

TÉCNICAS ESTADÍSTICAS PARA EL DISEÑO DE LA CALIDAD DE UN PARÁMETRO EN EL TRATAMIENTO CON ELECTROTERAPIA DE UN MODELO DE CARCINOMA DE MAMA EN RATONES DE LABORATORIO

Catarina Mendes-Robalo

estudiante de maestría, Universidad de Holguín, Cuba –

catarina.mendes@uho.edu.cu

Larisa Zamora-Matamoros

Doctora en Ciencias Matemáticas, profesora de la Universidad de Oriente, Cuba - larisa@uo.edu.cu

Reyner Pérez-Campdesuñer

Doctor en Ciencias Técnicas, profesor de la UTE Santo Domingo, Ecuador - rfperezcampdesuner@gmail.com

Para citar este artículo puede utilizar el siguiente formato:

Catarina Mendes-Robalo, Larisa Zamora-Matamoros y Reyner Pérez-Campdesuñer (2020): "Técnicas estadísticas para el diseño de la calidad de un parámetro en el tratamiento con Electroterapia de un modelo de carcinoma de mama en ratones de laboratorio", Revista de Desarrollo Sustentable, Negocios, Emprendimiento y Educación RILCO DS, n. 5 (marzo 2020). En línea:
<https://www.eumed.net/rev/rilcoDS/05/electroterapia.html>
<http://hdl.handle.net/20.500.11763/rilcoDS05electroterapia>

RESUMEN

La Electroterapia es un procedimiento con corriente directa de baja intensidad aplicado en tratamiento de tumores, úlceras, etc. Estudios realizados evidencian que es seguro, de bajo costo, induce en el organismo efectos adversos mínimos, es efectivo y se puede aplicar cuando otros métodos oncoespecíficos no dan la respuesta esperada, o no son viables por el estado del paciente. A pesar de ello, hasta el momento no constituye una terapia establecida para el cáncer; entre otras razones, por el pobre conocimiento de su mecanismo de acción y la falta de estandarización por tipo de tumor, tamaño y estadio. Al evaluar la posibilidad de introducción

futura de la Electroterapia como servicio médico en la Oncología Clínica, en esta investigación se identificaron tres subprocesos: 1) Pruebas experimentales en ratones de laboratorio; 2) Pruebas experimentales en pacientes humanos; 3) Prestación del servicio a pacientes humanos. En cada uno de ellos deben diseñarse los correspondientes parámetros de calidad. Este trabajo, enfocado al primer subproceso, tiene como objetivo proponer un procedimiento para evaluar la respuesta del modelo F3II de carcinoma de mama en ratones BALB/c/Cenp ante diferentes dosis de corriente eléctrica directa, que involucra estudiar el comportamiento del peso corporal del ratón, el volumen del tumor antes y después de aplicar la electroterapia, así como los tiempos de doblaje y el porcentaje de reducción del volumen del tumor, mediante técnicas estadísticas.

PALABRAS CLAVE: diseño de calidad, electroterapia, parámetros de calidad, técnicas estadísticas, electroterapia.

ABSTRACT

Electrotherapy is a procedure with direct current of low intensity applied in the treatment of tumors, ulcers, etc. Studies show that it is safe, low cost, induces minimal adverse effects in the organism, is effective and can be applied when other oncospecific methods do not give the expected response, or they are not viable due to the patient's condition. In spite of this, up to now it does not constitute an established therapy for cancer; among other reasons, due to the poor knowledge of its mechanism of action and the lack of standardization by type of tumor, size and stage. When evaluating the possibility of future introduction of Electrotherapy as a medical service in Clinical Oncology, in this investigation three subprocesses were identified: 1) Experimental tests in laboratory mice; 2) Experimental tests in human patients; 3) Provision of the service to human patients. In each of them, the corresponding quality parameters must be designed. This work, focused on the first subprocess, aims to propose a procedure to evaluate the response of the F3II model of breast carcinoma in BALB / c / Cenp mice to different doses of direct electric current, which involves studying the behavior of the mouse body weight, the volume of the tumor before and after applying electrotherapy, as well as the doubling times and the percentage of tumor volume reduction, using statistical techniques.

KEYWORDS: quality design, electrotherapy, quality parameters, statistical techniques, electrotherapy

INTRODUCCIÓN

El cáncer se ha convertido en uno de los grandes problemas de salud que afecta a la Humanidad en la época actual. Durante 2018, la Organización Mundial de la Salud anunció el registro de 18,1 millones de nuevos casos de cáncer y 9,6 millones de personas fallecieron a consecuencia de la enfermedad. El crecimiento incontrolado de células causa graves problemas al organismo, dependiendo del tipo de tumor y de la fase en que se encuentre la enfermedad (Camué, 2010). Existen más de 200 tipos de cánceres y el hecho que tiende a llevar a la muerte, constituye un reto para la Medicina (Alonso, Soto, Alonso, Del Riego, & Miján, 2014), (Iglesias & Suárez, 2015).

Según el Instituto Nacional de Oncología, Cuba es uno de los países de América Latina y del llamado Tercer Mundo con mayor tasa de incidencia de cáncer. En el país, el cáncer es la segunda de las principales causas de muerte en todas las edades y sexo (MSP, 2017).

Los tratamientos convencionales usuales (cirugía, radioterapia y quimioterapia) son invasivos y costosos, además de no haber brindado hasta la fecha una respuesta favorable completa. Se investiga en terapia génica, con ensayos clínicos en marcha para evaluar seguridad, toxicidad y eficacia. En la búsqueda de nuevos recursos, como alternativas terapéuticas han surgido la hipertermia, la electroquimioterapia, los campos electromagnéticos y la electroterapia, cuya efectividad, por separado o combinadas con las terapias convencionales, ha sido demostrada en animales y en seres humanos (Bergues & Gómez, 2003).

En países como China, Alemania, Japón, Corea y Cuba, estudios realizados por investigadores con la electroterapia (EChT) en animales y humanos han demostrado que utilizar corriente de muy baja intensidad ha dado respuesta satisfactoria, pues es efectiva, segura y se aplica en todos los estadios de la enfermedad. Por ejemplo, se reporta que la proporción de supervivencia para 1, 2 y 5 años de pacientes con tumores malignos fue de 89,2%; 56,0% y 36,0% respectivamente; y de 100%, 96,8% y 94,3% para pacientes con tumores benignos, correspondientemente. Reportan además que pacientes que han fracasado a las terapias oncoespecíficas están vivos cinco años después de aplicar una vez la EChT (Holandino et al., 2016).

A pesar de su efectividad, existen interrogantes que han imposibilitado que la EChT sea reconocida en la Oncología Clínica como una modalidad terapéutica más para el tratamiento de tumores, debido a la falta de conocimiento sobre los mecanismos antitumorales primarios de la

EChT involucrados en la destrucción de los tumores; y a la falta de estandarización de la terapia por tipo de tumor, tamaño y estadio. No se ha establecido el rango de valores para las dosis de CED, ni el arreglo de electrodos óptimo que permite lograr la máxima destrucción del tumor con el mínimo daño al organismo.

Verdecia et al. (2007) opinan que, de poder introducirse la EChT como tratamiento, los pacientes aquejados de cáncer dispondrían de un servicio con posibilidades reales de ser seguro, efectivo, poco costoso y causante de efectos adversos mínimos en el organismo. Además, representaría una buena opción para aquellos pacientes que no pueden ser operados o tratados con quimioterapia o radioterapia, o en quienes la aplicación de estos procedimientos convencionales no proporcionó la respuesta esperada.

En el Departamento de Biomédica de la Facultad de Ingeniería Eléctrica de la Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, se realizan desde hace algunos años investigaciones vinculadas con la aplicación de la EChT a ratones para estudiar cómo influye la misma en la disminución del tamaño del tumor canceroso. Sin embargo, hasta el momento se carece de un protocolo para dosificar el tratamiento y evaluar estadísticamente los resultados. A partir de la revisión bibliográfica realizada se pudo constatar que han sido aplicadas diferentes técnicas estadísticas en las investigaciones desarrolladas para analizar si existen o no diferencias significativas entre diferentes tratamientos o condiciones experimentales.

Dentro de sus siete principios fundamentales, la Gestión de la Calidad tiene **enfoque de procesos**. Significa que puede realizarse bajo una concepción de procesos, que implica que la organización se percibe como un grupo de actividades interrelacionadas, que permiten transformar entradas en satisfactores para el cliente. A su vez este proceso puede ser descompuesto en otros procesos menores que cumplen con igual condición. Otro principio es la **toma de decisión basada en evidencias**, en el sentido de que todas las decisiones deben tener como premisas sustentarse en evidencias demostrables y significativas (ISO 9000: 2015). Ambos presupuestos guardan una estrecha relación con la concepción y orientación de esta investigación. Dado que en ésta se parte de los requerimientos de un tipo de cliente en particular, se trata de definir parámetros o características de calidad para la prestación de un servicio que responda a los requerimientos de cliente y se busca que la propuesta esté sustentada en mediciones estadísticas fiables.

Con la intención de contribuir a aumentar el arsenal de posibles tratamientos clínicos e introducir en éste la EChT como servicio médico en la Oncología Clínica, la presente investigación identifica tres etapas o subprocesos: pruebas experimentales en ratones de laboratorio, pruebas experimentales en pacientes humanos y, prestación del servicio a pacientes humanos.

En cada uno de ellos deben diseñarse los correspondientes parámetros de calidad, a partir de lo que puede lograrse, tratando de acercarlos lo más posible a la expectativa inicial. De tal manera, al vencerse cada etapa se estará más cerca del estado deseado.

El control estadístico de la calidad (Da Conceição, Vilas Boas, Sampaio, Bonaparte, 2018; Westgard, Bayat, Westgard, 2019) fue una de las primeras etapas de la gestión de la calidad y esclareció la necesidad de realizar mediciones y tomar en consideración tanto los estadígrafos de tendencias centrales como de dispersión de los productos y procesos.

Por todo lo anteriormente explicado se revela como problema científico la necesidad de establecer una dosificación óptima de los parámetros para la aplicación de la EChT como un nuevo servicio que tribute a la disminución del tamaño del cáncer en ratones de laboratorio, para contribuir a diseñar la calidad futura de este proceso.

Para dar solución al problema planteado, en esta investigación se persigue el **objetivo** de determinar la respuesta del modelo F3II de carcinoma de mama en ratones BALB/c/Cenp ante diferentes dosis de corriente eléctrica directa, utilizando técnicas estadísticas.

Para evaluar el efecto de la EChT en el crecimiento del tumor se propone estudiar el comportamiento del peso corporal y el volumen del tumor antes y después de aplicarla, así como los tiempos de doblaje y el porcentaje de reducción del volumen del tumor, mediante técnicas estadísticas descriptivas e inferenciales: la prueba de Kruskal-Wallis, la de las rachas de Wald-Wolfowitz y la U de Mann-Whitney (Devore, 2008; Mendenhall, Beaver, & Beaver, 2012).

METODOLOGÍA

En la presente investigación se decidió utilizar los datos de experimento desarrollado por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB y a partir de la aplicación de varias técnicas estadísticas pronunciarse sobre cuál o cuáles de las dosis de CED utilizadas habían mostrado mejores resultados para los indicadores seleccionados en el estudio,

los cuales fueron: peso corporal del ratón, volumen del tumor, porcentaje de reducción del volumen del tumor, tiempo de doblaje del tumor.

Para caracterizar los indicadores se calcularon inicialmente algunos estadígrafos de posición y de dispersión (la media, el valor mínimo y el máximo, la varianza y la desviación estándar) y se graficaron estos indicadores en función del tiempo, para analizar visualmente su evolución en función del tiempo. Con el objetivo de investigar si las diferentes dosis de EChT ejercieron o no la misma influencia sobre los indicadores, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis antes de aplicar el tratamiento y después de aplicado este. Para los casos en los que la prueba resultó significativa, se aplicó comparaciones múltiples, en aras de investigar que dosis fueron las responsables de la significación de la docima. Para cada dosis analizada, se realizaron comparaciones, antes y después de aplicar la terapia, para lo cual se aplicó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

Con el objetivo de investigar si las hembras y los machos tenían un comportamiento similar, se aplican las pruebas de Wald Wolfowitz y la U de Mann Whitney, antes y después de aplicar el tratamiento.

DESARROLLO

La Electroterapia o terapia electroquímica (EChT) consiste en destruir el tejido tumoral utilizando el pasaje de corriente eléctrica continua a través de dos o más electrodos insertados de forma local ((Guillermo, 2011). El tratamiento comienza cuando el volumen del tumor alcanza ciertas dimensiones que hacen posible que el mismo sea palpable. Un ánodo y un cátodo son insertados en la base de forma perpendicular al diámetro mayor del tumor, guardando cierta distancia entre ellos. Después de que los electrodos son insertados, se conectan con el origen de la corriente eléctrica directa. La carga máxima a ser aplicada y la intensidad de la corriente son fijadas por el investigador, las dosis en el tratamiento son controladas a través de la observación ininterrumpida de la corriente eléctrica directa (CED) y la tensión eléctrica.

Existen diferentes parámetros que se imponen durante la EChT: la carga eléctrica (intensidad por tiempo de aplicación de la CED), configuración de los electrodos (par de electrodos o múltiples-electrodos), tipo de terapia (anódica, catódica, de campo o anódico-catódico), cantidad de

estímulos de CED (un solo estímulo o más de uno), y si la CED se usa sola o combinada con otras

Base de datos

La base de datos, a la cual se le aplicará parcialmente el procedimiento propuesto, está conformada por los pesos y volúmenes de 36 ratones, 17 hembras y 19 machos, aportada por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB. La electroterapia se aplicó por especialistas del Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA) de Santiago de Cuba, quienes determinaron el arreglo de electrodos, así como la intensidad de corriente, teniendo como base los estudios previos realizados. Para generar la CED se empleó el equipo ONCOCED B&E-01, el cual genera una intensidad constante en el rango de 0 a 30 mA, las cargas eléctricas empleadas fueron: 5 mA (30 min.); 10 mA (10 min.); 10 mA (30 min.) y 15 mA (10 min.). Como electrodos se emplearon agujas de platino de 50 mm de largo y 0.7 mm de diámetro, las cuales, por un extremo, se insertaron directamente en el tumor y por el otro se acoplaron al ONCOCED mediante cables de conducción eléctrica.

En todos los animales se implantaron 2×10^5 células de carcinoma mamario F3II por vía subcutánea en el flanco derecho. Una vez inoculadas las células tumorales, se realizó la conformación de los grupos experimentales, para lo cual se distribuyeron los animales al azar, mediante el programa de números aleatorios LABTOOLS. Inicialmente se emplearon 70 ratones BALB/c/Cenp de ambos sexos del lote 01000716 con un peso promedio superior a los 20g, los cuales fueron asignados al azar a 14 grupos, 5 ratones para cada uno. Por determinadas razones (muerte, el volumen mínimo de los tumores no supera los 100 mm^3 , condición para aplicar la Electroterapia) no todos los ratones pudieron completar la experimentación.

El peso corporal fue medido antes de iniciar la administración del producto (considerado este instante de tiempo como día 0 para el estudio) y después semanalmente, empleando una balanza Sartorius. A partir de los 7 días y tres veces por semana después de inoculado el tumor (día 31 para el estudio) se efectuó palpación de la zona donde se inocularon las células para detectar la presencia de masas atribuibles al tumor inyectado. Cuando los tumores superaron los 3 mm de diámetro, se midió la longitud mayor y menor del tumor (mm) de cada animal dos veces a la semana, utilizando un pie de rey. Para determinar el volumen tumoral se aplicó la ecuación del elipsoide aplanada $V = \frac{\pi}{6} * D * d^2$ (D: diámetro mayor; d: diámetro menor).

Análisis del comportamiento del peso corporal según la dosis de corriente suministrada.

Estudio descriptivo

Del estudio para cada día y por sexo se puede concluir que en el caso de las hembras la tendencia no está bien definida, pero desde el día 0 hasta el 28 presentan un comportamiento similar, oscilando en su peso. Los mayores cambios se dan en los GT2F y GT3F en los días anteriores a la aplicación del tratamiento. Luego de aplicar el tratamiento, solo el GT1F es el que manifiesta una tendencia clara al crecimiento. Para los machos se observa un aumento del peso en todos los grupos, excepto para el GT1M que aumenta hasta el día 28, después disminuye en el día 35 (después del tratamiento) y luego vuelve a aumentar (como pasó con el GT4F) y el GT4M que disminuye su peso después del tratamiento. Este análisis se puede observar gráficamente en las figuras 1 (a) y (b) para el sexo femenino y masculino, respectivamente.

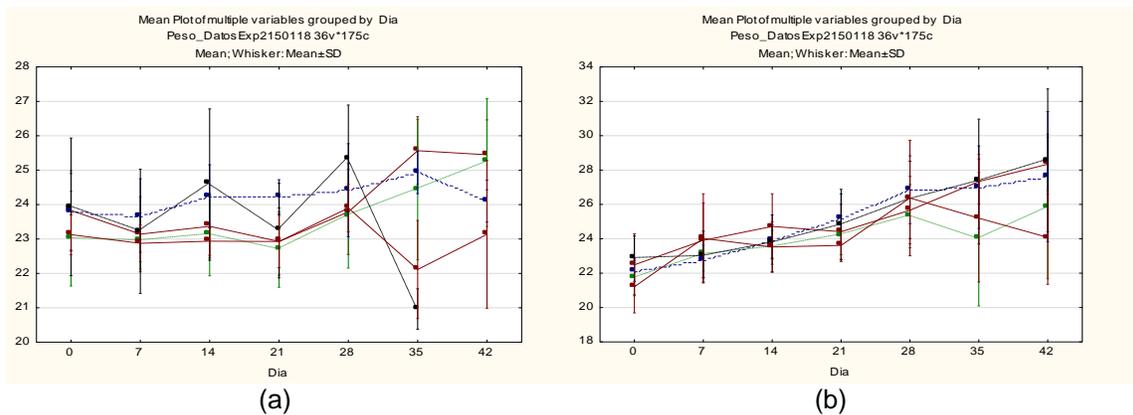


Fig. 1. Comportamiento diario del peso del ratón para el sexo femenino (a) masculino (b) por cada tratamiento

Estudio Inferencial

La mayoría de las técnicas estadísticas inferenciales requieren del cumplimiento de ciertos supuestos, entre los que se encuentra el de normalidad, por lo que antes de aplicar estas se debe verificar su cumplimiento o no. En este trabajo se empleó el Test de Shapiro–Wilk dado el tamaño de las muestras.

Comparaciones entre grupos

Antes de comparar los pesos antes y después de aplicar el tratamiento, se aplica la prueba de Kruskal-Wallis y de la Mediana, para cada día y para cada sexo, para investigar si los pesos medios de todos los grupos eran iguales o no antes de aplicar el tratamiento, condición necesaria para luego verificar el efecto del tratamiento sobre los pesos de los ratones. Dada la cantidad de tablas a mostrar se resumen las salidas de estas pruebas.

Comparaciones antes y después

Para analizar la influencia de la terapia sobre el peso y a pesar de que la prueba de normalidad dio no significativa y se puede aplicar la prueba t de Student, se decidió aplicar la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, la cual no asume normalidad, para comparar el comportamiento de los pesos antes y después de aplicar el tratamiento, para cada grupo estudiado y por sexo. Las hipótesis a docimar son:

H₀: No existe diferencia entre los rangos medios de los pesos antes y después de aplicar la terapia.

H_a: Existe diferencia entre los rangos medios de los pesos antes y después de aplicar la terapia. Debido a que la cantidad de ratones antes y después de la terapia para cada grupo no es la misma, debido a que algunos fallecen o deben ser sacrificados antes de culminar la experimentación, se aplican las pruebas a la media de los pesos por día.

Debido a que la prueba es para datos pareados, en el análisis solo se tendrán en cuenta los ratones que tengan información antes y después del tratamiento.

Se concluye que únicamente dan significativas las pruebas para los controles, es decir, solo hay diferencias significativas entre los pesos antes y después de aplicar el tratamiento para los grupos controles, lo cual significa que los tratamientos no han ejercido influencia en el peso medio de los ratones.

- Análisis del comportamiento del volumen según las dosis de corriente suministrada

Estudio descriptivo

Del estudio para cada día y por sexo se pudo concluir que en el caso de las hembras la tendencia del volumen del tumor es a crecer en todos los grupos hasta el día 31. Posterior a este día, en el cual se aplica la terapia, para el GCF y el GT3F el volumen sigue creciendo, en los otros grupos decrece algo, pero luego a partir del día 38 comienza a crecer en el GT4F y el GT1F, no así para el GT2F, por lo que sobre la base de este estudio descriptivo es el que muestra mejor comportamiento. La variabilidad del volumen es mucho menor antes de aplicar el tratamiento, y aumenta después de aplicar el tratamiento, lo cual podría ser interpretado en el sentido de que este no es uniforme en todos los ratones. Para los machos se observa una tendencia al crecimiento del volumen del tumor a lo largo de los días analizados para todos los grupos. La variabilidad presenta un comportamiento similar al de las hembras. Por problemas de espacio no

se incluyen las tablas con los resultados, sin embargo, este análisis se puede observar gráficamente en la siguiente figura.

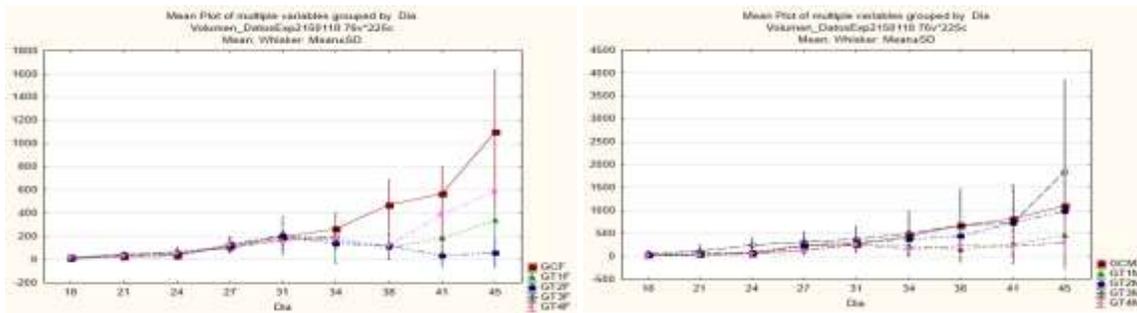


Fig. 2. Comportamiento diario de la media y la desviación estándar del volumen del tumor para el sexo femenino (a) y masculino (b).

Las comparaciones antes y después de aplicar el tratamiento revelaron que, excepto en el GT2F, las medias después del tratamiento aumentaron en todos los grupos. La disminución en el GT2F, fue de 0.487u. Los mayores incrementos en el volumen se obtuvieron en GT2M y GT3M, seguidos de los grupos controles (GCF y GCM), siendo mayor en los machos que en las hembras. Con respecto a la variabilidad se puede concluir que las mayores variabilidades se observan en los machos, siendo los GT2M y GT3M los más variables, seguidos por el GCM y GCF. El grupo que presenta menor variabilidad es el GT2F, por lo que el tratamiento es menos variable por ratón.

Estudio Inferencial

Dado que todos los datos no siguen una distribución Normal por día, se decide aplicar en todos los casos que impliquen comparaciones a partir de los datos de los días, las pruebas no paramétricas.

Comparaciones entre sexos para cada grupo, antes y después

Con el objetivo de investigar si las hembras y los machos tenían un comportamiento similar, se aplican las pruebas de Wad-Wolfowitz y la U de Mann Whitney, antes y después de aplicar el tratamiento.

De los resultados que aportan las pruebas se puede concluir que antes de aplicar el tratamiento, el volumen del grupo control, y el de los ratones tratados con los tratamientos 2, 3 y 4 no evidencian diferencias significativas entre las hembras y los machos, no ocurriendo así con el 1, siendo el volumen significativamente diferente a un nivel de confiabilidad del 95%, por lo que

no resulta posible comparar el volumen después de aplicado el tratamiento para este caso, ya que en el resultado después del tratamiento puede estar confundido el efecto del factor dosis con el volumen antes del tratamiento. En este caso se podría aplicar un ANOVA II o una prueba similar no paramétrica. Por esta razón no aparecen los resultados de la prueba para el GT1 Después de aplicar el tratamiento.

Luego de aplicado el tratamiento se obtienen diferencias significativas, al 95% de confiabilidad, para los tratamientos 2 y 3, por lo que se puede concluir que estos tratamientos ejercen influencias diferentes en las hembras y en los machos. En la figura 3 se muestran los diagramas de cajas y bigotes para los tratamientos 2 y 3, donde se evidencia que en ambos casos los mejores resultados se obtuvieron para las hembras.

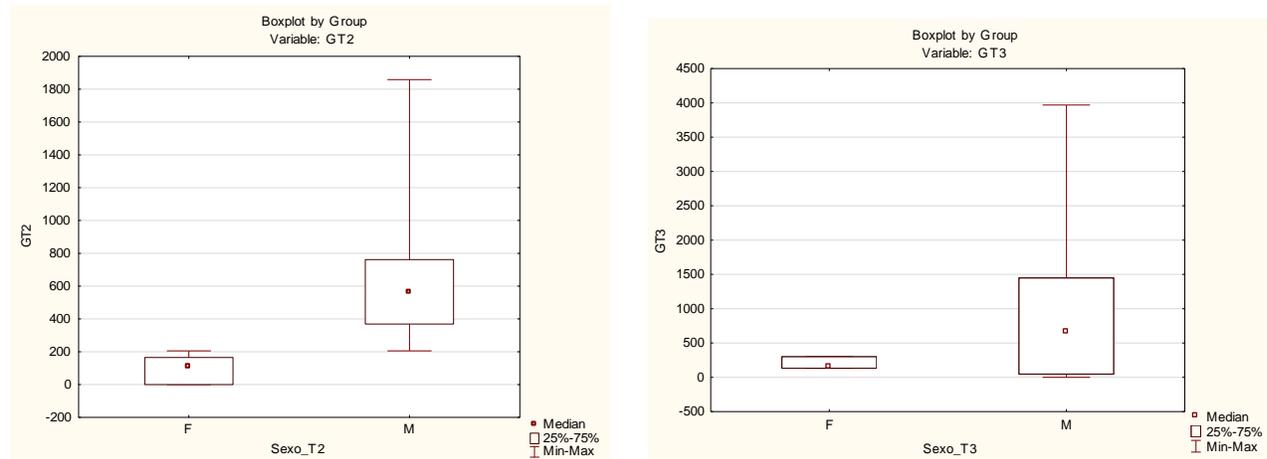


Fig. 3. Diagramas de cajas y bigotes para los tratamientos 2 y 3.

Parámetros cinéticos

En el presente estudio, además de los indicadores antes analizados, peso del ratón y volumen del tumor, se tuvieron en cuenta los indicadores cinéticos, el tiempo de doblaje (TD) y el porcentaje de

reducción (PR) del tumor.

El tiempo de doblaje del tumor (TD) se define como el tiempo que demora el tumor en duplicar su tamaño y mientras menor sea este, más agresivo es el tumor o menos efectivo es el tratamiento recibido, si lo que se desea es evaluar la cinética de crecimiento del tumor ante diferentes tratamientos o dosis, como en este estudio.

El porcentaje de reducción del tumor se calcula a través de la siguiente expresión:

$$PR = \frac{V_{31} - V_{min}}{V_{31}} * 100$$

donde:

V_{31} : representa el día de aplicación de la terapia, y

V_{min} : el volumen mínimo alcanzado después de aplicada la terapia.

Con el objetivo de evaluar el efecto de las diferentes dosis de CED suministradas a los ratones, se calculó el TD y el PR para cada ratón y tratamiento, para lo cual se elaboró un script confeccionado con el lenguaje R versión 3.5.3.

Los resultados del estudio descriptivo e inferencial se muestran a continuación.

Análisis del comportamiento del tiempo de doblaje y del porcentaje de reducción del tumor según las dosis de corriente suministrada

Estudio descriptivo para el Tiempo de Doblaje

Bajo los tratamientos GT1F, GT2F y GT3F, para ninguno de los ratones se logra duplicar el tamaño del volumen al inicio de la terapia, por eso no aparecen resultados en la tabla. Atendiendo a lo explicado anteriormente se puede decir, a partir de este estudio descriptivo, que estos tratamientos muestran mejores resultados con respecto a este parámetro.

El comportamiento descrito en el punto anterior también se observa bajo los tratamientos GT4F (solo para el ratón 4), GT1M (en los ratones 1, 2 y 4), GT2M (solo en el ratón 4), GT3M (solo en el ratón 1) y en el GT4M (para los ratones 1 y 4). Pareciese como que en estos casos dependiese del ratón.

A partir del estudio descriptivo y el diagrama de cajas y bigotes que se muestra en la figura 3, se pueden ordenar los tratamientos y el grupo control atendiendo al TD, de mayor a menor, por sexo y sin tener en cuenta este:

Hembras: {GT1F, GT2F, GT3F} > GT4F > GCF, siendo la variabilidad muy alta en GT4F.

Machos: GT1M > GT2M > GT3M > GT4M > GCM.

Sin tener en cuenta el sexo: {GT1F, GT2F, GT3F} > GT1M > GT2M > GT3M > GT4M > GCM > GT4F > GCF.

Se puede observar que este ordenamiento coincide con el obtenido para el volumen medio, solo en el caso del sexo femenino, pudiéndose plantear que a menor volumen medio del tumor mayor TD y viceversa. Este comportamiento solo se observa en el sexo femenino.

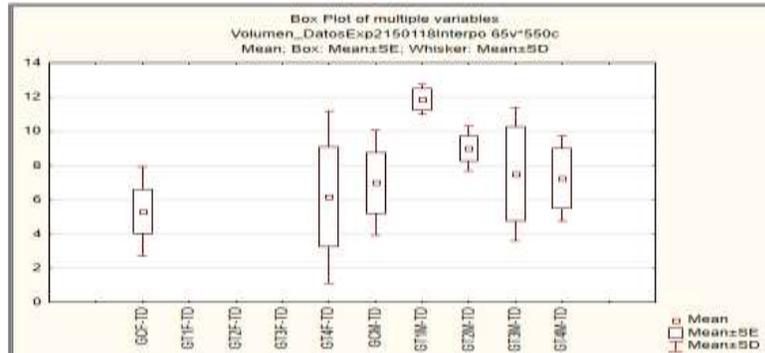


Figura: 4. Diagrama de Cajas y Bigotes para el Tiempo de Doblaje para cada grupo.

Estudio Inferencial

Comparaciones entre los grupos

Para hacer las comparaciones del tiempo de doblaje (para casa sexo) entre los grupos se aplican las pruebas de Wald-Wolfowitz y la U de Mann Whitney, para las hembras (GCF y GT4F) y las pruebas de Kruskal-Wallis y la Mediana para los machos, a fin de investigar si los tiempos de doblaje del tumor son iguales o no en los grupos en los cuales se pudo calcular este. Las hipótesis a docimar son:

H₀: El tiempo de doblaje del volumen del tumor de los grupos proviene de la misma población.

H_a El tiempo de doblaje del volumen del tumor de los grupos no proviene de la misma población.

Para ambos sexos se llega a la conclusión de que no se puede rechazar H₀, por lo tanto, no hay diferencias significativas, al 95% de confiabilidad, en las medianas de los Tiempos de Doblaje del Volumen del Tumor en los grupos comparados, para ningún sexo.

Independientemente de que la prueba da no significativa, se aplica por pares de variables la prueba U de Mann Whitney, con el objetivo de ver si algún grupo si deferencia de otro. En el caso de las hembras solo se analizan dos grupos (GCF y GT4F) por lo que no tiene sentido hacer este análisis.

Se observa que también por la prueba a pares se concluye que no hay diferencias significativas entre los TD para el sexo Masculino. Solo al 90% se da la diferencia entre GCM y GT1M y entre el GT1M y GT2M.

Análisis descriptivo del porcentaje de reducción del tumor

Estadística descriptiva para el Porcentaje de Reducción del tumor (PR)

En la siguiente tabla se muestra la salida del análisis descriptivo para el PR del tumor.

Variable	Descriptive Statistics (Volumen_DatosExp2150118Interpo)							
	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Range	Variance	Std.Dev.	Standard Error
PR-GCF	4	2,141	0,000	8,567	8,567	18,348	4,283	2,141
PR-GT1F	3	63,967	43,750	100,000	56,249	978,595	31,282	18,060
PR-GT2F	3	79,007	37,023	100,000	62,976	1322,025	36,359	20,992
PR-GT3F	3	0,265	0,000	0,795	0,795	0,211	0,459	0,265
PR-GT4F	4	45,711	0,000	100,000	100,000	1721,381	41,4895	20,744
PR-GCM	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PR-GT1M	5	52,322	0,000	100,000	100,000	1818,134	42,639	19,069
PR-GT2M	4	4,167	0,000	16,668	16,668	69,462	8,334	4,167
PR-GT3M	3	34,214	0,000	100,000	100,000	3247,516	56,986	32,901
PR-GT4M	4	87,873	76,782	92,126	15,344	54,830	7,404	3,702

Tabla 1: la media y varianza del tiempo de doblaje.

A partir de estos resultados se puede concluir que para el sexo Femenino el mayor porcentaje de reducción del tumor se logra con el GT2, con una alta variabilidad, la segunda mayor, seguido por: GT1, GT4, GC y por último el GT3 que experimentó la menor reducción en el volumen del tumor.,

Para el sexo Masculino el mayor porcentaje de reducción del tumor se logra con el GT4 con una variabilidad pequeña, seguido por: GT1, GT3, GT2 y GC, para el cual no hubo reducción del volumen del tumor.

Comparaciones del PR del tumor entre sexos.

Con el objetivo de investigar si el PR del tumor para cada tratamiento e comportaba de forma similar en las hembras y los machos, si aplica la prueba U de Mann-Whitney, cuyos resultados (valor del estadígrafo y el p-value) se muestran en la tabla 42, de la cual se puede concluir, con un 95% de confiabilidad, que el PR del tumor es el mismo para el sexo Femenino y Masculino, con excepción del tratamiento #2, en el cual existen diferencias significativas.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha estudiado, desde el punto de vista descriptivo e inferencial, la respuesta de cuatro parámetros (peso del ratón, volumen del tumor, tiempo de doblaje y porcentaje de reducción del tumor) ante cuatro dosis de Corriente Eléctrica Directa aplicadas a ratones BALB/c/Cenp con el modelo F3II de carcinoma de mama. Se caracterizó el comportamiento de cada uno de los parámetros antes mencionados en cada uno de los grupos tratados y para cada sexo, se realizaron comparaciones entre ellos y antes y después de aplicar el tratamiento, pudiéndose concluir entre otras cosas que:

- La tendencia del Peso Corporal en el caso de las Hembras no está bien definida, pero en el caso de los Machos es al crecimiento en general. Antes de la aplicación de la electroterapia se aprecia una menor dispersión entre los pesos medios, la cual aumenta luego de la terapia, la variabilidad dentro de cada grupo también parece aumentar luego de la terapia, lo cual sería un indicador de que el efecto de la misma no es similar en cada ratón, a pesar de haber recibido la misma dosis.
- Las Comparaciones de los pesos antes y después concluyen que, únicamente dan significativas las pruebas para los controles, lo cual significa que los tratamientos no han ejercido influencia en el peso medio de los ratones.
- Con respecto al volumen, solo en el GT2F mostró una tendencia al decrecimiento, la variabilidad se incrementa luego de aplicado el tratamiento, lo que sugiere una posible dependencia de la dosis y el ratón. Las comparaciones antes y después de aplicar el tratamiento revelaron que, excepto en el GT2F, las medias después del tratamiento aumentaron en todos los grupos, siendo mayores en GT2M y GT3M, seguidos de los grupos controles (GCF y GCM), siendo mayor en los machos que en las hembras. Con respecto al sexo se puede concluir que las dosis 2 y 3 ejercen influencias diferentes en ambos sexos.
- Con respecto al tiempo de doblaje del tumor se puede concluir que bajo los tratamientos GT1F, GT2F Y GT3F, para ninguno de los ratones se logra duplicar el tamaño del volumen al inicio de la terapia. Por lo tanto, para estos tratamientos se logra retardar el Tiempo de Doblaje.
- El mayor porcentaje de reducción del tumor se logra con el GT2F, con una alta variabilidad, seguido por GT1F, GT4F y el GCF, siendo el peor el GT3F. Para el sexo Masculino el mayor

por ciento de reducción se logra con el GT4 con una variabilidad pequeña, seguido por: GT1, GT3, GT2. El peor fue el GC, para el cual no hubo reducción del volumen del tumor.

- Por los resultados del volumen tumoral las dosis 2 y 3 tuvo una mayor influencia sobre los ratones por ambos grupos.

De estos resultados se puede observar que, de los 4 tratamientos analizados, el GT2F muestra los mejores resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bergues, L. & Gómez, L. (2003). La electroterapia: una alternativa terapéutica para el tratamiento de tumores. *Revista Cubana de Medicina*, 42(6), 0-0.

Camué, H. (2010). *Volumen tumoral y densidad de corriente eléctrica generada por un sistema de arreglos de electrodos con corriente eléctrica directa: estudio experimental y teórico*. Universidad de Oriente. Cuba,

Das Neves, M., Simas, J., Costa, A. & Holandino, C. (2016). Mutagenic and genotoxic potential of direct electric current in *Escherichia coli* and *Salmonella thyphimurium* strains. *Bioelectromagnetics*, 37(4), 234-243.

Guillermo, P. (2011). *Electroterapia y electroporación en el tratamiento de tumores: modelos teóricos y experimentales*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Holandino, C., Antunes, C., Gomes, F., Moreno, G., Monteiro, C., Jardim, D. M., ... , Marcos, M. (2016). Direct electric current treatment modifies mitochondrial function and lipid body content in the A549 cancer cell line. *Bioelectrochemistry*, 111, 83-92.

Iglesias, A. & Suárez, A. (2015). Incidencia de cáncer: cifras alarmantes. *Revista Finlay*, 5, 1-3.

Landström, F. (2015). *Curative electrochemotherapy in the head and neck area*. Örebro university.

Moreno, G., Gonçalves, E., Carvalho, F., Homsani, F., De Pointis, C., Dos Santos, R., ..., Holandino, C. (2017). Direct electric current modifies important cellular aspects and ultrastructure features of *Candida albicans* yeasts: Influence of doses and polarities. *Bioelectromagnetics*, 38(2), 95-108.

Ministerio de Salud Pública. (2017). *Anuario estadístico de salud*. (Edición 45). Recuperado de: <http://bvscuba.sld.cu/anuario-estadistico-de-cuba/>

Verdecia, M., O´ Farril, M., Suarez, F., Bergues, L., Jing-Hong, L., Camué, H.,..., Fariñas, M. (2007). Primeras experiencias clínicas en Cuba sobre el uso de la electroterapia en cuatro pacientes con tumores sólidos malignos superficiales. *Medisan*, 11(1), 1-8.