



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

TESIS DE MAESTRÍA

**Asociación de la concentración de ácido siálico salival con las etapas del
cáncer de mama.**

ALUMNO

Ana Laura Ramírez De Ávila

DIRECTOR DE TESIS

M. en C. Mauricio Pierdant Pérez

ASESORES

M. en C. Marco Ulises Martínez Martínez

M. en C. José de Jesús Zermeño Nava

Dr. Hugo Ricardo Navarro Contreras.

San Luis Potosí, S.L.P. Octubre 2021

DIRECTOR DE TESIS	
M. en C. Mauricio Pierdant Pérez	
ASESORES	
M. en C. Marco Ulises Martínez Martínez	
M. en C. José de Jesús Zermeño Nava	
Dr. Hugo Ricardo Navarro Contreras	
SINODALES	
D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso Sinodal Interno	
D. en C. Leticia Guadalupe Yáñez Estrada Sinodal Interno	
Dra. Claudia Fernanda Lárraga Rodarte Sinodal Externo	
Dr. Willy Tonatiuh Escalante Silva Sinodal Externo	
Dr. Daniel Ernesto Noyola Cherpitel Jefe de Investigación y Posgrado Clínico Facultad de Medicina UASLP	D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso Coordinador de la Maestría en Ciencias en Investigación Clínica



Asociación de la concentración de ácido siálico salival con las etapas del cáncer de mama by Ana Laura Ramírez De Ávila is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	6
LISTA DE DEFINICIONES	7
LISTA DE GRÁFICAS	7
LISTA DE TABLAS	7
ANTECEDENTES	8
Cáncer de mama	8
Acido siálico	14
Otros marcadores en cáncer de mama	17
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	19
HIPÓTESIS DE TRABAJO	19
JUSTIFICACIÓN	19
OBJETIVOS	20
METODOLOGÍA	20
Diseño del estudio	20
Lugar de realización	20
Universo de estudio	21
Tipo de muestreo	21
Criterios de selección	21
Variables en el estudio	22
Cálculo del tamaño de la muestra	23
Análisis estadístico	24
Concordancia en las mediciones de ácido siálico.	24
ASPECTOS ÉTICOS	25
PLAN DE TRABAJO	25
RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES	26
CAPACITACIÓN DE PERSONAL	27
FINANCIAMIENTO	27

VIABILIDAD	28
BIBLIOGRAFÍA	29
ANEXO I	33
CONSENTIMIENTO INFORMADO	33
ANEXO 2	44
REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	44
ANEXO 3	45
HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	45
ANEXO 4	46
TÉCNICA DE RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRA SALIVAL	46
ANEXO 5	47
SISTEMA DE CLASIFICACION BI-RADS	47
ANEXO 6	49
SISTEMA DE ESTADIFICACION TNM EN CÁNCER DE MAMA	49
ANEXO 7	51
AVISO DE PRIVACIDAD	51
ANEXO 8	53
CALIBRACION DE MEDICIONES DE ACIDO SIALICO MEDIANTE RAMAN (ARTEAGA Y COLS)	53
ANEXO 9	55
CONCORDANCIAS	55

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE: Antígeno Carcinoembrionario
AJCC: American Joint Committee on Cancer
ASCO: American Society of Clinical Oncology
BI-RADS: Breast Imaging Reporting and Data System
BRCA: Gen del cáncer de mama (**BR**east **CA**ncer gene)
CARIEM: Centro de Aplicación de la Radiación Infrarroja, Energías Alternativas y Materiales
CIACYT: Coordinación para la Investigación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología
DS: Desviación estándar
ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
FUM: Fecha de última menstruación
GLOBOCAN: Global Cancer Incidence, Mortality and Prevalence
IMC: Índice de masa corporal
INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IVS: Inicio de vida sexual
MAC: Método anticonceptivo
PS: Parejas sexuales
QT: Quimioterapia
RM: Resonancia Magnética
RT: Radioterapia
rpm: revoluciones por minuto
TNM: Tumor, Ganglios, Metástasis (**T**umor, **N**ode, **M**eastasis)
TRH: Terapia hormonal de reemplazo

LISTA DE DEFINICIONES

Glucoproteínas: Grupo extenso de moléculas compuestas por una proteína unida a uno o más glúcidos.

Hiperplasia ductal atípica: crecimiento excesivo de las células anómalas que revisten los conductos. Se considera como precursor de cáncer.

Monosacáridos: Glúcido simple que no se hidroliza y no se descompone en otros compuestos.

Nuligesta: Mujer que nunca ha estado embarazada.

Segundo primario: nuevo cáncer primario que se presenta en una persona con antecedentes de cáncer.

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Beneficios y riesgos de la mamografía anual

Gráfica 3. Distribución por etapa clínica. Consenso Mexicano Colima2017

Gráfica 4. Concentración salival de ácido siálico en cáncer de mama

Gráfica 5. Concentración de ácido sálico salival por etapa de cáncer de mama

Gráfica 6. Concentración de ácido siálico por etapa agrupada

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Supervivencia por etapas

Tabla 2. Estadística descriptiva

Tabla 3. Modelo de regresión inicial

Tabla 4. Modelo de regresión final

Palabras clave: ácido sálico, cáncer de mama, saliva, diagnóstico, etapa.

ANTECEDENTES

Cáncer de mama

Definición

El cáncer de mama es el crecimiento anormal de las células del epitelio o lobulillos mamarios con capacidad de diseminarse. Los tipos histológicos más frecuentes son el carcinoma ductal y el carcinoma lobulillar.(1)

Epidemiología

A nivel mundial el cáncer de mama es el segundo cáncer más común, solamente superado por el cáncer pulmonar, siendo el más frecuente en mujeres. La incidencia y mortalidad varían considerablemente de acuerdo con las regiones y países del mundo. Tiene una incidencia anual de 2.1 millones de casos que corresponde a 11.7% de todos los casos de cáncer, con una mortalidad de 684 996(6.9%) casos, siendo el 70% de las muertes por cáncer de mama, en países en vías de desarrollo en donde la mayoría de los casos se diagnostica en etapas avanzadas (2).

De acuerdo con GLOBOCAN, en el 2020 la incidencia en México es de 29 929 (15.3%) casos, con una mortalidad de 7 931(8.8%) casos, y, respecto a las estadísticas de los últimos años, se ha observado un aumento tanto en la incidencia como en la mortalidad. (2,3).

Según lo publicado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en el 2020, la principal causa de morbilidad en mujeres mayores a 20 años se debe al cáncer de mama, afectando un gran rango de mujeres en edad reproductiva, que corresponde a una parte importante de la población y si bien, la incidencia comienza a elevarse en mujeres mayores a 20 años de edad, el incremento más importante que se observa es en el grupo de 25 a 44 años, alcanzando su punto máximo en pacientes de 60 a 64 años. (4)

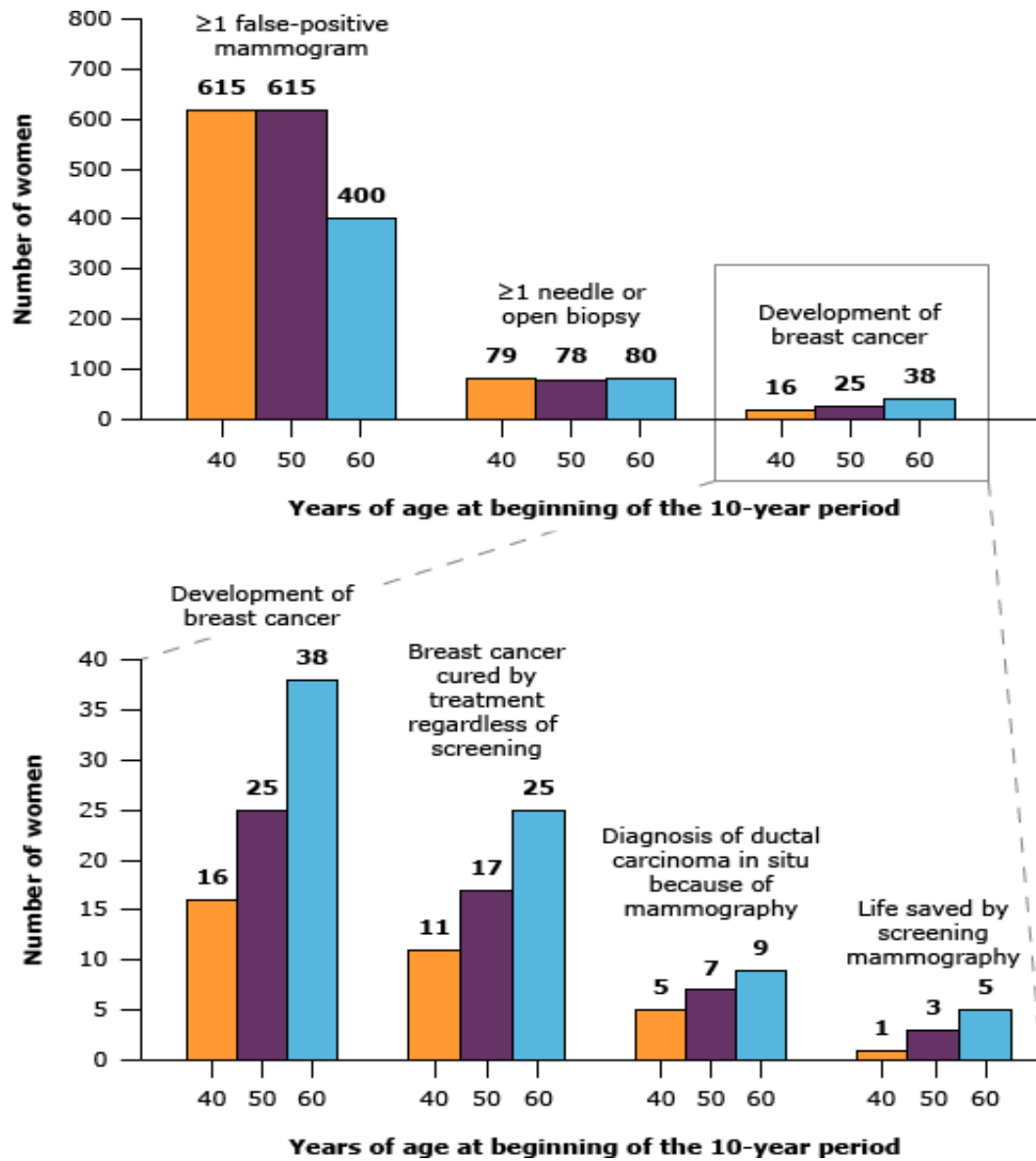
Al igual que las estadísticas reportadas por Globocan la mortalidad en México ha tenido una tendencia al alza durante un periodo de 5 años. (5)

La supervivencia a 5 años contrasta de manera importante en países desarrollados y los no desarrollados, siendo de 80% vs 30-45% respectivamente. (3,6,7)

Diagnóstico/Tamizaje

La edad promedio de diagnóstico en nuestro país es de 52.5 años. La mamografía o mastografía es actualmente el método de tamizaje de preferencia, se realiza a partir de los 40 años y se sabe que disminuye la mortalidad en cáncer de mama, algunos estudios consideran que esta disminución se observa en un periodo de 6 a 13 años de seguimiento para lograr una disminución del 15% en pacientes de 40 a 69 años. La sensibilidad de este método llega a 84.4% con una especificidad de 90.8% en pacientes de 40 a 49 años, sin embargo es diferente en cada grupo de edad, además existe posibilidad de un resultado falso negativo, ya que alrededor del 25% al 30% de las pacientes no son detectados por mamografía, de otra manera los resultados falsos positivos dan lugar a estudios innecesarios de las pacientes, probablemente más invasivos. Una de las principales limitantes con el método de tamizaje para cáncer de mama es que es operador dependiente, y que a largo plazo también es un factor de exposición a radiación en las pacientes. En la Gráfica 1 podemos ver algunos de los beneficios y riesgos de realizar la mamografía de manera anual. (8,9,10) .

Gráfica 1. .Beneficios y riesgos de la mamografía anual.



Fuente: Up to date. Screening for breast cancer: Strategies and recommendations

La estandarización de la mamografía se realiza mediante el sistema de clasificación BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System) (**Anexo 5**).(1-3)

La cobertura del tamizaje con mamografía en nuestro país no es ideal, ya que según la ENSANUT 2018, depende tanto del nivel socioeconómico de la población, como de la disponibilidad de la prueba y el alcance que se pueda tener en un primer contacto con la paciente con sospecha de cáncer de mama, sin embargo, respecto a lo reportado en la ENSANUT 2012, la proporción de mujeres que acudió a realizarse esta prueba de tamizaje, disminuyó. (11).

Es relevante tomar en cuenta también que para el 2014, a nivel nacional se contaban con 689 mastógrafos en instituciones públicas de salud, con porcentajes muy bajos de efectuación de mamografía a nivel nacional, teniendo en San Luis Potosí un 2.3% de realización, lo que influye también en el impacto negativo en el diagnóstico temprano de esta patología, y por consiguiente un aumento en detecciones de etapas tardías. (12)

Existen otras herramientas complementarias para el diagnóstico, como son el ultrasonido y la resonancia magnética (RM), sin embargo, no se piden de rutina, indicándose solamente en ciertas condiciones clínicas, como en pacientes con mama densa o mamografía no concluyente en el caso del ultrasonido, y, la resonancia magnética que si bien, es más sensible y puede determinar la extensión de la enfermedad, no ha demostrado mejorar la supervivencia. (1,13)

Estadificación

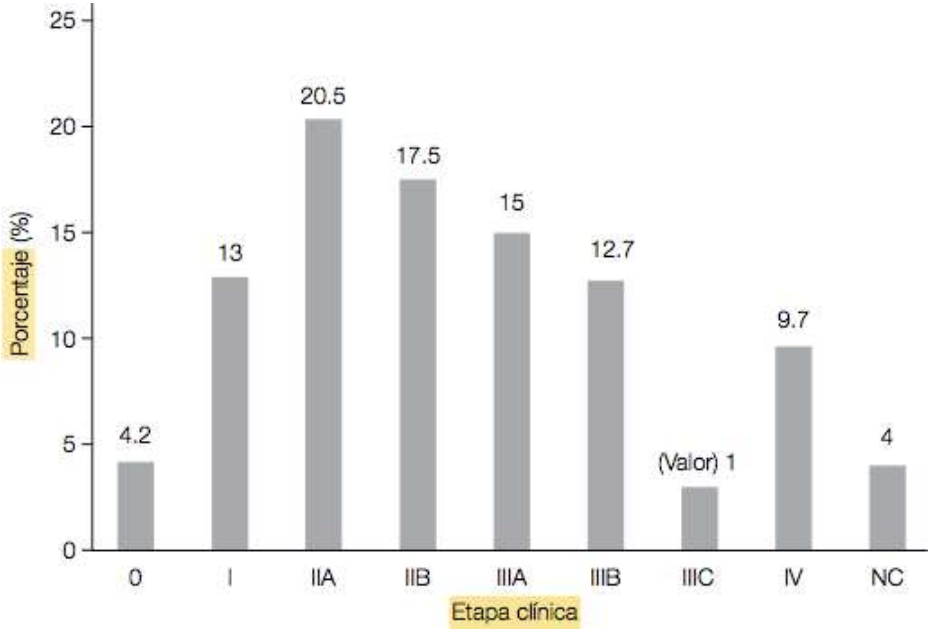
El sistema de estadificación en cáncer de mama inicialmente puede ser clínico para determinar un manejo inicial, sin embargo, el definitivo se basa en el sistema TNM (**Anexo 6**) de acuerdo con la AJCC, siendo el más reciente de enero 2018 el cual incluye los sistemas para determinar tanto la etapa clínica como la quirúrgica (patológica). Hay cinco estadios o etapas de desarrollo, siendo la etapa 0 en la cual el tumor maligno se encuentra más focalizado y es fácilmente tratable (in situ), hasta la etapa IV o metastásica donde el tratamiento solamente es paliativo para tratar de tener una mejor calidad de vida. (8,14)

La etapa de la enfermedad es determinante para la supervivencia a 5 años (**Tabla 1**); en México la mayoría de los casos se encuentran en etapa II y III (**Gráfica 2**). (1,4,12)

Tabla 1. Supervivencia por etapas

Etapa en cáncer de mama	Supervivencia a 5 años
Etapa 0	95 a 100%
Etapa I	88%
Etapa II	66%
Etapa III	36%
Etapa IV	7%

Gráfica 2. Distribución por etapa clínica.



Fuente: Consenso Mexicano sobre el diagnóstico y tratamiento de cáncer demama Colima 2017

En el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, según estadísticas del departamento de DAOs, en un periodo de 10 años se encontraron 1734 pacientes de los cuales 124 corresponden a la etapa I (7.1%), etapa II (34.6%), etapa III (37.5%), etapa IV (5.3%), lo que concuerda con lo mencionado previamente encontrando alrededor del 70% de los casos en etapas II y III, la etapa 0 del cáncer de mama solo abarca un mínimo porcentaje, siendo 1 o 2 casos por año. Anualmente se calcula que ingresan alrededor de 150 a 200 pacientes nuevas con diagnóstico de cáncer de mama.

Ácido siálico

La glucosilación es una modificación importante de lípidos y proteínas, viéndose involucrada en diferentes procesos patológicos dentro de los cuales se encuentra la transformación maligna, progresión y metástasis. Numerosos estudios se han llevado a cabo mencionando que los glucanos determinados en sangre, pueden ser potenciales marcadores para diagnóstico, pronóstico y monitorización de tratamiento. (13, 15,16)

El ácido siálico pertenece a una familia de monosacáridos, componente importante de glicoproteínas, unidos al final de la cadena del glucano, de esta manera puede mediar varios procesos fisiológicos y patológicos.

Varios investigadores se han abocado a la medición y evaluación de este tipo de proteínas en sangre, para determinar su relación con diversos tipos de cáncer. Los valores de la cantidad de ácido siálico en sangre de una persona sana van de 51 a 84 mg/ml, y su incremento se ha encontrado en diferentes tipos de cáncer, teniendo potencial de utilizarse como diagnóstico, estadificación y pronóstico. (16)

Sawheney y cols., evaluaron la utilidad del ácido siálico sérico como marcador para la estadificación del cáncer oral, confirmando que hay una elevación significativa esta glucoproteína en pacientes con patología oral al compararlas con controles sanos, incrementando de esta manera con los grados de displasia y con la extensión de la enfermedad (TNM) (17). En

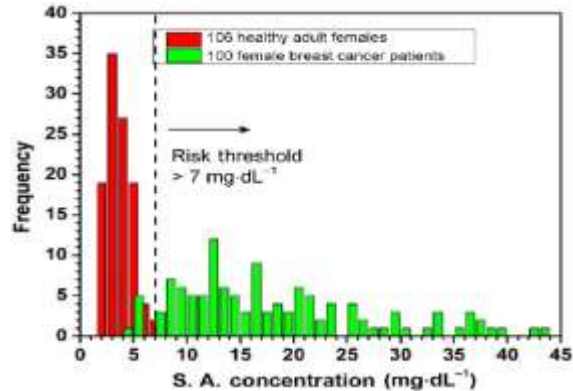
relación al cáncer este mismo grupo evaluó la utilidad del ácido siálico sérico como marcador para la estadificación del cáncer oral, confirmando que hay una elevación significativa esta glucoproteína en pacientes con patología oral al compararlas con controles sanos, incrementando de esta manera con los grados de displasia y con la extensión de la enfermedad (TNM) (17). En relación al cáncer de mama y ácido siálico, se ha determinado ya un aumento en la concentración sérica en esta patología y su posible relación con la etapa de la enfermedad. (18)

Ácido siálico en saliva

La saliva es un fluido biológico complejo y dinámico que refleja tanto cambios orales como cambios sistémicos, pudiera decirse que es un reflejo del estado metabólico del cuerpo; se ha descrito que el cáncer y la terapia oncológica inducen diversos cambios salivales. Ötzürk y cols., llevaron a cabo un estudio donde comparan 15 individuos con cáncer de mama en diferentes etapas sometidos a quimioterapia, contra un grupo control de 10 pacientes sin cáncer de mama, tomando muestras salivales en ambos grupos, sin embargo, en el grupo de cáncer, las muestras se tomaron durante la aplicación de la quimioterapia. Se encontró que el grupo de pacientes con cáncer de mama tuvieron una concentración salival de ácido siálico mayor ($114 \text{ mg/L} = 11.4 \text{ mg/dl}$) que el grupo control ($47 \text{ mg/L} = 4.7 \text{ mg/dl}$) (114 ± 45 vs. 47 ± 10). (19)

En México se encuentra una línea de investigación acerca de la determinación de la concentración salival de ácido siálico en varios tipos de patologías malignas ginecológicas. Arteaga y cols., (20) realizaron un estudio reciente de ácido siálico salival en cáncer de mama donde se determinó la concentración por medio de la espectroscopia raman, calibrando la intensidad de la señal, con ácido siálico comercial (**Anexo 8**). Encontraron un aumento en la concentración salival de ácido siálico en pacientes con cáncer de mama a comparación de pacientes sanas, siendo de $18.3 \pm 9.4 \text{ mg-dL}$ en el primer grupo mientras en el grupo de pacientes sanas fue de $3.5 \pm 1.0 \text{ mg-dL}$, estableciendo un punto de corte de 7 mg/dl (**Gráfica 3**), con una sensibilidad de 94% y una especificidad del 98%. Sin embargo, no queda bien establecido si existe alguna diferencia de la concentración en las etapas de la enfermedad, ya que las pacientes incluidas en este estudio no distinguían entre pacientes tratadas o no tratadas (20)

Gráfico 3. Concentración salival de ácido siálico en cáncer de mama.



Obtenido de: Arteaga y cols. Diagnosis of breast cancer by analysis of sialic acid concentrations in human saliva by surface-enhanced Raman spectroscopy of silver nanoparticles.

Se han descrito diversas patologías que elevan la concentración sérica de ácido siálico, Junling y cols describieron la asociación entre síndrome metabólico y niveles séricos aumentados del ácido siálico, como son las enfermedades inflamatoria así como la artritis, enfermedades hepáticas como el hígado graso no alcohólico; respecto a la concentración salival está descrito su elevación en patologías malignas orales además existen condiciones que afectan la concentración de ácido siálico salival como son tabaquismo, alcoholismo y enfermedad periodontal. (21-23)

Arenas Sánchez recientemente realizó un estudio donde se determinaron niveles salivales de ácido siálico de pacientes con lesión mamaria benigna contra pacientes cuyo resultado fue cáncer, encontrando una media de concentración salival en pacientes sanas de 8.7mg/dl con DS de 1.17, y la media para el grupo de cáncer de 22.4 con una DS de 9.4, lo que corrobora la elevación en pacientes con patología maligna, sin embargo no tiene como objetivo principal la determinación por etapa clínica.(24)

Liu et al. Utilizaron microarreglos de lectina en 337 pacientes con cáncer etapa I/II y patología quística de mama, así como en 110 controles sanos, encontrando una alteración de glucoproteínas salivales pudiendo ser utilizadas como método de detección de etapas tempranas del cáncer de mama. (25)

Técnica Raman

La espectroscopia raman en los últimos años ha ganado mayor interés en el área de la investigación en especial en área de cáncer, ya que a través de ciertos patrones específicos de espectros se ha logrado identificar diversas sustancias con alta especificidad y combinada con microscopía tiene gran poder para obtener muestras de imágenes biológicas. Dentro de las ventajas descritas de esta técnica se encuentran: no es invasiva, alta especificidad, preparación mínima de la muestra, es conveniente para el análisis químico y cuantificación de diversas muestras biológicas, sin embargo, una de las desventajas de esta técnica es la baja sensibilidad que pudiera arrojar para una prueba. (20)

Otros marcadores en cáncer de mama

En las últimas actualizaciones de la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO), se recomienda el uso de marcadores tumorales en la prevención, tamizaje, tratamiento y vigilancia del cáncer de mama. Si bien existen otros marcadores séricos como el CA-15-3, CA 27.79, CEA, p53, catepsina D, que son utilizados clínicamente en cáncer de mama, su utilidad principal es para detectar recurrencias o para vigilancia de respuesta terapéutica. El uso actual de estos marcadores disponibles se limita por la baja sensibilidad y especificidad para el diagnóstico temprano de cáncer de mama, careciendo de capacidad para detectar recurrencias o para vigilancia de respuesta terapéutica. (26-27)

En tema de cáncer de mama se ha realizado un esfuerzo por llevar a cabo intervenciones comunitarias dirigidas a la población y así tener un impacto en la detección temprana, sin embargo, no se ha logrado tener un nivel de detección oportuna lo que implica un problema en salud pública para el control de esta enfermedad. El explorar las diferencias de la glucosilación en individuos en las diferentes etapas del cáncer de mama nos da una oportunidad de identificar biomarcadores que pudieran ser en un momento dado, más asequibles que las herramientas actuales.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe asociación entre la concentración salival de ácido siálico y las etapas del cáncer de mama?

JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama es un problema de salud a nivel mundial. El pronóstico depende de la etapa de la enfermedad al momento del diagnóstico. En México existen diversos factores que impiden la detección oportuna, detectando cerca del 90% de los casos en etapas avanzadas, lo que genera un mayor impacto en mortalidad y costos para los sistemas de salud.

La detección oportuna en cáncer de mama influye en la decisión terapéutica y el porcentaje de respuesta al tratamiento. La mamografía es utilizada actualmente como método de tamizaje, sin embargo, existe una demora en referir a la paciente para un tratamiento oportuno, desde que se realiza el estudio.

Se ha documentado el aumento de la concentración salival de ácido siálico en pacientes con cáncer de mama, sin determinar una asociación con la etapa de la enfermedad. Se busca contar con una herramienta que en un futuro sea más asequible para la población y de una manera menos invasiva, que, además de resultados inmediatos, pueda acortar el tiempo para una referencia oportuna. Debido a esto realizaremos un estudio que determine los niveles de ácido siálico en las diferentes etapas del cáncer de mama, para posteriormente contar con una posible prueba de apoyo al tamizaje actual, poder acortar los tiempos de atención en el manejo integral de la paciente con cáncer de mama.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La concentración salival de ácido siálico se asocia de manera directa a las etapas del cáncer de mama

OBJETIVOS

Objetivo general

- Asociar la concentración salival de ácido siálico medida con técnica raman, con las etapas del cáncer de mama, en pacientes sin tratamiento.

Objetivos específicos

- Determinar la concentración salival de ácido siálico en pacientes con etapa I, II, III, IV sin tratamiento
- Comparar la concentración salival de ácido siálico entre las diferentes etapas del cáncer de mama

Objetivos secundarios

- Determinar si existe relación entre la concentración salival de ácido siálico y el tipo histopatológico de cáncer de mama.
- Evaluar los factores asociados a la elevación salival de ácido siálico en pacientes con cáncer de mama

METODOLOGÍA

Diseño del estudio

Estudio transversal, analítico

Lugar de realización

- Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” San Luis Potosí, S.L.P.
- Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y Tecnología CIACyT. Laboratorio Nacional. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Universo de estudio

Pacientes que asistieron al área de consulta externa del Servicio de Oncoginecología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, con diagnóstico confirmado de cáncer de mama.

Tipo de muestreo

Muestreo consecutivo a conveniencia

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Pacientes
 - Mujeres mayores de 18 años
 - Diagnóstico histopatológico de cáncer de mama
 - Sin tratamiento previo para cáncer de mama (QT, RT, Cirugíamamaria)
 - Que acepten participar en el estudio

Criterios de no inclusión

- Pacientes
 - Embarazadas
 - Diagnóstico previo de cáncer de mama
 - Segundo primario (cáncer) durante el estudio de la paciente

Criterios de eliminación

- Revocación del consentimiento informado
- Pérdida de la muestra

Variables en el estudio

CUADRO DE VARIABLES				
Variable	Definición operacional	Valores	Unidades	Tipo de variable
Concentración salival de ácido siálico (As)	Cantidad salival de ácido siálico	0.1- ∞	mg/dl	Continua
Etapa de cáncer de mama (EC)	Extensión de la enfermedad determinada por estudio histopatológico y estudios de extensión	I,II,III,IV	N/A	Ordinal

VARIABLES CONFUSORAS				
Variable	Definición operacional	Valores	Unidades	Tipo de variable
Edad (E)	Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento del paciente hasta su ingreso al estudio.	18-99	años	Continua
Tabaquismo (T)	Se considera la presencia de tabaquismo cuando la paciente refiera haber	SI NO	N/A	Dicotómica

	fumado en los 3 meses previos.			
Alcoholismo (OH)	Consumo de bebidas alcoholicas en los 3 meses previos	SI No	N/A	Dicotómica
Artritis (A)	Artritis previamente diagnosticada, referida por la paciente.	SI No	N/A	Dicotmica
Diabetes Mellitus(DM)	Diagnóstico conocido por la paciente, de Diabetes Mellitus.	SI No	N/A	Dicotómica
Periodontitis(P)	Enfermedad inflamatoria crónica que afecta tejidos de soporte dental, valorada clinicamente.	Si No	N/A	Dicotómica

Cálculo del tamaño de la muestra

Por cada grado de libertad se requieren 10-20 pacientes, en base al modelo de regresión múltiple.

$$AS \sim EC + E+T+ OH+DM+A+P$$

Se incluyen seis variables explicativas, con un grado de libertad para cada una, estableciendo 3 grados de libertad para etapa del cáncer, haciendo un total de seis términos; considerando de diez a veinte repeticiones por término de acuerdo con Peduzzi y cols, resultando en un total de 90-180.

Análisis estadístico-3

El análisis estadístico se realizó mediante el programa **R**® versión 3.5.2 en interfase de **R Studio**® Versión 1.1.463. Se realizó análisis estadístico **descriptivo** con las variables demográficas. Las variables continuas se describieron con media y desviación estándar si su distribución fue normal o con mediana y rangos intercuartílicos si su distribución fue no normal. Se realizó un modelo de regresión lineal para explicar la variabilidad de la concentración salival de ácido siálico, se evaluó multicolinealidad entre las variables, la cual no existió. Se realizó un modelo de regresión, con búsqueda hacia atrás, incluyendo en un principio todas las variables descartando al que tuviera el mayor valor de p, una por una, hasta quedarnos con el modelo que tuvo solo variables significativas. En el modelo final, se evaluó la normalidad de los residuos y homogeneidad de las varianzas de forma gráfica.

Concordancia en las mediciones de ácido siálico.

Se realizó la concordancia en las mediciones de las concentraciones de ácido siálico salival por dos profesionales del área, con determinación de la concentración en 19 muestras diferentes, medidos en diferente tiempo, analizándolos con el coeficiente de correlación intraclase, tomando en consideración el ICC3, con sus respectivos intervalos de confianza, obteniendo un estimado de 0.99 (CI 0.97-1 $p < 0.0001$) (**Anexo 9**).

Se realizó concordancia de las etapas clínicas de la enfermedad tomando 20 sujetos diferentes, participando el adjunto y residente para establecer la etapa de la enfermedad, utilizando kappa ponderada, determinando también intervalos de confianza, con un resultado de 0.94 (CI 0.94-0.94) lo cual se clasifica como muy buena (**Anexo 9**)

ASPECTOS ÉTICOS

La investigación se llevó a cabo tomando en cuenta las normas establecidas para investigaciones de seres humanos marcadas por la OMS, a la norma oficial mexicana NOM-012-SSA3-2012, y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, que concuerda con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, y el Protocolo de Estambul.

En el protocolo de investigación, prevalecieron los criterios de respeto a la dignidad del sujeto de investigación, la protección de sus derechos, principalmente el de la protección de la salud, así como el bienestar y la conservación de su integridad física.

Este estudio es de riesgo mínimo, sin embargo, se garantizó la no exposición al sujeto de investigación a riesgos innecesarios y que los beneficios esperados eran mayores que los riesgos predecibles.

PLAN DE TRABAJO

- Búsqueda de la bibliografía
- Redacción de protocolo
- Presentación de seminario
- Evaluación por parte del comité académico de CEI y CE
- Aprobación de protocolo
- Recolección de pacientes
 - Se invitó a todas las pacientes de la consulta externa de oncoginecología que fueron sometidas a biopsia por sospecha diagnóstica de cáncer de mama.
 - Se les explicó las generalidades del protocolo, así como el consentimiento informado (**Anexo 1**). Si aceptaban participar, se solicitaba la firma del consentimiento informado.
 - A las pacientes que aceptaron colaborar con el protocolo de estudio se les estableció la etapa clínica de cáncer de mama para determinar el manejo inicial. El manejo fue el mismo para las pacientes que no aceptaban participar en el protocolo. A las pacientes

cuyo resultado fue benigno se les dió el manejo más adecuado en base al protocolo de patología benigna.

- Se registraron los datos de las pacientes que participaron, en un formato específico para recolección de datos. (**Anexo 2**)
 - Se tomó la muestra de saliva siguiendo el protocolo establecido para la recolección de muestra. (**Anexo 3**)
 - Procesamiento de muestra en CIACYT
 - Se programó a la paciente con sospecha diagnóstica para cirugía mamaria y se obtuvo la pieza patológica la cual se envió a estudio histopatológico para posteriormente determinar la etapa histopatológica.
- Creación de base de datos
 - Análisis estadístico de los datos
 - Obtención de resultados

RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Se solicitó apoyo a la División de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, servicio de Oncoginecología.

- Recursos Humanos
 - Médicos residentes del área de Ginecología y Obstetricia que se encuentren rotando por el servicio de Oncoginecología, quienes en conjunto con el investigador principal determinó la etapa clínica inicial de la paciente: Miriam Martínez Chávez /Axel Sierra Coronado/Natalie Plata Residentes de tercer año.
 - Investigador principal Ana Laura Ramírez de Ávila
 -
 - M.C. Aida Catalina Hernández Arteaga quien realizará la determinación de la concentración de ácido siálico salival mediante Raman en el departamento CARIEM del CIACYT.
 - Alejandra Segarra, médico pasante del servicio social en el servicio de investigación del Hospital Central Ignacio Morones Prieto, quien ayuda a la recolección de muestra salival.

- Alondra Cedillo, odontóloga que nos apoyó con el diagnóstico clínico de enfermedad periodontal al momento de toma de muestra.

- Recursos materiales
 - Computadora MacBook Air
 - Espectrometro Raman marca Horiba Jobin Yvon XploRA ONE, en conjunto con un microscopio óptico Olympus BX41
 - Viales recolectores de 1.5ml de capacidad
 - Cepillos dentales.
 - Enjuague libre de alcohol.
 - Pasta dental
 - Vasos
 - Hojas tamaño carta
 - Refrigerador
 - Hielera

CAPACITACIÓN DE PERSONAL

Capacitación de personal: No aplica

Adiestramiento de personal: Se adiestró al investigador principal, en determinación de la concentración de ácido siálico salival mediante raman.

FINANCIAMIENTO

- Financiamiento parcial por parte del investigador principal CVU: 8963602
- Externo: Proyecto en Problemas Nacionales para estudio del Ácido Siálico No. 2015-01-986

VIABILIDAD

En el Hospital Central Dr. "Ignacio Morones Prieto", en un periodo de 10 años se encontraron 1734 pacientes de los cuales 124 corresponden a la etapa I (7.1%), etapa II (34.6%), etapa III (37.5%), etapa IV (5.3%), lo que concuerda con lo mencionado previamente encontrando alrededor del 70% de los casos en etapas II y III. En un año se calcula que existe alrededor de 150 a 200 pacientes que ingresan con diagnóstico nuevo de cáncer de mama, para manejo integral.

RESULTADOS

En la figura 1 se muestra el flujograma de pacientes donde se analizaron 91 pacientes diagnosticados con cáncer de mama.

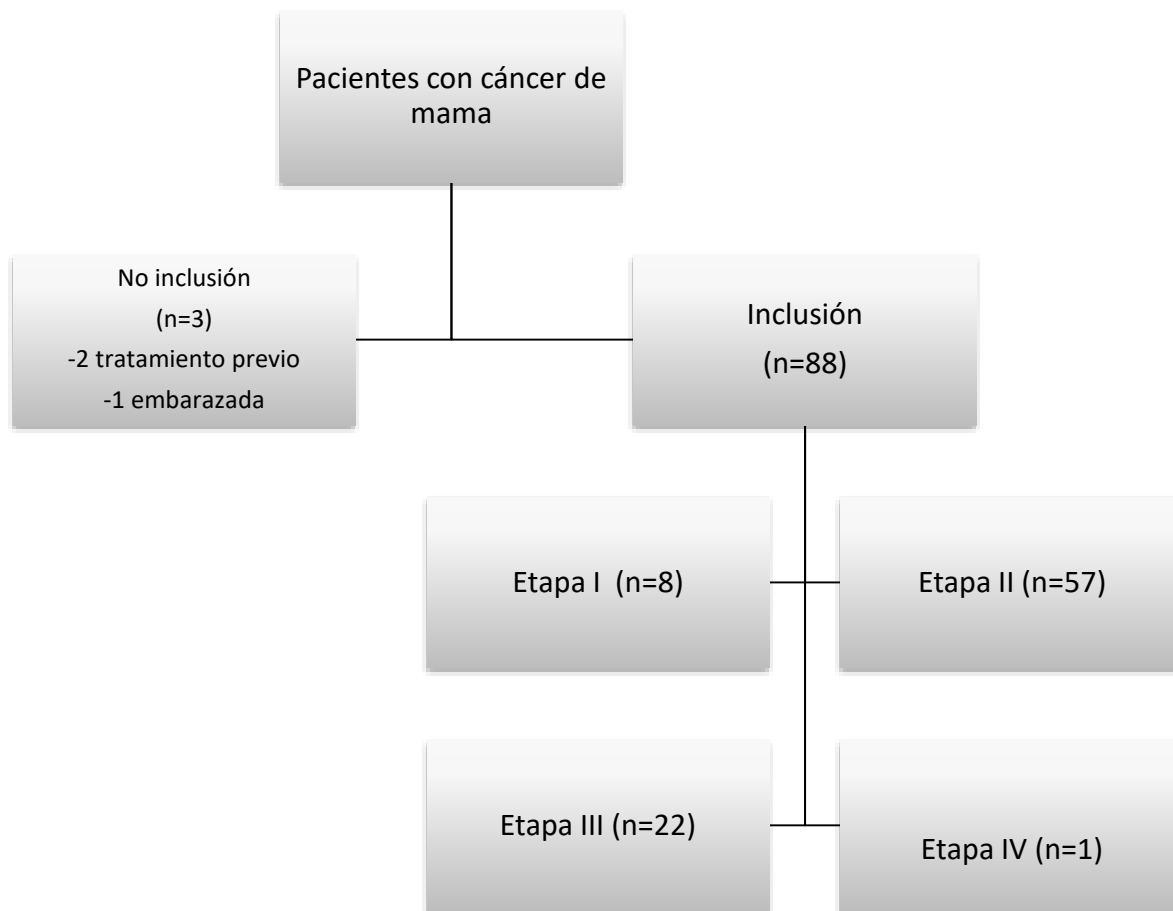


Ilustración 1. Flujograma de pacientes

Un total de 91 pacientes participaron en el estudio, con una edad media de 51 años (rango de 26-80). La estadística descriptiva de la población en estudio se muestra en la tabla 2.

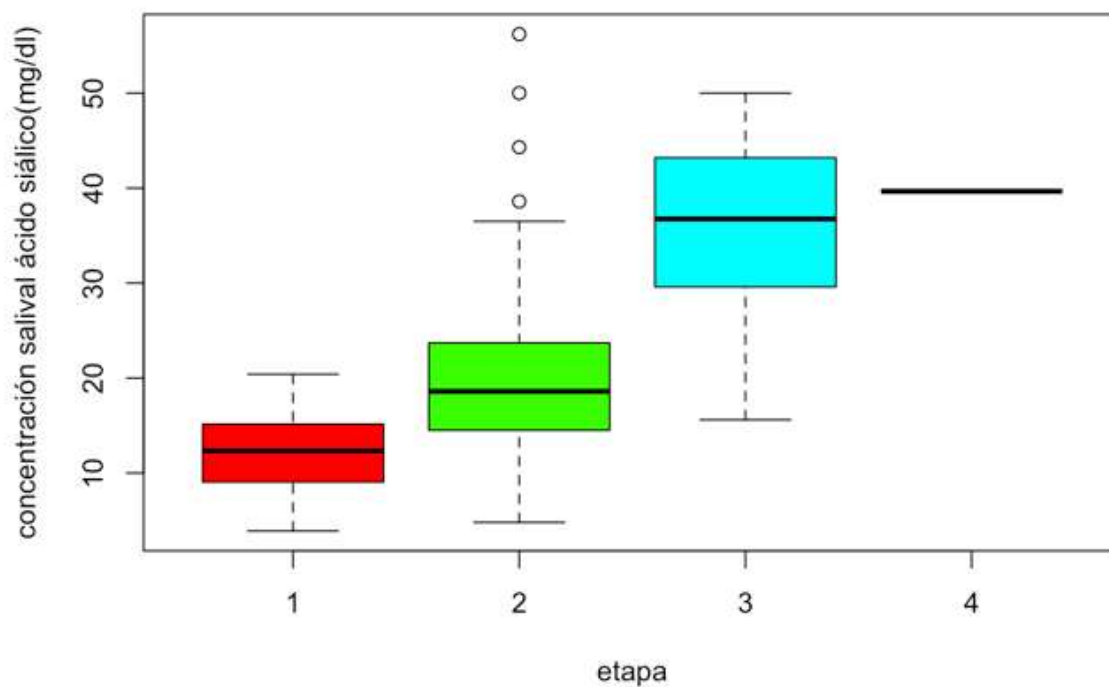
Tabla 2 Estadística descriptiva

	Min	1st Qu	Median	Mean	3rd Qu	Max	p
IMC (kg/m2)	17.56	24.76	28.08	28.35	31.32	42.04	0.00084*
Edad (años)	26	44	49	51	57	80	0.2049
AS (mg/dl)	3.9	14.9	19.85	23.8	32.12	56.2	0.2535
Datos adicionales							
Temprana	23						
Avanzada	65						
Histología							
	n=88						
CDI	74						
CLI	10						
Otros	4						
Antecedentes Ginecologicos							
	n=88 (100%)						
Ritmo R	63.63						
Nuliparas	10.22						
Primiparas/Multiparas	89.77						
Comorbilidades(%)							
	%						
DM2	12 13.63						
Artritis	0						
	%						
Enfermedad periodontal	25						
Tabaquismo	5.6						
Alcoholismo	0						

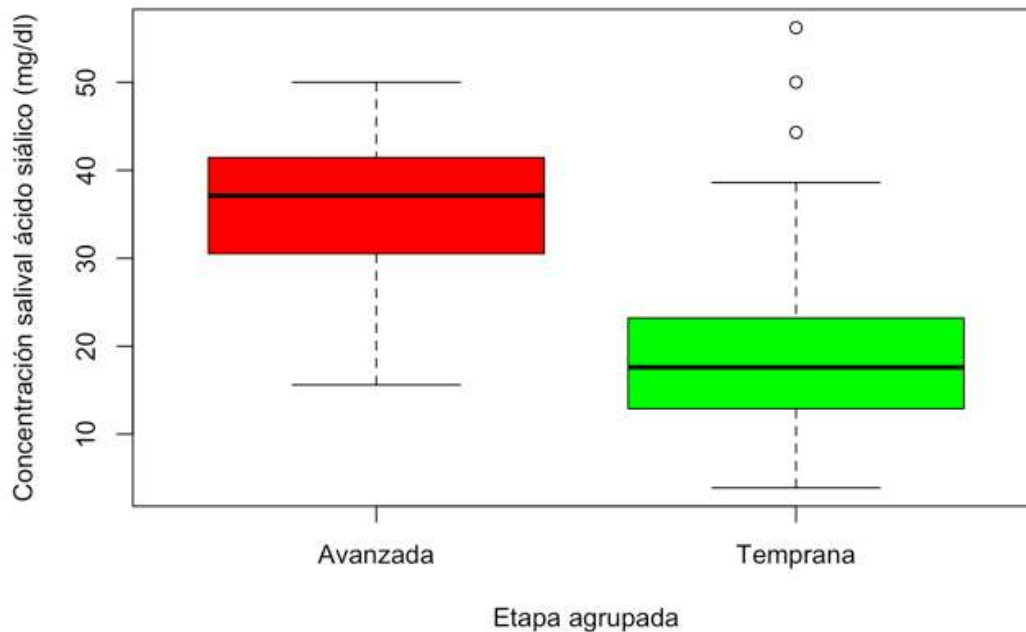
*Shapiro-Wilk normality test

CDI: Carcinoma Ductal Infiltrante; CLI: Carcinoma Lobulillar Infiltrante
AHF:Antecedentes heredo-familiares

La gráfica 4 muestra la concentración de ácido siálico salival por etapa del cáncer de mama, y por etapa temprana y avanzada (gráfica 5).



Gráfica 4. Boxplot Concentración de ácido siálico salival por etapa del cáncer de mama



Gráfica 5. Boxplot Etapa agrupada

Se realizó un análisis de regresión donde se incluyeron las variables confusoras inicialmente (etapa, edad, tabaquismo, diabetes, alcoholismo, enfermedad periodontal), con la siguiente fórmula:

Fórmula modelo inicial: $\text{lm}(\text{formula} = \text{sialico} \sim \text{etapa} + \text{edad} + \text{epo} + \text{tabaquismo} + \text{dm2}, \text{data} = \text{data})$

Se fue eliminando cada una de las variables con valor de p mayor hasta quedar con las variables con valor de $p < 0.05$, como puede verse en la **tabla 3**, hasta quedar el mejor modelo con la siguiente fórmula:

Fórmula modelo de regresión final: $\text{lm}(\text{formula} = \text{sialico} \sim \text{etapa}, \text{data} = \text{data})$

El modelo final es explicado por la etapa del cáncer de mama, con un valor de $p < 0.05$, donde se encontró que explica la elevación del ácido siálico salival en un 37%. (**Tabla 4**)

Tabla 3. Modelo de regresión inicial

	Estimado	Erros estándar	P
Intercepto	10.9	6.29791	0.0872
etapa2	8.37	3.77207	0.0292*
etapa3	22.52	4.23507	0.00000092***
etapa 4	25.13	10.85712	0.0232*
edad	0.01	0.10589	0.0249
epo	3.05	2.63252	0.2487
tabaquismo	2.016	4.77679	0.6741
dm2	1.2	3.2093	0.7065

Error residual estandar: 9.943 en 80 grados de libertad
R2 multiple: 0.3894, R2 ajustada: 0.3359
p= 9.521e-07

Tabla 4. Modelo de regresión final

	Estimado	Error estándar	P
Intercepto	12.17	3.467	0.000719
etapa2	8.489	3.702	0.024348
etapa3	23.266	4.048	1.42E-07
etapa 4	27.495	10.4	0.009783

Error residual estandar: 9.805 en 84 grados de libertad
R2 multiple: 0.3764, R2 ajustada: 0.3541
p= 9.521e-07

DISCUSIÓN

La glucosilación juega un rol importante en el desarrollo y progresión en diferentes tipos de cáncer. Respecto al cáncer de mama se ha visto un incremento significativo de la concentración salival de ácido siálico, comparado con las enfermedades benignas de mama, sin embargo, los estudios realizados previamente donde se compara esta diferencia incluyen en su mayoría pacientes tratadas previo al momento de la toma de la muestra salival.

Nuestros resultados muestran la diferencia de la concentración salival de ácido siálico de pacientes no expuestas a tratamiento en las diferentes etapas del cáncer de mama. A pesar de que pareciera verse una asociación lineal entre la concentración salival de ácido siálico y la etapa del cáncer de mama, la cantidad de pacientes encontrados en nuestra población tanto de etapa I como de etapa IV fueron escasos, motivo por el cual se decidió realizar la agrupación de la etapa I y II como etapa temprana y III y IV como tardía (gráfica n), encontrando diferencias estadísticas entre las diferentes etapas

En el estudio realizado por Hernández-Arteaga y cols (2017), reportan una posible correlación entre las concentraciones salivales de ácido siálico de las pacientes con cáncer de mama y la etapa clínica de la enfermedad, sin embargo, en este estudio se incluyeron las pacientes en su mayoría, ya tratadas, donde también decidieron agrupar los pacientes en etapa 4 dentro de la etapa 3 en el análisis estadístico, debido a la escasa cantidad de pacientes en la etapa más avanzada como lo realizamos en nuestro estudio por la misma razón de no contar con una mayor muestra en las etapa I y IV.

En el estudio reportado por Hogan Ryan A y cols. Se encontró una elevación del ácido siálico sérico del 33% comparado con sujetos control, observando esta elevación en todas las etapas de cáncer de mama, en similitud a lo reportado, nuestros resultados mostraron una variabilidad dependiente de la etapa de la enfermedad del 37%, lo cual es semejante a lo obtenido en ese estudio.

En el estudio de Xiawei Liu y cols., se determinaron niveles de alteraciones de glucoproteínas salivales de 337 pacientes como biomarcadores para cáncer de mama en etapas tempranas, se determinaron las concentraciones por microarreglos de lectina, abarcando solo pacientes en etapa I y II, mediante una regresión logística se encontró una alteración de los patrones de glucosilación de manera en etapa I, sin embargo no hace referencia al resto de las etapas del cáncer de mama a diferencia de nuestro estudio donde si se incluyen el resto de las etapas.

En la mayoría de los estudios revisados no se encontraron los datos controlados de las variables confusoras como las que incluimos en el estudio, y a pesar de que no fueron estadísticamente significativos se comprobó que solo la etapa fue la de mayor relevancia estadística.

Una de las limitantes del estudio es la falta de un mayor número de muestras de pacientes, sobre todo en las etapas tempranas como la I y tardías como la IV, ya que en nuestra población el tipo de pacientes en estas etapas no llegan en su mayoría a la atención a tercer nivel.

En el modelo de regresión lineal se decidió abarcar las variables previamente descritas como posibles variables confusoras de acuerdo a lo descrito en artículos previos. No se demostró multicolinealidad de las variables y se decidió realizar la búsqueda del mejor modelo que pudiera explicar la variabilidad del ácido siálico en las pacientes incluidas, encontrando que la variable que más afecta la concentración salival del ácido siálico es la etapa del cáncer de mama explicando un 37% de dicha elevación.

Nuestro estudio, si bien tiene varias limitantes como una población pequeña, además de una dicotomización de las variables confusoras que pudiera haber afectado el modelo, puede contribuir al diagnóstico temprano del cáncer de mama en una población como la nuestra, donde se ve afectada la accesibilidad a un diagnóstico de manera oportuna, viéndose retrasada desde las unidades de primer nivel de atención, siendo el tiempo un factor importante para la sospecha diagnóstica y el envío a un tratamiento definitivo.

CONCLUSIONES

Pareciera encontrarse una asociación lineal entre cada una de las etapas del cáncer de mama y la concentración salival de ácido siálico.

En base a qué factores afectaban la concentración de ácido siálico se encontró que el factor que explica una elevación más significativa dentro de los otros factores analizados fue la etapa del cáncer de mama.

BIBLIOGRAFÍA

1. Becerra GI, Juárez E, Kippes G, Torres LP, Basavilvazo MA, Dorado MP, et al. Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de la Patología Mamaria Benigna, en el primer y segundo nivel de Atención. 1 ed. México: Centro Nacional de Excelencia Tecnológica; 2009. P12.
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2021;71(3):209–49.
4. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario Séptima revisión – Colima 2017. Gaceta mexicana de oncología (GAMO). 2017;16(1):1–78.
5. Consenso Mexicano sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario. Sexta Revisión. Rev Gamó 2017:14
6. Estadísticas a propósito del Día mundial de la lucha contra el cáncer de mama [Internet]. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía; c2014 [Actualizado 15 octubre 2020; consultado diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/default.html>.
7. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer Internet]. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía; c2018 [Actualizado 15 octubre 2020; consultado 4 febrero 2021]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/default.html>.
8. Estadísticas a propósito del Día mundial de la lucha contra el cáncer de mama [Internet]. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía; c2014 [Actualizado 15 octubre 2020; consultado diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/default.html>.
9. Gómez H, Lamadrid H, Cahuana L, Silverman O, Montero P, González MC, et al. The burden of cancer in Mexico, 1990-2013. Salud Publica Mex. 2016;58(2):118-131.
10. Harris R, Yeatts J, Kinsinger L. Breast cancer screening for women ages 50 to 69years a systematic review of observational evidence. Prev Med (Baltim). 2011;53(3):108–114.
11. Tamizaje y Referencia Oportuna de Casos Sospechosos de Cáncer de Mama [Internet]. México: Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud; c2018 [Actualización 2017; 12 diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/centro-nacional-de->

[excelencia-tecnologica-en-salud-156](#)

12. Løberg M, Lousdal ML, Bretthauer M, Kalager M. Benefits and harms of mammography screening. *Breast Cancer Res.* 2015;17(1):63.
13. Comprensión de un diagnóstico de cáncer de seno [Internet]. Georgia: American Cancer Society; c2017 [consulta 13 enero 2021]. Disponible en: <https://www.cancer.org/compression-de-un-diagnostico-de-cancer-de-seno>.
14. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición [Internet]. México: Instituto Nacional de Salud Pública (ENSANUT); c2018; [consulta 13 enero 2021]. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/doctos/analiticos/RetosCancerMujer>. An HJ, Kronewitter SR, de Leoz MLA, Lebrilla CB. Glycomics and disease markers. *Curr Opin Chem Biol.* 2009;(5–6):601–607.
15. Kuhl CK, Strobel K, Bieling H, Wardelmann E, Kuhn W, Maass N, et al. Impact of Preoperative Breast MR Imaging and MR-guided Surgery on Diagnosis and Surgical Outcome of Women with Invasive Breast Cancer with and without DCIS Component. *Radiology.* 2017;284(3):645–655.
16. Reis CA, Osorio H, Silva L, Gomes C, David L. Alterations in glycosylation as biomarkers for cancer detection. *J Clin Pathol.* 2010;63(4):322–329.
17. Schutter EM, Visser JJ, Kamp GJ, Mensdorff S, Dijk W, Hilgers J, et al. The Utility of Lipid-Associated Sialic Acid (LASA or LSA) as a Serum Marker for Malignancy. *Tumor Biol.* 1992;13(3):121–132.
18. Sawhney H, Kumar CA. Correlation of serum biomarkers (TSA & LSA) and epithelial dysplasia in early diagnosis of oral precancer and oral cancer. *Cancer Biomark.* 2012;10(1):43–49.
19. Hogan A, Fennelly JJ, Jones M, Cantwell B, Duffy MJ. Serum sialic acid and CEA concentrations in human breast cancer. *Br J Cancer.* 1980 ;41(4):587–592.
20. Oztürk LK, Emekli E, Kaşıkci E, Demir G, Yarat A. Salivary total sialic acid levels increase in breast cancer patients: a preliminary study. *Med Chem.* 2011;7(5):443–447.
21. Hernández A, Zermeño JJ, Kolosovas ES, Velázquez JJ, Vinogradova E, Yacamán MJ, et al. Diagnosis of breast cancer by analysis of sialic acid concentrations in human saliva by surface-enhanced Raman spectroscopy of silver nanoparticles. *Nano Res.* 2017;10(11):3662–3670.
22. Eberhardt K, Stiebing C, Matthäus C, Schmitt M, Popp J. Advantages and limitations of Raman spectroscopy for molecular diagnostics: an update. *Expert Rev Mol Diagn.* 2015;15(6):773–787.
23. Kurtul N, Cil MY, Bakan E. The effects of alcohol and smoking on serum,

- saliva, and urine sialic acid levels. *Saudi Med J*. 2004;(12):1839–1844.
24. Pönniö M, Alho H, Heinälä P, Nikkari ST, Sillanaukea P. Serum and saliva levels of sialic acid are elevated in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 1999; 23(6):1060-1064.
 25. Arenas Sánchez A, de Jesús Zermeño Nava J, Martínez Martínez M. Determinación de la concentración de ácido siálico en pacientes con diagnóstico de lesiones mamarias: Relación entre lesiones benignas y cáncer de mama. Trabajo en proceso de publicación.
 26. Liu X, Yu H, Qiao Y, Yang J, Shu J, Zhang J, et al. Salivary Glycopatterns as Potential Biomarkers for Screening of Early-Stage Breast Cancer. *EBioMedicine*. 2018;28(2018):70–79.
 27. Fejzić H, Mujagić S, Azabagić S, Burina M. Tumor marker CA 15-3 in breast cancer patients. *Acta Med Acad*. 2015;44(1):39–46.
 28. Kabel AM. Tumor markers of breast cancer: New perspectives. *J Oncol Sci*. 2017;3(1):5–11.

ANEXO I

CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ U.A.S.L.P.
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA
HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

TÍTULO DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN	
Asociación de la concentración de ácido siálico salival con las etapas del cáncer de mama	
Nº REGISTRO DEL PROTOCOLO AUTORIZADO ANTE EL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN	PERIODO DE EJECUCIÓN DEL PROTOCOLO AUTORIZADO
	04-ABRIL-2019 AL 28 DE FEBRERO 2020
INVESTIGADOR PRINCIPAL	ADSCRIPCIÓN DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL
Dr. Ana Laura Ramírez de Ávila	Departamento de Epidemiología Clínica Facultad de Medicina Universidad Autónoma de San Luis Potosí
INVESTIGADOR RESPONSABLE EN EL HOSPITAL	ADSCRIPCIÓN DEL INVESTIGADOR RESPONSABLE
Dr. José de Jesús Zermeño Nava	Departamento de Ginecología y Obstetricia División de Ginecología Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”
FECHA DE LA PRESENTACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
Nº DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE	

El Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central “Ignacio Moreno Prieto” en forma conjunta con el Departamento de Epidemiología Clínica en su programa de posgrado: Maestría en Ciencias en Investigación Clínica, realiza el estudio: “Asociación de la concentración de ácido siálico salival con las etapas del cáncer de mama” con el **objetivo** de determinar si la concentración de ácido siálico salival se asocia de manera directa con la etapa del cáncer de mama, y ver en un futuro si se pudiera realizar la referencia de pacientes con esta enfermedad, con mayor rapidez de lo que se hace en la actualidad, esto para que la paciente tenga un diagnóstico temprano en conjunto con un manejo integral y mayor posibilidad de supervivencia.

Información para el paciente

En el cáncer de mama, existen varias alteraciones que pudieran llegar a reflejarse a nivel sistémico y una de dichas manifestaciones es la elevación del ácido siálico en saliva en pacientes que tienen diagnóstico de cáncer de mama; se ha visto que pueden llegar a ser de utilidad como apoyo al tamizaje del cáncer de mama, sin embargo existen diferentes etapas de cáncer de mama dependiendo de la gravedad de la enfermedad; lo que se pretende con este estudio es ver si realmente existe asociación entre la etapa del cáncer y el grado de concentración de cáncer de mama, para así posteriormente determinar que pacientes requieren un manejo más oportuno de tratamiento, empezando desde la referencia a un nivel de atención donde se pueda dar el manejo integral.

Usted ha sido invitado a participar en él, ya que cuenta con la mayoría de edad, y se encontrará bajo un seguimiento médico por la enfermedad ginecológica que padece actualmente, que en este caso es cáncer de mama que se le ha diagnosticado recientemente. A través de este documento se le informa en qué consistirá. Podrá tomar su tiempo para decidir si participa o no en él.

Procedimientos a los que se someterá la paciente

Su participación en este estudio de investigación es completamente voluntaria y si usted acepta participar, le pediremos que lea cuidadosamente el presente documento de consentimiento informado y que haga todas las preguntas necesarias al médico investigador responsable, el Dr. José de Jesús Zermeño Nava, para que pueda resolver sus dudas. Cuando ya no tenga alguna duda con respecto a lo que se hará en este estudio, le pediremos que firme su aceptación de participar al final de este documento, y le pediremos nos proporcione información general como su nombre, su edad, peso, estatura; y de sus antecedentes gineco-obstétricos, en una entrevista de aproximadamente 10 minutos, que realizará la Dr. Ana Laura Ramírez de Ávila en el área de Consulta externa de Ginecología y Obstetricia de este hospital. Para mantener sus datos anónimos, se le asignará un código con el que únicamente los médicos investigadores que participan en este estudio podrán saber su identidad.

Su médico le ha explicado con detalle en qué consiste su enfermedad y la importancia de mantener un seguimiento para evitar una progresión de la enfermedad.

Después que su médico le haya explicado y que usted haya aceptado participar, le pediremos que nos otorgue una muestra de saliva, para la cual, previamente debe realizarse un lavado de dientes con cepillo y pasta dental, posterior al cepillado se harán gárgaras por 30 segundos con enjuague bucal. Una vez finalizado este proceso se recolectará de 0.5 a 1 ml de saliva en el recipiente proporcionado previamente etiquetado con sus datos. Una vez hecha la recolección de saliva se tapaná el recipiente y se entregará a la persona responsable de la toma de muestras.

Restricciones

No existe alguna restricción para este estudio al momento de toma de muestra salival.

Beneficios para el paciente

Usted no recibirá un beneficio directo, sin embargo, estará colaborando con el centro de investigación de dicha institución, probablemente en un futuro servirán para detectar a la paciente que tenga cáncer de mama en una etapa más temprana, así como referencia oportuna (al mandarlo a tratamiento a una unidad hospitalaria) o seguimiento de otros pacientes.

Beneficios para la sociedad

Este estudio ayudará en un futuro para servir de apoyo a los estudios que actualmente se utilizan como tamizaje para dicha enfermedad, complementario a la mamografía.

Descripción de los eventos secundarios o potenciales riesgos

Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Si alguna de las preguntas la hicieran sentir incómoda, tiene el derecho de no responderla. El personal que realiza el estudio está altamente capacitado. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio y tampoco implicará un costo hacia su persona.

Daño y perjuicios

Usted tiene la libertad de abandonar el estudio y solamente indicará las circunstancias por las cuales usted decidió ya no continuar con el estudio. No afectará su atención ni servicio médica de base.

Privacidad y confidencialidad

La información obtenida será mantenida bajo estricta confidencialidad de acuerdo a lo establecido por la ley. Se dará la debida confidencialidad con un código numérico en estos documentos, sin la publicación, identificación o divulgación de sus datos personales. La información y el acceso a todos los resultados solo la conocerá el responsable del proyecto y los investigadores colaboradores, y será utilizado sólo para propósitos de investigación. Los datos que se publiquen serán a manera científica no son de ninguna manera datos personales por lo que se mantendrá la confidencialidad. Los archivos que contengan información acerca de los participantes serán almacenados sin nombre y todos los registros del estudio se mantendrán bajo llave o en archivos de computadora que sólo serán accesibles con el uso de contraseña confidencial.

De acuerdo a la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados y a Ley de Protección de Datos Personales del estado de San Luis Potosí, sus datos personales no podrán tratarse, transferirse o utilizarse para fines no descritos expresamente en este documento, a menos que sea estrictamente necesario para el ejercicio y cumplimiento de las atribuciones y obligaciones expresamente previstas en las normas que regulan la actuación de los investigadores responsables del estudio; se dé cumplimiento a un mandato legal; sea necesarios por razones de seguridad pública, orden público, salud pública o salvaguarda de derechos de terceros.

Cualquier otro uso que se requiera para el uso de sus datos o análisis o manejo de sus muestras y/o resultados de los análisis que se describen en este documento, deberá ser informado y solicitado con la debida justificación al Comité de Ética en Investigación de este Hospital, quien determinará la pertinencia de la solicitud y en su caso, autorizará un uso diferente para sus datos, muestras y/o productos derivados de sus muestras y/o resultados. Siempre en apego a los lineamientos y normas legislativos nacionales e internacionales y en beneficio y protección de la integridad de los actores participantes.

Existen instituciones u organismos mexicanos como la Secretaría de Salud, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos sanitarios (COFEPRIS), la Comisión Nacional de Bioética (CONBIOETICA) o incluso el Comité de Ética en Investigación (CEI) de este hospital, que se encargan de vigilar el buen manejo de los datos personales y médicos que usted y los demás pacientes han autorizado para que sean utilizados en la realización de estudios de investigación como el presente. Estas instituciones u organismos pueden solicitar en cualquier momento a los investigadores de este estudio, la revisión de los procedimientos que se realizan con su información y con sus mediciones, con la finalidad de verificar que se haga un uso correcto y ético de los mismos; por lo que podrán tener acceso a esta información que ha sido previamente asignada con un código de identificación, cuando así lo requieran.

Manejo de muestras de laboratorio

Todo el material biológico obtenido de sus muestras para este estudio se utilizará únicamente para los propósitos explicados en este documento de consentimiento informado y no se utilizarán para obtener ácidos nucleicos o para establecer líneas celulares permanentes, diferenciadas o para mantener las células indefinidamente. Asimismo, en ninguna circunstancia las muestras podrán ser analizadas con motivos de identificación. El material biológico será destruido al finalizar este estudio.

Participación o retiro:

Su participación en este estudio es absolutamente voluntaria y usted ha sido invitada a participar debido a las características de su enfermedad, es decir, de los síntomas y resultados de la revisión que realizó su médico y de los análisis y/o estudios que se le han realizado para diagnosticar su enfermedad que es cáncer de mama.

Usted está en la libertad de negarse a participar en este estudio de investigación; pero si decide participar, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, usted puede revocar o anular el consentimiento que ahora firma. Su decisión de participar o no, no afectará de ninguna forma el trato médico que reciba en la institución para su enfermedad. Si decide terminar su participación en este

estudio, deberá comunicarlo a la Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila o al Dr. José de Jesús Zermeño Nava, quienes le proporcionarán un documento (formato) muy sencillo en el que usted pondrá algunos de sus datos e indicará que ya no desea participar en el estudio. Su decisión de participar o no, no afectará de ninguna forma el trato médico que reciba en la institución para su enfermedad.

Se le entregará copia de este consentimiento informado donde se incluyen los datos del responsable de este estudio y del Comité de Ética en investigación de este hospital para aclarar cualquier duda que pudiese surgir.

Consideraciones Éticas:

Este estudio se considera de riesgo mínimo debido ya que los investigadores responsables de este estudio no tomarán decisiones referentes a su tratamiento y únicamente le solicitarán los autorice a realizar la medición ácido sialico en una muestra salival que usted proporcione. La toma de muestra será después de que le hayan confirmado el diagnóstico de cáncer de mama.

Se le entregará una copia de este consentimiento informado, firmada por el investigador responsable donde se incluyen sus datos de contacto y los datos del Comité de Ética en Investigación de este hospital para aclarar cualquier duda que pudiese surgir.

Compromiso de respuesta a preguntas y dudas:

Para realizar cualquier pregunta, duda o aclaración sobre este el estudio de la Farmacocinética del tamoxifeno, o sobre alguna reacción adversa relacionada con el medicamento que usted está tomando como tratamiento y que le ha sido indicado por su médico tratante, usted puede comunicarse con:

Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila

Facultad de Medicina Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av.
Venustiano Carranza 2395,
Col. Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P., C.P. 78290, Tel (52 444) 8 34 27 01, Ext. 1710

Dr. José de Jesús Zermeño Nava Departamento de Ginecología y
Obstetricia Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" Av. Venustiano
Carranza 2395,
Col. Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P., C.P. 78290,
Tel (52-444) 8 34 27 01, Ext. 1710

Aceptación del documento de Consentimiento Informado

Si usted desea participar de manera voluntaria en esta investigación, por favor proporcione su nombre, firma y fecha este documento en los espacios proporcionados en la parte inferior. Su firma significa que usted acepta lo siguiente:

1. Se me ha dado la información completa y adecuada en forma verbal y por escrito sobre el objetivo del estudio y me han explicado los riesgos y beneficios de participar en lenguaje claro.
2. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento y terminar mi participación en este estudio en cualquier momento sin afectar mi derecho a recibir atención médica.
3. Es mi responsabilidad preguntar para aclarar cualquier punto que no entienda en relación a mi participación en este estudio. He hecho todas las preguntas a la persona que realiza el proceso de consentimiento y he recibido respuestas satisfactorias.
4. No he ocultado o distorsionado cualquier condición médica actual o cualquier antecedente médico relacionado con mi salud. He respondido todas las preguntas en relación a mi salud en forma precisa y verdadera.
5. Soy mayor de edad y legalmente capaz de dar este consentimiento.
6. Acepto participar en este estudio de manera voluntaria sin que me haya presionado u obligado. Entiendo que mi negación a participar o la discontinuación de mi participación en cualquier momento, no implicará penalidad o pérdida de beneficios a los que de otra forma tengo derecho.
7. Entiendo y estoy de acuerdo en que la información obtenida a partir del presente estudio puede ser utilizada para la publicación de estos resultados con fines académicos como parte de la divulgación científica y como apoyo a la práctica clínica, pero que en todo momento se utilizará un código asignado para mantener mi anonimato y la confidencialidad de mis datos.
8. Me han explicado que la información personal y clínica que he consentido en proporcionar, conservará mi privacidad y que se utilizará solo para los fines que deriven de este estudio.
9. Los investigadores que participan en este proyecto se han comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio en el momento en el que lo solicite y me entregarán una copia de este documento de consentimiento informado.

Autorización para el uso de datos clínicos

Se le solicita que indique su acuerdo o desacuerdo para que los investigadores responsables de este proyecto puedan utilizar los datos clínicos, de manera anónima para la realización de este protocolo de investigación, cuyos objetivos y procedimientos se le han explicado y que usted de manera libre y voluntaria les ha proporcionado, Marque con una X su respuesta:

Sí, doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso los datos clínicos que les he proporcionado en la investigación que me han explicado.

No doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso los datos clínicos que les he proporcionado en la investigación que me han explicado.

Autorización para informar a mi médico tratante de mi participación en este estudio de investigación y para que mis resultados sean incluidos en mi expediente clínico.

Se le solicita que indique su acuerdo o desacuerdo para que los investigadores responsables de este estudio de investigación le informen a su médico tratante, el Dr. (a) José de Jesús Zermeño Nava, que ha aceptado participar en este estudio con el número de registro 24-19 ante el CEI de este hospital y para que los resultados obtenidos de las mediciones de concentración salival de ácido siálico sean incluidos en su expediente clínico para que puedan ser utilizados como referencia para su tratamiento por su médico tratante. Marque con una X su respuesta:

Sí, doy mi autorización a los investigadores para que informen a mi médico tratante de mi participación en este estudio de investigación y para que se incluyan mis resultados en mi expediente, de acuerdo a lo anterior mencionado y como me han explicado.

No doy mi autorización a los investigadores para que informen a mi médico tratante de mi participación en este estudio de investigación y para que se incluyan mis resultados en mi expediente, de acuerdo a lo anterior mencionado y como me han explicado.

Por medio del presente documento de consentimiento informado acepto participar en el estudio de investigación denominado “Asociación de la concentración de ácido siálico salival con las etapas del cáncer de mama”, de manera libre y voluntaria.

NOMBRE DEL PACIENTE	FIRMA DE ACEPTACIÓN DEL PACIENTE
FECHA DE LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL (si es necesario)	FIRMA DE ACEPTACIÓN DEL REPRESENTANTE LEGAL
FECHA DE LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	PARENTESCO
DIRECCIÓN / TELÉFONO DE CONTACTO DEL TESTIGO 1	
NOMBRE DEL TESTIGO 1	FIRMA DEL TESTIGO 1
FECHA	PARENTESCO
DIRECCIÓN / TELÉFONO DE CONTACTO DEL TESTIGO 1	
NOMBRE DEL TESTIGO 2	FIRMA DEL TESTIGO 2
FECHA	PARENTESCO
DIRECCIÓN / TELÉFONO DE CONTACTO DEL TESTIGO 2	
Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila INVESTIGADOR PRINCIPAL RESPONSABLE DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGIA CLÍNICA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSI	Dr. José de Jesús Zermeño Nava INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN EN EL HOSPITAL DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA HOSPITAL CENTRAL "DR IGNACIO MORONES PRIETO"

ANEXO 3

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

“Asociación de la concentración de ácido siálico salival en las etapas del cáncer de mama”

No. Paciente/No. Folio _____

Teléfono _____

Edad _____ Peso _____ Talla _____ IMC _____

Tabaquismo NO SI

Alcoholismo NO SI

Antecedente familiar con cáncer de mama _____

Comorbilidades _____

Antecedentes gineco-obstétricos

Menarca _____ Ritmo _____ FUM _____

IVS _____ PS _____ MAC _____ G _____ P _____ C _____ A _____

Lactancia NO SI ¿Cuánto tiempo? _____

BIRADS(Mamografía/Ultrasonido): _____

Resultado de Biopsia de mama: _____

Lactancia NO SI ¿Cuánto tiempo? _____

BIRADS(Mamografía/Ultrasonido): _____

Resultado de Biopsia de mama:

ANEXO 4

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRA SALIVAL

Una vez que la paciente ha aceptado y firmado el consentimiento informado:

- Se le proporcionará sin costo alguno, un cepillo dental y 10 ml de enjuague bucal libre de alcohol y posteriormente se le pedirá que realice un proceso de higiene bucal iniciando con el cepillado y posterior uso del enjuague, finalizando con enjuague con agua potable.
- Una vez realizado el proceso de higiene, se proporcionará un vial de plástico con capacidad de 1.5 ml, estéril, en el cual la paciente depositará un mínimo de 0.5 ml de saliva.
- Posterior a la recolección se almacenará la muestra en un refrigerador a 4°C para luego transportarla al CIACYT en una hielera, para su posterior procesamiento.
- En el CIACYT se centrifugará la muestra a 6000 rpm (revoluciones por minuto) durante 15 minutos, para luego obtener el sobrenadante de la muestra.
- Una vez obtenido el sobrenadante se mezclará con nano partículas de plata, para lograr realzar la señal y ser detectado mediante técnica Raman.
- Posteriormente se pasará por un baño ultrasónico para asegurar que la solución fuera homogénea y las partículas tuvieran una adecuada dispersión.
- Se determinará la intensidad de la señal emitida en un espectroscopio. (Se determinará la intensidad de señal del ácido siálico comercial con nano partículas de plata en diversas concentraciones, medidos en mg/dl para calibrar la medición)
- Se obtendrá la señal y se comparará mediante el programa *OriginLab*. obteniendo las concentraciones de cada muestra.

ANEXO 5

SISTEMA DE CLASIFICACION BI-RADS

Categoría		Recomendaciones
BIRADS 0	Insuficiente para diagnóstico. Existe 13% de posibilidad de malignidad	Se requiere evaluación con imágenes mastográficas adicionales u otros estudios (ultrasonido y resonancia magnética), así como la comparación con estudios previos
BIRADS 1	Negativo Ningún hallazgo que reportar	Mastografía anual en mujeres a partir de los 40 años.
BIRADS 2	Hallazgos benignos	Mastografía anual en mujeres a partir de los 40 años.
BIRADS 3	Hallazgos probablemente benignos. Menos de 2% de probabilidad de malignidad	Requiere seguimiento por imagen, unilateral del lado con hallazgos dudosos, de manera semestral por 2 o 3 años.
BIRADS 4	Hallazgos de sospecha de malignidad. Se subdivide en: 4a - Baja sospecha de malignidad	Se requiere biopsia

	4b - Sospecha intermedia de malignidad 4c - Hallazgos moderados de sospecha de malignidad pero no clásicos	
BIRADS 5	Clásicamente maligno	Requiere biopsia
BIRADS 6	Diagnóstico confirmado de malignidad	En espera de tratamiento definitivo o valoración de respuesta a tratamiento.

Obtenido de: Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario 2017

ANEXO 6

SISTEMA DE ESTADIFICACION TNM EN CÁNCER DE MAMA

T	N	M	Etapa
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T0	N1mi	M0	IB
T1	N1mi	M0	IB
T0	N1	M0	IIA
T1	N1	M0	IIA
T2	N0	M0	IIA
T2	N1	M0	IIB
T3	N0	M0	IIB
T0	N2	M0	IIIA
T1	N2	M0	IIIA
T2	N2	M0	IIIA

T3	N1	M0	IIIA
T3	N2	M0	IIIA
T4	N0	M0	IIIB
T4	N1	M0	IIIB
T4	N2	M0	IIIB
Cualquier T	N3	M0	IIIC
Cualquier T	Cualquier N	M1	IV

Obtenido de: American Joint Committee on Cancer 2018.

ANEXO 7

AVISO DE PRIVACIDAD

Con fundamento en la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares Capítulo II de los Principios de Protección de Datos Personales artículo 15 y 16 ley publicada en el diario oficial de la federación el 5 de julio de 2010.

POR FAVOR LEA CUIDADOSAMENTE Y DE FORMA RESPONSABLE, LA PROTECCIÓN DE SUS DATOS PERSONALES

Para efecto de oír y recibir todo tipo de notificaciones con respecto a los derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición o revocación contenidos VII, VIII y IX del presente aviso de privacidad, se le proporciona los siguientes datos de contacto:

Título del estudio: Asociación de la concentración de ácido siálico salival con las etapas del cáncer de mama.

Investigadores responsables: Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila, Dr. Mauricio Pierdant Pérez.

Institución: Dpto. de Epidemiología Clínica, Laboratorio de Investigación Traslacional en

Farmacología, Facultad de Medicina, U.A.S.L.P.

Contacto: Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila. Tel. Cel. 444 8296724

INFORMACIÓN QUE SE LE SOLICITARÁ:

Su información personal será utilizada con la finalidad de: *determinar si existe una asociación entre la concentración salival de ácido siálico y la etapa de la enfermedad, para lo cual requerimos obtener los siguientes datos personales: nombre, dirección y número de teléfono*, así como otros datos considerados como sensibles de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales.

Es importante que usted sepa que todo el equipo de investigación que colabora en este estudio se compromete a que todos los datos proporcionados por usted sean tratados bajo medidas de seguridad y garantizando siempre su confidencialidad.

Usted tiene derecho de acceder, rectificar y cancelar sus datos personales, así como de oponerse al menos de los mismo o anular el consentimiento que nos haya otorgado para tal fin, presentando una carta dirigida al investigador principal: Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila, Dpto. de Epidemiología Clínica, Facultad de Medicina, U.A.S.L.P. Teléfono:

correo electrónico: anis.ramirez2887@hotmail.com

Además de la investigadora principal, le aclaramos que la información de sus datos personales puede ser compartida y manejada por personas distintas a esta institución, de ser necesario puede llegar a ser compartida con los Investigadores de este equipo de estudio con la finalidad de difundir algunos de los datos recabados durante la investigación en medios de divulgación científica nacionales o extranjeros, manteniendo siempre anónimos sus datos personales.

DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD:

Si usted no manifiesta oposición para que sus datos personales se compartan con las instancias mencionadas, se entenderá que ha otorgado su consentimiento para ello.

En caso de no estar de acuerdo favor de marcar en la siguiente línea.

_____ No consiento que mis datos personales sean transferidos en los términos que señala el presente aviso de privacidad.

Nombre y firma del paciente: _____

San Luis Potosí, S.L.P. a _____ de _____ del 20 _____

ANEXO 8

CALIBRACION DE MEDICIONES DE ACIDO SIALICO MEDIANTE RAMAN(ARTEAGA Y COLS)

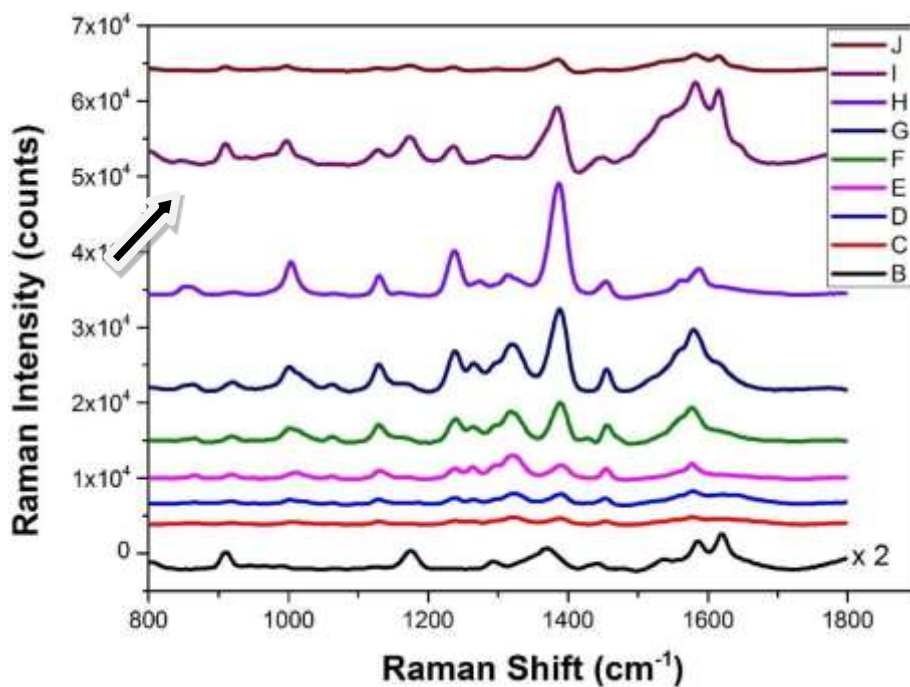


Figure S3 SERS spectra; SA reagent, SA spectra in a Healthy and diagnosed patient

B: Colloidal1 of Cit-
AgNPs
C: S.A. 1mg/dl
+ AgNPs

D: S.A. 5mg/dl + AgNPs
 E: S.A. 10mg/dl + AgNPs
 F: S.A. 15mg/dl + AgNPs
 G: S.A. 20mg/dl + AgNPs
 H: S.A. 50mg/dl + AgNPs
I: Saliva of Female Breast Cancer Patient + AgNPs (Arrow)
 J: Saliva of Healthy Adult Female + AgNPs

RESUMEN DE LAS CALIBRACIONES DE ACIDO SIALICO EN UNA MUESTRA DE PACIENTE SANA Y MUESTRA DE PACIENTE CON CÁNCER DE MAMA.

SUMMARY OF RESULTS OF Sialic Acid CALIBRATION USING SILVER NANOPARTICLES OF DIFFERENT SIZES AND POPULATION DISTRIBUTIONS						
H: Healthy FBC: Breast Cancer diagnosed patient	S. A. Concentration Our data in the Manuscript	S. A. Concentration Population 1 ± 1 (mg/dl)	S. A. Concentration Population 2 ± 1 (mg/dl)	S. A. Concentration Population 3 ± 1 (mg/dl)	S. A. Concentration Population 4 ± 1 (mg/dl)	S.A. Mean ± Stand. Dev- (New Data)
HAF1	3.2	3.4	2.9	3.6	3.1	3.24 ± 0.27
FBCP1	20.1	19.7	20.1	19.5	20.4	19.96±0.36

HAF1: Paciente sano

FBCP1: Paciente con cáncer de mama.

Se realizaron 4 calibraciones de la determinación de ácido siálico mediante técnica raman, en 1 paciente sano y en 1 paciente enfermo, determinando la media y DS.

ANEXO 9. CONCORDANCIAS

Concordancia EC

Ana Ramírez

6/11/2019

```
data <-read.csv("concordanciaEC.csv")
head(data)
```

```
##   Residente Adjunto
## 1         2         2
## 2         3         3
## 3         3         3
## 4         1         2
## 5         3         3
## 6         3         3
```

```
library(psych)
cohen.kappa(as.matrix(cbind(data$Residente,data$Adjunto)))
```

```
## Warning in cohen.kappal(x, w = w, n.obs = n.obs, alpha = alpha, levels =
## levels): upper or lower confidence interval exceed abs(1) and set to +/- 1.
```

```
## Call: cohen.kappal(x = x, w = w, n.obs = n.obs, alpha = alpha, levels = levels)
##
## Cohen Kappa and Weighted Kappa correlation coefficients and confidence boundaries
##           lower estimate upper
## unweighted kappa 0.75      0.91 1.00
## weighted kappa   0.94      0.94 0.94
##
## Number of subjects = 20
```

Concordancia As

Ana Ramírez

3/3/2020

```
data <-read.csv("Concordancia As.csv")
head(data)
```

```
## Muestra Concentracion.1 Concentracion.2
## 1 1 13.3 13.9
## 2 2 32.1 30.3
## 3 3 23.5 24.1
## 4 4 19.6 18.6
## 5 5 17.8 16.8
## 6 6 12.7 11.6
```

```
library(psych)
```

```
ICC(data[,c(2,3)])
```

```
## Call: ICC(x = data[, c(2, 3)])
##
## Intraclass correlation coefficients
##
##          type ICC  F df1 df2      p lower bound
## Single_raters_absolute ICC1 0.99 172 18 19 2.9e-17 0.97
## Single_random_raters   ICC2 0.99 187 18 18 8.1e-17 0.97
## Single_fixed_raters    ICC3 0.99 187 18 18 8.1e-17 0.97
## Average_raters_absolute ICC1k 0.99 172 18 19 2.9e-17 0.99
## Average_random_raters  ICC2k 0.99 187 18 18 8.1e-17 0.98
## Average_fixed_raters   ICC3k 0.99 187 18 18 8.1e-17 0.99
##
##          upper bound
## Single_raters_absolute 1
## Single_random_raters   1
## Single_fixed_raters    1
## Average_raters_absolute 1
## Average_random_raters  1
## Average_fixed_raters   1
##
## Number of subjects = 19      Number of Judges = 2
```