
- Altres

Pregunta: En cas afirmatiu, a quina edat va tenir càncer de mama?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- Menys de 25 anys

- 25-50 anys
- Més de 50 anys

Pregunta: Quin tractament va rebre?

Mode de resposta: Selecció de tantes respostes com es desitgi.

Possibles respostes:

- Cirurgia
- Quimioteràpia
- Radioteràpia
- Altres

Pregunta: Els resultats del tractament van ser els esperats?

Mode de resposta: Selecció d'una sola resposta de les possibles.

Possibles respostes:

- Sí
- No
- El tractament encara està en procés
- Altres

Finalment, l'enquesta ofereix un espai on s'acceptaven comentaris dels enquestats i se'ls agraeix la participació.

3.2. Programa per a la diferenciació de cèl·lules benignes i cèl·lules malignes del càncer de mama

La segona secció de la part pràctica està formada per un programa informàtic adreçat a diferenciar cèl·lules malignes de càncer de mama de cèl·lules benignes de la mama. El programa està escrit amb python 3, un llenguatge de programació de scripting que afavoreix un codi informàtic llegible. En concret, el programa d'aquest apartat utilitza un tipus d'Intel·ligència Artificial (IA) anomenat **Aprenentatge Automàtic**, de l'anglès "Machine Learning". Aquesta tècnica es basa en el reconeixement de patrons per part de l'ordinador, de manera que pot adaptar-se a noves dades, prendre decisions i obtenir resultats fiables. Aquest programa d'Aprenentatge Automàtic, que diferencia les cèl·lules benignes de les malignes,

utilitza una base de dades, la qual es pot visitar a la font WOLBERG, William; STREET, Nick; MANGASARIAN, Olvi. Aquesta base de dades inclou **569 mostres** tant de cèl·lules benignes com malignes de la mama, de les quals s'indica el valor de **30 paràmetres**, que poden tenir més o menys rellevància a l'hora d'ajudar a determinar si les cèl·lules són benignes o malignes (Figura 7). A més del valor d'aquestes característiques, també s'indica la seva **categoria**, és a dir, si les pròpies cèl·lules són benignes o malignes (2 categories possibles). D'aquesta manera el programa pot reconèixer un patró de coincidències entre certes característiques alterades i la malignitat de les cèl·lules. Aquesta primera fase del procés d'Aprenentatge Automàtic s'anomena **Fase de Prova** (de l'anglès "Fitting") i consisteix en la tria del model més adequat per tal d'ajustar els paràmetres de manera que es minimitza l'error. La segona fase s'anomena **Fase de Predicció** (de l'anglès "Predicting") i consisteix a utilitzar el model establert a la Fase de Prova per fer prediccions acurades de cèl·lules benignes i malignes. Dit d'una altra manera, quan s'introdueixen les dades adequades sobre els paràmetres en el programa, s'obté la categoria de cadascuna de les mostres. Per poder dur a terme aquestes dues fases és necessari, primerament, separar totes les mostres disponibles en dues parts: la **part d'entrenament** (de l'anglès "train") i la **part d'examen** (de l'anglès "test"). La part d'entrenament constitueix un 25% de les mostres totals (142 mostres) i el programa l'utilitza per tal de trobar quins valors de cada paràmetre s'acostumen a repetir en cèl·lules benignes i quins en cèl·lules malignes. D'aquesta manera, en un gràfic on els eixos de coordenades són combinacions de paràmetres⁸, el programa crea la corba que separa les cèl·lules benignes de les malignes amb el mínim error possible a partir de les dades d'entrenament. Tanmateix, és possible que, en casos en els quals hi hagi massa poques mostres (o un percentatge de part d'entrenament massa petit) per molts paràmetres, s'obtingui una corba únicament aplicable a les dades de l'entrenament, però no a les dades d'examen o a altres dades. Aquest fenomen s'anomena sobresaturació, de l'anglès "overfitting", i s'ha d'evitar per tal d'obtenir una corba adequada i fàcilment aplicable. En segon lloc, el programa aplica aquest patró a la part d'examen, que constitueix un 75% de les mostres totals (427 mostres), de manera

⁸ Els diferents paràmetres que s'utilitzen per determinar si les cèl·lules són benignes o malignes formarien un gràfic multidimensional, de manera que es duu a terme una reducció dimensional per encabir els múltiples paràmetres en dues dimensions (abscisses i ordenades).

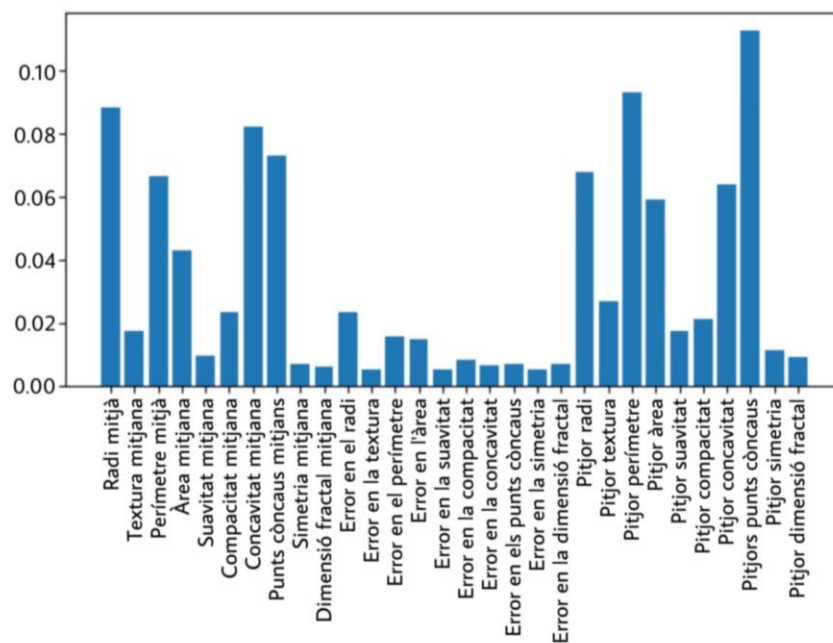


Figura 7. Gràfica amb la importància relativa de les característiques de la cèl·lula que s'utilitzen en el programa.

En l'eix d'abscisses d'aquest gràfic es mostren tots els aspectes que s'han usat en el programa informàtic per determinar si una cèl·lula tumoral de mama és benigna o maligna. Aquestes diferències estan presents en cèl·lules tumorals perquè els canvis genètics que pateixen alteren la seva expressió proteica i, per tant, també algunes de les seves característiques. En concret, les característiques que utilitza el programa són les següents: el radi de la cèl·lula, la seva textura, el seu perímetre, la seva àrea, la seva suavitat i com de llisa és, la seva compacitat, la seva concavitat, el nombre de punts còncaus que té, la seva simetria, i la seva dimensió fractal. De tots aquests aspectes de la cèl·lula es calcula la mitjana, l'error absolut mitjà en el càlcul de la mitjana i el pitjor valor de l'aspecte, és a dir, el valor amb més diferència respecte a la mitjana. En l'eix d'ordenades, en canvi, es representa la importància relativa de les característiques en tant per 1. Per tant, les característiques més rellevants per determinar si una cèl·lula és benigna o maligna són el nombre de punts còncaus amb un error més gran, amb un 12% de la importància aproximadament; el valor del perímetre amb un error més gran, amb gairebé un 10%; i el radi mitjà de la cèl·lula, amb un 9% aproximadament.

Figura de creació pròpia.

que prediu, amb més o menys certesa, quines cèl·lules d'aquesta part són benignes i quines són malignes. Per fer aquesta predicció, el programa utilitza el model prèviament ajustat amb les dades d'entrenament, així que el més probable és que es produeixi un cert error quan s'apliqui el model a les dades d'examen. Per mesurar aquest error es divideixen les prediccions en **Vertaders Positius (VP)**, **Falsos Positius (FP)**, **Vertaders Negatius (VN)** i **Falsos Negatius (FN)**. Els VP inclouen

aquells casos en què el programa prediu que una cèl·lula és maligna i encerta, els FP aquells casos en què el programa prediu que una cèl·lula és maligna i realment és benigna, en els VN el programa prediu que és benigna i encerta, i en els FN prediu que és benigna però realment és maligna. Mitjançant aquests quatre valors, es pot calcular la taxa d'encert del programa amb la següent fórmula:

$$\text{taxa d'encert} = \frac{VP + VN}{VP + FP + VN + FN}$$

En la situació ideal el programa únicament donaria lloc a VP i VN, és a dir, que tindria una taxa d'encert del 100%, una taxa pràcticament impossible d'assolir⁹. Per tal d'obtenir el VP, el FP, el VN i el FN, el programa informàtic d'aquest apartat utilitza una eina anomenada **matriu de confusió**, la qual utilitza la categoria real de les mostres de la part d'examen, la categoria predita pel programa i el model elaborat a partir de la part d'entrenament.

Un cop ja estan definits el VP, el FP, el VN i el FN, el programa és capaç d'elaborar un gràfic anomenat **corba ROC**, la qual fa possible la visualització de la taxa d'encert de les prediccions del programa. Per poder dibuixar la corba ROC és necessari calcular el **Ràtio de Vertaders Positius (VPR)** i el **Ràtio de Falsos Positius (FPR)**, les equacions dels quals es descriuen a continuació:

$$VPR = \frac{VP}{P} = \frac{VP}{VP + FN} \quad FPR = \frac{FP}{N} = \frac{FP}{VN + FP}$$

On N representa la suma de tots els Negatius, tant vertaders com falsos, i P la suma de tots els positius, tant vertaders com falsos. En la corba ROC, el VPR es representa a l'eix de les ordenades i el FPR a l'eix de les abscisses, tots dos entre els valors 0 i 1. Per tal de calcular, a partir del gràfic de la Corba ROC, com de precís és el programa en les seves prediccions, es pot calcular l'**Àrea Sota la Corba (AUC, de l'anglès "Area Under Curve")**. En el cas d'un programa amb un 100% d'encert, la VPR seria igual a 1 i la FPR seria igual a 0, de manera que l'AUC valdria 1. En el cas d'un programa amb un 0% d'encert, la VPR seria igual a 0 i la FPR seria igual a 1, de manera que l'AUC valdria 0. És important entendre que el programa pot

⁹ El programa també contempla, a més de la reducció de l'error, la minimització del cost del diagnòstic. Això significa tenir en compte quines opcions són més costoses per tal d'evitar-les, com passaria en aquest cas amb el FN, en què la pacient té càncer de mama però no se li diagnostica. És imperatiu evitar aquest escenari, fins i tot a costa d'augmentar el nombre de FP, en els quals el cost és molt més reduït.

donar lloc a la matriu de confusió i a la corba ROC perquè es basa en unes dades supervisades, de les quals es sap la categoria de la part d'examen. En canvi, si el programa s'apliqués a unes cèl·lules de categoria desconeguda, no es podria trobar els VP, FP, VN i FN, de manera que tampoc es podria fer la corba ROC.

3.2.1. Possibles classificadors

Per altra banda, amb unes dades no supervisades sí que es podrien construir els gràfics PCA i LDA, ja que són classificadors lineals, els quals distribueixen les mostres en categories del mateix tipus sense conèixer la seva categoria real. En primer lloc, l'**Anàlisi de Components Principals (PCA)** és una tècnica que implica la reducció dimensional del conjunt de dades¹⁰ per poder representar-lo gràficament en dues dimensions, cadascuna de les quals agrupa diversos paràmetres. Indirectament, la PCA permet detectar els paràmetres que determinen en major mesura la variabilitat d'aquestes dades (donant una informació similar a la de la figura 7). En aquest programa en concret, la PCA s'utilitza per separar les cèl·lules benignes de les malignes en la mesura del possible segons els diferents paràmetres reduïts a les dues dimensions del sistema de coordenades cartesianes. La PCA fa una transformació lineal en la qual la Primera Component Principal (PCA 1) es representa a l'eix d'abscisses i la Segona Component Principal (PCA 2) a l'eix d'ordenades. La PCA 1 és l'*histograma* amb la màxima variància possible, és a dir, l'eix en el qual les diferents dades (de cèl·lules benignes i malignes) es troben el màxim separades possible. La PCA 2, com és lògic, és l'*histograma* amb la segona variància més gran i, en el gràfic de les dues PCA, es situa perpendicular a la PCA 1, ja que les PCA es representen a l'eix d'ordenades i al d'abscisses respectivament. A més d'aquest gràfic, el programa també construeix un gràfic per cada PCA individualment, en el qual la PCA es situa a l'eix de les abscisses i les repeticions a l'eix de les ordenades. Finalment, el programa també dona lloc a l'**Anàlisi Discriminant Lineal (LDA)**, un mètode utilitzat amb l'objectiu de trobar una combinació lineal dels paràmetres que separi les dues classes de mostres en les

¹⁰ Per dur a terme una PCA és necessari normalitzar els paràmetres, és a dir, fer que el valor de la suma de totes les mostres de cada columna sigui igual a 1. Per fer això és necessari calcular la mitjana i la variància de les mostres de cada paràmetre. Un cop calculades, a cada mostra se li resta la mitjana de la columna en què es troba i el resultat es divideix entre la variància, de manera que si es tornen a sumar totes les mostres de la mateixa columna el resultat és 1.

categories corresponents (benigne o maligne). Per tant, el LDA s'utilitza, en aquest cas concret, tant per dur a terme la reducció dimensional dels paràmetres als dos eixos, com per fer de classificador lineal, donant lloc a un histograma. Per tot això, es considera que el LDA està clarament relacionat amb la PCA, ja que els dos busquen combinacions lineals de variables que expliquin les dades i donen com a resultat un gràfic similar. No obstant, la seva manera de funcionar és completament diferent, ja que la PCA no té en compte les similituds de cada categoria entre les diferents dades, mentre que el LDA es basa principalment en aquestes similituds.

3.3. Anàlisi de quatre casos clínics de càncer de mama

En el tercer apartat de la part pràctica del treball, es presenta una selecció de quatre casos clínics reals de dones amb càncer de mama. En cadascun dels casos s'indica el nom de la pacient, la seva edat, la seva història oncològica completa i la valoració del seu estat extreta de la consulta a la que l'autor del treball va assistir. Les visites a les pacients va tenir lloc a la consulta de la Dra Catalina Falo Zamora, a la Unitat Funcional de Mama de l'Institut Català d'Oncologia (ICO), els dies 25 i 26 de juny de 2019 de 9:00 a 14:30. En aquest període de temps es van visitar 26 pacients, dels quals 25 eren dones i un era un home, als quals es va realitzar exàmens rutinaris i palpacions d'adenopaties i tumors de mama. A continuació, es descriuen amb detall els casos clínics de quatre dones¹¹ des del moment del diagnòstic inicial fins el dia de la consulta. Cadascuna d'aquestes pacients patia un tipus molecular de càncer de mama diferent, de manera que aquests casos faran possible la visualització i clarificació completa del procediment de diagnòstic i tractament del càncer de mama. A més, en els quatre casos el càncer actualment es troba en estadi IV, és a dir, ha originat metàstasi a alguna altra part del cos, la qual cosa fa possible l'estudi del tumor en més estadis i, probablement, durant un període de temps més llarg.

¹¹ Per motius de confidencialitat, només puc oferir el cas clínic, el nom i l'edat de les pacients, però no els cognoms ni cap altra dada personal.

3.3.1. Cas 1: Isabel, 73 anys.

Neoplàsia de mama

CDI, debutant en Estadi IIIA, HER2-positiu

Data i hora de la visita: 26/6/19, 9:50

Història oncològica

L'octubre de 2003 apareixen els primers signes d'un tumor primari a la mama dreta, el qual va ser tractat amb una lumpectomia conservadora de la mama i un buidament axil·lar dret complet. La pacient es va tornar a visitar al novembre d'aquell mateix any, i, en revisar-se l'anatomia tumoral, es va confirmar que el tumor era un CDI (Carcinoma Ductal Invasiu) que es trobava a l'estadi IIIA (T1N2M0) amb afectació de 13 ganglis dels 19 regionals. A més, el càncer presentava RH negatiu i HER2 sobreexpressat, de manera que el tipus molecular del càncer es va diagnosticar com a HER2-positiu. El 25 de novembre de 2003, la pacient va iniciar un tractament quimioterapèutic adjuvant amb Adriamicina (doxorubicina) 75 mg/m² x quatre cicles¹², seguit de CMF¹³ 18 mg/m² x tres cicles, radioteràpia externa i braquiteràpia. Va completar la quimioteràpia el 20 d'abril de 2004, però va continuar els controls clínics i radiològics lliure de malaltia fins a finals del 2008. La pacient va intentar entrar en un assaig de teràpies dirigides al receptor HER2, però per certes condicions no va ser considerada apta. Més tard, el 12 de gener de 2009, en una *gammagrafia* òssia es van detectar metàstasis òssies *politòpiques*, les quals afectaven a les vertebres C6, D9, L2 i L6¹⁴. El 16 de gener de 2009 va iniciar l'assaig amb Taxotere (docetaxel), Herceptin (trastuzumab) i Perjeta (pertuzumab) en primera línia metastàtica. Aquest assaig que combina la quimioteràpia i les teràpies dirigides a HER2 s'anomena doble cec. Finalment, el 17 d'agost de 2009 es va

¹² mg/m² és la unitat amb què es mesuren les dosis de la quimioteràpia de certs medicaments, i significa mil·ligrams per cada m² de superfície corporal de la pacient. Per tant, aquesta unitat funciona com a factor de conversió entre la superfície corporal de la pacient i la quantitat de fàrmac que se li administra. A més, també s'indiquen els cicles de tractament amb el medicament en qüestió que es duen a terme.

¹³ El CMF és un tractament de quimioteràpia combinada que consisteix a administrar ciclofosfamida, metotrexat i fluorouracil a la pacient alhora.

¹⁴ Les vertebres es referencien amb una lletra i un nombre, de manera que la lletra indica la zona de la columna en què es troba la vèrtebra i el nombre indica la seva posició en aquella zona. C significa cervical, D significa dorsal i L significa lumbar.

suspendre el docetaxel i la pacient va seguir rebent trastuzumab i pertuzumab endovenós cada 21 dies. El 29 de setembre de 2011 la pacient manifestava *cefalea* intensa després de practicar-se una *Tomografia Axial Computada (TAC)*, així que es va sol·licitar una *Ressonància Magnètica Nuclear (RNM)*, en la qual es visualitzaven múltiples lesions nodulars a diverses zones del cervell (parietal-occipital esquerra, frontal esquerra, parietal-occipital dret i a l'hemisferi cerebel·lós). El comitè de neurooncologia va confirmar que es tractava de metàstasis cerebrals múltiples, així que, conseqüentment, es va iniciar la quimioteràpia de segona línia metastàtica amb Xeloda (capecitabina) i la teràpia dirigida a HER2 amb Tykerb (lapatinib). Aquest tractament combinat es va resultar en una resposta cerebral mantinguda, bona tolerància, bona qualitat de vida i la pacient asimptomàtica fins l'octubre de 2015. Durant aquest mes, es va objectivar progressió de la lesió cerebral frontal, es va suspendre el lapatinib-capecitabina i es va iniciar la quimioteràpia dirigida Kadcycla (trastuzumab emtansina o TDM-1), del qual la pacient va rebre 6 cicles sense resposta i amb mala tolerància clínica, de manera que es va aturar al febrer de 2016. Del 7 de març a l'11 de juliol de 2016 la pacient va rebre Herceptin (trastuzumab), però no es va obtenir cap resposta, així que es va canviar el tractament a radioteràpia cranial i una nova línia de quimioteràpia amb Taxol (paclitaxel) i teràpies dirigides a HER2 amb Herceptin (trastuzumab) de l'1 d'agost al 22 de desembre de 2016. La resposta de la pacient a aquest tractament va ser bona, tanmateix, la seva mala tolerància va obligar a reconduir el tractament a una monoteràpia amb Herceptin (trastuzumab) cada 21 dies des del 9 de gener de 2017. El setembre de 2017, es va detectar una lesió tumoral intramedul·lar a les cervicals C4 i C5, de manera que se li va administrar radioteràpia cervical a la pacient fins el 27 d'octubre de 2017. Al juny de 2018 es va declarar un empitjorament neurològic de la pacient que li causava un dèficit motor del braç i de la cama esquerra, de manera que la deambulació li resultava impossible. És per això que es va requerir una cadira de rodes per la pacient. A més, es va tornar a paucar lapatinib-capecitabina a la pacient, donada la bona resposta prèvia, però aquesta vegada el tractament presentava una toxicitat inacceptable per a la subjecte, que mostrava signes de diarrees, deshidratació i davallada general, així que es va haver de suspendre. El 22 d'agost de 2018 la pacient va traslladar-se a Urgències per un quadre d'afàsia de 2 hores, però un TAC cranial va descartar complicacions de lesions cerebrals i se li va donar l'alta. El 30 d'agost de 2018 s'iniciaven la teràpia

dirigida a HER2 i la quimioteràpia pal·liativa amb Paraplatin (carboplatí) i Herceptin (trastuzumab) fins al desembre, amb una bona resposta clínica, tot i que la pacient seguia depenent de cures bàsiques dels familiars per l'*hemiparèsia* esquerra i la manca d'estabilitat. Al maig de 2018 s'iniciava novament la radioteràpia i es va irradiar les lesions intramedul·lars, ja que a l'última RNM s'havia valorat que havien progressat. A nivell sistèmic, la pacient continuava amb trastuzumab cada 21 dies de manteniment per no interferir amb la radioteràpia.

Valoració actual (26/6/19)

Actualment, la pacient presenta afectació del sistema nerviós central, cefalea que tracta amb analgèsia, fragilitat i debilitat a les extremitats inferiors per el seu desús. A més, no manté la bipedestació, de manera que requereix que la traslladin de forma passiva del llit a la cadira de rodes i viceversa. Tanmateix, l'exploració física de la pacient demostra que està conscient i orientada però impotent per haver de dependre completament dels altres. L'exploració també mostra *parestèsies* a les extremitats superiors amb *hipoestèsia*, i debilitat a les extremitats inferiors amb Reflexes OsteoTendinosos (ROTs) augmentats. Com que la pacient té prevista una RNM cerebral el 9 de juliol de 2019 (Figura 8), una RMN cervical el mateix dia (Figura 9), i un estat general molt fràgil, la Dra Faló ha ajornat la decisió d'un nou tractament oncoespecífic al 10 de juliol de 2019. Tant la pacient com el seu marit han demanat prioritzar la qualitat de vida per sobre de l'esperança de vida, ja que coneixen el pronòstic del càncer de mama metastàtic.

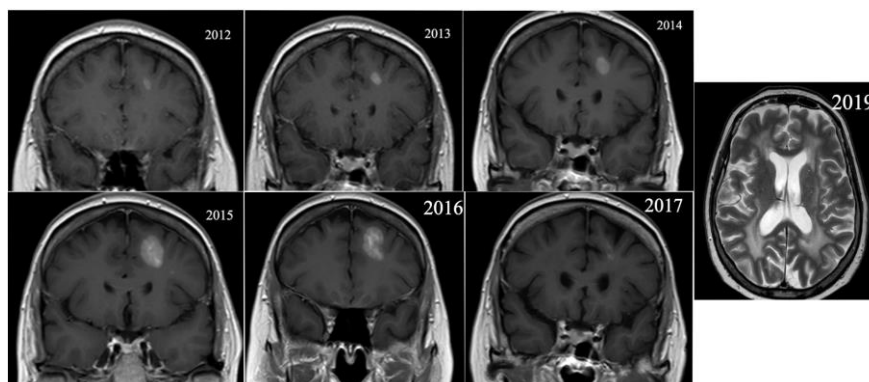


Figura 8. Evolució de les RMN cerebrals de la pacient des del 2012 fins al 2019.

L'any 2012 s'observa l'aparició d'una lesió metastàsica a la zona parietal esquerra del cervell de la pacient, la qual progressa fins l'any 2016, com s'observa en les ressonàncies frontals (preses des de davant). En canvi, per una bona resposta al tractament Herceptin (trastuzumab), l'any 2017 s'observa una gran regressió de la lesió, quasi fins a seva eliminació completa. L'any 2019, en una

ressonància presa des de dalt, s'observa de nou la progressió de la lesió, encara que en menor mesura que en els anys anteriors a tractament amb Herceptin.

Imatges facilitades per la doctora Faló.



Figura 9. Evolució de les RMN cervicals de la pacient des del 2017 fins al 2019.

L'any 2017 es va observar l'aparició d'una lesió metastàtica entre les vèrtebres C4 i C5. Com es veu a les ressonàncies, la lesió progressa en els dos anys posteriors a la seva detecció, tot i el tractament amb Herceptin.

Imatges facilitades per la doctora Faló.

3.3.2. Cas 2: Carmen, 56 anys

Neoplàsia de mama

CDI, debutant en Estadi IV, Luminal A

Data i hora de la visita: 26/6/19, 9:30

Història oncològica

El maig de 2018, la pacient va ser diagnosticada amb un càncer de la mama esquerra ductal invasiu amb metàstasis òssies politòpiques mitjançant una mamografia (Figura 10). Això significa que la pacient debutava en Estadi IV, i, a més, el càncer era de tipus molecular Luminal A. A partir del 5 de juny de 2018, la pacient va rebre radioteràpia antiàlgica i va estar en tractament amb hormonoteràpia i una teràpia dirigida a les cinases dependents de ciclins 4/6, en concret, Femara (letrozol) i Ibrance (palbociclib) respectivament. Malauradament, el palbociclib es va haver de suspendre per toxicitat després del primer cicle. Per altra banda, la pacient havia estat consumint Zometa (àcid zoledrònic), un medicament per millorar l'estat dels ossos, el qual es va haver de suspendre el 14 de gener de 2019 per sospita de *necrosi* mandibular i problemes dentaris posteriorment confirmats en un TAC mandibular. És per això també que es va demanar visita al maxil·lofacial pel dia 9 de juliol de 2019 i se li va administrar un analgèsic mòrfic transdèrmic, un pegat de

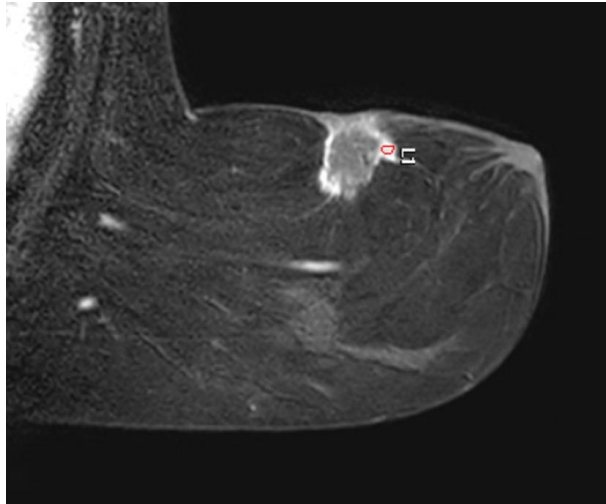


Figura 10. Mamografia de la tumoració inicial a la mama esquerra de la pacient.

A la mamografia s'observa la lesió originària del càncer situada a la part interior de la mama esquerra.

Per la seva mida es pot deduir que el tumor és un CDI.

Imatge facilitada per la doctora Falo.

fentanil. Des de la supressió del Zometa, el dolor ossi de la pacient ha millorat fins al punt que el 14 de maig de 2019 ja no necessitava un pegat de fentanil. No obstant, el dolor mandibular ha empitjorat i dificulta i limita la ingesta.

Valoració actual (26/6/19)

L'exploració física de la pacient revela que la tumoració de la mama esquerra està en resposta quedant una zona de 4 cm d'aspecte cicatricial unint els quadrants interns. També mostra una Auscultació CardioRespiratòria (ACR) normal i un abdomen globulós. L'analítica prèviament demanada mostra una lleu hiperglucèmia i un empitjorament moderat de la funció renal per l'analgèsic i antiinflamatori Voltaren (diclofenac). El TAC toràcic i abdominal realitzat al juny de 2019, en canvi, revela una disminució de la lesió de la mama i de les adenopaties, i *esclerosi* de les lesions òssies múltiples. Entre aquestes lesions òssies, la més crítica afecta les vèrtebres dorsals D11 i D12 amb components de parts toves, que tot i haver disminuït encara ocupa part del canal medul·lar. És per això també que la Dra Falo ha demanat una gammagrafia òssia completa i una RMN dorsal de la pacient (Figura 11). Per tant, la doctora ha considerat continuar el tractament amb letrozol, ja que

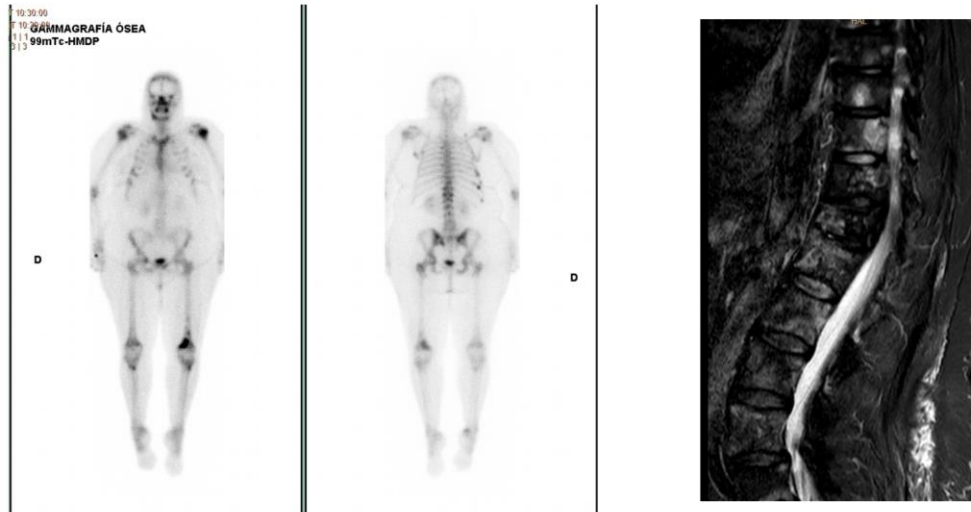


Figura 11. Gammagrafia òssia anterior i posterior i RMN dorsal de la pacient.

A la gammagrafia òssia posterior (la segona) i a l'RMN es pot observar una àrea més fosca a l'alçada de les vèrtebres D11 i D12, és a dir, una lesió causada per les metàstasis òssies politàpiques. En canvi, a la gammagrafia anterior (la primera) no es veu tan clarament.

Imatges facilitades per la doctora Faló.

sembla ser efectiu de moment, mentre que ha escollit substituir el Voltaren per Dipirona (metamizol), per tal de recuperar la funció hepàtica normal. Finalment, s'ha programat la pròxima visita per al 14 d'agost de 2019, després de la interconsulta al metge maxil·lofacial, quan es valorarà si incloure lbrance (palbociclib) a dosis de 100 mg/dia.

3.3.3. Cas 3: Inés, 60 anys

Neoplàsia de mama

CDI, debutant en Estadi IIIB, Triple negatiu

Data i hora de la visita: 25/6/19, 11:10

Història oncològica

L'octubre de 2018 es va diagnosticar a la pacient una neoplàsia de la mama esquerra que debutava en Estadi IIIB (T4N3M0) amb biòpsia positiva per CDI de grau dos¹⁵. Les puncions o aspiracions amb agulla fina axil·lar esquerra positiva i

¹⁵ Això significa que les cèl·lules tumorals s'han dividit mitjançant mitosi aproximadament 10 vegades. Per més informació, veure apartat 2.3.3.

supraclavicular esquerra positiva van mostrar RH negatius, receptors HER2 negatius i marcadors ki67 del 50%. Es va tractar la pacient amb les quimioteràpies Abraxane (nab-paclitaxel) i Paraplatin (carboplatí) cada 21 dies del 10 d'octubre de 2018 al 10 d'abril de 2019. Al maig de 2019 va ser intervinguda a cirurgia plàstica amb una mastectomia radical amb pectoral i *limfadenectomia* auxiliar esquerra completa. L'anatomia patològica de la pacient mostrava un tumor multifocal de 90 mm de grau 3 amb afectació del marge posterior en menys de 4 mm i afectació de 12 ganglis dels 12 regionals (de 40 mm de diàmetre màxim). També presentava invasió vascular i invasió vascular periganglionar, és a dir, al voltant dels ganglis, i *fibrosi* i adenopaties post quimioteràpia. La pacient va procedir amb quimioteràpia adjuvant, rebent el primer cicle el 4 de juny de 2019 i el segon el 26 de juny de 2019.

Valoració actual (25/6/19)

La pacient no mostra evidència de malaltia metastàtica, però presenta efectes secundaris de la quimioteràpia, incloent nàusees, tractades amb Primperan (metoclopramida). L'exploració física de la pacient evidencia una adenopatia supraclavicular de 20 mm estable respecte a l'exploració prèvia, la mastectomia amb *edema* de la pell no infiltrada actualment i la limfadenectomia axil-lar esquerra completa (Figura 12). La pacient presenta una ACR normal i un abdomen tou i depressible. A més, es mostra conscient i orientada, amb capacitats mentals plenes. Per altra banda, un anàlisi revela una elevació dels enzims hepàtics, de manera que la Dra Falo havia demanat una *Tomografia per Emissió de Positrons-Tomografia Axial Computada (PET-TAC)* per sospita de progressió sistèmica en curs de tractament (Figura 13). El PET-TAC confirma la presència d'adenopaties laterocervicals, supraclaviculars bilaterals, mediastíniques, axil-lars dretes, paratraqueals i subcraneals. També es detecten un nòdul pulmonar d'11 mm, un nòdul hepàtic de 14 mm, adenopaties hepàtiques, lesions a l'os ilíac esquerre i lesions al cos vertebral D7. Aquesta sèrie de lesions són corresponents a metàstasis ganglionars, pulmonars, hepàtiques i òssies. La progressió metastàtica en curs de tractament neoadjuvant, cirurgia o adjuvència obliga a la pacient a sortir de la branca control de l'assaig Neotrip, en el qual estava inclosa fins al moment, i impossibilita la seva inclusió en altres assaigs. Per tant, la decisió de la Dra Falo ha estat

continuar administrant Zometa i antraciclines, com l'Adriamicina (doxorubicina), a la pacient fins a completar els sis cicles, i l'ha citat per una visita el 16 de juliol de 2019.



Figura 12. Lesió posterior a la cirurgia de la mama esquerra de la pacient. La lesió mostra els signes d'una mastectomia amb edema de la pell no infiltrada actualment. Imatge presa per l'autor.

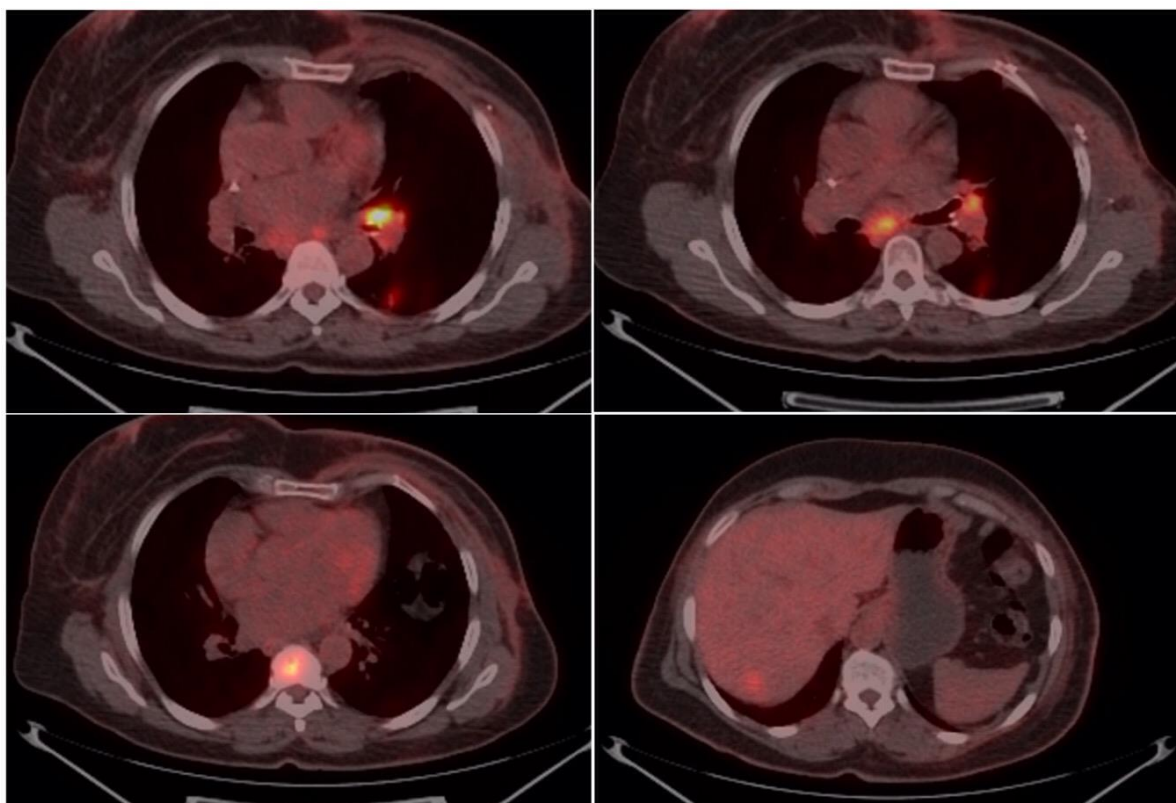


Figura 13. Quatre seccions del PET-TAC amb presència de diferents lesions metastàtiques.

En les imatges del PET-TAC els espais negres representen cavitats relativament buides, les zones vermelloses representen òrgans i masses de cèl·lules, i els punts groc brillant representen metastasis i lesions. Per tant, a la imatge superior esquerra s'observen metastasis pulmonars, a la imatge superior dreta s'observen metastasis ganglionars, a la imatge inferior esquerra s'observen metastasis òssies a la vèrtebra D7, i a la imatge inferior dreta s'observa una lesió metastàtica hepàtica de 14 mm.

Imatges facilitades per la doctora Faló.

3.3.4. Cas 4: Àngela, 62 anys

Neoplàsia de mama

CDI, debutant en Estadi IIA, Luminal A, neuroendocrí

Data i hora de la visita: 25/6/19, 11:50

Història oncològica

La pacient és diagnosticada una neoplàsia de la mama dreta d'Estadi IIA (T2N0M0) a l'agost de 2005. Va rebre quimioteràpia primària neoadjuvant amb Adriamicina 75 mg/m² x 4 cicles, i el 28 de novembre de 2005 va ser intervinguda amb una mastectomia dreta amb buidament axil·lar complet. L'anatomia patològica inicial, a partir de la biòpsia per escissió del tumor (la mastectomia), va mostrar que el seu càncer era un CDI multicèntric de 24 mil·límetres, grau dos i sense afectació a cap dels 33 ganglis regionals. També mostra RE al 90%, RP al 30%, ki67 < 10% i HER2 negatiu, de manera que el tipus molecular del càncer era Luminal A. La pacient va completar un tractament amb CMF 18 mg/m² x 3 cicles que va durar fins al 16 de febrer de 2006, i un tractament hormonal amb Nolvadex (tamoxifè) seqüencial amb Aromasin (exemestà) fins l'abril de 2011, amb molt bon compliment. L'octubre de 2016 es va trobar evidència de metastasi a la mucosa rectal amb biòpsia positiva per metastasi de carcinoma de mama amb diferenciació neuroendocrina. A l'estudi d'extensió es presenten metastasis òssies, pulmonars, hepàtiques, suprarenals i nòduls al pàncrees, estant la pacient asimptomàtica. Primerament, després de dur a terme un gammagrafia òssia i una RMN de la columna (Figura 14), es va procedir a la fixació quirúrgica de la vèrtebra D10 amb bona evolució posterior i radioteràpia de consolidació. A més, donat l'interval de 10 anys i el fet que la pacient seguís asimptomàtica, se la va tractar amb una primera línia de letrozol. No obstant, l'agost

de 2017 la pacient presentava cefalea, i a la RNM cerebral es va poder observar una gran lesió front-parietal (Figura 15), que va ser intervinguda pel servei de neurocirurgia el 7 d'agost de 2017 amb una evolució posterior molt favorable. L'octubre d'aquell mateix any es va detectar progressió sistemàtica i creixement de les lesions hepàtica, suprarenal i pancreàtica, de manera que es va canviar el

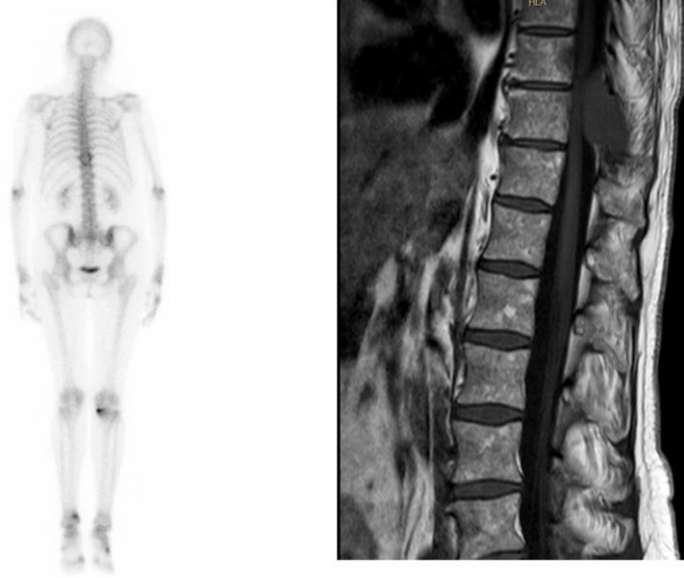


Figura 14. Gammagrafia òssia posterior i RMN dorsal amb presència de metastasi.

En ambdues imatges es pot observar una lesió metastàtica a la vèrtebra D10, a la gammagrafia és aquella vèrtebra més fosca que les altres, i a la RMN dorsal és un cúmul fosc a la tercera vertebra que apareix a la imatge.

Imatges facilitades per la doctora Faló.

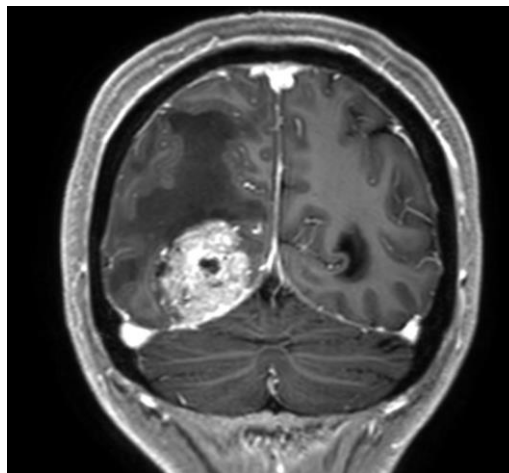


Figura 15. RMN cerebral amb presència d'una lesió metastàtica.

La RMN mostra una gran lesió en la zona front-parietal del cervell, que a la imatge s'observa com una massa blanquinosa.

Imatge facilitada per la doctora Faló.

tractament a capecitabina x 9 cicles. En una RMN hepàtica es va observar que s'havien estabilitzat les lesions hepàtica i pancreàtica, però no la suprarenal. És per això que la pacient va rebre també quimioteràpia a partir de carboplatí-gemcitabina, ja que es tracta d'un tumor neuroendocrí, i va tenir una bona resposta inicial, així que la Dra Faló va demanar un PET-TAC pel dia 28 de maig de 2019. El PET-TAC va revelar que hi havia hagut progressió de la lesió suprarenal, i de la lesió pancreàtica a 18 mm (Figura 16). La lesió de la mama esquerra havia augmentat a 18 x 11 mm, els nòduls pulmonars es mantien estables, i persistien les masses suprarenals (69 x 45 mm la dreta i 79 x 57 mm l'esquerra) i les lesions esclerosants òssies ja conegudes. La Dra Faló, per tant, va optar per iniciar la quarta línia de tractament amb docetaxel i G-CSF, el factor estimulant de la medul·la òssia per tal que produeixi granulòcits (immunoteràpia), el 4 de juny de 2019¹⁶.

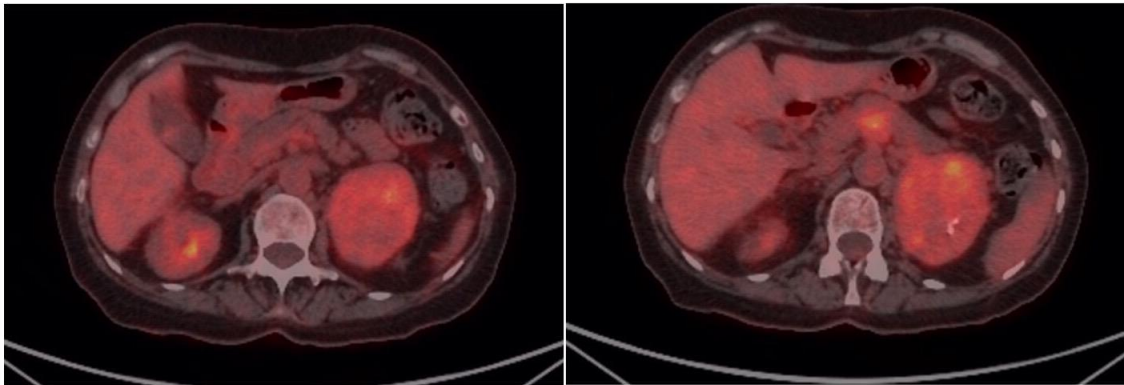


Figura 16. Dues seccions del PET-TAC amb presència de diferents lesions metastàtiques.

La imatge de l'esquerra mostra progressió de la lesió metastàtica suprarenal esquerra, i la imatge de la dreta mostra metàstasis pancreàtiques múltiples, la més gran de les quals mesura 18 mm. Les lesions són identificables pel seu color groc brillant en aquesta prova.

Imatges facilitades per la doctora Faló.

Valoració actual (25/6/2019)

La pacient continua asimptomàtica, excepte per una lleu *hemianòpsia*, i per cert dolor a la columna vertebral secundari al G-CSF. El resultat de l'última a visita pel 19 de juliol de 2019. L'anàlisi de la pacient és correcta i no presenta anomalies. Finalment, s'ha demanat un *port-a-cath* pel segon cicle de docetaxel i G-CSF, i s'ha programat la pròxima visita pel 19 de juliol de 2019.

¹⁶ En el primer cicle de Docetaxel i G-CSF, el 4 de juny de 2019, es va produir una extravasació, és a dir, l'agent quimioterapèutic es va alliberar al múscul circumdant a la vena objectiu.

3.4. Estudi de la configuració de les cèl·lules tumorals de mama en ambients 3D

L'últim fragment de la part pràctica està orientat al tractament del càncer de mama i a la seva millora, per la qual cosa és necessari l'enteniment tant de l'estructura de les cèl·lules tumorals de mama com del curs que segueix la recerca contra aquest càncer. Fins recentment, les úniques maneres de provar un medicament per al càncer de mama eren les proves *in vitro* en dues dimensions (2D) i els *xenografts in vivo*. No obstant, aquestes dues tècniques tenen certs inconvenients. Per una banda, els xenografts impliquen l'ús d'animals, la qual cosa, a banda de ser cruel, presenta imprecisions a l'hora de comparar les reaccions dels fàrmacs. Per altra banda, els cultius *in vitro* en 2D no poden proporcionar unes característiques d'una complexitat com la del cos humà. Un dels principals problemes dels cultius 2D en el cas del càncer de mama és l'absència d'Esferoides Tumorals Multicel·lulars (MTS). Els esferoides són unes estructures que les cèl·lules cancerígenes de mama formen en el cos, en la qual es formen grups de cèl·lules. Estudis recents (NYGA, Agata; CHEEMA, Umber; LOIZIDOU, Marilena. TRAPPMANN, Britta, *et al.* LI, Yunfeng; KUMACHEVA, Eugenia.) determinen que els MTS han de presentar obligatòriament quatre característiques imprescindibles: interaccions cel·lulars, formació d'una ECM conjunta, un gradient de concentració de nutrients i regions hipòxiques, i un índex de proliferació cel·lular elevat. L'objectiu dels MTS és propiciar la supervivència de les cèl·lules tumorals, ja que disminueix la superfície cel·lular exposada a l'acció dels fàrmacs i, sobretot, perquè l'entramat format per les ECMs conjuntes impedeix en gran mesura la difusió dels fàrmacs i la seva penetració a l'interior de la cèl·lula. Per tal de poder provar fàrmacs amb efectivitat, és essencial que les cèl·lules tumorals facin tots aquests processos i es trobin en un microambient tan semblant com sigui possible al del cos humà.

3.4.1. Hidrogels per al cultiu 3D de cèl·lules tumorals de mama

Recentment, s'ha desenvolupat certs materials que són capaços de mimetitzar la ECM de les cèl·lules tumorals i el seu microambient fins a cert punt, és a dir, de crear un ambient en tres dimensions (3D). Els materials 3D més usats actualment

són els *scaffolds* microporosos, les nanofibres i els hidrogels. Tanmateix, els *scaffolds* microporosos tenen poros més grans que les cèl·lules tumorals, de manera que realment conformen un ambient 2D amb curvatures, i les nanofibres, tot i tenir una bona topologia, tenen males propietats mecàniques. En conseqüència, en aquesta pràctica s'ha escollit els hidrogels, xarxes de polímers reticulats dissolts en aigua, com a medi de cultiu en 3D, ja que tenen una bona arquitectura i excel·lents propietats mecàniques en general. A més, tenen un alt contingut d'aigua, faciliten la difusió d'oxigen molecular i factors solubles, són citocompatibles, i són enormement versàtils (poden admetre modificacions, tenen una alta viscoelasticitat, es degraden ràpidament, etc.). Existeixen dos grans tipus d'hidrogels: els naturals, que són molt biocompatibles però promouen les funcions cel·lulars, cosa que pot interferir en el resultat, i els sintètics, que no promouen funcions cel·lulars però es troben en menor varietat. Uns exemples d'hidrogels naturals són aquells fets de proteïnes o components de la ECM, com el col·lagen o l'àcid hialurònic. En canvi, la majoria d'hidrogels sintètics són *peptídics*, com per exemple els fets de PEG o PVA. En aquesta pràctica s'utilitzen hidrogels sintètics peptídics de la marca Biogelx™, en concret, un model anomenat Biogelx™-RGD. El Biogelx™-RGD és un hidrogel funcionalitzat amb fibronectina, una glicoproteïna de la ECM. El producte és una pols sintètica peptídica que pot formar un hidrogel consistent en una xarxa de nanofibres que mimetitza la ECM. El Biogelx™-RGD és biocompatible i versàtil per tal de ser adaptable a una gran varietat d'aplicacions de cultius cel·lulars en 3D, ja que les seves propietats químiques i mecàniques es poden adaptar (té un rang de rigidesa que va dels 0,5 kPa als 100 kPa). El producte conté el tripèptid RGD (arginina, glicina i aspartate) com a lligand superficial per tal de millorar les seves funcions, i és de maneig senzill, ja que es pot utilitzar a temperatura ambient i amb un pH neutre. Per més informació sobre les característiques de Biogelx™-RGD i les seves condicions d'ús i d'emmagatzematge veure Annex 7.2.

Preparació dels Pre-Gels de Biogelx™-RGD en pols

1. Treure el vial de vidre que conté el Biogelx™ en pols del congelador, assegurar-se que la superfície externa del vial està seca i esperar a que la pols recuperi la temperatura ambient abans d'obrir el vial.
2. Per obrir-lo, treure el segell de solapa i el tap de goma.

3. En un nou vial estèril, pesar la quantitat requerida de Biogelx™ en pols. En aquest cas, es volen obtenir 13 gels de 100 µL i a una densitat de 20 mg/mL. Per tant, d'acord amb els següents càlculs, seran necessaris 26 mg d'hidrogel més un cert excés, ja que el procés de formació del gel té un rendiment aproximat del 65%.

$$13 \text{ HG} \cdot \frac{100 \mu\text{L} \text{ d} \acute{o}}{1 \text{ HG}} \cdot \frac{1 \text{ mL} \text{ d} \acute{o}}{10^3 \mu\text{L} \text{ d} \acute{o}} \cdot \frac{20 \text{ mg} \text{ HG}}{1 \text{ mL} \text{ d} \acute{o}} \cdot \frac{100 \text{ mg} \text{ HG}}{65 \text{ mg} \text{ HG}} = 40 \text{ mg} \text{ HG}$$

On HG significa hidrogel i d^o significa dissolució.

4. Un cop el Biogelx™ en pols es troba al fons del vial, pipetejar amb compte 2 mL d'aigua destil·lada per preparar la solució Pre-Gel, d'acord amb els següents càlculs.

$$13 \text{ HG} \cdot \frac{100 \mu\text{L} \text{ d} \acute{o}}{1 \text{ HG}} \cdot \frac{1 \text{ mL} \text{ d} \acute{o}}{10^3 \mu\text{L} \text{ d} \acute{o}} \cdot \frac{100 \text{ mL} \text{ d} \acute{o}}{65 \text{ mL} \text{ d} \acute{o}} = 2 \text{ mL} \text{ d} \acute{o} = 2 \text{ mL} \text{ H}_2\text{O}$$

On HG significa hidrogel i d^o significa dissolució.

5. Dissoldre completament el Biogelx™ en pols mitjançant *Vortex* i *sonicació* durant aproximadament 30 segons. Si la solució Pre-Gel presenta bombolles, és necessari eliminar-les amb sonicació durant 10 segons.
6. Emmagatzemar la solució Pre-Gel a 4 °C fins que es requereixi pel cultiu cel·lular. Si la solució Pre-Gel produeix espuma després de barrejar-la amb *Vortex*, deixar-la reposar com a mínim durant una nit a 4 °C.

3.4.2. Preparació de les cèl·lules, el medi de cultiu cel·lular i la solució Pre-Gel per encapsular en l'hidrogel pel cultiu 3D

És necessari preparar 13 hidrogels, dels quals 3 s'utilitzaran per fer tincions i 10 pel tractament amb doxorubicina.

1. Preparació prèvia de la solució Pre-Gel
 - 1.1. Escalfar la solució Pre-Gel a una incubadora o un bany d'aigua durant 30 minuts fins que la solució es trobi a 37 °C.
 - 1.2. Barrejar amb compte la solució Pre-Gel utilitzant una pipeta per produir una dissolució homogènia. Es recomana no retirar la punta de pipeta de la solució durant la barreja, per tal d'evitar la producció de

bombolles. Si es detecten bombolles a la solució, eliminar-les en un sonicador durant 10 segons.

2. Preparació de la cabina (Figura 17)
 - 2.1. Encendre la cabina i deixar-la 15 minuts amb rajos UV
 - 2.2. Encendre el flux d'aire (laminar + HEPA). Quan s'encenguin les dues llums verdes, ruixar amb etanol 70% tota la superfície de la cabina i netejar-la amb paper.
 - 2.3. Esperar 10 minuts a que s'assequi. Mentrestant, es pot anar introduint el material a la cabina ruixant-lo amb etanol 70% abans d'introduir-lo.



Figura 17. Cabina amb extractor per mantenir l'esterilitat durant la manipulació del material.

Imatge presa per l'autor.

3. Observació de les cèl·lules al microscopi mentre la cabina s'acaba d'assecar (Figura 18).
4. Preparació de 50 mL del medi de cultiu. Se li ha d'afegir L-glutamina (L-glu) en concentració 1%, sèrum fetal boví (FBS) en concentració 10%, i l'antibiòtic Penicil·lina/Estreptomicina (P/S) en concentració 1% per evitar contaminacions microbianes.
5. Afegir 44 mL del medi inicial Advance DMEM¹⁷.
 - 5.1. Afegir 0,5 mL de L-glu.
 - 5.2. Afegir 5 mL de FBS.
 - 5.3. Afegir 0,5 mL de P/S.

¹⁷ A les pàgines web on es compren les cèl·lules podem veure els requeriments de les cèl·lules respecte el medi (factors de creixement, aminoàcids, etc.) i quin medi amb quina composició es recomana utilitzar. En aquest cas, en lloc d'utilitzar el medi recomanat, s'ha utilitzat el medi Advance DMEM, ja que té el mateix nombre de nutrients que el medi recomanat i ja inclou insulina, que amb el gel recomanat s'hauria d'introduir després.

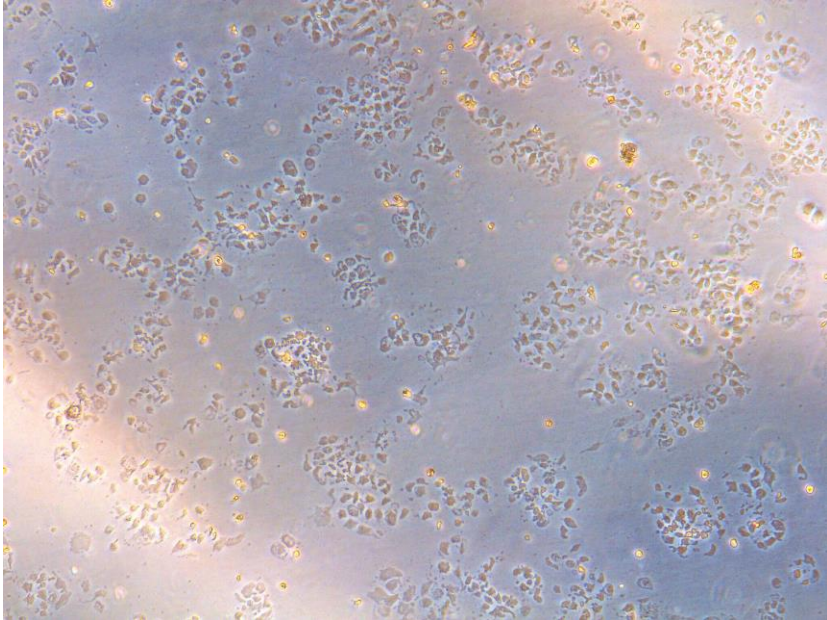


Figura 18. Cèl·lules tumorals de càncer de mama en medi de cultiu abans de ser usades. Les cèl·lules estaven guardades a 37 °C. És important parar atenció en l'aspecte de les cèl·lules, la seva confluència, si algunes cèl·lules floten, possibles contaminacions, color del medi i terbolesa, entre d'altres.

Imatge presa per l'autor.

6. *Tripsinització* de les cèl·lules

- 6.1. Retirar el medi de les cèl·lules del matràs.
- 6.2. Netejar amb PBS (un tampó aquós) per eliminar les restes de FBS que poden inactivar la tripsina.
- 6.3. Afegir 3 mL de tripsina.
- 6.4. Incubar 5 minuts a la incubadora.
- 6.5. Comprovar amb el microscopi si les cèl·lules s'han desenganxat de la superfície del matràs.
- 6.6. Un cop les cèl·lules s'hagin desenganxat de la superfície del matràs, inactivar la tripsina amb 7 mL del medi de cultiu preparat (inclou FBS).
- 6.7. Netejar les parets del matràs i recollir tot el medi en un *Falcon* de 15 mL.
- 6.8. Centrifugar el *Falcon* a la centrifugadora 5 minuts a 125·g (125 cops la gravetat).
- 6.9. Retirar el *sobrenedant* del *Falcon*.
- 6.10. Afegir 2 mL del medi preparat.
- 6.11. Resuspendre el *pellet* de cèl·lules en el medi de cultiu.

- 6.12. Comptar les cèl·lules en una *càmera de Neubauer* de 10 μL (Figura 19).
- 6.13. Calcular a quina concentració s'ha de diluir les cèl·lules. Es sembraran 10^5 cèl·lules per gel (100 μL), i cada gel està format per 50 μL de dissolució del polímer que forma l'hidrogel i 50 μL de la dissolució que conté totes les cèl·lules. Per tant, s'hauran de sembrar les 10^5 cèl·lules en els 50 μL d'aquesta dissolució.

$$\frac{10^5 \text{ cèl} \cdot \text{lules}}{1 \text{ gel}} \cdot \frac{1 \text{ gel}}{100 \mu\text{L} \text{ dó total}} \cdot \frac{100 \mu\text{L} \text{ dó total}}{50 \mu\text{L} \text{ dó cèl} \cdot \text{lules}} \cdot \frac{10^3 \mu\text{L} \text{ dó cèl} \cdot \text{lules}}{1 \text{ mL} \text{ dó cèl} \cdot \text{lules}} = 2 \cdot 10^6 \text{ cèl} \cdot \text{lules/mL} \text{ dó cèl} \cdot \text{lules}$$

On dó total representa el volum total de dissolució que inclou l'hidrogel i les cèl·lules, i dó cèl·lules representa la dissolució que només inclou les cèl·lules però no l'hidrogel.

- 6.14. Diluir la dispersió de cèl·lules a una concentració de $2 \cdot 10^6$ cèl·lules/mL.
7. Preparació dels gels encapsulant cèl·lules.
- 7.1. Posar els suports dels gels en els pous d'una cubeta.
- 7.2. Afegir 50 μL de la dispersió de cèl·lules i 50 μL de gel en els suports i barrejar amb la pipeta (Figura 20).
- 7.3. Afegir 1,3 mL del medi de cultiu en els pous per l'exterior del suport.
- 7.4. Incubar la cubeta a la incubadora durant 15 minuts a 37 $^\circ\text{C}$ amb una atmosfera al 5% de CO_2 .



Figura 19. Recompte de cèl·lules mitjançant la càmera de Neubauer.

La imatge de l'esquerra mostra la pròpia càmera de Neubauer on es col·loquen les cèl·lules, i la imatge de la dreta mostra el comptador que s'utilitza per indicar les cèl·lules comptades la superfície observada.

imatges preses per l'autor.

- 7.5. Afegir 100 μ L del medi de cultiu a sobre del suport amb el gel i les cèl·lules.
- 7.6. Sembrar les cèl·lules sobrants a un pou sense suport per fer un grup control amb ambient 2D.
- 7.7. Guardar la cubeta a la incubadora durant 2 hores a 37 °C amb una atmosfera al 5% de CO₂.
8. Canviar el medi de cultiu de sobre i del voltant de l'hidrogel amb una pipeta, evitant contacte directe amb l'hidrogel¹⁸.



Figura 20. Preparació dels hidrogels amb cèl·lules disperses en el suport.

Imatges preses per l'autor.

Per altra banda, també es cultiven cèl·lules en 11 pous amb ambient 2D, un per una tinció, i 10 pel tractament amb doxorubicina. El cultiu d'aquestes cèl·lules simplement consisteix a sembrar les cèl·lules sobre el pou de vidre i pipetejar 500 μ L de medi de cultiu a sobre seu, tot sota la campana prèviament encesa.

3.4.3. Tincions i tractament amb fàrmacs

Per tal d'observar el desenvolupament de les cèl·lules en un ambient 3D creat mitjançant els hidrogels en inserts que mimetitza l'ambient del cos humà i poder comparar-ho amb el desenvolupament en un ambient de cultiu 2D, és necessari dissenyar diferents cultius amb diferents condicions, ambients i tincions en un ordre concret. Les tres tincions que s'han realitzat són Calceïna/Iodur de Propidi, que

¹⁸ Serà necessari tornar a canviar el medi de cultiu després de 2 hores, després de 24 hores, després de 48 hores, i, a partir de llavors, cada dos dies fins que s'utilitzi el gel.

mostra quines cèl·lules estan vives i quines estan mortes; Hematoxilina/Eosina, que diferencia els nuclis cel·lulars dels citoesquelets; i Fal·loidina/DAPI, que discerneix les estructures proteiques dels àcids nucleics. Les tincions Fal·loidina/DAPI i Hematoxilina/Eosina només tenen l'objectiu de mostrar com s'estructuren les cèl·lules en un ambient 3D creat per un hidrogel, de manera que només es fan en cultius en hidrogels en inserts. En canvi, la tinció Calceïna/Iodur de Propidi té l'objectiu de veure com sobreviuen les cèl·lules en un ambient 3D a diferents concentracions de doxorubicina, un agent quimioterapèutic (veure quimioteràpia a l'apartat 2.3.5), en comparació amb un ambient 2D. En conseqüència, s'ha administrat doxorubicina als cultius cel·lulars en 2D i 3D en cinc diferents concentracions: el control negatiu¹⁹ (C-), el control positiu¹⁹ (C+), doxorubicina 5 μM ²⁰, doxorubicina 20 μM , i doxorubicina 50 μM . A més, també s'ha cultivat cèl·lules en un hidrogel i en un pou sense formar part de l'experiment amb doxorubicina per tal de veure l'evolució normal de les cèl·lules en cadascun d'aquests ambients, cosa a contrastar amb la seva evolució amb les concentracions de doxorubicina i entre l'ambient 2D i l'ambient 3D. La distribució dels hidrogels i dels pous en els quals s'han dut a terme les tincions i s'han administrat les diferents dissolucions de doxorubicina es pot observar a la Figura 21.

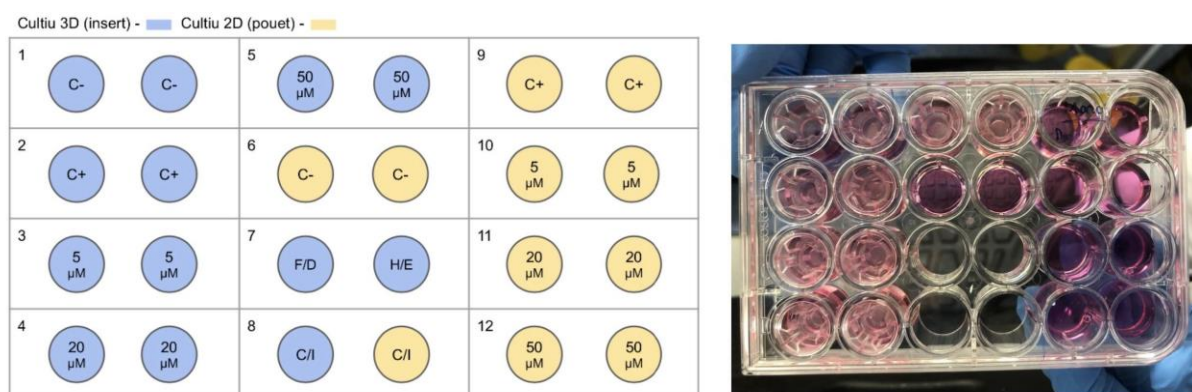


Figura 21. Representació i imatge real de la placa de pous amb els cultius cel·lulars en 2D i 3D per les tincions i el tractament amb doxorubicina.

A la representació es marquen els cultius cel·lulars en un hidrogel o insert (2D) de color blau, i els cultius cel·lulars en el pou de la placa (3D) de color groc clar. A més, C+ representa el Control Positiu, C- el Control Negatiu, F/D la tinció amb Fal·loidina/DAPI, H/E la tinció amb Hematoxilina/Eosina, i C/I la tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi. Per altra banda, en la resta de pous s'indica la molaritat

¹⁹ Els grups controls són aquells cultius en els quals no s'administra doxorubicina però es mantenen amb unes condicions idèntiques a les dels cultius amb doxorubicina, de manera que es controla que no hi hagi cap altre variable que pugui afectar el resultat.

²⁰ μM significa micromolar, és a dir, $x \text{ mol de doxorubicina} \cdot 10^{-6}/1 \text{ L de dissolució}$.

de la dissolució de doxorubicina que s'administra en cada cas. Això significa que en els cultius de l'1 al 6 i del 9 al 12 s'ha fet les proves amb doxorubicina i després s'ha fet una tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi per veure com han sobreviscut les cèl·lules, en els cultius 7 s'han fet les tincions amb Fal·loidina/DAPI i Hematoxilina/Eosina, i en els cultius 8 s'ha fet la tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi sense administrar doxorubicina per visualitzar les cèl·lules després de 7 dies de cultiu. La representació de la placa i la imatge de la placa tenen el pous col·locats amb la mateixa disposició, de manera que es pot entendre que hi ha a cada pou de la placa real. No obstant, les tincions 7 i 8 no estan presents en aquesta placa perquè es van dur a terme en una altra placa de pous.

Imatge de creació pròpia.

A continuació, es descriu el protocol complet que s'ha seguit per tal de dur a terme les tincions en els cultius corresponents, un cop ja s'ha preparat l'hidrogel, el medi de cultiu i s'han sembrat les cèl·lules tant en els hidrogels dels inserts (3D) com en els pous (2D). Primer de tot, es duu a terme la tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi set dies després de sembrar les cèl·lules, tant en 2D com en 3D, sense que se'ls hagi administrat doxorubicina (cultius 8 a la Figura 21). En segon lloc, es duen a terme les tincions amb Fal·loidina/DAPI i Hematoxilina/Eosina a cèl·lules convidades en 3D (cultius 7 a la Figura 21). Per acabar, s'administra la doxorubicina en diferents concentracions a cultius 2D i 3D per igual, i després es duu a terme la tinció Calceïna/Iodur de Propidi en aquests mateixos cultius (cultius 1-6 i 9-12 a la Figura 21).

1. Tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi sense acció de la doxorubicina

- 1.1. Rentat dels gels (3D) i d'un pou (2D) de la cubeta amb DPBS x2 repeticions.
- 1.2. Preparar la Calceïna i el Iodur de Propidi en DPBS.
 - 1.2.1. Per cada 1 mL de DPBS afegir 0,5 µL de Calceïna i 2 µL de Iodur de Propidi.
- 1.3. Afegir 100 µL de la dissolució de Calceïna/Iodur de Propidi a cada gel i pou.
- 1.4. Incubar a la incubadora durant 20 minuts.
- 1.5. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 1.6. Observació en el microscopi de fluorescència.

2. Tinció amb Hematoxilina/Eosina (Figura 22)

- 2.1. Preparació dels gels

- 2.1.1. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 2.1.2. Fixar un gel amb paraformaldèhid en concentració del 4% durant 15 minuts.
- 2.1.3. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 2.1.4. Afegir OCT i deixar reposar un dia a la nevera.
- 2.2. Tinció
 - 2.2.1. Tallar el teixit amb un *micròtom*
 - 2.2.2. Eliminar les restes d'OCT per immersió en aigua.
 - 2.2.3. Afegir Hematoxilina Harris i deixar-la actuar durant 5 minuts (filtrar amb paper per eliminar les partícules oxidades i protegir de la llum).
 - 2.2.4. Rentat amb aigua.
 - 2.2.5. Diferenciació amb 0,3% alcohol àcid (0,3% HCl en 70% d'etanol) durant 30 segons a temperatura ambient.
 - 2.2.6. Rentat amb aigua
 - 2.2.7. Afegir etanol al 95% durant 10 segons.
 - 2.2.8. Afegir WS i Eosina durant 1 minut.
 - 2.2.9. Afegir etanol al 95% durant 15 segons.
 - 2.2.10. Afegir etanol al 100% durant 30 segons.
 - 2.2.11. Afegir etanol al 100% durant 1 minut.
 - 2.2.12. Afegir xilè durant 5 minuts x2 repeticions.
 - 2.2.13. Afegir una gota de Eukitt i cobrir amb un cobreobjectes.
 - 2.2.14. Observació en el microscopi.

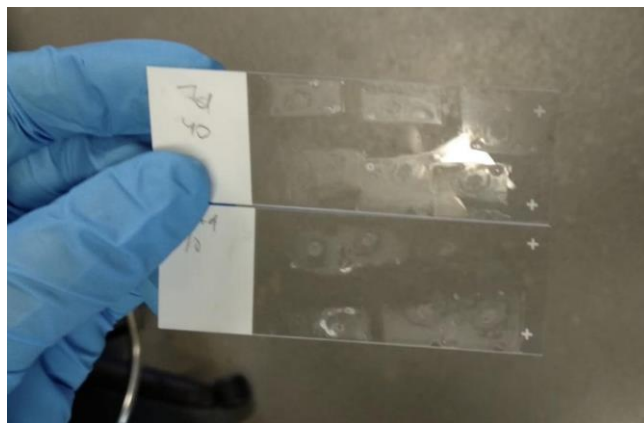


Figura 22. Portaobjectes amb les cèl·lules cultivades en hidrogels abans d'aplicar-lis la tinció Hematoxilina/Eosina.

Imatge presa per l'autor.

3. Tinció amb Fal-loïdina/DAPI

- 3.1. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 3.2. Fixar un gel amb paraformaldèhid en concentració del 4% durant 15 minuts.
- 3.3. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 3.4. Permeabilitzar amb 0,25 g de Triton x-100 a una concentració del 0,1% durant 10 minuts.
- 3.5. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 3.6. Bloqueig del PBS + glicina al 0,15% + BSA al 3% durant 30 minuts. Pesem 0,3392 g de BSA, de manera que s'ha de diluir en 11,31 mL de medi, d'acord amb els càlculs següents:

$$0,3392 \text{ g BSA} \cdot \frac{10 \text{ mL medi}}{0,3 \text{ g BSA}} = 11,31 \text{ mL medi}$$

- 3.7. Tinció amb 100 µL Fal-loïdina-FITC (3,5 µL/500 µL PBS + glicina 0,15% + BSA 3%). A partir d'ara, protegir de la llum amb paper d'alumini.
- 3.8. Rentat amb PBS x2 repeticions.
- 3.9. Addició de DAPI en proporció 1:1000.
- 3.10. Incubar a la incubadora durant 5 minuts.
- 3.11. Rentat amb PBS x2 repeticions.
- 3.12. Observació en el microscopi de fluorescència.

4. Afegir doxorubicina als cultius 2D i 3D

- 4.1. Treure el medi de cultiu de les cèl·lules en 2D i 3D i afegir:
 - 4.1.1. 100 µL de medi de cultiu a 4 hidrogels en 3D (Controls Negatius i Positius).
 - 4.1.2. 500 µL de medi de cultiu a 4 cultius en 2D (Controls Negatius i Positius).
 - 4.1.3. 100 µL de doxorubicina 50 µM a 2 hidrogels en 3D.
 - 4.1.4. 500 µL de doxorubicina 50 µM a 2 cultius en 2D.
 - 4.1.5. 100 µL de doxorubicina 20 µM a 2 hidrogels en 3D.
 - 4.1.6. 500 µL de doxorubicina 20 µM a 2 cultius en 2D.
 - 4.1.7. 100 µL de doxorubicina 5 µM a 2 hidrogels en 3D.
 - 4.1.8. 500 µL de doxorubicina 5 µM a 2 cultius en 2D.

- 4.2. Esperar 24 hores.
- 4.3. Afegir un tampó de lisi i esperar 30 minuts.
- 4.4. Afegir 90 μ L de medi de cultiu.
- 4.5. Treure el sobrenedant de les cèl·lules.

5. Tinció Calceïna/Iodur de Propidi després de l'acció de la doxorubicina

- 5.1. Rentat dels gels (3D) i d'un pou (2D) de la cubeta amb DPBS x2 repeticions.
- 5.2. Preparar la Calceïna i el Iodur de Propidi en DPBS.
 - 5.2.1. Per cada 1 mL de DPBS afegir 0,5 μ L de Calceïna i 2 μ L de Iodur de Propidi.
- 5.3. Afegir 100 μ L de la dissolució de Calceïna/Iodur de Propidi a cada gel i pou.
- 5.4. Incubar a la incubadora durant 20 minuts.
- 5.5. Rentat amb DPBS x2 repeticions.
- 5.6. Observació en el microscopi de fluorescència.

3.4.4. LDH del sobrenedant

A més de les tincions, també s'ha dut a terme un altre procés addicional per comprovar com ha estat l'acció de la doxorubicina sobre les cèl·lules tumorals dels cultius en 2D i dels hidrogels en 3D. Aquesta tècnica s'anomena LDH, i és un assaig colorimètric bastant precís que s'utilitza per quantificar la citotoxicitat i la mort cel·lular per un agent citotòxic, en aquest cas la doxorubicina (agent quimioterapèutic). Bàsicament, aquest assaig consisteix en la detecció de Lactat Deshidrogenasa (LDH) en el sobrenedant dels cultius cel·lulars en 2D i 3D d'una placa de 96 pous amb un espectrofotòmetre. El LDH és un enzim que està present al citoplasma de les cèl·lules vives, i que, quan aquestes moren per un agent citotòxic, s'allibera al medi, ja que es permeabilitza la membrana. Per tant, com més citotoxicitat hi hagi i més cèl·lules morin, més LDH es podrà trobar en el medi de cultiu, és a dir, el nombre de cèl·lules lisades i la quantitat de LDH són directament proporcionals. El procediment a seguir per dur a terme un assaig LDH simplement consisteix a extreure el medi de cultiu de les cèl·lules a diferents concentracions de doxorubicina tant en 2D com en 3D, i pipetejar-lo en una placa de 96 pous (Figura

23). Seguidament, introduir la placa en un espectrofotòmetre que emeti radiacions amb una longitud d'ona de 492 nm, la longitud d'absorció del LDH.

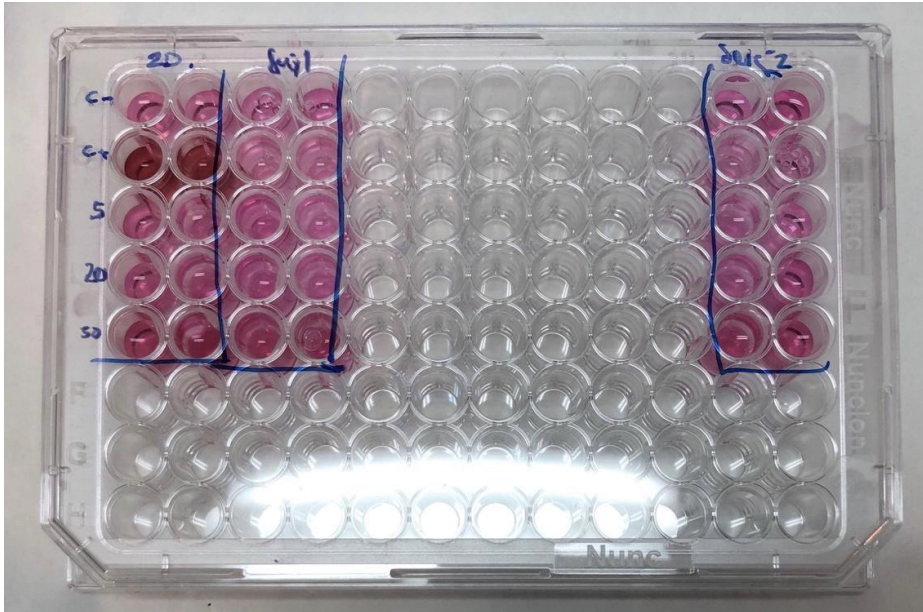


Figura 23. Placa de 96 pous amb els medis de cultius dels cultius en 2D i 3D amb diferents concentracions de doxorubicina.

A la primera i segona columnes es troben els medis de cultiu dels cultius en 2D, i a la tercera, la quarta, l'onzena i la dotzena columnes es troben els medis de cultiu dels hidrogels en 3D (s'han fet dues repeticions de cada mostra). A la primera i segona files es troben els Controls Negatius i Positius, respectivament, i a la tercera, quarta i cinquena files es troben les diferents concentracions de doxorubicina en ordre creixent (5 μ M, 20 μ M i 50 μ M).

Imatge presa per l'autor.

4. Resultats i discussió

En conjunt, els quatre apartats plantejats a continuació demostren o neguen diferents hipòtesis orientades a l'optimització i automatització del procés de diagnòstic i tractament del càncer de mama. L'objectiu comú dels quatre apartats és el que els lliga i condueix cap a un mateix camí, la confirmació o negació de la següent hipòtesi:

“És altament probable que en un futur proper s'optimitzi el procés de diagnòstic i tractament del càncer de mama a partir de la millora de certs aspectes i de l'automatització de certs processos.”

Aquesta hipòtesi teoritza sobre un futur, de manera que no es pot afirmar amb total certesa la seva veracitat o falsedat. No obstant, sí que se'n pot fer una bona aproximació a partir de les conclusions de les hipòtesis dels quatre subapartats d'aquest apartat.

4.1. Resultats de l'enquesta

L'enquesta presentada ha rebut 666 respostes en total, a partir de les quals s'han elaborat gràfics on s'indica el percentatge que representa cada resposta respecte el total. Els resultats obtinguts a partir de la primera part de l'enquesta s'utilitzen per determinar quin nivell de coneixement tenen els enquestats sobre el càncer i el càncer de mama en contrast amb el nivell que afirmen tenir. La segona part, en canvi, s'utilitza a manera de comparació amb algunes estadístiques descrites en el marc teòric (veure apartat 2.1, apartat 2.2 i apartat 2.3.1).

4.1.1. Resultats de la part 1

Les cinc primeres preguntes d'aquesta part estan orientades a determinar el coneixement real que tenen els enquestats sobre algunes dades del càncer en general i sobre el càncer de mama, com la seva incidència i la seva supervivència 5 anys després del diagnòstic. Per tant, a la introducció es demanava als enquestats que responguessin en relació amb el que sabien o els semblava més correcte.

La primera pregunta proposa la qüestió de quanta gent té, ha tingut o tindrà càncer en algun moment de la seva vida i ha estat resposta correctament per 308 persones, cosa que constitueix un 46,2% del total de respostes (figura 24). Això mostra un cert coneixement per part dels enquestats sobre el càncer en general.

Quin percentatge de la població té, ha tingut o tindrà càncer en algun moment de la seva vida?

666 respostes

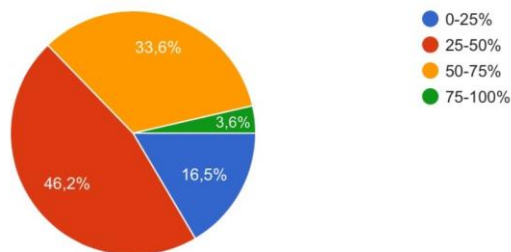


Figura 24. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta “Quin percentatge de la població té, ha tingut o tindrà càncer en algun moment de la seva vida?”.

Un 16,5% dels participants (110 enquestats) ha respost “0-25%”, un 46,2% (308 enquestats) ha respost “25-50%”, un 33,6% (224 enquestats) ha respost “50-75%”, i un 3,6% (24 enquestats) ha respost “75-100%”.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La segona qüestió pregunta als enquestats pel nombre total de tipus de càncers que existeixen, i ha estat resposta correctament només pel 18,6% dels enquestats, és a dir, 124 enquestats (Figura 25). Aquest fet mostra, en canvi, una manca de coneixement sobre un aspecte rellevant del càncer, ja que només una petita minoria ha encertat els 191 diferents tipus de càncers. La majoria dels enquestats, en canvi, han considerat que hi havia bastants menys tipus de càncers dels que realment existeixen.

Quants tipus de càncers existeixen?

666 respostes

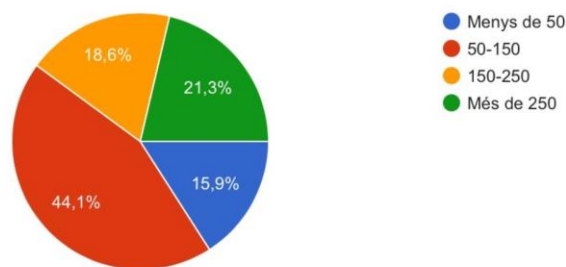


Figura 25. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta "Quants tipus de càncers existeixen?". Un 15,9% dels participants (106 enquestats) ha respost "Menys de 50", un 18,6% (124 enquestats) ha respost "50-150", un 44,1% (294 enquestats) ha respost "150-250", i un 21,3% (142 enquestats) ha respost "Més de 250".

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La tercera pregunta planteja la qüestió del nombre de dones que ha tingut, té o tindrà càncer de mama en algun moment de la seva vida en forma de percentatge (Figura 26). Aquesta pregunta ha estat resposta correctament per 161 enquestats, que constitueixen un 24,2% del total, mentre que una extensa majoria ha optat per un nombre bastant més elevat de casos de càncer de mama.

Quin percentatge de dones ha tingut, té o tindrà càncer de mama en algun moment de la seva vida?

666 respostes

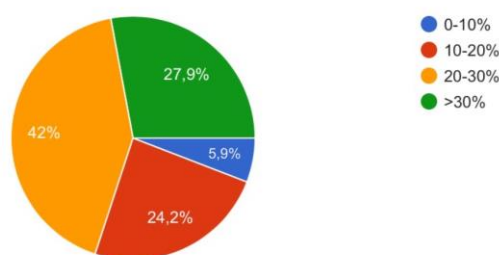


Figura 26. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta "Quin percentatge de dones ha tingut, té o tindrà càncer de mama en algun moment de la seva vida?".

Un 5,9% dels participants (39 enquestats) ha respost "0-10%", un 24,2% (161 enquestats) ha respost "10-20%", un 42% (280 enquestats) ha respost "20-30%", i un 27,9% (186 enquestats) ha respost ">30%".

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La quarta qüestió pregunta per la taxa de supervivència mitjana 5 anys després del diagnòstic del càncer de mama (figura 27), i ha estat resposta correctament per 228 enquestats, és a dir, el 34,2% del total. Tanmateix, una part considerable dels enquestats han considerat que la taxa de supervivència d'aquesta malaltia és bastant per sota de la real²¹.

Quina taxa de supervivència (5 anys després del diagnòstic) té el càncer de mama?

666 respostes

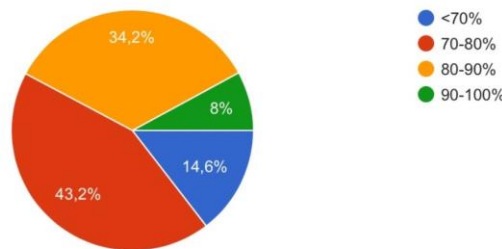


Figura 27. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta “Quina taxa de supervivència (5 anys després del diagnòstic) té el càncer de mama?”.

Un 14,6% dels participants (97 enquestats) han respost “<70%”, un 43,2% (288 enquestats) han respost “70-80”, un 34,2% (228 enquestats) han respost “80-90%”, i un 8% (53 enquestats) han respost “90-100%”.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La cinquena pregunta fa que els enquestats es qüestionin si saben que el càncer de mama també afecta a homes abans de llegir la pregunta (Figura 28), i 443 participants coneixien aquesta dada, cosa que representa un 66,5% del total. Aquesta dada sembla mostrar un bon coneixement d'algunes dades d'aquest tema, igual que els resultats de la primera pregunta.

²¹ En aquest cas, l'opció correcta és 80-90%, ja que la taxa de supervivència és del 89,6%, com han respost el 34,2% dels enquestats. No obstant, es considera que, com que la resposta correcta es troba tan a prop del 90%, que una part significativa de les respostes que indiquen 80-90% estimen una taxa de supervivència inferior a la real (per molt que es consideri l'opció correcta).

Sabies que el càncer de mama afecta tant a dones com a homes?

666 respostes

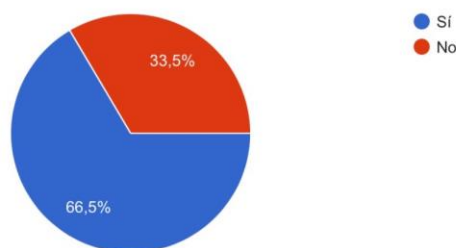


Figura 28. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta "Sabies que el càncer de mama afecta tant a dones com a homes?".

Un 66,5% dels participants (443 enquestats) han respost "Sí", i un 33,5% (223 enquestats) han respost "No".

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

Les tres últimes preguntes de la primera part de l'enquesta estan presentades de manera que posen directament en dubte el coneixement dels propis enquestats sobre el càncer de mama i els altres càncers. Aquestes preguntes estan situades després de les pròpies de preguntes sobre coneixements teòrics del càncer i càncer de mama, de manera que els enquestats ja han tingut la oportunitat de plantejar-se aquestes qüestions. A més, les preguntes referides també indaguen en l'acció que els enquestats pensen que haurien de prendre respecte el seu coneixement dels càncers i com ho pensen fer. És per tot això que aquestes tres preguntes no tenen una resposta correcta, sinó varies de vàlides, cosa que també passa amb la cinquena pregunta formulada.

La sisena pregunta planteja als enquestats el seu propi coneixement sobre el càncer de mama i el càncer en general (Figura 29). Les seves respostes s'han distribuït majoritàriament entre el "Sí, bastant" i el "Més o menys", és a dir, expressant un coneixement mitjanament bo.

Consideres que saps què és i en què consisteix el càncer de mama?

666 respostes

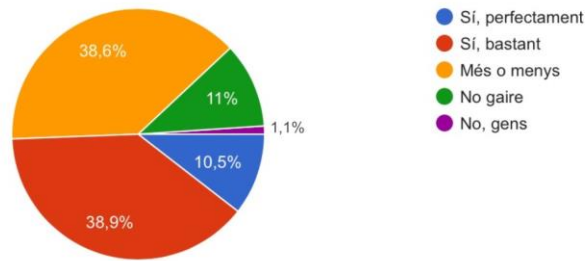


Figura 29. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta "Consideres que saps què és i en què consisteix el càncer de mama?".

Un 10,5% dels participants (70 enquestats) han respost "Sí, perfectament", un 38,9% (259 enquestats) han respost "Sí, bastant", un 38,6% (257 enquestats) han respost "Més o menys", un 11% (73 enquestats) han respost "No gaire", i un 1,1% (7 enquestats) han respost "No, gens".

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La setena pregunta planteja la necessitat d'informar-se més sobre el càncer de mama, entre d'altres càncers, com una activitat recomanada (Figura 30). En resposta a aquesta qüestió, més del 90% d'enquestats van estar d'acord en què s'haurien d'informar o una mica més o bastant més sobre el tema.

Creus que t'hauries d'informar més tant sobre el càncer de mama com sobre altres càncers?

666 respostes

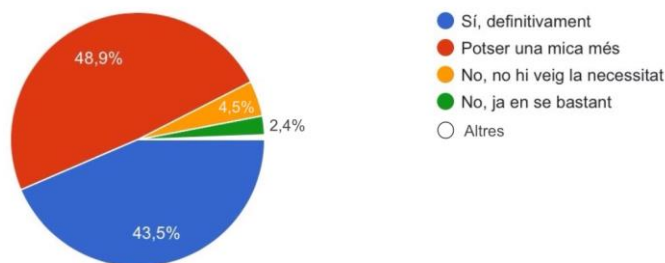


Figura 30. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta "Creus que t'hauries d'informar més tant sobre el càncer de mama com sobre altres càncers?".

Un 43,5% dels participants (290 enquestats) han respost "Sí, definitivament", un 48,9% (326) han respost "Potser una mica més", un 4,5% (30 enquestats) ha respost "No, no hi veig la necessitat", i un 2,4% (16 enquestats) han respost "No, ja en se bastant". A més, com s'ha donat l'opció "Altres", quatre individus han aprofitat per recordar com d'important és estar informat sobre aquest tema.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La vuitena, i última pregunta de la primera part, proposa diferents maneres d'informar-se sobre el càncer i el càncer de mama (Figura 31), de manera que permetia seleccionar tantes respostes com es desitgés. Per tant, els resultats mostren que els enquestats voldrien estar més informats sobre aquest tema mitjançant diferents recursos, la majoria dels quals no impliquen tanta participació per part de l'individu com per part del govern i d'organitzacions diverses.

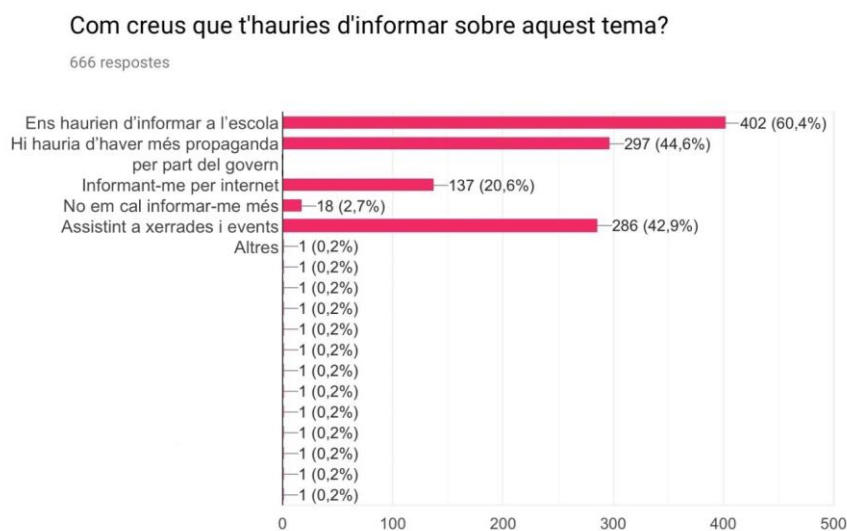


Figura 31. Gràfic de barres de les respostes a la pregunta “Com creus que t'hauries d'informar sobre aquest tema?”.

Un 60,4% dels participants (402 enquestats) han respost “Ens haurien d'informar a l'escola”, un 44,6% (297 participants) han respost “Hi hauria d'haver més propaganda per part del govern”, un 20,6% (137 enquestats) han respost “Informant-me per internet”, un 2,7% (18 enquestats) han respost “No em cal informar-me més”, i un 42,9% (286 enquestats) han respost “Assistint a xerrades i events”. Per altra banda, com que s'ha donat l'opció “Altres”, també hi ha 13 respostes d'enquestats que recomanen mesures addicionals, com poder parlar amb metges o informació a programes de televisió i per les xarxes socials.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

Els resultats descrits en aquesta primera part de l'enquesta fan possible la interpretació del nivell de coneixement dels enquestats sobre el càncer i sobre el càncer de mama. A més, també mostren el grau de coneixement que els propis enquestats afirmen tenir, i quines mesures es poden prendre per millorar-lo. En conjunt, els resultats de les primeres cinc preguntes mostren que els enquestats tenen un coneixement adequat en alguns casos i inacceptable en d'altres. Tant la primera com la cinquena preguntes han estat respostes correctament per un nombre considerable d'enquestats, mentre que la segona, la tercera i la quarta preguntes

han estat respostes de manera incorrecta per la majoria d'enquestats. És per tot això que és possible afirmar que el conjunt de 666 individus que han respost aquesta enquesta tenen un coneixement mitjà lleugerament insuficient sobre el càncer i, més concretament, sobre el càncer de mama. A més, és curiós mencionar que, quan es parla del càncer de mama, els enquestats han considerat que té una taxa de supervivència més baixa que la real i una incidència més alta. Això podria significar que els enquestats valoren el càncer de mama com una malaltia més comú i més perillosa del que realment és. Una causa possible podria ser que la seva ignorància sobre la pròpia malaltia els incita a qualificar-la com a més perillosa del que realment és. Per altra banda, la sisena, la setena i la vuitena preguntes oferien a l'enquestat l'oportunitat de valorar el seu propi coneixement sobre el càncer de mama i els seus medis d'informació. En conjunt, els resultats d'aquestes tres preguntes mostren que els enquestats afirmen tenir un bon nivell de coneixement sobre el tema tractat, però que de totes maneres prefereixen informar-se'n més, encara que sigui d'una manera més aviat passiva. Aquest fet demostra que, en la majoria de casos, la voluntat dels individus d'informar-se sobre un tema tan complicat i sensible com aquest no donarà lloc a cap recerca pròpia si no es facilita per medis externs. Si es contrasten aquests resultats amb els exposats anteriorment mitjançant les cinc primeres preguntes de l'enquesta, es pot observar que els enquestats afirmen tenir un grau de coneixement sobre el càncer de mama significativament més elevat que el que realment mostren.

4.1.2. Resultats de la part 2

La segona part de l'enquesta, com ja es menciona a la introducció de la pròpia enquesta, té un caire més personal i és opcional per a aquelles persones que tinguin certa sensibilitat respecte aquest tema. L'objectiu d'aquesta part és comparar les estadístiques obtingudes mitjançant l'enquesta amb les estadístiques obtingudes mitjançant recerca, les quals s'expliquen al marc teòric. Això permetrà comprovar si l'ambient en el qual s'ha divulgat l'enquesta és similar a l'ambient mitjà trobat a les estadístiques d'incidència, supervivència i factors de risc a Espanya i als Estats Units. A més, es pot observar que, amb l'excepció de la primera qüestió, les preguntes d'aquesta part no estan respostes pel total d'enquestats. Això és perquè s'ha proposat aquestes preguntes com a opcionals per a individus amb certa sensibilitat (com ja s'ha vist), per a individus que no coneixen a ningú que hagi patit

càncer de mama i per a enquestats que no coneixen la resposta a alguna de les preguntes.

La primera pregunta indaga en busca de persones que hagin tingut càncer de mama o, en cas de no haver-ne tingut, de coneguts que hagin patit aquesta malaltia (Figura 32). Com és lògic, la pregunta estava oberta a més d'una resposta possible, per si l'enquestat coneix a més d'una persona que hagi patit càncer de mama²². Del total de respostes, 32 (un 4,8%) eren d'individus que han passat ells mateixos per un càncer de mama.

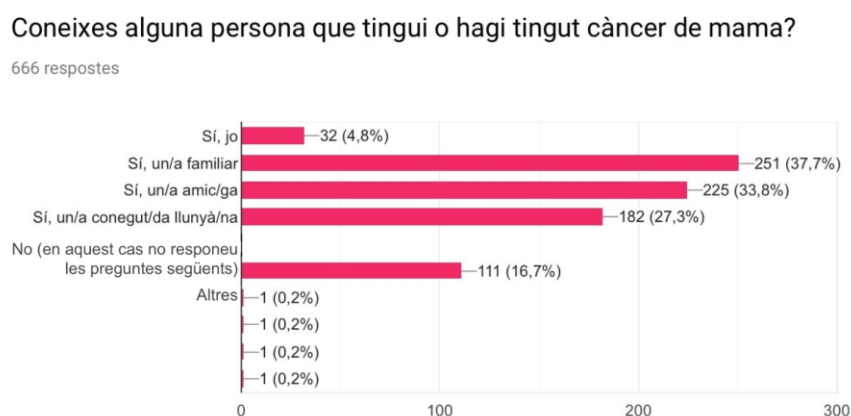


Figura 32. Gràfic de barres de les respostes a la pregunta "Coneixes alguna persona que tingui o hagi tingut càncer de mama?".

Un 4,8% dels participants (32 enquestats) han respost "Sí, jo", un 37,7% (251 enquestats) han respost "Sí, un familiar", un 33,8% (225 enquestats) han respost "Sí, un/a amic/ga", un 27,3% (182 enquestats) han respost "Sí, un/a conegut/da llunyà/na", i un 16,7% (111 enquestats) han respost "No", cas en el qual no havien de respondre les preguntes següents. A més, 4 enquestats han usat l'opció "Altres" per manifestar el tipus de relació amb l'individu que pateix càncer de mama.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La segona qüestió, que pregunta per l'edat de l'afectat o l'afectada en el moment del diagnòstic, només s'havia de respondre en cas que s'hagués respost afirmativament a la pregunta anterior, cosa que han fet 550 enquestats (Figura 33), de la mateixa manera que passa amb les preguntes restants fins al final de l'enquesta. Els resultats d'aquesta qüestió palesen que aproximadament $\frac{2}{3}$ de les

²² En aquest cas es demanava a l'enquestat que escollís únicament a un dels casos de coneguts amb càncer de mama o que repetís l'enquesta.

persones amb càncer de mama conegudes pels enquestats tenien entre 25 i 50 anys en el moment del diagnòstic, mentre que gairebé tota la resta en tenia més de 50.

En cas afirmatiu, a quina edat va tenir càncer de mama?

550 respostes

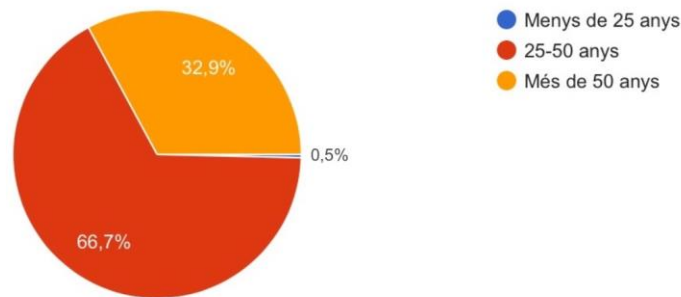


Figura 33. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta “En cas afirmatiu, a quina edat va tenir càncer de mama?”.

Un 0,4% dels participants (2 enquestats) han respost “Menys de 25 anys”, un 66,7% (367 enquestats) han respost “25-50 anys”, i un 32,9% (181 enquestats) han respost “Més de 25 anys”.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

La tercera pregunta indaga en el tractament que va rebre el pacient o la pacient en qüestió, i oferia múltiples opcions seleccionables, que han obtingut 540 respostes en total (Figura 34). Entre les opcions possibles han destacat la quimioteràpia, i, en segon lloc, la cirurgia.

La quarta i última pregunta de la segona part de l'enquesta pregunta als enquestats si, després del tractament, el pacient o la pacient amb càncer de mama havia evolucionat correctament i havia obtingut un resultat positiu o si no havia sobreviscut a la malaltia (Figura 35). Com sembla lògic, de les 543 respostes, la majoria parlen de resultats positius, més que negatius.

Quin tractament va rebre?

540 respostes

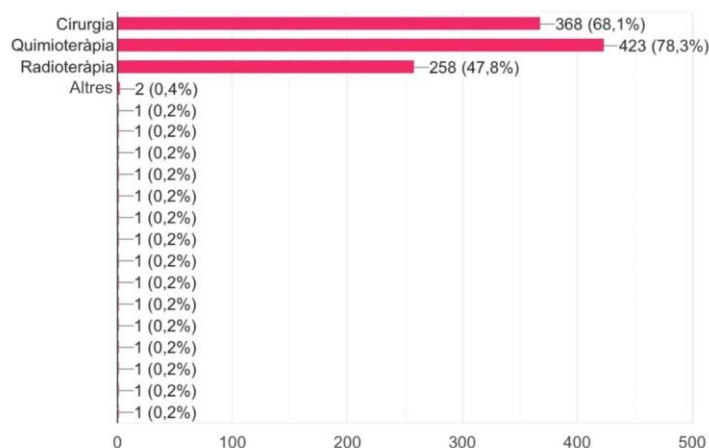


Figura 34. Gràfic de barres de les respostes a la pregunta “Quin tractament va rebre?”.

Un 68,1% dels participants (368 enquestats) han respost “Cirurgia”, un 78,3% (423 enquestats) han respost “Quimioteràpia”, i un 47,8% (258 enquestats) han respost “Radioteràpia”. L’opció “Altres” ha donat peu a 17 respostes més diverses, de les quals 9 fan referència a l’hormonoteràpia, una refereix a tractaments amb vacunes, i una fa referència a immunoteràpia.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

Els resultats del tractament van ser els esperats?

543 respostes

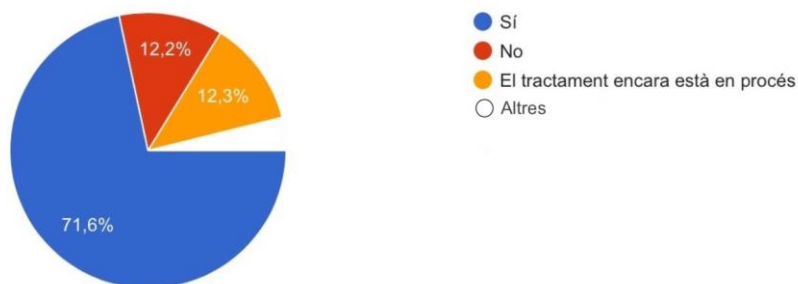


Figura 35. Gràfic de seccions de les respostes a la pregunta “Els resultats del tractament van ser els esperats?”.

Un 71,6% dels participants (389 enquestats) han respost “Sí”, un 12,2% (66 enquestats) han respost “No”, i un 12,3% (67 enquestats) han respost “El tractament encara està en procés”. Per altra banda, mitjançant l’opció “Altres”, 21 enquestats han parlat de tractaments amb respostes que han variat amb el temps, com és lògic.

Figura de creació pròpia amb el programa de formularis de Google.

Aquestes últimes quatre preguntes permeten dur a terme un càlcul aproximat de la incidència del càncer de mama en aquest ambient, de la importància del factor de

risc de l'edat, dels tractaments més usats i de la seva mortalitat. En conseqüència, a continuació es comparen les dades obtingudes mitjançant l'enquesta amb les dades oficials corresponents, descrites al marc teòric. Primerament, els resultats de la primera pregunta permeten calcular el percentatge de dones aproximat que han tingut càncer en algun moment de la seva vida dintre del conjunt d'enquestats. D'entre els 666 enquestats, un 4,8% (32 enquestades) afirmen tenir o haver tingut càncer de mama en algun moment de la seva vida. Tenint en compte que és altament improbable que algun d'aquests casos sigui el d'un home, és lògic assumir que els 32 casos són de dones. Com que, aproximadament, les dones només constitueixen la meitat de les respostes a l'enquesta, es pot considerar que 32 enquestades de 333 han patit càncer de mama, és a dir, un 9,6% del total de dones. Respecte les dades oficials, que indiquen que un 12,8% de les dones pateixen càncer de mama en algun moment de la seva vida, l'error comès és d'un 3,2%. Aquest error està completament justificat i, fins i tot, pot ser considerat petit, ja que s'ha de tenir en compte que l'enquesta ha estat resposta majoritàriament per individus menors d'edat o d'edat jove, els quals és poc probable que hagin desenvolupat càncer de mama tan aviat. És per això que la pregunta també quantifica els coneguts dels enquestats que han tingut càncer de mama, obtenint un resultat desorbitat, que indica que de mitja, cada enquestat coneix a més d'un individu amb càncer de mama²³. Per, tant, encara que la incidència calculada entre les dones enquestades sigui relativament baixa per les variables ja explicades, l'important presència de dones amb càncer de mama a la seva vida indica que en el mateix ambient format per adults, la incidència del càncer de mama seria relativament alta. En segon lloc, la segona pregunta fa referència a un factor de risc molt important del càncer de mama, l'edat. Altres estudis demostren que la probabilitat de contraure càncer de mama augmenten amb l'edat, sent 64 anys l'edat en la qual es diagnostiquen més càncers de mama (veure apartat 2.3.1). Aquest estudi també confirma que entre els 50 i els 75 anys es diagnostiquen prop del 60% dels casos de càncer de mama. En canvi, l'enquesta mostra un resultat completament diferent, en el qual més de $\frac{2}{3}$ dels casos s'havien diagnosticat abans

²³ EL càlcul realitzat ha estat la suma dels percentatges dels coneguts de tot tipus amb càncer de mama, que es descriu a continuació: 4,8% + 37,7% + 33,8% + 27,3% + 0,2% + 0,2% + 0,2% + 0,2% = 104,4%. És a dir, que cada enquestat coneix a 1,044 persones amb càncer de mama de mitja. I tot això sense tenir en compte que una mateixa persona pot tenir més d'una familiar, més d'una amiga i més d'una coneguda amb càncer de mama.

dels 50 anys, i la resta després dels 50 anys. La causa d'aquesta contradicció pot ser que, com que els enquestats generalment són d'edat jove, majoritàriament coneixen a individus joves amb càncer de mama. També és possible que per atzar hagin tingut lloc molts casos de dones joves amb càncer de mama en el ambient en el qual s'ha fet córrer l'enquesta. Per altra banda, els resultats de la tercera pregunta mostren que els tractaments més utilitzats, en aquest ordre, són la quimioteràpia, la cirurgia, i la radioteràpia. Aquests resultats concorden bastant amb la realitat, excepte per la baixíssima presència de la hormonoteràpia, que és la teràpia més utilitzada en el tipus luminals del càncer de mama. Aquesta pregunta de l'enquesta estava plantejada de manera que l'opció de la hormonoteràpia no es podia seleccionar directament sinó que s'havia d'introduir mitjançant l'opció "Altres". El més probable és que una porció important dels enquestats, en no estar suficientment informats sobre el tema (com s'ha conclòs en aquest mateix apartat), no hagin estat capaços d'escriure aquesta opció, per molt que fos la resposta correcta en el seu cas. En canvi, 9 individus sí que han estat capaços d'introduir aquest tractament com a resposta a la pregunta. Finalment, l'última pregunta de l'enquesta està orientada a determinar la supervivència mitjana del càncer de mama en el àmbit seleccionat. Els resultats indiquen que el 71,6% dels tractaments van tenir l'efecte esperat, mentre que un 12,2% no (el percentatge restant encara es troba en tractament o no correspon amb les opcions). Per tant, comptant la suma d'aquests dos percentatges (83,8%) com el 100%, es pot escalar que el 85,4% dels casos tenen l'efecte esperat i 14,6% no. Aquest resultat és lleugerament inferior al de les dades oficials que considera una supervivència 5 anys després del diagnòstic del 89,6%. Clar està, que l'enquesta no pot quantificar la supervivència 5 anys després del diagnòstic sinó la supervivència en general sense tenir en compte els anys transcorreguts, de manera que pot ser més imprecisa. A més, com que la majoria de diagnòstics, en aquest cas, han tingut lloc abans de la menopausa (als 50 anys), és lògic que els càncers siguin més agressius, ja que tenen més activitat hormonal.

4.1.3. Conclusions sobre el coneixement i la incidència del càncer de mama

En conjunt, aquesta part de l'enquesta, tot i les seves limitacions, sembla indicar que la incidència, quan es tenen en compte tots els factors, i la mortalitat en aquest

ambient concret són lleugerament més elevades que les descrites a les dades oficials. És cert que aquesta enquesta, per les seves limitacions, no pot donar una informació absolutament segura i certa, ja que es veu influïda per certs factors, com l'edat mitjana dels enquestats. Tanmateix, sembla que les conclusions extretes confirmen ambdues parts de la hipòtesi corresponent a aquest apartat, s'afirma que els enquestats estan més desinformatos del que es pensen i que la mortalitat i incidència són, amb bastanta probabilitat, més elevades que la mitjana. Això semblaria confirmar la hipòtesi plantejada, la qual es repeteix a continuació:

“Els individus de l'ambient en el qual ha circulat l'enquesta no saben tant del càncer i del càncer de mama com afirmen saber, cosa que provoca que en aquest ambient la incidència i la mortalitat del càncer de mama siguin més elevades que a l'ambient mitjà espanyol i estatunidenc.”

No obstant, no es verifica que la primera part de la hipòtesi sigui la causa de la segona, ja que existeixen massa variables que hi podrien influir. Per tant, encara que algunes parts es confirmen, la hipòtesi completa no es pot confirmar ni desmentir mitjançant l'enquesta formulada. En conseqüència, es manté com una possibilitat que la no reconeguda ignorància dels enquestats sobre el càncer de mama els dificulti un diagnòstic precoç que rebaixi la incidència i mortalitat de la malaltia mitjançant un tractament més eficaç. D'aquesta manera, s'obren les portes a altres estudis més complets que utilitzin altres mètodes que puguin provar la seva veracitat o falsedat. També es recomana la palpació de la pròpia mama, així com de les zones ganglionars per propiciar un diagnòstic veloç en cas de càncer.

4.2. Resultats del programa informàtic

Com ja s'ha explicat a la part pràctica corresponent amb aquestes conclusions, el programa informàtic creat (veure Annex 7.1) té l'objectiu de diferenciar les cèl·lules tumorals malignes de càncer de mama de les cèl·lules benignes de la mama mitjançant uns certs paràmetres. En fer córrer aquest programa en l'entorn python 3, els resultats obtinguts han estat el nombre de VP, FP, VN, i FN; el valor de l'AUC; el gràfic de la corba ROC; els gràfics de la PCA i els seus dos histogrames; i el gràfic del LDA.

4.2.1. Eficàcia i taxa d'encert del programa

En primer lloc, l'aplicació de la matriu de confusió ha donat lloc als següents valors per TP, FP, TN i FN de la part d'entrenament, en aquest mateix ordre: 95, 2, 45, 0. Això significa que en 95 de les cèl·lules el programa ha determinat que eren malignes i ho eren, en 2 casos ha determinat que eren malignes i no ho eren, en 45 casos ha determinat que eren benignes i ho eren, i en cap cas ha determinat que eren benignes i ha errat. A partir d'aquestes dades es pot calcular la taxa d'encert del programa en la part d'entrenament amb el següent càlcul:

$$\text{taxa d'encert (entrenament)} = \frac{95 + 45}{95 + 45 + 2 + 0} = 0,9854 = 98,54\%$$

A més, també es poden calcular el VPR i FPR mitjançant els següents càlculs:

$$VPR = \frac{95}{95 + 0} = 1 \qquad FPR = \frac{2}{2 + 45} = 0,04255$$

Per altra banda, la matriu de confusió ha produït els mateixos resultats de la part d'examen, és a dir, els seus VP, FP, VN i FN, la taxa d'encert, la VPR i la FPR. En el cas, de la part d'examen, s'ha obtingut 247 VP, 10 FP, 170 VN i 0 FN. Per tant, la taxa d'encert del programa amb la part d'examen és la següent:

$$\text{taxa d'encert (examen)} = \frac{247 + 170}{247 + 170 + 10 + 0} = 0,9766 = 97,66\%$$

La VPR i FPR de la part d'examen també es calculen a continuació:

$$VPR = \frac{247}{247 + 0} = 1 \qquad FPR = \frac{10}{10 + 170} = 0,05556$$

En els valors de VP, FP, VN i FN tant d'entrenament com d'examen es pot observar l'absència absoluta de FN, però la presència de FP, a més de l'abundància de VP i VN. Això és un efecte de la prioritització de la minimització del cost per sobre de la reducció de l'error, és a dir, el programa ha donat prioritat a l'eliminació de FN, per molt que això hagi provocat un augment de FP. Aquesta eliminació de FN també és el que provoca que el VPR d'entrenament i d'examen sigui exactament 1, el millor valor possible per a aquesta variable. En canvi, per l'augment de FP, el FPR té un valor més elevat en ambdós casos. No obstant aquest error, el valor de FPR tant d'entrenament com d'examen és molt proper a 0, és a dir, és bastant correcte. A partir del VPR i el FPR el propi programa elabora la corba ROC i en calcula l'AUC, que indica la precisió del classificador (Figura 36). Per altra banda, la taxa d'encert

de les dues parts també és un percentatge molt elevat, la qual cosa indica que la gran majoria dels diagnòstics són correctes. Finalment, es pot observar que tant la taxa d'encert, com la FPR, com l'AUC tenen millors valors a la part d'entrenament que a la part d'examen, ja que és la part a partir de la qual s'elabora el model que discerneix les dues categories de cèl·lules, mentre que a la part d'examen utilitza mostres completament alienes a la creació del model.

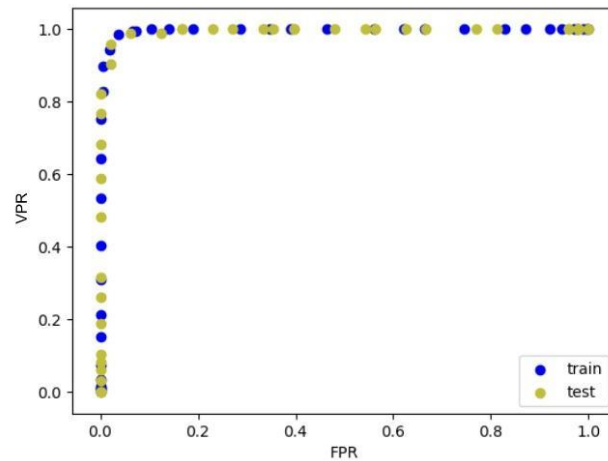


Figura X. Corba ROC de les parts d'entrenament i d'examen del programa informàtic.

A l'eix d'abscisses del gràfic es representa el valor de la FPR entre 0 i 1, i a l'eix de les ordenades es representa el valor de la VPR també entre 1 i 0. Els punts blaus del gràfic formen la corba aproximada de la part d'entrenament (train) i els punts daurats la corba de la part d'examen (test). Es pot observar que ambdues corbes ROC són d'alta qualitat, ja que mantenen una VPR molt propera a l'1 i una FPR molt propera al 0. En concret, el valor d'AUC per la part d'entrenament és de 0,9972 aproximadament, i el valor d'AUC per la part d'examen és de 0,9954 aproximadament. Aquests dos valors són excepcionalment elevats, de manera que es pot considerar que la precisió del classificador és elevadíssima.

Figura de creació pròpia mitjançant el programa.

4.2.2. Valoració dels classificadors

A banda d'això, també és necessari analitzar la precisió dels dos classificadors lineals creats pel programa: la PCA i el LDA. Per una banda, el classificador de la PCA dona lloc a tres gràfics: el gràfic PCA, l'histograma de la PCA 1 i l'histograma de la PCA 2, els quals es combinen a la figura 36. Per l'altra banda, el classificador del LDA també es mostra en forma d'histograma a la figura 37. A partir de l'anàlisi visual dels gràfics i histogrames de la PCA i de l'histograma del LDA, es pot determinar en quin dels dos gràfics es superposen menys el conjunt de mostres

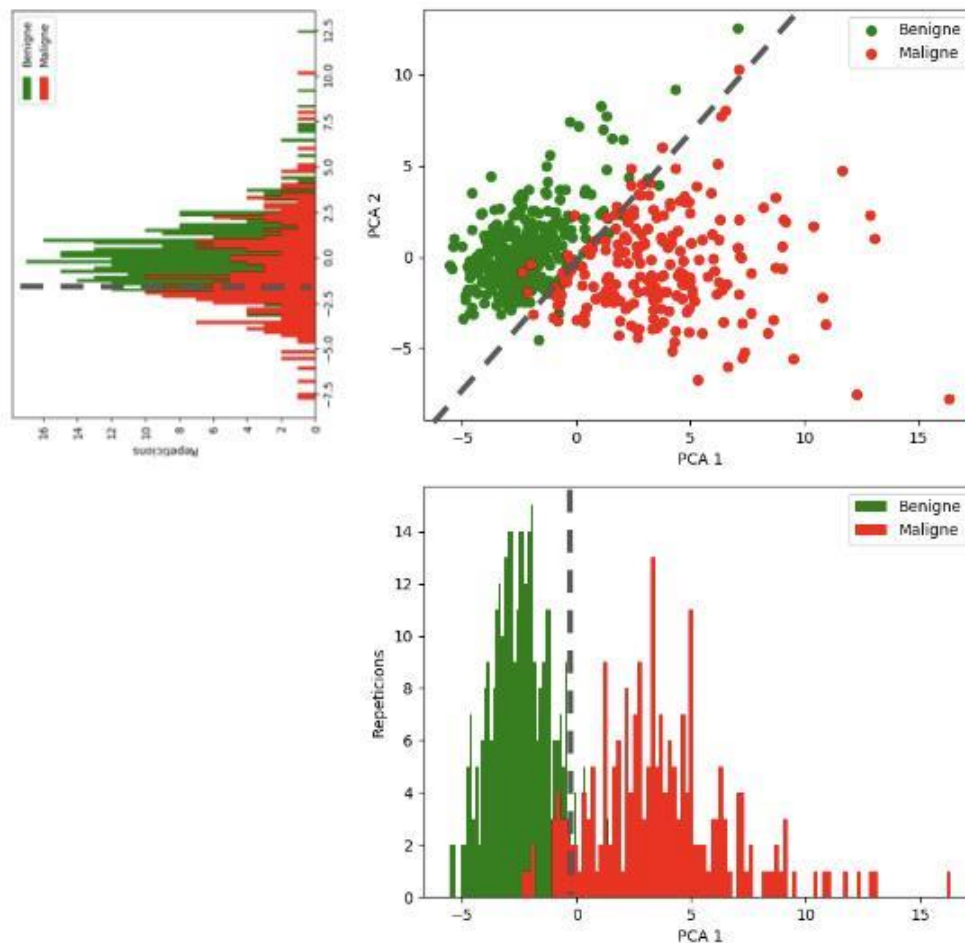


Figura 36. Gràfic PCA classificador de cèl·lules benignes i malignes amb els dos histogrames en els eixos corresponents.

En la combinació de PCAs (gràfic superior dret), l'eix d'abscisses del gràfic l'ocupa la PCA 1, i l'eix d'ordenades l'ocupa la PCA 2. En el histograma de la PCA 1 (gràfic inferior dret), l'eix d'abscisses l'ocupa la pròpia PCA 1, i l'eix d'ordenades l'ocupa el nombre de repeticions. En l'histograma 2 (gràfic superior esquerre), l'eix d'abscisses l'ocupa també la pròpia PCA 2, i l'eix d'ordenades l'ocupa també el nombre de repeticions. És important destacar que els diferents valors que es donen als eixos no signifiquen res, només serveixen per quantificar la separació entre mostres. bàsicament, com més separats estiguin dos punts (dues mostres), més diferents són els paràmetres que els defineixen. Per tant, en tots dos histogrames es pot interpretar que cada barra és un conjunt de cert nombre de mostres amb uns paràmetres similars segons la classificació realitzada per la PCA corresponent. A més, l'alçada de la barra dependrà del nombre de mostres que comparteixen aquestes característiques, és a dir, les seves repeticions. Això significa que com més a prop es troben dos barres, més semblants són les característiques de les mostres que les componen. Per tant, si les barres del mateix color es troben juntes entre elles i separades de les barres de l'altre color, es pot deduir que el classificador separa molt bé les mostres en categories. En canvi, si els dos colors estan barrejats, es pot deduir que el classificador no és capaç de separar adequadament les mostres en les dues categories. En conseqüència, és clar que la PCA 1 és un bastant bon classificador, però la PCA 2 no és capaç de separar amb claredat les dues categories. No obstant, és la combinació de

les dues PCAs la que funciona com un classificador més eficaç, ja que, com es pot observar en el gràfic superior dret, en convertir les dues PCAs en un sistema de coordenades cartesianes, es crea una separació molt més tangible entre les mostres de cèl·lules benignes i les mostres de cèl·lules malignes.

Figura de creació pròpia mitjançant el programa.

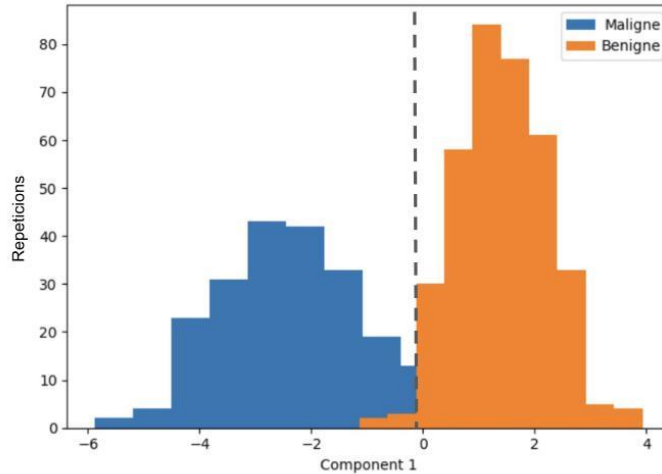


Figura 37. Histograma LDA classificador de cèl·lules benignes i malignes.

A l'eix d'abscisses es representa el component 1 del LDA, i a l'eix d'ordenades el nombre de repeticions de cada mostra. El component 1 del LDA funciona com el component 1 de la PCA, amb la diferència que es basa en diferents trets per fer de classificador. La interpretació d'aquest histograma i del histograma de la PCA també funciona de la mateixa manera, així que, com que les mostres classificades com a benignes i les mostres classificades com a malignes tenen una mínima intersecció, es pot afirmar que el LDA és un molt bon classificador.

Figura de creació pròpia mitjançant el programa.

benignes i el conjunt de mostres malignes, és a dir, la seva intersecció. Amb això, s'entén que totes aquelles mostres que es troben a l'altre costat de la línia discontinua que separa una categoria de l'altre són falsos valors. Això fa referència a aquelles mostres classificades erròniament trobades en el costat de la línia en el qual abunda més l'altra categoria. Per tant, a simple vista, sembla que el LDA és lleugerament millor classificador que els PCAs, ja que la seva intersecció és mínima (la de la combinació de PCAs també, però sembla mínimament més gran). A més, té sentit que el LDA sigui millor classificador que la PCA, ja que en lloc de basar-se exclusivament en la variància, estableix similituds entre les dades de les dues diferents categories.

4.2.3. Conclusions sobre l'eficàcia i aplicacions del programa

En conjunt, sembla ser que el programa té una taxa d'encert elevada i dona uns resultats bastant fiables, amb el mínim cost possible. Per tant, seria lògic plantejar-se la seva aplicació en sistemes de diagnòstic i detecció de càncer de mama per tal d'aplicar un tractament el més aviat possible. A l'actualitat, aquesta tècnica sembla contraproductiu, ja que requereix els valors de 30 paràmetres de les cèl·lules, cosa que implica un complex anàlisi de les cèl·lules. Per tal de dur a terme aquest anàlisi seria necessari més temps i més dedicació de l'expert encarregat que el que es necessita per analitzar si una cèl·lula és benigna o maligna sota microscopi. Per tant, per poder aplicar aquest programa, seria necessari desenvolupar un altre programa que fos capaç d'analitzar els 30 paràmetres de les cèl·lules de mostra per tal que aquest programa les pugui classificar. D'aquesta manera, s'automatitzaria tot el procés de la biòpsia i no seria necessària la participació de tants professionals que es mantenen ocupats determinant la naturalesa de les cèl·lules. Per tot això podem afirmar la hipòtesi plantejada, la qual es descriu a continuació:

“El programa dissenyat té una taxa d'encert per sobre del 90% i, dels classificadors que utilitza, el LDA és el més precís per discernir les cèl·lules benignes de la mama de les cèl·lules malignes, de manera que en un futur proper es podria utilitzar com a mètode de diagnòstic del càncer de mama.”

La taxa d'encert del programa és del 98,54% per la part d'entrenament i del 97,66% per la part d'examen. Cosa que es suma a uns valors d'AUC del 0.9972 per l'entrenament i del 0,9954 per l'examen, i a uns valors de VPR i FPR iguals o molt propers als desitjats. Per tant, es pot concloure que la taxa d'encert és efectivament molt superior a l del 90% plantejada a la hipòtesi. A més, també es confirma que el LDA és el classificador amb millors resultats a l'hora de discernir les dues categories de cèl·lules, encara que seguit d'a prop per la PCA. En últim lloc, encara que no s'hagi dut a terme en l'actualitat, sembla bastant possible que es pugui utilitzar aquest programa pel diagnòstic del càncer de mama per automatitzar el procés. Això sí, serà necessària l'elaboració d'un programa complementari per tal de completar l'automatització del procés. Per tot això, es pot determinar que la hipòtesi

proposada per aquest apartat és certa en molts aspectes i té una elevada probabilitat d'esdevenir completament certa en un futur proper.

4.3. Resultats de la comparació dels casos clínics amb el protocol elaborat en el marc teòric

Aquest apartat dels resultats i la seva corresponent discussió aspiren a determinar si en els casos clínics descrits anteriorment es segueix el protocol habitual de tractament del càncer de mama, el qual s'explica a l'apartat 2.3.5. A partir d'aquesta conclusió, també es pretén afirmar o negar que es pugui elaborar un model absolut pel tractament del càncer de mama que determini sempre la millor opció. Per tant, a continuació es descriu el conjunt de tractaments que es van aplicar en cadascun dels quatre casos clínics.

En el cas de la primera pacient, la Isabel, el càncer de mama era un CDI HER2-positiu, debutant en Estadi IIIA. Així, en el seu debut se li van administrar els següents tractaments en aquest ordre: lumpectomia de la mama, quimioteràpia adjuvant, una altra quimioteràpia, i radioteràpia interna i externa. A més, la pacient va intentar entrar en un assaig de teràpies dirigides a HER2, però no va poder accedir-hi. Amb aquests tractament la pacient va quedar lliure de malaltia uns anys, fins que va patir metàstasi òssies, que va tractar amb quimioteràpia i una teràpia dirigida al HER2, però es va haver de suspendre. Finalment, va patir metàstasi cerebral, que també va tractar amb quimioteràpia i teràpies dirigides al HER2, i també es va haver de suspendre; amb quimioteràpia dirigida; amb una altra teràpia dirigida al HER2, la qual no va tenir resposta i es va aturar; i amb més quimioteràpia conjunta amb teràpies dirigides al HER2, que també es van haver de suspendre per toxicitat excessiva. Ara mateix la pacient està pendent de la decisió de la Dra Falo d'administrar-li un nou tractament. Per altra banda, si s'hagués seguit el protocol de tractament proposat en el marc teòric, la pacient hauria rebut una mastectomia, dos tractaments de radioteràpia i tres línies de tractament de teràpies dirigides a HER2. La cirurgia, la radioteràpia i les teràpies dirigides a HER2 coincideixen amb el tractament real. En canvi, la quimioteràpia i els assajos combinats no estan presents en el protocol, cosa que representa una manca bastant important. Per tant, en aquest primer cas, queda clar que no es pot seguir el protocol estandarditzat per les

seves vàries mancances. També s'observa que el protocol no pot solucionar situacions en les quals la pacient no és apta per un assaig determinat o no respon correctament a la teràpia pautaada i, per tant, s'ha de modificar el curs del tractament.

En segon lloc, el cas de la pacient Carmen és un cas de CDI Luminal A, debutant en Estadi IV amb metàstasis òssies politàpiques. D'aquesta manera, els tractaments que es van administrar a la pacient després de la detecció del seu càncer són els següents: radioteràpia externa, hormonoteràpia, teràpies dirigides a les cinases dependents de ciclines 4/6 i certs medicaments pal·liatius per regenerar els ossos apaivagar el dolor. No obstant, les teràpies dirigides a les cinases dependents de les ciclines 4/6 es van haver de suspendre per toxicitat, i els medicaments pal·liatius van haver de canviar-se per d'altres per efectes secundaris no desitjats. Com que el recorregut de la malaltia de la pacient és només d'un any, no s'han administrat més tractaments, i a l'actualitat segueix rebent hormonoteràpia amb medicaments pal·liatius i analgèsics. Per altra banda, seguint el protocol descrit, a la pacient se li hauria practicat una mastectomia i se li hauria administrat radioteràpia i hormonoteràpia. En aquest cas s'ha aplicat un tractament bastant semblant al protocol, tot i que s'ha considerat que la cirurgia no era necessària i, en canvi, s'ha aplicat una teràpia dirigida. En conseqüència, en aquest cas clínic, es pot concloure que, tot i no poder proporcionar un tractament completament adaptat a la pacient, el protocol s'aproxima bastant al tractament real, especialment en les línies principals de tractament.

El tercer cas clínic, el de l'Inés, és un cas d CDI triple negatiu, debutant en Estadi IIIB, i de grau 2. Per tant, la Dra Faló va optar per dues línies de quimioteràpia neoadjuvant que van precedir una mastectomia, la qual va anar seguida de quimioteràpia adjuvant. Posteriorment, la pacient va desenvolupar metàstasis òssies, pulmonars i hepàtiques, de manera que se li va administrar més quimioteràpia. A més, tant durant el debut de la malaltia com durant la metàstasi, se li van administrar tractaments pal·liatius i analgèsics pe millorar la qualitat dels seus ossos i reduir el dolor, respectivament. En canvi, segons el protocol pautaat, l'adequat hauria estat administrar-li, a més d'una mastectomia i dues línies de quimioteràpia, tractaments radioterapèutics. Per tant, es pot concloure que, tot i no ser exactament

idèntics, el tractament real i el tractament indicat pel protocol presenten moltes similituds.

Finalment, l'últim cas clínic és el de l'Àngela, i consisteix en un tumor de mama CDI, Luminal A, neuroendocrí, debutant en Estadi IIA. A l'inici del tractament, la pacient va rebre quimioteràpia neoadjuvant, una mastectomia, quimioteràpia adjuvant i hormonoteràpia. Posteriorment, estant la pacient asimptomàtica, es van detectar metàstasis pulmonars, òssies, hepàtiques, suprarenals, pancreàtiques i a la mucosa rectal, de manera que es va dur a terme una fixació quirúrgica d'una vèrtebra danyada, i es va administrar hormonoteràpia. Més tard, quan es van detectar metàstasis cerebrals i progressió de les altres metàstasis, la pacient va ser intervinguda pel servei de neurocirurgia i va rebre tres línies de tractament hormonoterapèutic i, fins i tot, una línia d'immunoteràpia. Per altra banda, la taula amb el protocol no contempla els tumors neuroendocrins, ja que són molt poc habituals, però, per un tumor CDI Luminal A amb una detecció i evolució com els d'aquest tumor, recomana una mastectomia amb radioteràpia complementària i hormonoteràpia. En aquest cas, el protocol presenta nombroses limitacions, ja que no té en compte les quimioteràpies necessàries, les intervencions quirúrgiques contra les metàstasis, ni la immunoteràpia.

4.3.1. Conclusions de la comparació

En conjunt, aquests quatre casos clínics demostren que el protocol desenvolupat no és apte per a determinar un tractament adequat i personalitzat per a cada cas, ja que cap cas clínic el segueix completament. No obstant, és possible observar que en càncers més recents, amb un menor recorregut, o d'uns certs tipus són més fàcils d'incloure en un protocol. Per exemple, en el primer cas i en l'últim cas, que són els més complexos, el protocol és molt menys precís que en casos més senzills, com el segon i el tercer, que han tingut un desenvolupament més curt. Per tant, amb certes optimitzacions, el protocol podria arribar a constituir una base sòlida per els casos més generals, però no el tractament complet. Tanmateix, és altament improbable que es pugui arribar a desenvolupar mai un protocol que pugui definir la gran majoria de casos de càncer de mama. Això és perquè el protocol no pot tenir en compte tots els factors influents, com la resposta de la pacient, els efectes

secundaris, l'agressivitat i la naturalesa del tumor, la necessitat d'intervenció quirúrgica de les metàstasis, o l'aplicació excepcional de tractaments poc habituals, entre d'altres. I, fins i tot, si es pogués definir un programa que complís tots aquests requisits i que tingués en compte totes les variables, no seria capaç d'analitzar totes les condicions del pacient que requereixen un component humà (tant per la interpretació de proves com per la interacció amb el pacient). Per tot això, és possible negar al complet la següent hipòtesi:

“Els casos clínics descrits segueixen meticulosament el protocol estandarditzat elaborat en el treball per a cada tipus de càncer, tant al principi del diagnòstic com en estadis més tardans, i, per tant, pot elaborar-se un model absolut per a tots els casos.”

Per una banda, cap dels casos clínics segueix el protocol estandarditzat en el marc teòric, encara que els casos més senzills s'hi aproximem més que en estadis més tardans. Per l'altra banda, sembla impossible l'elaboració d'un model absolut que serveixi per a tots els casos, ja que cada cas individual té unes característiques pròpies que cap programa podria contemplar i avaluar completament. Tanmateix, sí que es podria elaborar un model que recomanés els tractaments més efectius en cada cas, a partir dels quals, el professional sanitari encarregat podria determinar un camí a seguir.

4.4. Resultats de l'estudi de les cèl·lules tumorals en ambients 3D

En aquest apartat es mostren els resultats de les diferents tincions dels cultius de cèl·lules en 2D i dels hidrogels amb cèl·lules en 3D. Aquests resultats, observats sota microscopi confocal de fluorescència (Figura 38) fan possible l'enteniment de la configuració de les cèl·lules tumorals en el seu microambient i de com això afecta a l'eficàcia dels fàrmacs.

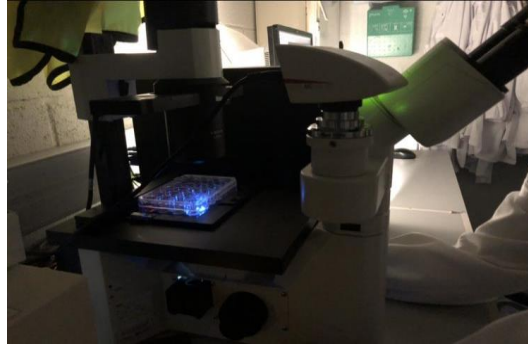


Figura 38. Microscopi confocal de fluorescència.

Imatge presa per l'autor.

4.4.1. Configuració en 3D de les cèl·lules tumorals

Per començar, es mostren les tincions amb Fal·loidina/DAPI i amb Hematoxilina/Eosina de cultius cel·lulars en hidrogels, que simulen el microambient tumoral en 3D, després del cultiu durant 10 dies. La tinció amb Fal·loidina/DAPI mostra les proteïnes (Fal·loidina) i els àcids nucleics (DAPI) que contenen les cèl·lules tumorals de mama cultivades en hidrogels de microambient 3D (Figura 39).

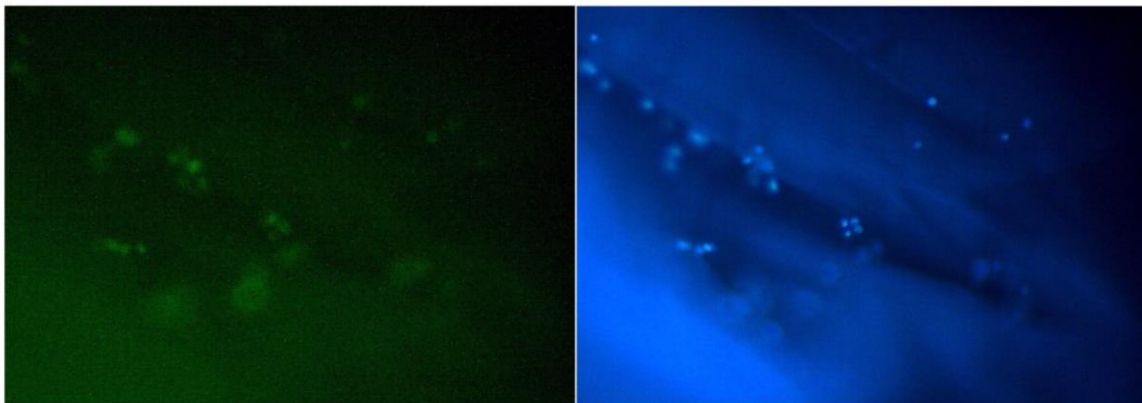


Figura 39. Tinció Fal·loidina/DAPI de les cèl·lules cultivades en hidrogels de microambient 3D.

A la imatge de l'esquerra es poden observar les proteïnes trobades en els citoplasmes de les cèl·lules tumoral cultivades, marcades de color ver. A la imatge de la dreta es poden observar els àcids nucleics en els nuclis i citoplasmes de les mateixes cèl·lules. En ambdues imatges s'observa la forma d'una part de l'hidrogel que ocupa, sobretot, la cantonada inferior esquerra (a l'esquerra de color verd i a la dreta de color blau. A més, es pot observar una configuració cel·lular que només té lloc en microambients 3D: els esferoides. Els esferoides s'observen en ambdues imatges, són aquells conjunts d'unes quatre cèl·lules aproximadament que es troben juntes entre elles. A la imatge es poden detectar tres esferoides, un exemple és aquell esferoide que es troba en el centre de la imatge, format per quatre cèl·lules.

Imatge presa per l'autor amb microscopi confocal de fluorescència.

Per altra banda, la tinció Hematoxilina/Eosina mostra els nuclis cel·lulars (Hematoxilina) i els citoesquelets (Eosina) de les cèl·lules tumorals també cultivades en hidrogels de microambient 3D (Figura 40). Mitjançant aquestes dues tincions es pot observar com s'estructuren les cèl·lules tumorals en un ambient 3D que mimetitzava el microambient tumoral en el cos humà. Com es pot veure a les imatges, les cèl·lules presenten unes condicions aparentment normals, ja que les mutacions de les cèl·lules tumorals no es poden observar amb aquestes tincions. Tanmateix, sí que presenten un tret característic de les cèl·lules tumorals del càncer de mama: es configuren en esferoides. Això significa que les cèl·lules s'adhereixen entre elles i uneixen les seves ECMs, de manera que s'envolten de fibres de col·lagen, entre d'altres proteïnes, i molt probablement dificulten la difusió dels medicaments.

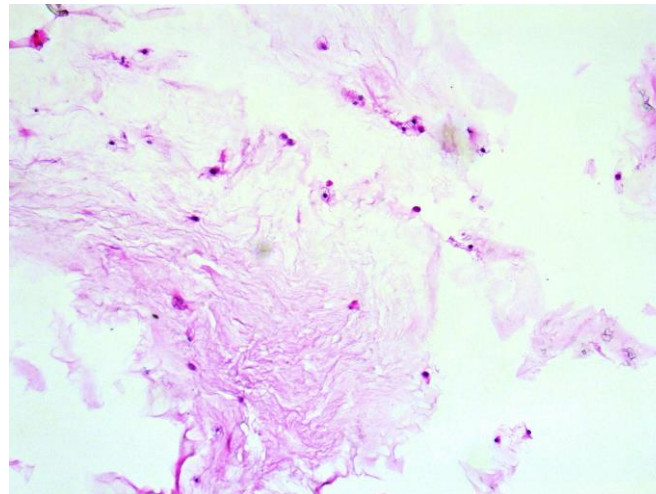


Figura 40. Tinció Hematoxilina/Eosina de les cèl·lules cultivades en hidrogels de microambient 3D. A la imatge, els nuclis cel·lulars, tenyits amb Hematoxilina, s'observen com punts de color violeta, mentre que els citoesquelets, tenyits amb Eosina, s'observen de color magenta i es troben envoltant els nuclis. En aquesta imatge no s'observen trossos d'hidrogel, ja que, per dur a terme la tinció, s'han hagut de transferir les cèl·lules a un portaobjectes. Tanmateix, sí que s'observen esferoides que s'havien format a l'hidrogel i s'han mantingut unides en el portaobjectes. Un exemple d'esferoide en aquesta imatge és el conjunt de tres cèl·lules (tres nuclis) que es situen juntes en el quadrant superior dret.

Imatge presa per l'autor amb microscopi confocal.

4.4.2. Eficàcia dels fàrmacs en ambients 2D i 3D

La formació d'esferoides com a mecanisme de defensa contra els fàrmacs administrats a les pacients és l'objecte d'estudi d'aquest apartat. És per això que a

continuació es presenten les imatges dels resultats de l'experiment dissenyat i explicat a l'apartat 3.4.3, el qual es basa en la tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi. Aquesta tinció mostra les cèl·lules vives de color verd (Calceïna) i les cèl·lules mortes de color vermell (Iodur de Propidi). Les primeres tincions de Calceïna/Iodur de Propidi que es presenten són les següents: cultiu de cèl·lules tumorals de mama en una placa 2D després de 7 dies (Figura 41), cultiu de cèl·lules tumorals de mama en un hidrogel 3D després de 7 dies (Figura 42). Aquestes dues tincions permeten analitzar el desenvolupament de les cèl·lules tumorals en els dos ambients durant

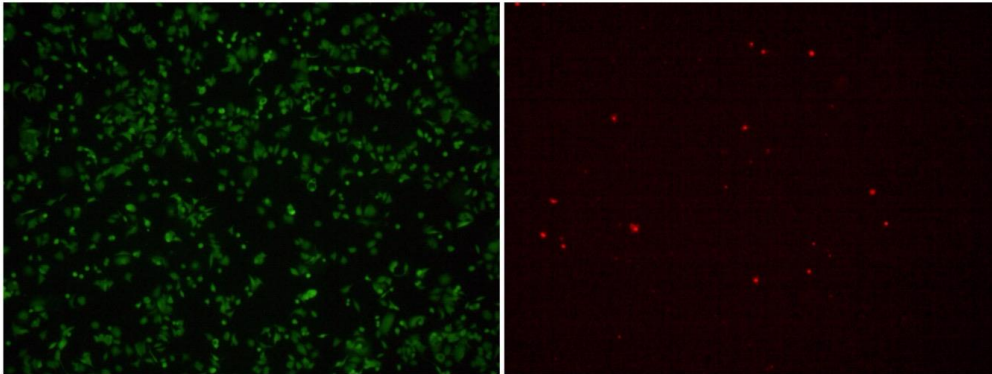


Figura 41. Tinció Calceïna/Iodur de Propidi del cultiu de les cèl·lules en 2D després de 7 dies d'incubació.

La imatge de l'esquerra mostra les cèl·lules vives tenyides de color verd per la Calceïna, i la imatge de la dreta mostra les cèl·lules mortes tenyides pel Iodur de Propidi. Aquestes cèl·lules han estat cultivades en un ambient 2D normal, com és el pou d'una placa, i se'ls ha administrat medi de cultiu regularment, de manera que és normal que l'enorme majoria de les cèl·lules estiguin vives. A més, és curiós destacar que en aquest ambient no es formen esferoides, ja que, com es pot veure, no hi ha grups de cèl·lules adherides entre elles, sinó que totes adherides a la base de vidre.

Imatges preses per l'autor amb microscopi confocal de fluorescència.

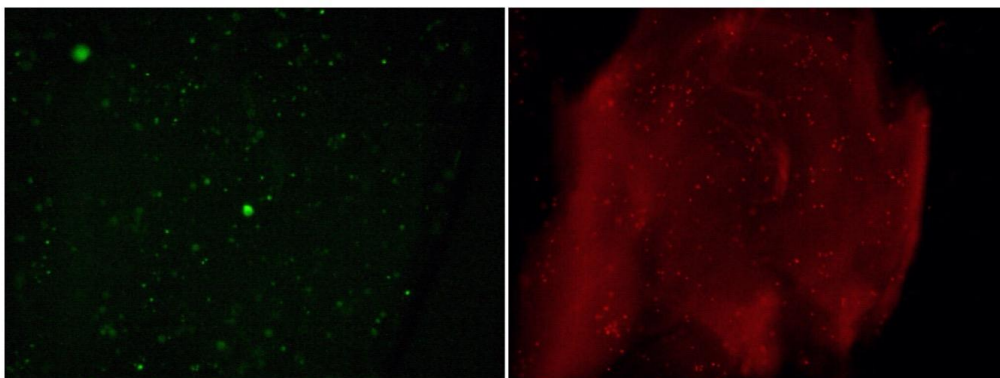


Figura 42. Tinció Calceïna/Iodur de Propidi del cultiu de les cèl·lules en hidrogels 3D després de 7 dies d'incubació.

La imatge de l'esquerra mostra les cèl·lules vives tenyides de color verd per la Calceïna, i la imatge de la dreta mostra les cèl·lules mortes tenyides pel Iodur de Propidi. En aquestes imatges sembla

que hi hagi poca abundància de cèl·lules vives, però el més probable és que simplement es tracti d'una zona bastant buida. A més, a les imatges només es veu una capa dels hidrogels i, per tant, no s'aprecien bé les cèl·lules situades més a dalt i més a baix. Per altra banda, és important destacar que el iodur de Propidi té certa afinitat pels hidrogels i, per això, a la imatge de la dreta apareix lleugerament tenyit de vermell. Tenint això en compte, sembla que podria tractar-se d'un cultiu en 3D en hidrogel amb una evolució normal, però amb més cèl·lules mortes de l'habitual. Amb tota probabilitat, això està provocat per la manca de biocompatibilitat de l'hidrogel.

Imatges preses per l'autor amb microscopi confocal de fluorescència.

un curt període de temps en unes condicions adequades. Per altra banda, també es presenta la tinció amb Calceïna/Iodur de Propidi en 3D del control negatiu de l'experiment (Figura 43), que serveix per controlar el creixement de les cèl·lules tumorals en les mateixes condicions exactes que els altres cultius però sense el fàrmac. En contrast amb el control negatiu, es mostren les tincions amb Calceïna/Iodur de Propidi dels cultius en 2D i 3D amb doxorubicina 25 μ M. La tinció en el cultiu 2D es mostra a la Figura 44, i la tinció en el hidrogel 3D es mostra a la figura 45. Aquestes dues tincions permeten contrastar l'efecte de la doxorubicina en ambdós microambients per veure si presenta els mateixos efectes en els dos²⁴.

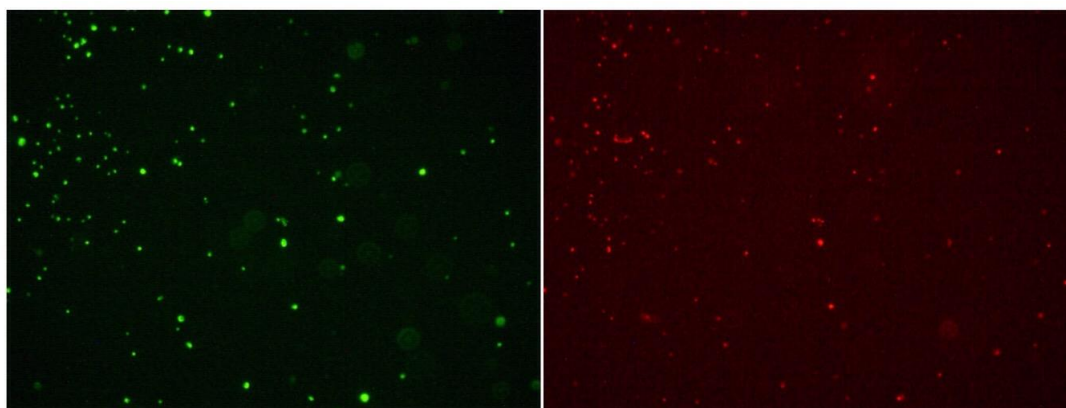


Figura 43. Tinció Calceïna/Iodur de Propidi del control negatiu en cultiu 3D en hidrogel.

La imatge de l'esquerra mostra les cèl·lules vives tenyides de color verd per la Calceïna, i la imatge de la dreta mostra les cèl·lules mortes tenyides pel Iodur de Propidi. El control negatiu mostra una situació semblant a la del cultiu durant 7 dies en hidrogel, de manera que es pot considerar que ha

²⁴ És necessari destacar que no s'han inclòs imatges de les tincions Calceïna/Iodur de Propidi dels controls positius, del control negatiu en 2D ni de les altres concentracions de doxorubicina perquè s'ha considerat que no eren necessàries per extreure les conclusions. Les altres concentracions de doxorubicina simplement mostren el mateix que la concentració 25 μ M però en diferents escales, i el control negatiu en 2D i els positius en 2D i 3D aportarien una informació molt similar a la dels cultius durant 7 dies i a la del control negatiu en 3D, el qual s'ha inclòs per mostrar el seguiment del mètode científic a l'experiment.

evolucionat correctament. En aquest cas, les cèl·lules mortes, tot i ser menys abundants, també es consideren producte de la poca biocompatibilitat de l'hidrogel.

Imatges preses per l'autor amb microscopi confocal de fluorescència.

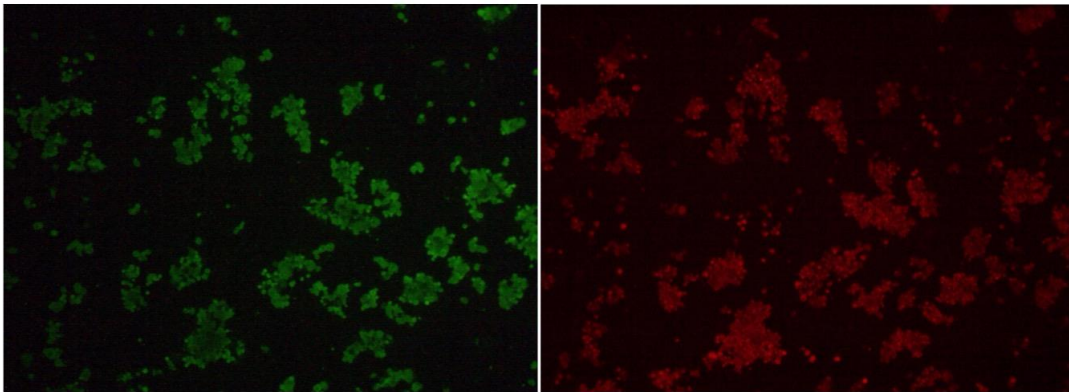


Figura 44. Tinció Calceïna/Iodur de Propidi del cultiu de les cèl·lules en 2D després d'administrar-lis doxorubicina 25 μ M.

La imatge de l'esquerra mostra les cèl·lules vives tenyides de color verd per la Calceïna, i la imatge de la dreta mostra les cèl·lules mortes tenyides pel Iodur de Propidi. En aquestes imatges es pot observar, en comparació amb la imatge presa després de 7 dies d'incubació, que un gran nombre de cèl·lules tumorals han mort en administrar-lis doxorubicina. A més, les cèl·lules romanents semblen agrupades i adherides completament a la base de vidre, de manera que es pot considerar que no es troben en estat de prosperació.

Imatges preses per l'autor amb microscopi confocal de fluorescència.

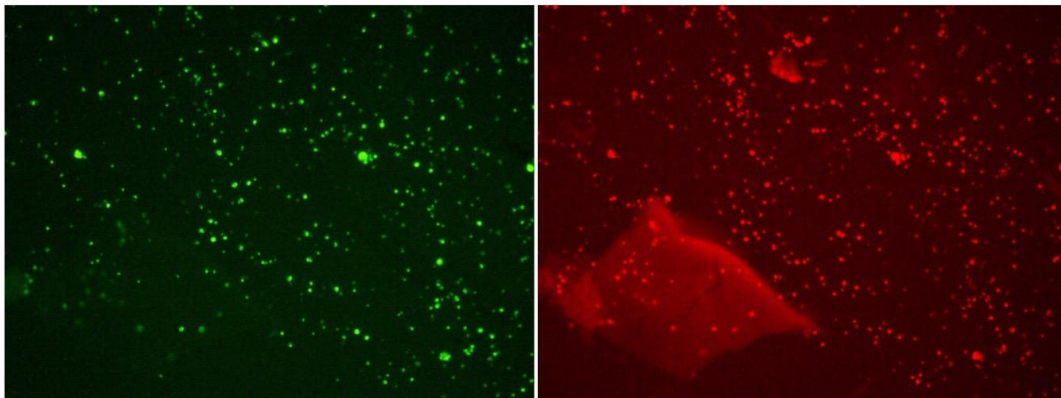


Figura 45. Tinció Calceïna/Iodur de Propidi del cultiu de les cèl·lules en hidrogels 3D després d'administrar-lis doxorubicina 25 μ M.

La imatge de l'esquerra mostra les cèl·lules vives tenyides de color verd per la Calceïna, i la imatge de la dreta mostra les cèl·lules mortes tenyides pel Iodur de Propidi. En aquesta imatge es poden observar una certa quantitat de cèl·lules mortes i una quantitat encara major de cèl·lules vives, tot i l'acció de la doxorubicina. Això porta a la conclusió que la configuració de les cèl·lules en ambients 3D en forma d'esferoides les protegeix de l'acció dels fàrmacs. A més, s'ha de tenir en compte que una part significativa de les cèl·lules mortes es troben en aquest estat per la manca de biocompatibilitat de l'hidrogel, com s'ha explicat anteriorment.

Imatges preses per l'autor amb microscopi confocal de fluorescència.

Finalment, a més de les tincions, s'ha dut a terme un anàlisi del LDH restant en el sobrenedant de les cèl·lules amb espectrofotòmetre. El LDH és una substància resultant de la mort de les cèl·lules en entrar en contacte amb la doxorubicina, de manera que la quantitat de LDH dels diferents sobrenedants permet comprendre a quins cultius han mort més cèl·lules. El full de càlcul resultant a l'anàlisi del LDH es mostra i s'analitza a la Figura 46.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Application: Tecan i-control				Tecan i-control, 1.7.1.12								
2	Device: infinite 200Pro				Serial number: 1011009185					Serial number of connected stacker:			
3	Firmware: V_3.14_03/10_InfiniTe (Apr 26 2010/11. MAI, V_3.14_03/10_InfiniTe (Apr 26 2010/11.18.37)												
4													
5	Date:	27/06/2019											
6	Time:	19:07:23											
7													
8													
9	System	MICROPLATE											
10	User	MICROPLATE\Barbara Blanco											
11	Plate	Nunclon 96 Flat Bottom Transparent Polystyrol [NUN96it.pdfx]											
12	Plate-ID (Stacker)												
13													
14													
15	Label: Label1												
16	Mode	Absorbance											
17	Wavelength	492 nm											
18	Bandwidth	9 nm											
19	Number of Flashes	25											
20	Settle Time	0 ms											
21	Start Time:	27/06/2019 19:07:23											
22													
23	Temperature:	27.4 °C											
24	<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
25	A	1,9435	1,8147	0,9659	0,952	0,434	0,398	0,0466	0,046	0,0476	0,0461	1,0329	1,8032
26	B	3,5832	3,677	1,1496	1,1654	1,5551	1,576	0,0464	0,0479	0,0488	0,0467	1,1843	0,9724
27	C	1,457	1,4549	1,1647	0,9671	0,3595	0,3879	0,0466	0,0465	0,0488	0,0477	1,127	1,0668
28	D	1,9147	2,2046	1,2658	1,01	0,5111	0,5203	0,0466	0,0475	0,0466	0,0467	1,1596	1,4018
29	E	2,9318	3,4898	1,5005	2,7536	0,7334	0,8913	0,0462	0,0464	0,047	0,0466	1,4117	1,5329
30	F	0,175	0,0462	0,0517	0,046	0,0465	0,0469	0,0467	0,0467	0,046	0,0463	0,0476	0,0647
31	G	0,0469	0,0459	0,0467	0,0463	0,0484	0,0469	0,0464	0,0459	0,0463	0,0462	0,0461	0,0461
32	H	0,0459	0,0465	0,0464	0,0463	0,0461	0,0459	0,0461	0,046	0,0473	0,0463	0,046	0,0463
33													
34													
35													
36	End Time:	27/06/2019 19:08:40											

Figura 46. Resultats del LDH del sobrenedant dels diferents cultius en 2D i 3D de l'experiment amb doxorubicina.

Tots els valors amb el fons blanc són valors de pous buits de la placa de 96 pous, mentre que els que tenen el fons groc són de cultius en 2D i els que tenen el fons blau són de cultius en 3D. A la línia A es troben els sobrenedants de controls negatius, a la línia B els de controls positius, a la línia C els de cultius amb doxorubicina 5 μM , a la línia D els de cultius amb doxorubicina 25 μM , i a la línia E els de cultius amb doxorubicina 50 μM . S'han dut a terme dues repeticions del LDH en 2D i quatre del LDH en 3D, i per això s'observa aquest nombre de columnes dels colors corresponents. Per tant, sembla lògic que a les files superiors hi hagi menys absorbància i, per tant, menys concentració de LDH, ja que hi ha menys mort cel·lular. Això es pot observar a totes les columnes i a totes les files (grogues o blaves), excepte en els controls en 2D, on l'absorbància és desorbitada. El més probable és que s'hagi produït un error a l'hora de recollir el LDH o s'hagin recollit cèl·lules, de manera que alteren el resultat. Deixant de banda aquest error, es pot observar que els nivells de LDH a totes les concentracions de doxorubicina és molt més elevat a es cultius 2D que als cultius 3D, la qual cosa indica que s'hi ha produït més mort cel·lular. Aquesta dada sembla confirmar l'afirmació que les

cèl·lules en ambients 3D estan més protegides dels fàrmacs per la seva configuració en forma d'esferoides. A banda d'això, és important destacar que el LDH en els controls dels cultius 3D és també elevat a causa de la mort cel·lular provocada per la baixa biocompatibilitat dels hidrogels.

Imatge presa per l'autor del resultat del LDH.

4.4.3. Conclusions sobre la configuració de les cèl·lules tumorals de mama en ambients 3D i la seva resposta a fàrmacs

En conjunt, les tincions de Fal·loidina/DAPI i Hematoxilina/Eosina demostren la configuració en forma d'esferoides de les cèl·lules tumorals de mama quan es troben en un ambient 3D, com els hidrogels o com el cos humà. A més, aquests esferoides tenen un impacte molt important sobre l'eficàcia dels tractaments, ja que impedeixen la seva difusió amb un entramat de ECMs conjuntes. Això queda demostrat per les tincions Calceïna/Iodur de Propidi amb doxorubicina 25 μ M i els grups control que ho contrasten, ja que la diferència entre les morts cel·lulars del control i les morts cel·lulars del cultiu amb doxorubicina és molt més gran en cultius 2D que en cultius 3D. A més, la prova del LDH confirma aquesta afirmació, ja que mostra molt més LDH en els cultius 2D amb doxorubicina que en els cultius 3D amb aquest mateix fàrmac. Per tot això la hipòtesi següent queda afirmada amb proves:

“La configuració de les cèl·lules en un cultiu 2D i en un hidrogel 3D és diferent, de manera que els fàrmacs quimioterapèutics que en cultius 2D són capaços d'eliminar gran part de les cèl·lules tumorals, en microambients 3D similars als que es formen en el cos humà tenen una eficiència menor.”

És evident que la configuració de les cèl·lules tumorals de mama en 2D i 3D és diferent, ja que els esferoides que es formen en 3D en 2D, no apareixen. A més, també es demostra, mitjançant les tincions i el LDH, que els fàrmacs quimioterapèutics com la doxorubicina no són capaços d'afectar a les cèl·lules d'un ambient 3D com afecten a les d'un ambient 2D, ja que els esferoides dificulten la seva difusió. Per tant, seria recomanable provar els fàrmacs en ambients 3D que mimetitzen el microambient tumoral, en lloc de només provar-los en plaques 2D on les cèl·lules es veuen massa fàcilment exposades als fàrmacs, de manera que es podrien dissenyar millors fàrmacs per combatre el càncer de mama.

5. Conclusions

En aquest apartat es resumeixen i justifiquen les conclusions més importants del treball, de manera que, conjuntament, afirmen o neguen la hipòtesi general que engloba les hipòtesis més petites. Per començar, l'enquesta sobre el càncer de mama ha ressaltat en diverses conclusions interessants, descrites a continuació. Mitjançant cinc preguntes de coneixements teòrics del càncer i del càncer de mama ha quedat clar que es enquestats tenen un coneixement mediocre de mitja sobre aquest tema. En canvi, la majoria ells afirmen tenir un coneixement acceptable del càncer de mama, el qual volen millorar mitjançant diversos recursos, ja que estan d'acord en què és un tema important. A més, també es confirma que la mortalitat i la incidència del càncer de mama en el ambient dels enquestats són relativament elevades, si es tenen en compte tots els factors. Per tant, es considera com a possibilitat, però no es confirma, que la desconeguda desinformació dels enquestats sobre el càncer de mama sigui allò que els impedeix detectar-lo en un estadi precoç, de manera que augmenta el seu perill i la seva mortalitat. En segon lloc, el programa informàtic dissenyat per la diferenciació de les cèl·lules tumorals malignes de càncer de mama de les cèl·lules benignes de la mama obre les portes a un altre aspecte del diagnòstic d'aquesta malaltia. El programa mateix calcula que té una taxa d'encert per sobre del 97% i un cost mínim, a costa d'un cert augment de l'error comès. A més, d'entre els classificadors que proposa s'observa que el més eficient i amb millors resultats és el LDA. En conjunt, aquest programa sembla ser viable i poder tenir una aplicació en el diagnòstic, sempre que es trobi una manera ràpida i precisa de mesurar els paràmetres que requereix. Per altra banda, l'anàlisi dels quatre casos clínics ha conferit al treball una visió més mèdica i humana del que representa el càncer de mama, i ha palesat com de complicat és el seu tractament. Amb aquest anàlisi, ha resultat evident que cada cas és completament diferent i presenta moltes variables i possibles evolucions que s'han d'interpretar. D'aquesta manera, s'ha determinat que l'elaboració d'un model o protocol absolut que determini el millor tractament en cada cas és impossible en un futur proper, ja que un programa no pot interpretar tants factors. Finalment, la part pràctica més experimental, orientada a entendre la configuració de les cèl·lules tumorals de mama en el cos humà i en els efectes que això té en l'administració dels tractaments, ha dotat el treball d'un procediment més científic de vessant experimental.

Mitjançant les diferents tincions, s'ha pogut observar que les cèl·lules tumoral de càncer de mama es situen en esferoides quan es troben un ambient 3D, cosa que no fan en ambients 2D. Aquesta configuració en esferoides dificulta la penetració dels fàrmacs dintre de les cèl·lules, provocant que el fàrmac tingui una major efectivitat en cultius 2D que en hidrogels 3D, com s'ha observat mitjançant una tinció, l'administració de doxorubicina i el LDH. És per això que els fàrmacs s'haurien de desenvolupar en ambients 3D en lloc d'en ambients 2D, on no es mimetitzen les condicions reals.

En resum, conscienciar i informar a la gent sobre el càncer de mama podria ajudar a tractar-lo més aviat i amb millor eficàcia; certs programes informàtics podrien, en un futur proper, automatitzar el procés de diagnòstic de càncer de mama; es podria elaborar un model per determinar els tractaments més adequats en diferents casos, a partir dels quals el professional sanitari escolliria un; i es poden dissenyar fàrmacs millorats gràcies a les tecnologies que mimetitzen el microambient 3D dels tumors. És per totes aquestes millores que podrien tenir lloc en un futur proper, que la hipòtesi que engloba el treball sencer es pot confirmar o, com a mínim, considerar altament probable. Això significa que, en un futur proper, el procés de diagnòstic i tractament del càncer de mama podria estar optimitzat i automatitzat, per tal d'obtenir un millor rendiment, i d'haver de dependre de menys professionals sanitaris.

Personalment, vull destacar que aquest treball de recerca m'ha aportat moltes coses, entre elles l'esperit de treball constant i de previsió. A més, m'ha permès entendre el càncer de mama en la seva totalitat, ja que l'he pogut investigar des de tots els seus punts de vista. També he acumulat experiència en diferents camps més o menys desconeguts per a mi, com són la informàtica, la medicina i el treball en el laboratori. En conjunt, he pogut entendre com és la situació per la què passa, aproximadament, una de cada vuit dones. Això també ho he pogut veure a la consulta de la Dra Faló, ja que vaig poder conèixer gairebé una trentena de pacients amb càncer de mama, la majoria de les quals metastàtiques, i vaig poder comprendre el seu esperit de lluita i d'esperança.

6. Referències

6.1. Bibliografia

ÁLVARO, Tomás; NOGUERA-SALVÁ, Rosa; FARIÑAS-GUERRERO, Fernando. “La matriz extracelular: de la mecánica molecular al microambiente tumoral (parte II)”. *Revista Española de Patología*, 2010, 43.1: 24-32.

ARANGO PRADO, María del Carmen; RODRÍGUEZ-PADILLA, Cristina. “Protagonismo del sistema inmune en el microambiente de los tumores malignos de la mama”. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 2016, 32.2: 0-0.

ARRECHEA IRIGOYEN, M.A. *et al.* “Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas”. *Anales Sis San Navarra [en línea]*. 2011, vol.34, n.2, pp.219-233.

EVISCIENCE, *Cliniguía, actualización de diagnóstico y terapéutica. Manual de medicina*. Eviscience Publicaciones, 2007.

FAUCI, Anthony; *et al.* *Harrison Manual de medicina*. Mc Graw Hill, 2010.

KASPER, *et al.* *Harrison Principios de medicina interna (Vol.I)*. Mc Graw Hill, 2009.

LI, Yunfeng; KUMACHEVA, Eugenia. “Hydrogel microenvironments for cancer spheroid growth and drug screening”. *Science advances*, 2018, 4.4: eaas8998.

MCPHERSON, Klim; STEEL, CaMa; DIXON, J. M. “ABC of breast diseases: breast cancer—epidemiology, risk factors, and genetics.” *BMJ: British Medical Journal*, 2000, 321.7261: 624.

NOGUERA, Rosa, *et al.* “An integral view of cancer (I). The study, classification and reprogramming of the tumoral microclimate.” *Revista española de patología*:

Referències

publicación oficial de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y de la Sociedad Española de Citología, 2019, 52.2: 92-102.

NYGA, Agata; CHEEMA, Umber; LOIZIDOU, Marilena. "3D tumour models: novel in vitro approaches to cancer studies". *Journal of cell communication and signaling*, 2011, 5.3: 239.

PUENTE BLANCO, Rebeca, *et al.* Cáncer neuroendocrino de mama. A propósito de un caso. *Rev. senol. patol. mamar.(Ed. impr.)*, 2015, 28.3: 143-144.

SÁNCHEZ, N. Catherine. "Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer [en línea]". *Revista Médica Clínica Las Condes*, 2013, 24.4: 553-562.

TRAPPMANN, Britta, *et al.* "Matrix degradability controls multicellularity of 3D cell migration". *Nature communications*, 2017, 8.1: 371.

6.2. Webgrafia

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA CONTRA EL CÁNCER (AECC). *Pronóstico del cáncer de mama: mortalidad y esperanza de vida* [en línea], 2018. Disponible a: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-mama/mas-informacion/evolucion-cancer-mama> [Data de consulta: 17/3/19]

WORLD CANCER RESEARCH FUND (WCRF); American Institute for Cancer Research. *Breast cancer statistics* [en línea], 2018. Disponible a: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/breast-cancer-statistics> [Data de consulta: 17/3/19]

NATIONAL CANCER INSTITUTE (NCI). *Cancer* [en línea], 2019. Disponible a: <https://www.cancer.gov/> [Data de consulta: 6/4/19]

CÁNCER NET, Información al paciente aprobada por American Society of Clinical Oncology (ASCO) [en línea]. *Cáncer de mama: Estadísticas*. 2019. Disponible a:

<https://www.cancer.net/es/tipos-de-càncer/càncer-de-mama/estad%C3%ADsticas>

[Data de consulta:15/4/19]

MANDAL, Ananya. *Historia del Càncer* [en línia]. News Medical Life Science, 2019. Actualizado el 26 de febrero de 2019. Disponible a:

[https://www.news-medical.net/health/Cancer-History-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Cancer-History-(Spanish).aspx) [Data de

consulta:17/4/19]

AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS). *Cancer Statistics Center* [en línia]. 2019. Disponible

a:https://cancerstatisticscenter.cancer.org/?_ga=2.54347104.910127794.1560960488-154352971.1555277680#!/ [Data de consulta: 17/4/19]

SANITAS, Biblioteca de salud. *Càncer. Tipos de carcinoma* [en línia]. 2019.

Disponible a: <https://www.sanitas.es/sanitas/seguros/es/particulares/biblioteca-de-salud/cancer/carcinoma.html> [Data de consulta: 4/5/19]

STANFORD CHILDREN'S HEALTH (SCH), Lucile Packard Children's Hospital Stanford. *Tumores de células germinales en niños* [en línia]. 2019. Disponible a:

<https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=tumores-de-clulas-germinales-90-P05836> [Data de consulta:4/5/19]

BREAST CANCER. *US Breast Cancer Statistics* [en línia]. Modificado por última vez el 19/2/2019. Disponible a:

https://www.breastcancer.org/symptoms/understand_bc/statistics [Data de consulta: 27/5/19]

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ONCOLOGÍA MÉDICA (SEOM). *Las cifras del cáncer en España* [en línia], 2019. Disponible a: <https://seom.org/dmccancer/wp-content/uploads/2019/Informe-SEOM-cifras-cancer-2019.pdf> [Data de consulta:

27/5/19]

GEICAM, Investigación en càncer de mama. ¿Qué es el càncer de mama? Tipos de tumores [en línia], 2017. Disponible a: <https://www.geicam.org/cancer-de->

Referències

[mama/tengo-cancer-de-mama/conoce-mejor-tu-enfermedad/tipos-de-tumores](#)

[Data de consulta: 19/6/19]

BIOGELX, *Hydrogels for cell culture* [En línia], 2019. Disponible a:

<https://www.biogelx.com/> [Data de consulta: 20/6/19]

WOLBERG, William; STREET, Nick; MANGASARIAN, Olvi. *Breast Cancer Wisconsin (Diagnostic) Data Set* [en línia], 1993. Disponible a:

[https://archive.ics.uci.edu/ml/datasets/Breast+Cancer+Wisconsin+\(Diagnostic\)](https://archive.ics.uci.edu/ml/datasets/Breast+Cancer+Wisconsin+(Diagnostic))

[Data de consulta: 18/7/19]

PRAT, Aleix, *et al. Càncer de mama* [en línia], Clínic Barcelona, Hospital Universitari, 2018. Disponible a:

<https://www.clinicbarcelona.org/ca/asistencia/malalties/cancer-de-mama> [Data de consulta: 28/7/19]

FAYED, Lisa. *How cancer was first discovered and treated* [en línia]. Very Well

Health, 2019. Disponible a: <https://www.verywellhealth.com/the-history-of-cancer-514101> [Data de consulta: 24/8/2019]

IDIBELL, *El microambiente tumoral, un mecanismo de resistencia al tratamiento con quimioterapia en cáncer colorrectal* [en línia], 2019. Disponible a:

<http://www.idibell.cat/es/actualidad/noticias/el-microambiente-tumoral-un-mecanismo-de-resistencia-al-tratamiento-con> [Data de consulta: 7/9/19]

7. Annexos

7.1. Programa informàtic dissenyat

A continuació es troba el programa informàtic desenvolupat per tal de diferenciar les cèl·lules tumorals benignes de càncer de mama de les cèl·lules benignes de la mama a partir d'uns certs paràmetres:

```
1     from sklearn.datasets import load_breast_cancer
2     from sklearn.linear_model import LogisticRegression, LinearRegression
3     from sklearn.model_selection import train_test_split
4     import pandas as pd
5     import numpy as np
6     import matplotlib.pyplot as plt
7     from sklearn.decomposition import PCA
8     from sklearn.neighbors import KNeighborsClassifier
9     from sklearn.metrics import roc_auc_score
10    data = load_breast_cancer()
11    features = data['data']
12    labels = data['target']
13    train_x, test_x, train_y, test_y = train_test_split(features, labels, test_size = 0.25,
14    random_state = 23)
15    model = LinearRegression().fit(train_x, train_y)
16    train_yhat = model.predict(train_x)
17    test_yhat = model.predict(test_x)
18    def confusion_matrix(predicted, real, gamma):
19        test_decisions = np.where(predicted < gamma, 0, 1)
20        tp = np.logical_and(test_decisions == 1, real == 1).sum()
21        fp = np.logical_and(test_decisions == 1, real == 0).sum()
22        tn = np.logical_and(test_decisions == 0, real == 0).sum()
23        fn = np.logical_and(test_decisions == 0, real == 1).sum()
24    return tp, fp, tn, fn
25    print(confusion_matrix(test_yhat, test_y, 0.5))
26
27    tpr_train = []
28    fpr_train = []
29    tpr_test = []
30    fpr_test = []
31    for gamma in np.arange(-0.5, 1.5, 0.05):
```



```

32     tp_train, fp_train, tn_train, fn_train = confusion_matrix(train_yhat, train_y, gamma)
33     tpr_train.append(tp_train/(tp_train + fn_train))
34     fpr_train.append(fp_train/(tn_train + fp_train))
35     tp_test, fp_test, tn_test, fn_test = confusion_matrix(test_yhat, test_y, gamma)
36     tpr_test.append(tp_test/(tp_test + fn_test))
37     fpr_test.append(fp_test/(tn_test + fp_test))
38     plt.figure()
39     plt.scatter(fpr_train, tpr_train, c = 'b', label = 'train')
40     plt.scatter(fpr_test, tpr_test, c = 'y', label = 'test')
41     plt.legend()
42     plt.xlabel('FPR')
43     plt.ylabel('TPR')
44     plt.show()
45     print(roc_auc_score(test_y, test_yhat))
46     print(roc_auc_score(train_y, train_yhat))
47
48     features_norm = (features - features.mean(0))/features.std(0)
49
50     M = labels == 0
51     B = labels == 1
52
53     pca = PCA(n_components = 2).fit(features_norm)
54     features_pca = pca.transform(features_norm)
55     plt.figure()
56     plt.scatter(features_pca[B,0], features_pca[B,1], color = 'g', label = 'Benigne')
57     plt.scatter(features_pca[M,0], features_pca[M,1], color = 'r', label = 'Maligne')
58     plt.legend(['Benigne', 'Maligne'])
59     plt.xlabel('PCA 1')
60     plt.ylabel('PCA 2')
61     fig.tight_layout()
62     plt.show()
63
64     plt.figure()
65     plt.hist(features_pca[B,0], color = 'g', label = 'Benigne', bins = 100)
66     plt.hist(features_pca[M,0], color = 'r', label = 'Maligne', bins = 100)
67     plt.legend()
68     plt.ylabel('Repeticions')
69     plt.xlabel('PCA 1')
70     plt.show()
71     plt.figure()

```

```
72 plt.hist(features_pca[B,1], color = 'g', label = 'Benigne', bins = 100)
73 plt.hist(features_pca[M,1], color = 'r', label = 'Maligne', bins = 100)
74 plt.legend()
75 plt.ylabel('Repeticions')
76 plt.xlabel('PCA 2')
77 plt.show()
78
79 lda = LinearDiscriminantAnalysis(n_components = 2).fit(features_norm, labels)
80 features_lda = lda.transform(features_norm)
81 fig = plt.figure()
82 plt.hist(features_lda[M, 0])
83 plt.hist(features_lda[B, 0])
84 plt.legend(['Malign', 'Benign'])
85 plt.xlabel('Component 1')
86 fig.tight_layout()
87 plt.show()
```

En el programa, es poden reconèixer les diferents funcions explicades a l'apartat 3.2, les quals es referencien a continuació amb les seves línies de codi corresponents:

Línies 1-9: Importació de les llibreries de python que utilitza el programa.

Línies 10-12: Definició de les mostres i dels paràmetres a partir de les dades de la base de dades.

Línies 13-14: Definició de la part d'entrenament i la part d'examen com el 25% i el 75% de les mostres, respectivament.

Línies 15-25: Definició de la funció de la matriu de confusió, que resulta en el VP, FP, VN i FN. En aquestes línies de codi, test_y representa la categoria real de les mostres, test_yhat representa la categoria predita per el programa, i gamma representa la corba definida pel model per dur a terme la predicció.

Línies 27-46: Definició de la corba ROC i valor d'AUC. Es defineixen VPR i FPR de la part d'entrenament i de la part d'examen a les línies 27-37, es crea el gràfic a les línies 38-44, i es calcula el valor d'AUC a les línies 45-46.

Línies 48-77: Definició de tota la PCA. Es normalitzen els paràmetres a la línia 48, s'estableixen les categories de benigne i maligne a les línies 50-51, es forma el

gràfic de la PCA a les línies 53-62, i es duen a terme els histogrames PCA1 i PCA2 a les línies 64-77.

Línies 79-87: Definició i creació del gràfic LDA.

4.2. Instruccions per l'ús de Biogelx™ en pols

A partir de la font BIOGELX.

Materials proveïts

Biogelx™ en pols empaquetat en un vial de vidre.

Emmagatzematge

Biogelx™ en pols s'han d'emmagatzemar a un congelador a -20 °C fins quan estigui preparat per rehidratar-lo amb aigua. Biogel™ en pols es mantenen estables fins a 12 mesos quan s'emmagatzemen en aquestes condicions.

Un cop rehidratat, la solució de Pre-Gel es manté estable fins a un màxim de 3 mesos, si s'emmagatzema a 4 °C. Si la solució ha passat d'un color blanquinós a groc, el producte ha caducat.

Ús previst

Biogelx™ en pols està destinat a ser utilitzats únicament en recerca. Aquest producte no està destinat a ser usat per diagnòstics o procediments terapèutics.

Seguretat

Quan treballant amb productes químics, sempre usar l'equipament i vestimenta personals protectors adequats. Per més informació, consulteu la fulla d'informació sobre seguretat apropiada., disponible online en format PDF a www.biogelx.com.

Control de qualitat

En concordança amb el Sistema de Control de Qualitat de Biogelx, cada lot de Biogelx™ en pols s'examina contra especificacions predeterminades per assegurar la qualitat del producte.

Gelació

Biogelx™ gels es subministren en forma de pols *liofilitzada* (Biogelx™ en pols), que es rehidrata amb aigua per tal de preparar una solució Pre-Gel de la concentració desitjada. Aquest Pre-Gel s'afegeix a una placa de pous, juntament amb el medi de cultiu cel·lular que propicia la gelificació. Les cèl·lules poden cultivar-se dintre del gel (cultiu 3D) o a sobre seu (cultiu 2D).

La gelificació és iniciada per el medi de cultiu cel·lular i tampons que continguin sals. El material es mantindrà en el estat de "pre-gel" fins que el medi o els tampons siguin afegits.

Dilució

Quan rehidratant els Biogelx™ en pols, és possible preparar una concentració més elevada de solució d'estoc Pre-Gel, la qual es pot diluir a Pre-Gels de concentracions més baixes. Tanmateix, les dilucions només s'han de dur a terme en el moment de la preparació del Pre-Gel, i no en el futur. Aquest mètode pot utilitzar-se si l'usuari vol examinar un rang gran de rigideses en un gel.

Viscositat

Solucions de Pre-Gel de concentracions elevades poden ser altament viscosos. Si la transferència de Pre-Gels altament viscosos resulta difícil, l'ús d'una punta de pipeta d'orifici ample o una punta de pipeta amb 1 cm de la punta tallat és recomanable.

Maneig

Bombolles d'aire:

Si hi ha bombolles d'aire presents a la solució Pre-Gel, es recomana eliminar-les en un bany sonicador durant 10 segons o mitjançant centrifugació.

Quan barrejant cèl·lules amb la solució Pre-Gel (pel cultiu 3D) assegureu-vos que la punta de pipeta no surt del Pre-Gel mentre és barrejat, ja que això pot produir bombolles en el gel.

Canvis del medi de cultiu:

La primera addició de medi de cultiu a la solució Pre-Gel s'ha de dur a terme amb molt de compte; lentament pipetejant el medi de cultiu cel·lular gota a gota en el centre del Pre-Gel. Pipetejar per la paret del pouet pot alterar el material.

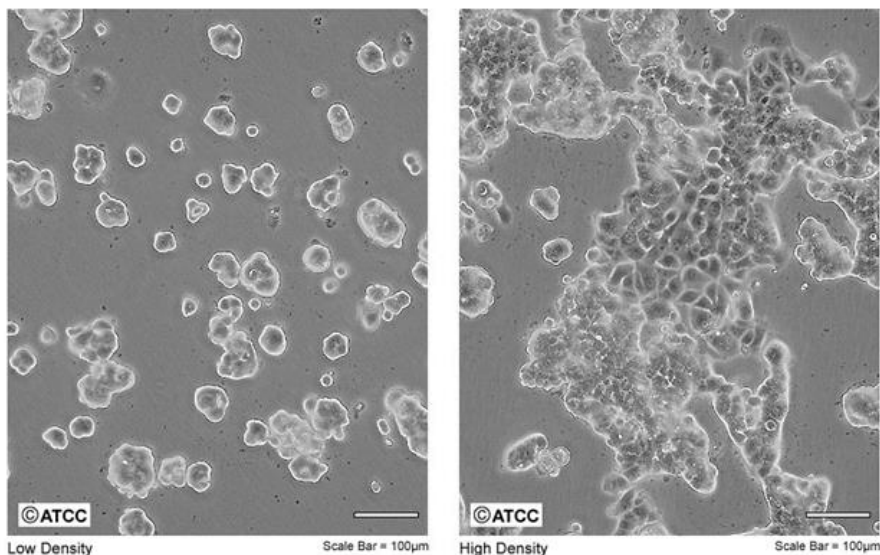
Les concentracions més baixes de la solució Pre-Gel tenen viscositats més baixes i poden semblar aigua en un vial. No obstant, quan és afegit en el pouet/insert la tensió superficial del Pre-Gel evita que es barregi amb el medi de cultiu.

És necessari manipular el material amb molt de compte quan es dugui a terme un canvi del medi de cultiu. No utilitzeu una aspiradora per eliminar el medi de cultiu de sobre de l'hidrogel. Eviteu contacte directe amb l'hidrogel.

7.3. Descripció de les cèl·lules tumorals de càncer de mama MCF-7

Cèl·lules tumorals de càncer de mama MCF-7 (ATCC®HTB-22™)

Organisme: *Homo sapiens*, humà / Tipus cel·lular: epitelial / Teixit: glàndula mamària, al pit; derivat d'un vessament pleural metastàtic / Malaltia: adenocarcinoma

Organisme	<i>Homo sapiens</i> , humà
Teixit	Glàndula mamària, al pit; derivada d'un vessament pleural metastàtic
Tipus cel·lular	Epitelial
Format del producte	Congelat
Morfologia	Epitelial
Propietats del cultiu	Adherent
Nivell de bioseguretat* (UE)	1 *La classificació de bioseguretat està basada en la Guia del Servei Sanitari Públic dels EEUU , és responsabilitat del consumidor assegurar que l'entorn compleix amb les regulacions de bioseguretat del seu propi país.
Malaltia	Adenocarcinoma
Edat	Individu adult de 69 anys
Gènere	Dona/femella
Ètnia	Caucàsica
Aplicacions	Aquestes cèl·lules són adequades com a hostes de transfecció
Condicions d'emmagatzematge	Nitrogen líquid en fase de vapor
Imatges	<p>ATCC Number: HTB-22 Designation: MCF-7</p>  <p>©ATCC Low Density Scale Bar = 100µm ©ATCC High Density Scale Bar = 100µm</p>
Expressió dels receptors	Receptors d'estrogen, expressats

Comentaris	<p>La línia MCF-7 reté diverses característiques de l'epiteli mamari diferenciat, incloent la capacitat de processar estradiol a través dels receptors d'estrogen citoplasmàtics i la capacitat de formar esferoides o cúpules. Les cèl·lules expressen l'oncogèn WNT7B</p> <p><u>Referències:</u> “Growth of MCF7 cells is inhibited by tumour necrosis factor alpha (TNF alpha)”. “Secretion of IGFBP's can be modelated by treatment with anti-estrogens.”</p>
Medi de creixement complet	<p>El medi base per aquesta línia cel·lular és el Medi Mínim Essencial d'Eagle formulat per l'ATCC, Catàleg N° 30-2003. Per fer el medi de creixement complet, afegir els següents components al medi base: 0,01 mg/mL d'insulina humana recombinant; sèrum fetal boví a una concentració final de 10%</p>
Subcultiu	<p>Els volums utilitzats en aquest protocol són per matrassos de 75 cm²; reduir o incrementar proporcionalment la quantitat de medi de dissociació per a vasos de cultiu d'altres mides. Els matrassos Corning® T-75 (catàleg #430641) es recomanen pel subcultiu d'aquest producte.</p> <p>Nota: si hi ha cèl·lules flotants, es recomana transferir-les als primers dos subcultius, com es descriu més a baix. No és necessari transferir cèl·lules flotants en subcultius subseqüents.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Transferir el medi de cultiu a un tub de centrífuga. 2. Ràpidament esbandir la capa de cèl·lules amb Tripsina 0,25% (w/v) - solució EDTA 0,53 mM per eliminar totes les traces de sèrum, que conté inhibidor de tripsina. 3. Afegir entre 2,0 i 3,0 mL de solució de Tripsina-EDTA al matràs i observar les cèl·lules mitjançant un microscopi invertit fins que la capa de cèl·lules es dispersi (normalment entre 5 i 15 minuts). Nota: per evitar agrupaments, no agitar les cèl·lules colpejant o sacsejant el matràs mentre s'està esperant que es separin les cèl·lules. Les cèl·lules difícils de separar poden situar-se a 37°C per facilitar la dispersió. 4. Afegir entre 6,0 i 8,0 mL del medi de creixement complet i aspirar les cèl·lules pipetejant suaument. 5. Transferir les cèl·lules en suspensió al tub de centrífuga amb el medi i les cèl·lules del pas 1 i centrifugar a aproximadament 125·g (125 vegades la gravetat) durant entre 5 i 10 minuts. Descartar el sobrenedant. 6. Resuspendre el pellet de cèl·lules en un ambient de creixement nou. Afegir les alíquotes apropiades de la suspensió de cèl·lules a nous vasos de cultiu. 7. Incubar els cultiu a 37°C. <p>Ràtio de subcultiuació recomanat: entre 1:3 i 1:6 Renovació del medi: entre 2 i 3 cops a la setmana</p>
Criopreservació	<p>Medi de congelació: medi de creixement complet complementat amb DMSO al 5% (v/v) Temperatura d'emmagatzematge: nitrogen líquid en fase de vapor</p>
Condicions de cultiu	<p>Atmosfera: 95% d'aire i 5% de diòxid de carboni (CO₂) Temperatura: 37°C</p>

7.4. Glossari terminològic

Ablació: extirpació d'un òrgan o un teixit corporal.

Alíquota: part que es pren d'un volum (alíquota líquida) o d'una massa (alíquota sòlida) inicials, per a ser utilitzada en una prova de laboratori, les propietats físiques i químiques de la qual, així com la seva composició representen les de la substància original. Per tant, una alíquota és una mostra proporcional al tot que en permet conèixer les característiques. Normalment es mesura en mil·lilitres (mL) o grams (g).

Aminoàcid: grup de molècules amb almenys un grup funcional amina i un grup funcional carboxil (àcid). Els polímers d'aminoàcids s'anomenen proteïnes.

Anticòs: glicoproteïna que, en rebre l'estímul de l'antigen corresponent, desencadena una resposta del sistema immunitari.

Antigen: qualsevol substància que pugui desencadenar la síntesi d'anticòssos i, per tant, una resposta immune.

Apoptosi: via de destrucció o mort cel·lular programada per la pròpia cèl·lula per tal de controlar la seva proliferació i creixement.

Calcificació: acumulació de calci en qualsevol part del cos que pot formar una mena de teixit ossi i originar problemes a l'òrgan en qüestió.

Càmera de Neubauer: mètode de recompte de cèl·lules en suspensió que consisteix a comptar, mitjançant un microscopi, les cèl·lules d'una petita porció de la dispersió, i, a partir del nombre resultant, calcular les cèl·lules totals aproximades mitjançant la següent fórmula:

$$n^{total}/v = (n^{comptades}/4) \cdot 10^4$$

On n^{total} fa referència al nombre total de cèl·lules que hi ha en suspensió en el volum que hem analitzat, v fa referència al volum analitzat en mil·lilitres, $n^{comptades}$ fa referència al nombre de cèl·lules comptades mitjançant el microscopi i la càmera de Neubauer.

Canal iònic (de sodi o de potassi): proteïna transmembranosa que regula el pas d'ions a la membrana plasmàtica (dintre i fora de la cèl·lula), de manera que determina el potencial de membrana.

Caspasa: grup de proteïnes de la família cisteïna proteasa que participen en el procés d'activació de l'apoptosi.

Cefalea: dolor i molèsties localitzades a qualsevol part del cap.

Cèl·lula dendrítica: tipus de cèl·lula del sistema immunitari innat que té la funció de processar les substàncies antigèniques.

Cèl·lula glial: tipus de cèl·lula del teixit nerviós que realitzen una funció auxiliar i complementària a la de les neurones, que transmeten el missatge nerviós.

Cèl·lula mesenquimàtica: subtipus de cèl·lula mare multipotent primitiva.

Cèl·lula NK (Natural Killer): tipus de leucòcit (glòbul blanc) que s'ocupa de la destrucció de cèl·lules infectades i cèl·lules canceroses, a més de regular la resposta immune.

Cinasa: grup d'enzims que tenen la funció de biocatalitzadors, és a dir, d'accelerar i facilitar certes reaccions. Per exemple, les cinases possibiliten la recepció de l'estímul de creixement emès pels receptors HER2.

Citoqueratina: proteïna fibrosa que formen els filaments entremitjos del citoesquelet, així com el cabell, les ungles i les plomes dels animals.

Crioteràpia: ús local o general de temperatures baixes en teràpia mèdica.

Displàsia: és considerat un pas més enllà que la hiperplàsia, en el qual excés de cèl·lules té una aparença anormal sota observació amb microscopi. Tanmateix, les cèl·lules displàsiques no són canceroses, però poden derivar en càncer.

Edema: acumulació de líquid a l'espai extracel·lular o intersticial, a més a més de les cavitats de l'organisme.

Embolització: l'oclusió de manera voluntària de vasos sanguinis amb diferents intencions.

Esclerosi: enduriment malaltís dels teixits o òrgans a causa de la hiperplàsia del teixit conjuntiu que entra en la seva estructura.

Falcon: tub d'assaig d'entre 15 i 50 mL amb tapa de rosca.

Fase fol·licular: primera fase del cicle menstrual, durant la qual maduren els fol·licles a l'ovari.

Fibroblast: tipus de cèl·lula del teixit connectiu que sintetitza fibres i manté l'estructura de la matriu extracel·lular estable.

Fibrosi (quística): malaltia genètica d'herència recessiva que provoca l'acumulació de moc espès i enganxós en els pulmons i en altres òrgans i que generalment és letal.

Gammagrafia òssia: prova de medicina nuclear utilitzada per cercar certes anomalies òssies.

Gangli limfàtic: estructures ovalades o reniformes, i encapsulades, les quals pertanyen al sistema limfàtic. El sistema limfàtic s'ocupa de transportar la limfa,

que conté glòbuls blancs, i, per tant, els ganglis limfàtics participen en algunes funcions del sistema immunitari.

Granulòcit: tipus de leucòcit o glòbul blanc que estan involucrats en diferents tipus de resposta immune, i que es caracteritzen per la seva fàcil tinció.

Hemianòpsia: falta de visió o ceguera que afecta únicament a la meitat del camp visual.

Hemiparèsia: disminució de la força motora o paràlisi parcial que afecta a un braç i una cama del mateix costat del cos.

Heterozigositat: possessió de dos al·lels que tenen una seqüència de nucleòtids diferent tot i codificar pel mateix gen.

Hiperplàsia: increment no justificat del nombre de cèl·lules en un òrgan o teixit. Sota observació amb microscopi tenen una aparença perfectament normal, i no són canceroses, però poden derivar en càncer.

Hipoestèsia: trastorn de la percepció que consisteix en una distorsió sensorial a causa de la disminució de la intensitat de les sensacions.

Hipòxia: estat de deficiència d'oxigen en sang, cèl·lules o teixits de l'organisme, de manera que afecta la seva funció.

Histograma: representació gràfica d'una variable en forma de barres.

Homeòstasi (tissular): regulació i manteniment de les condicions internes estables compensant els canvis de l'entorn, en aquest cas a nivell dels teixits.

Icterícia: coloració groguenca de la pell i les mucoses per un augment de la bilirubina.

Limfadenectomia: procediment quirúrgic en el qual s'extreuen els ganglis limfàtics i s'examinen per a determinar si contenen càncer.

Límit de Hayflick: nombre de duplicacions màximes que pot patir una cèl·lula eucariota abans d'entrar en senescència.

Liofilitzat: La liofilització consisteix en fer desaparèixer l'aigua dels aliments, que hauran d'estar en un recipient al buit. És una tècnica bastant cara i només s'aplica a productes d'alt preu i a algunes medicines. L'avantatge respecte a la deshidratació tradicional és que la recuperació d'aigua és instantània.

Líquid hemàtic: qualsevol líquid que conté sang.

Lligand: ió o molècula que s'uneix a un altre àtom per desencadenar una resposta mitjançant la formació d'un conjunt anomenat complex de coordinació.

Macròfag: Un macròfag és una cèl·lula amb capacitat immunològica present al teixit conjuntiu.

Metabolisme: conjunt de reaccions químiques que tenen lloc en un organisme per a mantenir-lo viu.

Micròtom: instrument de tall que permet obtenir talls seccionaris molt fins de diferent material.

Necrosi: mort patològica d'una o diverses cèl·lules o de qualsevol teixit de l'organisme provocada per un agent nociu.

Nucleòtid: unitats estructurals bàsiques dels àcids nucleics.

Parestèsia: sensació anormal de formigueig o adormiment.

Pellet: col·loides que sedimenten per sota del sobrenedant en centrifugar una dispersió col·loidal.

Pèptid: polímer d'aminoàcids curt.

Politòpic: multifocal, que afecta a diferents punts propers entre ells.

Port-a-cath: dispositiu mèdic que proporciona un accés venós permanent, és a dir, que permet l'accés repetit al sistema vascular, en aquest cas, per administrar medicacions.

Proteasa: enzim que digereix les proteïnes en estructures peptídiques més curtes.

Proteòlisi: degradació de proteïnes en estructures peptídiques més petites.

Quist: bossa tancada amb una membrana pròpia que es desenvolupa anormalment en una cavitat o estructura del cos.

Radioiode: tractament per l'activitat excessiva de la glàndula tiroides.

Ressonància Magnètica Nuclear (RMN): tècnica d'imatgeria que utilitza un fort camp magnètic per oferir un resultat precís sobre les estructures internes del cos.

Scaffold: estructura temporal que s'utilitza com a suport per a certs materials.

Senescència: canvi en la biologia d'un organisme a mesura que envelleix després de la maduresa.

Sobrenedant: líquid que queda per sobre del pellet en centrifugar una dispersió col·loidal.

Sonicació: tractament d'una substància mitjançant ultrasons, generalment per dissoldre-la.

Telòmer: extrems dels braços dels cromosomes que contenen ADN telomèric amb informació repetida i que serveix per amortiguar el desgast de la informació genètica continguda al cromosoma. El grau de desgast dels telòmers és un

indicador de la vellesa de la cèl·lula, i quan es desgasten completament una cèl·lula normal procedeix a l'apoptosi.

Telomerasa: enzim del tipus ADN polimerasa que afegeix segments repetitius d'ADN telomèric als telòmers, per evitar-ne l'escurçament.

Teràpia intravesical: tractament que consisteix en l'administració directa de líquid a la bufeta.

Tomografia Axial Computada (TAC): procediment d'exploració radiològica basada en els raigs X, que dona com a resultat una imatge de les estructures internes del pacient.

Tomografia per Emissió de Positrons-Tomografia Axial Computada (PET-TAC): tècnica d'imatgeria que utilitza petites quantitats de materials radioactius (radiosondes) per poder observar amb detall els òrgans i els teixits interns.

Tractament endoscòpic: tècniques utilitzades per poder observar estructures de l'interior del cos.

Tripsinització: procés de separació de les cèl·lules de la superfície a la que estan adherides mitjançant un enzim anomenat tripsina.

Vas limfàtic: part del sistema limfàtic que condueix la limfa a les venes.

Virus del Papil·loma Humà (VPH): expressió genèrica que designa més de cent tipus de virus que infecten la pell i mucoses a humans i altres animals.

Vortex: aparell de laboratori que utilitza les vibracions per precipitar dispersions col·loïdals.

Xenograft: trasplantament de cèl·lules vives d'una espècie a un altra.