



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**Análisis del efecto antiproliferativo, citotóxico y pro-apoptótico de los
compuestos organometálicos 5a, 5c y 5f en células de cáncer de
mama triple negativo MDA-MB-231**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
P R E S E N T A :
RODRÍGUEZ RIVERA VICTOR JAVIER**

JURADO DE EXAMEN

**DIRECTORA: DRA. MARÍA LUISA ESCOBAR SÁNCHEZ
ASESOR: DR. LUIS SÁNCHEZ SÁNCHEZ
ASESOR: DR. HUGO LÓPEZ MUÑOZ
SINODAL: M. EN C. GERARDO DÍAZ VAZQUEZ
SINODAL: DR. OCTAVIO DANIEL REYES HERNÁNDEZ**



**F E S
ZARAGOZA**

CIUDAD DE MÉXICO

DICIEMBRE 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“De la sabiduría viene el control; Del control, la fuerza, Y de la fuerza, la victoria“

-Capellán Rafael

“Amo el canto del cenxontle, pájaro de cuatrocientas voces. y el enervante perfume de las flores, pero más amo a mi hermano: el hombre.”

-Nezahualcóyotl (1402-1472)



¿A dónde iremos
donde la muerte no exista?
Más, ¿por ésto viviré llorando?
Que tu corazón se enderece:
aquí nadie vivirá para siempre.

Nezahualcóyotl

Dedicatorias

A la persona que me vio crecer, que ha compartido felicidades y tristezas y más aún me ha enseñado lo hermoso de la vida, esa persona de libre espíritu, a mi amada madre Laura que la tengo muy dentro de mi corozo.

A las pequeñas que me hacen enojar, pero llenan mis días de alegría, a quienes me encargare de cuidarlas y tratar de guiarlas, a mis queridas hermanas Kenia y Dana.

A mi hermano Brandon, que no siempre lo comprendo, pero siempre me alegra verlo y me brinda un cálido abrazo en cada reencuentro.

A la buena persona que me apoyo y trato de que viera de mejor manera a mi padre, al cual no mantengo ninguna memoria feliz con él. Mi querida tía Susana.

Mis primos, Mauricio, Daniel y Ian con los cuales eh tenido desventuras y muchas risas.

A los demás integrantes de mi familia que los quiero mucho y guardo cariño pensando en su felicidad.

Irma Yahel Sánchez Cortes mi amada Irma, a la cual respeto y es un gran ejemplo. Quien me dio fuerza en el último año, pero que piensa que no noto su orgullo, ha ella, que posee un hermoso brillo ajeno.

Agradecimientos Institucionales

A la Dra. María Luisa Sánchez, quien es una persona de gran valor, me guardo mucha paciencia y me guio por este proceso, el cual es uno de los más grandes de mi vida

Al Dr. Luis Sánchez Sánchez quien me capacito y me acogió en su laboratorio para comenzar con mi último trabajo de licenciatura.

Al Dr. Hugo López Muñoz quien lo aprecio y al cual agradezco, porque él fue quien impartió una clase, la cual fue la desencadenante para estudiar la biología molecular.

Al Dr. Octavio Daniel Reyes Hernández, quien me aporó con sus consejos al momento de trabajar y quien se encontraba disponible en caso de duda.

Al Dr. Israel Muñoz Velasco por su asistencia técnica durante los experimentos realizados en el laboratorio.

El trabajo experimental fue financiado por PAPIIT IN215922, PAPIIT IN219221 y PAPIIT IA204723.

Índice

Resumen.....	6
Introducción	7
Célula	7
Ciclo celular.....	7
Muerte celular.....	8
Necrosis.....	9
Apoptosis	10
Mecanismos moleculares de la apoptosis.....	11
Cáncer.....	13
Cáncer de mama	15
Cáncer de mama triple negativo.....	16
Factores de riesgo	18
Tratamientos	20
Terapias alternativas	23
Organometálicos.....	25
Antecedentes	26
Planteamiento del problema	31
Justificación	31
Hipótesis.....	32
Objetivos.....	32
Material y métodos	32
Resultados.....	35
Análisis de resultados.....	42
Conclusiones	44
Bibliografía	45

RESUMEN

El cáncer de mama representa la primera causa de muerte por neoplasia en la mujer en el ámbito mundial, con cerca de 500 mil muertes cada año. El cáncer se forma por medio de agregados celulares que crecen, dañando tejidos vecinos, se nutren del organismo y alteran la fisiología de éste. Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos, donde encuentran un nicho apropiado para continuar su crecimiento descontrolado, originando la metástasis que es la principal causa de muerte de los individuos afectados.

Las estrategias disponibles en la actualidad para combatir esta patología incluyen el uso de diversos compuestos de derivados metálicos. Un coordinado metálico utilizado por excelencia es el cisplatino y sus derivados; más del 50% de las terapias contra el cáncer se basan en estos compuestos. Sin embargo, debido a su alto costo, su ineficiente actividad contra varios tipos de tumores y los severos efectos secundarios como una alta nefrotoxicidad, generan una dificultad de acceso a este tratamiento. De lo anterior, se desprende el interés por estudiar nuevos compuestos, utilizando metales de transición más asequibles como los organometálicos de estaño. En este trabajo, se realizó el análisis de los compuestos organoestánicos 5a, 5c y 5f. Se ha evaluado su actividad antiproliferativa, citotóxica y pro-apoptótica, sobre la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231. Se utilizó la técnica de tinción con cristal violeta para evaluar la proliferación; el efecto citotóxico se analizó utilizando la cuantificación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) presente en los sobrenadantes celulares; la determinación de la apoptosis se hizo mediante la caracterización morfológica (condensación de la cromatina, retracción de proyecciones citoplasmáticas, cuerpos apoptóticos) de las células y la inmunodetección de la proteasa caspasa-3 activa. Los resultados obtenidos indicaron que los compuestos 5a, 5c y 5f ejercen un efecto antiproliferativo sobre las células MDA-MB-231 en las concentraciones de IC_{50} de 0.86, 0.57 y 0.985 μ M respectivamente. Estos compuestos mostraron una nula actividad necrótica, ya que el porcentaje de LDH presente en los sobrenadantes de las células tratadas, no mostró diferencia con las células control. Las células tratadas con los compuestos mostraron cambios morfológicos como compactación celular, fragmentación nuclear y presencia de caspasa-3 activa, indicando que los compuestos inducen una eliminación celular tipo apoptótica. Los resultados permiten definir que los compuestos 5a, 5c y 5f tienen efecto antiproliferativo con baja actividad necrótica e inducen apoptosis en la línea tumoral de mama MDA-MB-231 a concentraciones menores a 1 μ M.

INTRODUCCIÓN

CÉLULA

La célula representa la unidad morfológica y funcional que compone a los seres vivos. De acuerdo con la teoría celular, propuesta por Schleiden y Schwann en el año 1838, todos los organismos vivos están formados por la asociación de células (Sepúlveda *et al.*, 2016).

Los organismos vivos son sistemas abiertos, ya que tiene una estrecha relación con el ambiente que los rodea, responden a estímulos generados por éste y realizan un intercambio constante de moléculas del exterior y mediante reacciones químicas las rompe, reacomoda y recombina para formar otras moléculas que se ajusten a sus necesidades, con el objetivo de mantener a la célula viva y en división celular. Generando en cada división una nueva célula que contendrá una nueva copia de la información hereditaria (Gagneten *et al.*, 2015).

CICLO CELULAR

El ciclo celular se puede considerar como una sucesión de etapas por las que transcurre la vida de una célula que está proliferando. Una célula procede de la división de una predecesora, pasa por una serie de etapas donde crece, replica su ADN, duplica su tamaño y, por último, se divide para dar dos células hijas que comenzarán de nuevo el ciclo (Megías *et al.*, 2022).

El ciclo celular regula la división celular y es fundamental tanto para generar nuevas células en el desarrollo embrionario, como para reemplazar las células dañadas en un órgano adulto. Se distinguen varias fases (Figura 1): en la fase G₀ o de reposo las células permanecen sin dividirse, pero conservan la capacidad de reiniciar el ciclo celular. En la fase G₁ (gap 1) de pre-síntesis, las células producen ARN y proteínas; en la fase S se replica el ADN; en la fase G₂ (gap 2) o de post-síntesis el núcleo se organiza para la división celular, que se produce en la fase M o de mitosis. El ciclo completo dura desde 12 horas hasta meses o años dependiendo del tipo celular. Mientras la mitosis tiene una duración constante de 1 hora, las células pueden permanecer “arrestadas” en G₀ durante años (Burgués *et al.*, 2005).

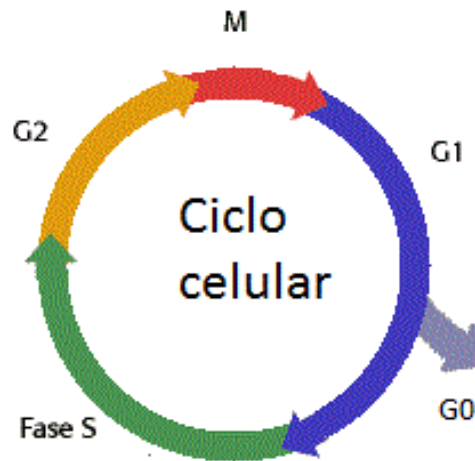


Figura 1. Ciclo celular. En el ciclo celular se distinguen varias fases: G0. Fase de reposo; G1. Fase de presíntesis; S. Fase de síntesis; G2. Fase de post-síntesis; M. Mitosis. (Tomado de: <http://www.biologia.arizona.edu/cell/tutor/mitosis/cells2.html>)

Las células pueden sufrir de errores, daños y/o infecciones en cualquiera de las fases, provocando a la célula mantener una detención del ciclo celular, para que la célula active mecanismos de reparación. Irremediablemente si las capacidades de corrección de la propia célula son superadas, se inicia una muerte celular.

MUERTE CELULAR

La muerte de las células en los tejidos humanos y en otros organismos multicelulares es un hecho normal y no produce alteración de las funciones. Por el contrario, el número de células en los diferentes tejidos está determinado por un balance homeostático entre la proliferación de células nuevas y la muerte de células agotadas o seniles, existiendo una tasa o ritmo de relación proliferación/muerte que varía de un tejido a otro (Gustavo, 2002).

Un daño irreversible puede hacer que se alcance un punto sin retorno; cambios morfológicos, funcionales y bioquímicos irreversibles impiden a las células realizar sus funciones vitales y las arrastran a la muerte. La muerte de las células puede desencadenarse por múltiples causas: pérdida de su función, daño mecánico, infección por microorganismos o virus, acción de agentes químicos tóxicos o la falta de nutrientes. La muerte celular, según criterios clásicos se puede dividir en una muerte que transcurre por mecanismos regulados, como la apoptosis y la no regulada necrosis (Lizarbe, 2007).

NECROSIS

La necrosis es un tipo de muerte accidental o no programada, que ocurre cuando factores externos superan las condiciones fisiológicas del tejido y someten a la célula a un estrés excesivo e incontrolable. Ejemplos de estos factores son el calor, el frío, estímulos mecánicos, sustancias químicas, la hipoxia, la radiación ionizante y la irradiación ultravioleta (Hotchkiss *et al.*, 2009). Cuando una célula se encuentra en estado necrótico presenta hinchamiento de orgánulos, dilatación del retículo endoplásmico, ruptura temprana de la membrana plasmática y liberación del contenido citoplasmático al espacio extracelular (Figura 2). La muerte celular necrótica es un proceso pasivo que no requiere síntesis de *novo* de proteínas y emplea una cantidad mínima de energía. Se caracteriza por el aumento en el calcio intracelular (Ca^{2+}), la disfunción mitocondrial, el aumento en las especies reactivas de oxígeno (EROS) y la proteólisis inducida por calpaínas y catepsinas. Las calpaínas son enzimas proteolíticas que tienen una cisteína en su sitio catalítico (por lo que también se les llama cisteína-peptidasas), no son lisosomales y su actividad depende de calcio. Las catepsinas (del griego *kathepsin*, digerir) son proteasas que requieren un medio ligeramente ácido para funcionar. En diversos escenarios clínicos la necrosis se reporta como resultado de trauma, isquemia o daño tisular. Otros reportes indican que este tipo de muerte se presenta en padecimientos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Carranza, 2020).

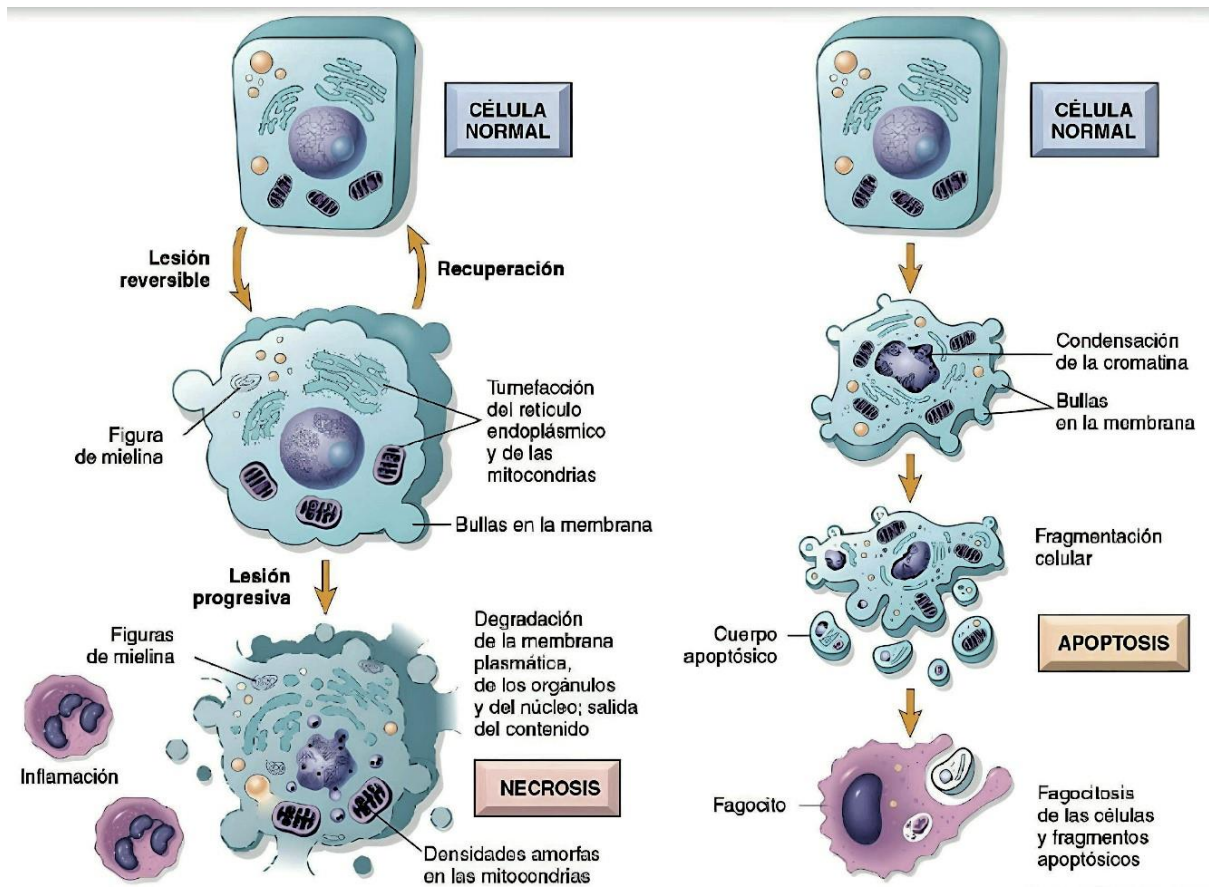


Figura 2. Características celulares de una muerte por necrosis (izquierda) y apoptosis (derecha). (Tomado y modificado de: <https://filadd.com/doc/pato-1-robbins-pdf-salud-del-trabajador-a-y>)

APOPTOSIS

La apoptosis o muerte celular programada es considerada como una muerte natural fisiológica, resultando en un mecanismo de eliminación de células no deseadas, dañadas o desconocidas y que desempeña un papel protector frente a posibles enfermedades (Jordan, 2003).

Los contrastes morfológicos de la apoptosis en el núcleo son la condensación de la cromatina y la fragmentación nuclear, que se acompañan de un redondeamiento de la célula, reducción del volumen celular y retracción de los pseudópodos. La condensación de la cromatina comienza en la periferia de la membrana nuclear, formando una estructura tipo anillo. La cromatina, además se condensa hasta que comienza a fragmentarse dentro de la célula, pero siempre con una membrana celular intacta, una característica descrita como *cariorrhexis*. La membrana plasmática también está intacta durante todo el proceso. En el estadio final de la apoptosis se agregan algunas otras características tales como un *blebbing* de la membrana (se forman como burbujas llamadas “ampollas”), modificaciones

estructurales de los organelos citoplasmáticos y generalmente, las células fagocíticas engullen a las células apoptóticas (Figura 2) (Sosa *et al.*, 2012).

Mecanismos moleculares de la apoptosis.

Es un proceso regulado genéticamente, en el cual intervienen moléculas efectoras y moléculas reguladoras de la apoptosis (Miñambres y López, 2004). A grandes rasgos, existen tres tipos principales de cambios bioquímicos que pueden verse en la apoptosis, 1) activación de las caspasas, 2) rotura de DNA y otras proteínas y 3) cambios de la membrana y reconocimientos por parte de las células fagocíticas (Sosa *et al.*, 2012).

La detección de ligandos inductores de muerte, ácidos nucleicos, especies reactivas al oxígeno (EROS), mediadores inflamatorios, toxinas y fármacos, entre otras sustancias, activa mecanismos que llevan a la célula a su propia destrucción. Una vez que la célula entra en apoptosis induce la activación de caspasas, que son proteasas con un residuo de cisteína (C) que fragmentan proteínas inmediatamente después de los residuos de aspartato (Asp). Las caspasas provocan el colapso de los componentes subcelulares, la condensación y fragmentación del ADN y la disminución del tamaño celular y nuclear. En este tipo de muerte, la integridad de la membrana plasmática se mantiene intacta incluso durante la formación de cuerpos apoptóticos, cuya función es contener el material celular y evitar que éste actúe como desencadenante de la muerte de otras células. Una vez finalizada la apoptosis, otras células especializadas fagocitan los cuerpos apoptóticos. A diferencia de la necrosis, la apoptosis no causa inflamación (Carranza, 2020).

Se han identificado tres vías que pueden conducir a la apoptosis. La primera se activa de manera extrínseca mediante la detección de ligandos endógenos como el factor de necrosis tumoral (TNF), el ligando Fas (FasL) o el ligando inductor de apoptosis relacionado al TNF (TRAIL). La activación de receptores de muerte (TNFR, Fas o DR5) induce la activación de la caspasa-8. La segunda vía se activa de manera intrínseca por estímulos no dependientes de un receptor. La radiación o la hipoxia, por ejemplo, producen la apertura del poro de permeabilidad mitocondrial (MPT). La disregulación mitocondrial a su vez induce la liberación de proteínas proapoptóticas como el citocromo C y la proteína Smac/DIABLO que activan a otro tipo de caspasa, la caspasa-9. La tercera vía se produce por señales provenientes de linfocitos T citotóxicos. La activación de receptores de muerte celular programada como PD-1 (*programmed cell death protein 1*) induce la liberación de perforinas y granzimas que actúan sobre células infectadas con virus o células tumorales. Las perforinas forman poros en las células blanco a través de los cuales ingresan las granzimas. La granzima B induce la activación de la caspasa-10. Las tres vías convergen en la activación de la caspasa-3, una enzima que produce la fragmentación del ADN, la degradación de proteínas del citoesqueleto, la formación de cuerpos apoptóticos y la expresión de ligandos que inducen el reclutamiento de células con capacidad fagocítica. La activación descontrolada de las caspasas sería

incompatible con la vida, por eso se encuentran como zimógenos, es decir, como precursores enzimáticos inactivos que requieren de un cambio bioquímico para que se exponga su sitio activo y así puedan tener actividad catalítica. Además, existen proteínas reguladoras como la cinasa MEK o Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*) que actúan como proteínas antiapoptóticas cuya función principal es detener el progreso de la muerte celular programada. La disminución en la apoptosis favorece la proliferación celular en diferentes tipos de cáncer (Carranza, 2020).

La proteína Bcl-2 (*B cell Lymphoma*) fue descrita por vez primera en pacientes con linfoma; se trata de una proteína perteneciente a una familia de proteínas sub clasificada en tres grupos de acuerdo con su homología y su función: proapoptótica o antiapoptótica (Ramirez *et al.*, 2014). Para entender esta clasificación hay que saber que los miembros de la familia tienen hasta 4 dominios conservados llamados dominios homólogos de Bcl-2 conocidos como BH1, BH2, BH3 y BH4 (Figura 3) (Luna *et al.*, 2008).

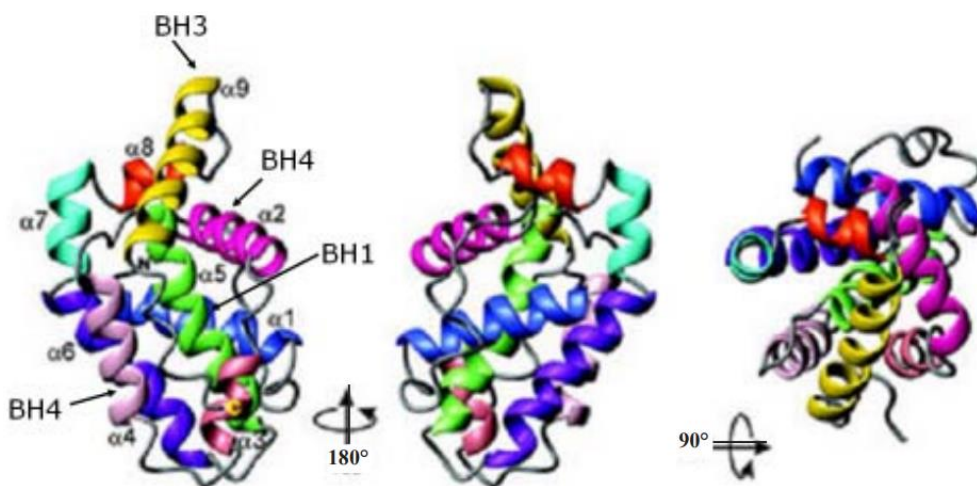


Figura 3. Estructura representativa para Bcl-w (miembro de la familia de Bcl-2) Se ha sugerido que la estructura para Bcl-2 sería muy parecida. Se observan los 4 dominios BH1-BH4 (Tomado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2008/reb083d.pdf>).

Atendiendo al número y tipo de dominios que presentan, podemos clasificar a los miembros de la familia Bcl-2 en proteínas multidominio antiapoptóticas: contienen dominios BH1-4; multidominio proapoptóticas: contienen los dominios BH1-3 y las proteínas BH3-*only* que contienen sólo el dominio BH3 (Figura 4) (Galindo, 2015). La sobreexpresión o silenciamiento de éstas se encuentra íntimamente relacionada con el desarrollo y la agresividad de las neoplasias, ya que puede ofrecerle a la célula cancerígena atributos de inmortalidad que pueden perpetuar su malignidad y ensombrecer el pronóstico al presentar poca respuesta terapéutica (Ramirez *et al.*, 2014).

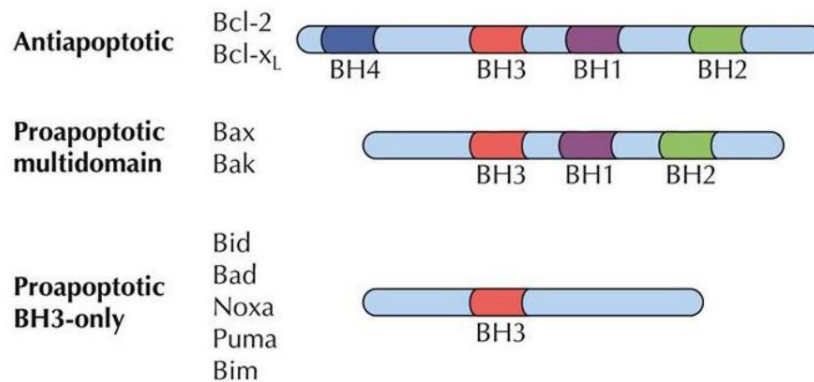


Figura 4. Clasificación de las proteínas de la familia Bcl-2 atendiendo a su función. La figura muestra las tres categorías en las que se clasifican los miembros de la familia Bcl-2 atendiendo a la función que desempeñan en la regulación apoptótica. (Tomado de: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CARLOS%20CAMACHO%20DE%20LA%20MACORR A.pdf>).

CÁNCER

En el comienzo del estudio del cáncer en 1838, se describió que el tejido canceroso estaba conformado por células con morfología alterada y se postuló que la causa de esta enfermedad yacía en lesiones celulares (Steven, 2004). Actualmente, el cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente, lo que conduce a la formación de agregados que crecen dañando tejidos vecinos, se nutren del organismo y alteran su fisiología. Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos, donde encuentran un nicho apropiado para continuar su crecimiento originando una metástasis que en muchas ocasiones es la causa de muerte de los individuos afectados (Sánchez, 2013).

Entonces las células cancerígenas presentan un conjunto de capacidades funcionales adquiridas por las células humanas a medida que pasan de la normalidad a los estados de crecimiento neoplásico, más específicamente capacidades que son cruciales para su capacidad de formar tumores malignos. Puntos en común compartidos que unen todos los tipos de células cancerosas al nivel del fenotipo celular: Evasión de supresores de crecimiento, evitar la destrucción inmunológica, permitir la inmortalidad replicativa, inflamación promovida por el tumor, activar invasión y metástasis, inducir la angiogénesis, inestabilidad genómica y mutación, resistencia a la muerte celular, degradación energética celular (Figura 5) (Hanahan, 2022).

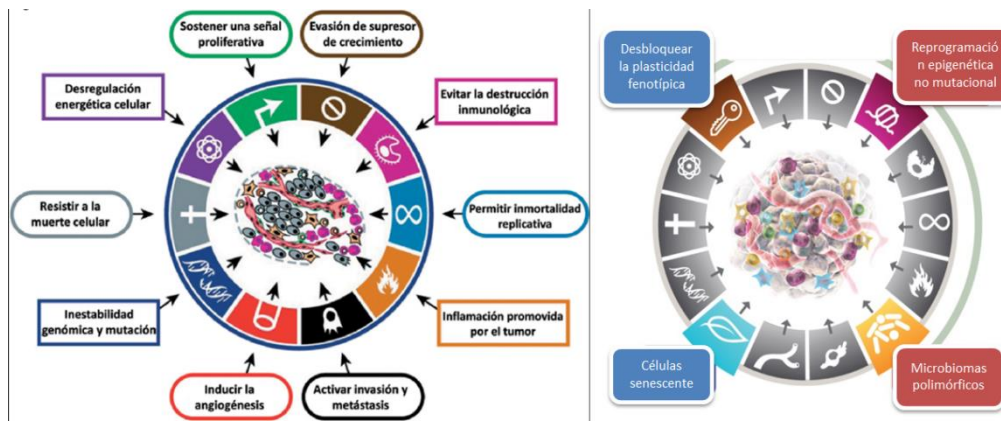


Figura 5. Sellos distintivos del cáncer (*hallmarks*) actualmente incorporados y aceptados para el crecimiento y la progresión del tumor (Izquierda). Los sellos distintivos emergentes propuestos adicionales y características habilitadoras que involucran "desbloquear la plasticidad fenotípica", "reprogramación epigenética no mutacional", "microbiomas polimórficos" y "células senescentes" (derecha), por sí solos, no abordan las complejidades de la patogénesis del cáncer, es decir, los mecanismos moleculares y celulares precisos que permiten que las células preneoplásicas en evolución se desarrollen, pero que podrían incorporarse a su debido tiempo como componentes centrales de los sellos distintivos (Tomado de: <https://aacrjournals.org/cancerdiscovery/article/12/1/31/675608/Hallmarks-of-Cancer-New-DimensionsHallmarks-of>).

Estas alteraciones son el resultado de la interacción entre los factores genéticos del paciente y tres categorías de agentes externos:

- 1) Carcinógenos físicos, como las radiaciones ultravioletas e ionizantes
- 2) Carcinógenos químicos, como el amianto, los componentes del humo de tabaco, las aflatoxinas (contaminantes de los alimentos), arsénico (contaminante del agua de bebida)
- 3) Carcinógenos biológicos, como determinados virus, bacterias y parásitos (García *et al.*, 2020).

Los diferentes tipos de cáncer presentan algunas similitudes entre sí, pero se pueden diferenciar en la forma que se desarrollan, propagan y responden al tratamiento. Algunos tipos de cáncer crecen y se propagan rápidamente mientras que otros crecen más lentamente. Unos son propensos a propagarse hacia otras partes del cuerpo; otros suelen permanecer confinados en el sitio que se originan (ACS, 2020).

Tipos de Cáncer con mayor incidencia.

El cáncer es de las principales causas de muerte en todo el mundo: en 2020 se atribuyeron a esta enfermedad casi 10 millones de defunciones (Ferlay J, 2020). Los cánceres más comunes en 2020, con respecto a los nuevos casos a nivel mundial, fueron los siguientes:

- Mama (2,26 millones de casos)

- Pulmón (2,21 millones de casos)
- Colorrectal (1,93 millones de casos)
- Próstata (1,41 millones de casos)
- Piel (distinto del melanoma) (1,20 millones de casos)
- Gástrico (1,09 millones de casos)

Los tipos de cáncer que causaron un mayor número de fallecimientos a nivel mundial en 2020 fueron los siguientes

- Pulmón (1,8 millones de defunciones)
- Colorrectal (916 000 defunciones)
- Hepático (830 000 defunciones)
- Gástrico (769 000 defunciones)
- Mama (685 000 defunciones)

Aunque los tipos de cáncer más frecuentes varían en función del país (OMS, 2022).

CÁNCER DE MAMA.

El cáncer de mama se produce por un crecimiento anormal y desordenado de células del epitelio de los conductos o lobulillos mamarios, tiene la capacidad de diseminarse y el 65% de los casos son hormono dependiente. Los tipos histológicos de mayor frecuencia son el carcinoma ductal y el carcinoma lobulillar (Figura 6), con menor frecuencia puede originarse en los tejidos estromales, que incluyen a los tejidos conjuntivos grasos y fibrosos de la mama (Ministerio de Chile, 2018).

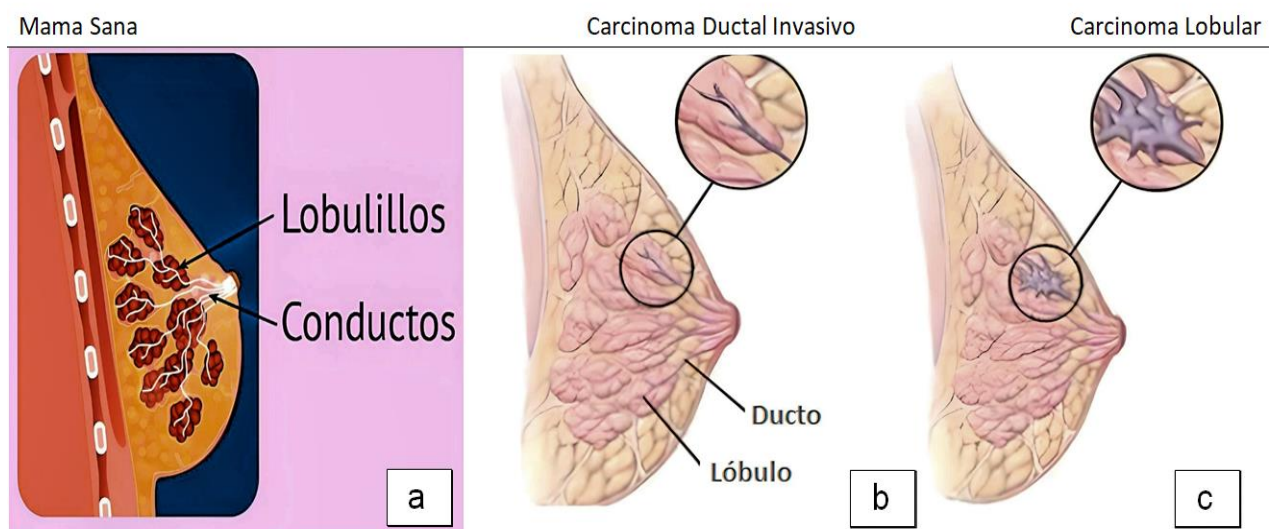


Figura 6. Esquema de la vista lateral de mama sana (a) y carcinomas más comunes que se presentan en la misma: carcinoma ductal (b) y carcinoma lobular (c) (Tomado y modificado de <https://www.diagnosticodobrasil.com.br/artigo/anatomia-patologica-no-cancer-de-mama>).

La neoplasia de mama es una enfermedad con una evolución natural compleja constituyendo la primera causa de muerte por neoplasia en la mujer en el ámbito mundial, con cerca de 500 mil muertes cada año, de las cuales el 70% ocurre en países en desarrollo. Aunque el riesgo de enfermar es superior en las mujeres de países con nivel socioeconómico alto. Sin embargo, el riesgo de morir es mayor entre las mujeres que habitan países pobres, consecuencia de un menor acceso a los servicios de salud para la detección temprana, tratamiento y control. El cáncer de mama en etapas iniciales es asintomático, se presenta de manera subclínica en la mayoría de los casos, solamente es detectable por estudios de imagen (mastografía, ultrasonido y resonancia magnética), en menor proporción por clínica (tumores palpables). Sin embargo, otra forma de manifestación es como un tumor no doloroso que hasta en 30% se asocia a adenopatías axilares. Los tumores localmente avanzados pueden incluir cambios cutáneos como edema, ulceraciones cutáneas, así como afectación de ganglios como los supra e infraclaviculares homolaterales (Luigi *et al.*, 2019).

CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) se define como un “estado inmunohistoquímico con biología y conducta clínica heterogénea”, con ausencia de expresión de receptores hormonales de estrógeno, progesterona (Figura7) y la falta de expresión del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2) (Hernández *et al.*, 2017).

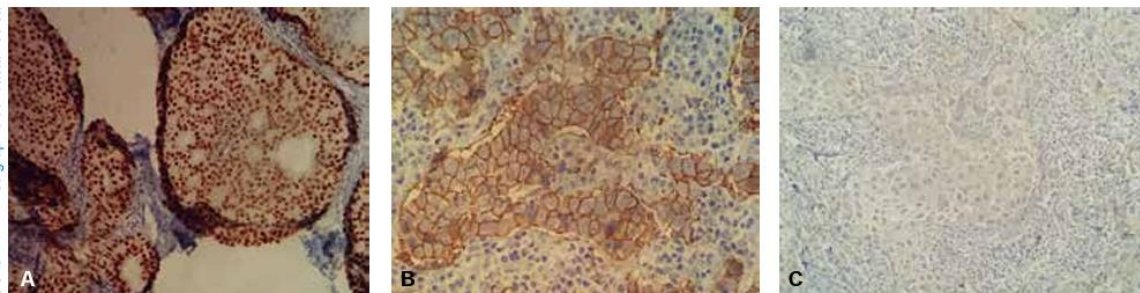


Figura 7. Inmunohistoquímica: receptores de estrógeno positivos (A), receptores de progesterona positivos (B) en comparación con inmunohistoquímica con receptores negativos (C). (Tomado y modificado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/actmed/am-2017/am174e.pdf>)

En México, el cáncer de mama triple negativo representa del 15 al 23% de todos los cánceres. Sus principales características incluyen el hecho de afectar principalmente a pacientes menores de 50 años. Por lo general, corresponde a tumores de gran tamaño, poco diferenciados, con alto grado histológico e índice mitótico y afectación ganglionar. El cáncer de mama triple negativo es muy agresivo, presentan baja tasa de supervivencia y tasas muy altas de recurrencia, principalmente antes de los 3 años, donde predominan las metástasis en: hígado,

pulmón y sistema nervioso central (Heredia y González, 2020). Presenta patrones epidemiológicos de alta incidencia en poblaciones afroamericanas y latinas, y de menor incidencia en población caucásica y constituye un problema de salud pública por su elevada morbilidad y mortalidad. Ante la ausencia de blancos terapéuticos, la quimioterapia cumple un rol importante en el tratamiento. El diagnóstico, manejo y seguimiento del CMTN es un reto para el oncólogo clínico, porque a pesar de las altas tasas de respuesta a la quimioterapia, éstas no son prolongadas, los resultados iniciales favorables son cortos por mecanismos de resistencia que se desarrollan en forma precoz, siendo esta la paradoja del CMTN. Estos tumores no responden a la terapia endocrina y no existe terapia blanco eficaz disponible. Es por ello que las investigaciones sobre esta neoplasia están principalmente orientadas a la búsqueda de biomarcadores terapéuticos, con resultados limitados hasta la actualidad (Zaharia y Gómez, 2013).

En 2011, Lehmann y cols. describieron seis diferentes subtipos dentro del cáncer de mama triple negativo: *basal-like* 1 y 2 (bl1 y bl2), inmunomodulador, mesenquimático, mesenquimático *stem-like* y luminal receptor androgénico (Figura 8). Estos difieren entre sí en su comportamiento clínico, sensibilidad a la quimioterapia y sobrevida. Una vez identificadas las características propias, permiten tratamientos dirigidos, encontrándose estos actualmente en estudio (Orban *et al.*, 2017).

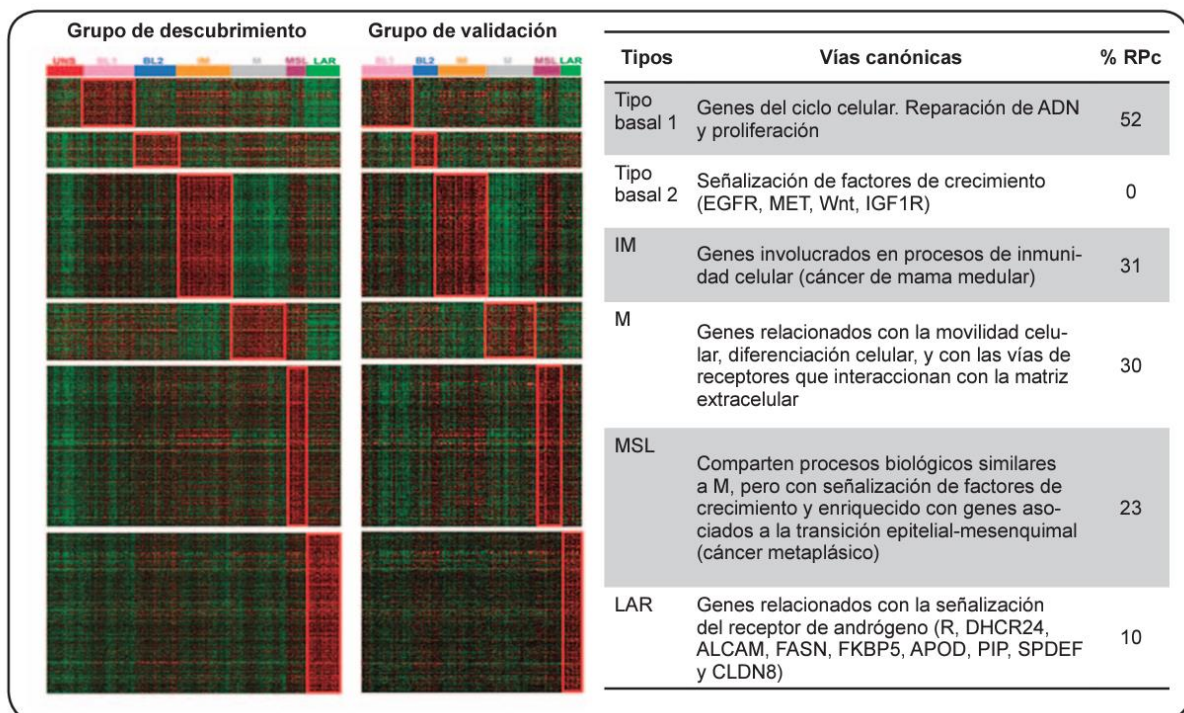


Figura 8. Características moleculares y de respuesta a la quimioterapia neoadyuvante de los cánceres de mama triple negativo % RPc porcentaje de respuesta patológica completa (Tomado y modificado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v30n4/a18v30n4.pdf>).

El cáncer de mama triple negativo constituye un desafío para el médico; considerando las características clínicas de este subtipo, destaca su rápido crecimiento, alta capacidad de diseminación ganglionar y a distancia, así como su presentación en mujeres jóvenes, lo que le confiere un pronóstico sombrío (Hernández *et al.*, 2017).

FACTORES DE RIESGO

La etiología del cáncer de mama es multifactorial. La identificación de factores genéticos y de los factores de riesgo como ambientales y hormonales, juegan un papel importante en la prevención del cáncer de mama, advirtiendo del riesgo, de la posibilidad del desarrollo de un proceso neoplásico, y van a depender del tiempo de exposición al mismo o de la predisposición genética de cada individuo (López *et al.*, 2016).

Existen factores de riesgo, que son hechos o circunstancias que pueden aumentar la probabilidad de que aparezca una enfermedad. Algunos de ellos son controlables, como beber alcohol, no obstante, otros tales como los antecedentes familiares, no se pueden controlar (Tabla 1). Existen estudios que demuestran que cuantos más factores de riesgo se tenga, más aumenta el riesgo de aparecer la enfermedad. Sin embargo, esto no quiere decir que infaliblemente el cáncer aparecerá. Por otra parte, existen algunas mujeres que presentan cáncer de mama sin presentar ningún factor de riesgo conocido, incluso no presentan antecedentes familiares. De lo anterior se desprende la importancia del estudio de los factores de riesgos y la actualización de las investigaciones, con el propósito de adaptar las mejoras necesarias a los planes de prevención y erradicación de la enfermedad y sus consecuencias (Martínez *et al.*, 2019).

Tabla 1. Factores de riesgo controlables y no controlables causantes del desarrollo neoplásico de mama.

Factores de riesgo no controlables		
Nacer mujer	principal factor de riesgo para el cáncer de seno. Los hombres también pueden padecer cáncer de seno	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Envejecimiento	A medida que se envejece, el riesgo de padecer cáncer de seno se incrementa	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Heredar ciertos cambios	Se cree que alrededor del 5% al 10% de los casos de cáncer de seno son hereditarios, lo que significa que se originan directamente de	<i>American Cancer Society, 2019</i>

genéticos	cambios genéticos (mutaciones) que se adquieren de uno de los padres	
Antecedentes familiares de cáncer de mama o cáncer de ovario	El riesgo de una mujer de tener cáncer de mama es mayor si su madre, una hermana o una hija (parientes de primer grado) o varios integrantes de la familia por el lado paterno o materno han tenido cáncer de mama o cáncer de ovario.	CDC, 2023
Antecedente personal de cáncer de seno	Una mujer con cáncer en un seno tiene un mayor riesgo de padecer un nuevo cáncer en el otro seno o en otra parte del mismo seno	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Tejido mamario denso	Las mujeres cuyos senos se muestran densos en los mamogramas tienen un riesgo de padecer cáncer de seno de aproximadamente 1 1/2 a 2 veces mayor que las mujeres con una densidad promedio en sus senos	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Comienzo de los periodos menstruales a una edad temprana	La menstruación a una edad temprana (especialmente antes de los 12 años) presentan un riesgo ligeramente mayor. Este aumento en el riesgo podría deberse a una exposición más prolongada a las hormonas estrógeno y progesterona.	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Menopausia después de los 55 años de edad	Experimentar tarde la menopausia (después de los 55 años) tienen un riesgo ligeramente mayor. Este aumento podría deberse a una exposición más prolongada a las hormonas estrógeno y progesterona	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Tratamientos previos con radioterapia	mujeres que han recibido radioterapia en el pecho o las mamas antes de los 30 años de edad (por ejemplo, para el tratamiento del linfoma de Hodgkin)	<i>American Cancer Society, 2019;</i> CDC, 2023
Factores de riesgo del cáncer de seno relacionados con el estilo de vida		
Consumo de bebidas alcohólicas	El riesgo aumenta con la cantidad de alcohol consumido. En comparación con las mujeres que no beben alcohol, aquellas que toman 1 bebida alcohólica al día tienen un pequeño aumento (alrededor del 7% al 10%) en el riesgo, mientras que las mujeres que beben de 2 a 3 tragos al día tienen	<i>American Cancer Society, 2019</i>

	aproximadamente un 20% más	
Sobrepeso u obesidad	Un exceso de tejido adiposo después de la menopausia puede elevar los niveles de estrógeno y aumenta su probabilidad de padecer cáncer de seno. Además, las mujeres que tienen sobrepeso tienden a presentar niveles de insulina en la sangre más elevados. Los niveles de insulina más elevados están relacionados con algunos tipos de cánceres	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Historial reproductivo	Quedar embarazada por primera vez después de los 30 años de edad, no amamantar y nunca tener un embarazo que llegue a término	CDC, 2023
No dar de lactar a sus bebés	La explicación para este posible efecto puede ser que la lactancia reduce el número total de ciclos menstruales en la vida de una mujer	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Control de la natalidad	Algunos métodos de control de la natalidad utilizan hormonas, lo que podría aumentar el riesgo de cáncer de seno	<i>American Cancer Society, 2019</i>
Implantes de seno	En raras ocasiones han sido relacionados con algunos tipos de cáncer, incluyendo el linfoma no Hodgkin anaplásico de células grandes asociado a implante de seno (BIA-ALCL) entre otros tipos de linfoma, así como al carcinoma de células escamosas.	<i>American Cancer Society, 2019;</i> CDC, 2023

TRATAMIENTOS.

El tratamiento del cáncer de mama se puede dividir en dos categorías: etapa temprana y etapa avanzada. El tratamiento en etapa temprana involucra tumores que se limitan a la mama. El tratamiento en etapa avanzada involucra tumores que se han diseminado más allá de la mama a otras regiones del cuerpo (metástasis) Las opciones de tratamiento dependen del tamaño y ubicación de este, la condición física del paciente y la etapa del cáncer (Cancerquest, 2022).

Cirugía: Una operación en la que los médicos cortan el tejido con cáncer. Ventajas de la cirugía (Tomado de: Cancerquest, 2022).

- La eliminación de un gran volumen del tumor puede aliviar el efecto de la masa, lo que puede reducir los síntomas al instante.
- La extirpación de un tumor en una parte del cuerpo que no se puede tratar con radiación, por ejemplo, si el paciente ya ha recibido radiación allí o terapia sistémica, por ejemplo, en el cerebro, donde cierta quimioterapia no puede llegar.
- Capacidad potencial para eliminar todas las células cancerosas en un área pequeña (curarse el paciente sólo requiere cirugía).
- Capacidad para observar el tejido canceroso (patología).
- Se pueden examinar muestras de tejido para decidir las mejores opciones de tratamiento para ese paciente en particular.
- Si el paciente ya ha recibido tratamiento, las muestras se pueden usar para ver cómo respondió el cáncer al tratamiento anterior para ver si se debe administrar más de ese tratamiento o si es necesario cambiar el tratamiento
- Conveniencia para el paciente (ya que la cirugía se realiza una vez en el transcurso de un día mientras el paciente está dormido).

Desventajas de la cirugía (Tomado de: Cancerquest, 2022).

- Incapacidad del cirujano para distinguir las células cancerosas de las células normales a simple vista (especialmente después de que se haya administrado quimioterapia o radiación en el sitio).
- La incapacidad para matar la enfermedad microscópica alrededor de los bordes del tumor puede dejar células tumorales en el paciente después de la cirugía.
- El paciente debe poder tolerar la cirugía y la anestesia es decir, tener problemas médicos mínimos, tener una buena función pulmonar, no estar tomando ciertos medicamentos.
- Algún daño a los tejidos normales cercanos por ejemplo, extirpación de costillas o tejido pulmonar normal para llegar a un tumor pulmonar.
- Complicaciones de la cirugía (infección y otros casos específicos).
- Incapacidad para remover el cáncer en otras partes del cuerpo (metástasis).
- Incapacidad para eliminar de forma segura las células muertas en ciertas partes del cuerpo donde la radioterapia puede tener menos efectos secundarios (ciertos tipos de tumores cerebrales).
- Extracción de un órgano que puede afectar a la calidad de vida del paciente (mama, laringe, intestino).
- La eliminación de células cancerosas que producen factores sanguíneos que estimulan el crecimiento de células cancerosas en otras partes del cuerpo.

Radioterapia: Se usan rayos de alta energía (similares a los rayos X) para matar las células cancerosas (Cancerquest, 2022).

Ventajas de la radioterapia (Tomado de: Cancerquest, 2022).

- La muerte de una gran proporción de células cancerígenas dentro de todo el tumor (las células cancerígenas que quedan son mínimas o nulas y se encuentran dentro de pequeños tumores; además, una radioterapia adicional se podría realizar para eliminar a aquellos tumores pequeños)
- Reducción del tamaño tumoral (lo que también podría ayudar a aliviar los efectos de tamaño o podría ser realizado antes de una cirugía para reducir el tamaño y cambiar el estatus de un paciente de irresecable a resecable)
- Una cierta seguridad para el paciente (la radiación se puede administrar externamente, se enfoca en el tumor, no es dolorosa y generalmente no requiere anestesia)
- Combinaciones exitosas con terapias sistémicas (se crea la habilidad de destruir a más células cancerígenas en comparación con el uso de las terapias individuales)
- La muerte de células cancerígenas microscópicas en la periferia del tumor que podrían no haber sido visibles a simple vista (durante una cirugía).
- La preservación del órgano afectado
- La estimulación de la reacción inmune en contra del tumor.

Desventajas de la radioterapia (Tomado de: Cancerquest, 2022).

- Daño a los tejidos cercanos al tumor
- Dificultad al matar células cancerígenas que no se pueden visualizar mediante los exámenes de imagen ejemplo: cerca de los ganglios linfáticos, enfermedades metastásicas
- No logra matar a todas las células cancerígenas dentro de los tumores (particularmente en tumores grandes)
- No logra disipar el efecto que ejerció el tamaño del tumor ejemplo: cuando el tumor empuja y presiona a estructuras normales a su alrededor en ciertas partes del cuerpo y por lo tanto aún se requeriría la cirugía
- No es eficaz al matar a células cancerígenas que se encuentran en áreas que no reciben mucho oxígeno ejemplo: en un área recién operada, en una extremidad que carece de oxígeno
- La probabilidad de que se presenten complicaciones en las heridas, como una cicatrización deficiente ejemplo: si se le opera al paciente después de la radioterapia o en partes sin circulación
- El itinerario de las sesiones puede ser inconveniente ejemplo: en algunos casos las sesiones son diarias, 5 días a la semana, durante 1-2 meses

Quimioterapia: Se usan medicamentos especiales para reducir o matar células cancerosas. Estos medicamentos pueden ser pastillas que se toman o medicamentos administrados por la vía sistémica y en algunas ocasiones, ambos. (CDC, 2022).

Ventajas de la quimioterapia (Tomado de: CDC, 2022).

- Puede llegar a erradicar el cáncer
- Controla la enfermedad
- De no haber curación, puede llegar a controlar el crecimiento de tumores y que se propaguen a otras áreas del cuerpo
- Alivia ciertos síntomas de la enfermedad
- También conocido como terapia paliativa, es aplicada para dar una mejor calidad de vida al aliviar los dolores, haciendo que el tumor se encoja en la medida de lo posible. Esto sucede cuando el cáncer se encuentra en una etapa avanzada, causando su expansión a otras áreas del organismo
- Las células cancerosas microscópicas son destruidas
- Las células cancerosas son destruidas cuando se dividen. Mientras más rápido sea este proceso, mayor será la probabilidad de que el tumor sea destruido
- Llega a combatir el cáncer para que no regrese. Aunque no es algo seguro, pues pueden pasar muchos años para saber si la enfermedad ya no se encuentra presente en el organismo. Por ello, es importante que las personas que hayan padecido esta enfermedad asistan periódicamente a realizarse exámenes para determinar si el cáncer no volvió al organismo

Desventajas de la quimioterapia (Tomado de: La opinión, 2019).

La quimioterapia actúa en las células activas, tanto las cancerosas como las sanas, al dañar a estas últimas se producen efectos secundarios como:

- Cansancio
- Dolor de cabeza, muscular, estomacal y dolores punzante en las manos y los pies
- Úlceras en la boca y garganta
- Diarrea
- Náuseas y vómitos
- Estreñimiento
- Afecta el proceso de células sanguíneas nuevas, lo que mejor se conoce como trastorno de la sangre
- Infertilidad
- Pérdida del cabello
- Daño colaterales en órganos como el corazón, pulmones, hígado, riñones, entre otros

TERAPIAS ALTERNATIVAS.

Tratamientos Hormonales.

Las células cancerosas, a pesar de ser anormales, pueden retener la habilidad para responder a las señales hormonales. La idea detrás de la mayoría de los tratamientos para el cáncer basados en hormonas es privar a las células cancerosas

de las señales que podrían estimularlas a dividirse. Los medicamentos usados en estos tratamientos bloquean la actividad hormonal en la célula objetivo. Algunos tratamientos más novedosos y bajo investigación son diseñados para prevenir la producción de la hormona en sí, interrumpiendo la señal desde el principio. Algunas formas de cáncer de mama, ovario y próstata son sometidas a tratamientos hormonales.

Tipos de tratamientos hormonales

- Moduladores Selectivos del Receptor de Estrógeno (SERMs): estos fármacos interfieren con la actividad del receptor de estrógeno. Algunos medicamentos de este tipo son el tamoxifeno (Nolvadex®), raloxifeno (Evista®) y toremifeno (Fareston®)
- Inhibidores de la aromatasa: estos agentes funcionan al bloquear la producción del estrógeno mediante la enzima que la sintetiza a partir de sus precursores. Algunos medicamentos de este tipo son el anastrozol (Arimidex®), el exemestano (Aromasin®) y el letrozol (Femara®)
- Receptores reguladores negativos: esta clase de fármacos disminuye los niveles del receptor de estrógeno Fulvestrant (Faslodex®)
- Moduladores Selectivos de los Receptores de Andrógenos (SARMs): estos medicamentos interfieren con la actividad del receptor de andrógeno. Algunos fármacos de este tipo son la flutamida (Eulexin®) y la bicalutamida (Casodex®) (Cancerquest, 2022).

Inmunoterapia.

La inmunoterapia es un tratamiento contra el cáncer que ayuda a su sistema inmunitario a combatir la enfermedad. Es un tipo de terapia biológica. La terapia biológica utiliza sustancias hechas a partir de organismos vivos o versiones de estas sustancias que son producidas en un laboratorio. Su capacidad como tratamiento contra el cáncer reside en que algunos tipos de inmunoterapia permiten encontrar las células cancerosas para destruirlas. Otros fortalecen el sistema inmunitario para que pueda combatir mejor el cáncer (NIH 2020).

Tipos de inmunoterapia.

- Inhibidores de puntos de control inmunitario: son un componente normal del sistema inmunitario y hacen que las respuestas inmunitarias no sean muy fuertes. Al bloquearlas, estos fármacos permiten que las células inmunitarias respondan con más fuerza al cáncer
- Terapia de transferencia de células T: es un tratamiento que fortalece la capacidad natural de las células T para combatir el cáncer. En este tratamiento, las células inmunitarias se toman del tumor del paciente. Las células que son más activas contra el cáncer se seleccionan o cambian en el laboratorio para que ataquen mejor las células cancerosas, se multiplican en grupos más grandes y se regresan al cuerpo por medio de una infusión

- Vacunas de tratamiento contra el cáncer: funcionan al fortalecer la respuesta del sistema inmunitario contra las células cancerosas. Las vacunas de tratamiento son diferentes de las vacunas que ayudan a evitar las enfermedades
- Anticuerpos monoclonales: son proteínas del sistema inmunitario creadas en el laboratorio con el propósito de unirse a blancos específicos en las células cancerosas. Algunos anticuerpos monoclonales marcan las células cancerosas para que puedan ser vistas mejor y destruidas por el sistema inmunitario
- Inmunomoduladores, son sustancias que intensifican la respuesta inmunitaria del cuerpo contra el cáncer. Unas de estas sustancias afectan partes específicas del sistema inmunitario, mientras que otras afectan al sistema inmunitario en una forma más general (NIH, 2019).

ORGANOMETÁLICOS

Los compuestos organometálicos son aquellos compuestos orgánicos cuyos átomos forman enlaces con átomos metálicos. Se forman mediante enlaces covalentes de carbono y algún metal y pueden formar a su vez polímeros o matrices poliméricas. La clasificación de los compuestos organometálicos puede ser con base a su tipo de enlace, por su estabilidad o por la formación de compuestos (Mejia, 2018).

El interés por investigar los compuestos organometálicos en lo que respecta a su acción terapéutica se ha visto renovado frente a enfermedades de alto impacto como el cáncer, la malaria, el mal de Chagas o el VIH, entre otras y se han desarrollado novedosas aproximaciones metodológicas, a fin de obtener estructuras nuevas y aprovechar toda la reactividad química de los compuestos organometálicos (Hillard *et al.*, 2011).

Tradicionalmente, la investigación de los organometálicos y su acción terapéutica enfrenta un obstáculo en lo que se refiere a la reactividad de estos compuestos frente al agua, el aire y en general, los compuestos oxigenados. A esto se suma los problemas de biodisponibilidad asociados con la poca solubilidad de éstos. Sin embargo, estos problemas se han venido solucionando, utilizando interesantes estrategias que se basan en el uso de ligantes hidrosolubles o la encapsulación en ciclodextrina (Donzello *et al.*, 2011).

Históricamente un complejo metálico coordinado utilizado como tratamiento para el cáncer por excelencia, es el cisplatino, desde su descripción en 1845 hasta su uso como metalofármaco 1978 (Orozco y Morales, 2020). El cisplatino y sus derivados son los agentes antineoplásicos y más del 50% de las terapias contra el cáncer se basan en estos compuestos. Ahora bien, el alto costo del platino (II) y de sus compuestos de coordinación, su ineficiente actividad contra varios tipos de tumores

y los severos efectos secundarios como una alta nefrotoxicidad, son limitantes para este tratamiento, de allí el interés por estudiar nuevos compuestos que, utilizando metales de transición más asequibles y ligantes más económicos, puedan presentar una actividad comparable o superior frente a la enfermedad (Contreras *et al.*, 2018). Esto último es consecuencia de que los medicamentos a base de platino no tienen especificidad e interactúan con el ADN sin distinguir las células sanas de las enfermas, como consecuencia de sus características químicas (estructura/reactividad) (Contreras *et al.*, 2012).

Los compuestos organometálicos ofrecen una variedad de estructuras (desde lineal hasta octaédrica, pasando por la plano-cuadrada y tetraédrica) y una estereoquímica muy variada, especialmente en el caso octaédrico, donde las seis posiciones de coordinación ofrecen la posibilidad de acomodar seis diferentes ligandos. Por otro lado, se pueden aplicar diversas estrategias en el diseño de los ligandos "diseño inteligente", racionalizando efectos estéricos, electrónicos, que permitan controlar su hidrosolubilidad y la cinética de intercambio de los ligandos, todo lo cual es crucial para mejorar la especificidad sobre las células dianas (*target cells*) y aspectos que tienen que ver con los efectos secundarios. Lo interesante es que se ha encontrado que las grandes familias de compuestos organometálicos clásicos: metallocenos, arenos, carbenos y carbonilos metálicos, que tradicionalmente vienen siendo utilizados en catálisis homogénea, tienen aplicaciones terapéuticas contra el cáncer (Contreras *et al.*, 2012).

Los complejos organometálicos de estaño involucrados en reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por plomo, debido a que diversos reactivos organoestánicos son estables, almacenables y pueden ser empleados en reacciones de transmetalación estereoespecífica y reacciones de eliminación reductiva. Por ello este tipo de compuestos han abierto un nuevo campo de investigación enfocado en la síntesis y caracterización de novedosos derivados que puedan servir como precursores de nuevas drogas que presenten una amplia gama de bioactividad con una amigable modulación de selectividad y baja toxicidad, con gran interés en las propiedades toxicológicas de los compuestos de estaño de estructura sencilla que contienen únicamente grupos arilo o alquilo de bajo peso molecular, que están halogenados o contienen ambos, ya que se ha demostrado que son adversos para la salud pero que mediante el bloqueo de la disponibilidad de sitios de coordinación mediante la generación de interacciones fuertes inter- o intra moleculares con átomos donadores podrían reducir el impacto tóxico que presentan (Mejía, 2018).

ANTECEDENTES.

Un compuesto organometálico está conformado por un fragmento orgánico el cual se une a través de uno o varios átomos de carbono a un átomo metálico. Así, los

compuestos organometálicos pueden contener en su estructura metales alcalinos, alcalinotérreos, de transición, elementos del bloque p e incluso combinaciones de varios metales, esto es gracias a la formación de enlaces entre átomos metálicos y de carbono que pueden ser de distintos órdenes, es decir que pueden conectarse a través de enlaces sencillos, dobles o triples (Figura 9) (Mejía, 2018).

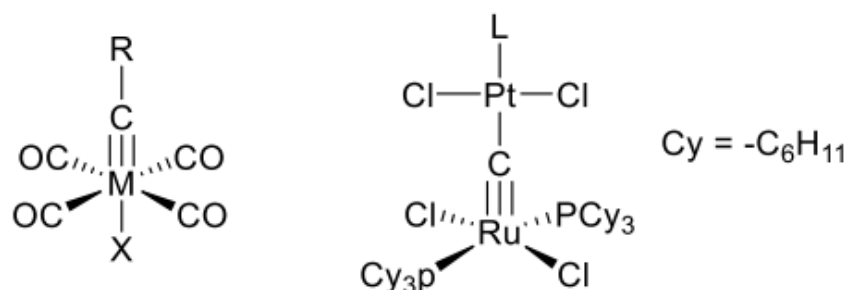
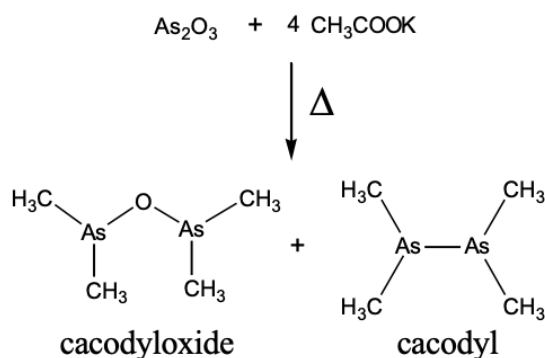


Figura 9. Ejemplos de complejos organometálicos con diferentes órdenes de enlace (Tomado y modificado de: <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/2321/Compuestos%20organomet%C3%A1licos%20de%20esta%20B1o%28IV%29%20hipervalente%20S%C3%ADntesis%20C%20caracterizaci%C3%B3n%20estructural%20y%20estudio%20de%20la%20naturaleza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>).

Históricamente, se considera que el primer compuesto organometálico fue óxido de kakodilo, un compuesto organo-arsénico. Fue producido accidentalmente por el químico francés Louis Cadet en 1760 cuando trabajaba en tintas. Calentó óxido de arsénico y acetato de potasio (Figura 10) y obtuvo un líquido oleoso de color marrón rojizo, conocido como líquido de humo de Cadet (Mejía, 2018).



gr. „kakodes“ = bad smell

Figura 10 Consiste principalmente en cacodilo y óxido de cacodilo (Figura 10.1.2). En el cacodilo, hay un enlace As-As y dos grupos metilo unidos a cada átomo As.

(Tomado y modificado de:

[https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Inorg%C3%A1nica/Qu%C3%ADmica_de_Coordinaci%C3%B3n_Inorg%C3%A1nica_\(Landskron\)/10%3A_Qu%C3%ADmica_Organomet%C3%A1lica/10.01%3A_Antecedentes_hist%C3%B3ricos_e_introducci%C3%B3n_a_los_metalocenos#:~:text=El%20primer%20compuesto%20organomet%C3%A1lico%20fue,1760%20cuando%20trabajaba%20en%20tintas](https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Inorg%C3%A1nica/Qu%C3%ADmica_de_Coordinaci%C3%B3n_Inorg%C3%A1nica_(Landskron)/10%3A_Qu%C3%ADmica_Organomet%C3%A1lica/10.01%3A_Antecedentes_hist%C3%B3ricos_e_introducci%C3%B3n_a_los_metalocenos#:~:text=El%20primer%20compuesto%20organomet%C3%A1lico%20fue,1760%20cuando%20trabajaba%20en%20tintas)).

El primer compuesto organoestaño fue preparado en 1849 por Edward Frankland cuando hizo reaccionar yoduro de etilo con estaño metálico a temperaturas que oscilaban entre 150 y 200°C (Figura 11). Frankland se encontraba investigando la reacción de este haluro de alquilo con una gran variedad de metales, cuando observó que el estaño provocaba la descomposición del yoduro de etilo generando un aceite de color amarillento, el cual cristalizaba al disminuir la temperatura. En los años posteriores, Frankland publicó que los cristales amarillos aislados correspondían al complejo dietildiyodoestaño (IV) (Ceballos 2014).

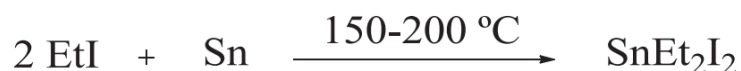


Figura 11. Síntesis del primer complejo organoestánico (Tomado y modificado de: <https://burjcdigital.urjc.es/bitstream/handle/10115/12484/TESIS%20JESUS%20CEBALLOS%20TORRES%20CD.pdf?sequence=1>).

Fue hasta 1936 que el primer compuesto organoestaño fue utilizado comercialmente, empleado como estabilizante durante la síntesis de polímeros. Es así que, por casi 100 años, esta clase de compuestos no fueron utilizados, principalmente porque no existía una aplicación comercial. En 1940 cuando la industria plástica comenzó a expandirse, el cloruro de polivinilo (PVC) perdía estabilidad bajo la influencia del calor y la luz, dando lugar a la decoloración y fragilización de los mismos. Se encontró que por adición de derivados de mono y dialquilestaño se podía prevenir este tipo de inconveniente (Quintas 2016).

Para poder obtener complejos de organoestaño, desde su descubrimiento hasta la actualidad, se han desarrollado una amplia gama de métodos sintéticos para prepararlos:

- Uno de los más comunes está basado en la síntesis mediante reactivos de Grignard. Estas reacciones se caracterizan por requerir condiciones anhidras debido a la sensibilidad de los reactivos de Grignard frente al aire y la humedad.
- Metodologías más sencillas como la síntesis directa de compuestos organometálicos de estaño a través del uso de halogenuros orgánicos y del metal; este tipo de reacción, además de manipularse en condiciones sencillas en medio convencionales, ha demostrado ser una alternativa bastante viable por los buenos rendimientos que se obtienen con ligantes monohalogenados.
- Los complejos organometálicos de estaño como los derivados de ftalimidinas se obtienen, en general, de compuestos de estaño tetravalente que interaccionan de manera inter- o intramolecular con bases de Lewis como N, S y O, lo cual promueve el cambio en el número de coordinación del estaño tetravalente de la materia de partida. Esta interacción es de gran importancia, ya que se ha sugerido que es la responsable de la actividad biológica de estos compuestos.
- La preparación de derivados de estaño utilizando aminoácidos a partir de bases de Schiff es una de las estrategias más comunes, los complejos se forman mediante la preparación previa de la base de Schiff o mediante reacciones multicomponentes (Román, 2020; Mejía, 2018).

Las propiedades biocidas de los compuestos organoestañicos trisustituidos fueron descubiertas a fines de 1950 en el Instituto de Química Orgánica TNO (Utrecht, Holanda), teniendo su primera aplicación de importancia un año después, como ingrediente tóxico en conservantes de madera. El crecimiento en el consumo del tributilestaño (TBT) se debió a su empleo como conservante de textiles, papel, cuero y aditivo en pinturas por su acción como biocida. Este compuesto orgánico de estaño también se ha utilizado como acaricida, molusquicida, nematocida, ovidicida, repelente de roedores y fungicida, en algunos productos como alfombras, textiles, y suelos (Quintas 2016). En la misma década el uso de este tipo de compuestos también se incrementó de manera importante en las áreas relacionadas con la síntesis: en catálisis para la producción de espumas de poliuretano, en reacciones de transesterificación y en la reacción de vulcanización de siliconas (Gonzales, 2007).

Compuestos organoestaño en terapias contra el cáncer

En la literatura existe una gran cantidad de complejos de estaño (IV) derivados de bases de Schiff que han llamado la atención en vista de sus potenciales aplicaciones en medicina, química y biotecnología, por la actividad antitumoral *in vivo* e *in vitro* que presentan, por su actividad biocida, y desde el punto de vista de síntesis, análisis estructura, y estereoquímica (Gonzales, 2007).

La diversidad estructural de los metales de transición, que es considerablemente mayor en comparación con la del carbono, ha permitido el desarrollo de una gran cantidad de aplicaciones, como, la investigación y síntesis de compuestos organometálicos y de coordinación para el tratamiento y longevidad de pacientes con enfermedades crónicas como el cáncer (Osorio y morales, 2021).

Desde el descubrimiento en 1972 de que el derivado acetato de trifenilestaño (y no su análogo cloruro) impedía el crecimiento tumoral en ratones, una gran cantidad de derivados organoestaño han sido sintetizados y evaluados en ensayos *in vitro* e *in vivo* (Ceballos 2014).

A pesar de que la actividad antineoplásica de este tipo de compuestos se conoce desde hace muchos años, hoy en día, su mecanismo de acción antitumoral no se conoce con exactitud. De hecho, han sido implicados una gran cantidad de procesos a nivel celular para intentar explicar la alta actividad citotóxica de estos derivados de estaño, procesos como por ejemplo la inhibición en la síntesis de ADN y otras macromoléculas, la interacción directa del derivado organoestaño con la membrana celular o el aumento de la concentración intracelular de iones Ca^{2+} , procesos que darían lugar a activación de la maquinaria apoptótica y llevarían a la muerte celular mediante apoptosis (Ceballos 2014).

Los compuestos organometálicos de estaño de la familia 5, son compuestos de nueva síntesis, por lo que no existen antecedentes con respecto a sus efectos sobre la actividad proliferativa de las células; de igual manera no se conoce si tiene

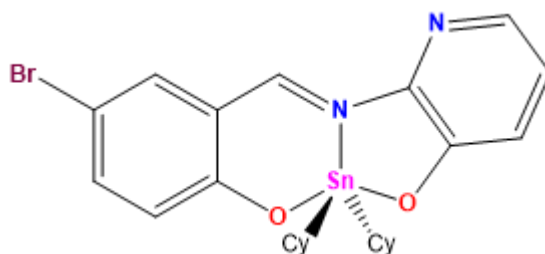
capacidad de inducir necrosis o apoptosis en líneas celulares de cáncer. Sin embargo, otros complejos organometálicos de estaño denominados 3a-3h, han sido evaluados *in vitro* sobre líneas celulares de cáncer humano: U-251 (glioblastoma), K-562 (leucemia mielógena crónica), HCT-15 (colorrectal), MCF-7 (mama), MDA - MB-231 (mama) y SKLU-1 (adenocarcinoma de pulmón humano), demostrando que poseen un efecto inhibitor de la proliferación en todas estas células tumorales (Tabla 2) (Rocha *et al.*, 2018).

Tabla 2. Concentración inhibitoria (IC_{50}) (μM) para los complejos 3a-3h en diferentes líneas celulares de cáncer humano, reportado por Rocha y Colaboradores. (Tomado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30504627/>)

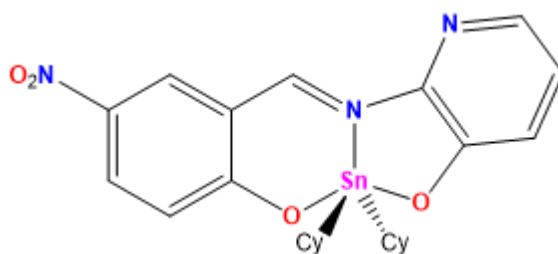
Compound	U-251	K-562	HCT-15	MDA-MB231	MCF-7	SKLU-1
3a	0.18±0.022	0.13±0.02	0.90±0.01	0.29±0.01	0.29±0.05	0.27±0.01
3b	0.21±0.005	0.11±0.007	0.86±0.03	0.34±0.07	0.33±0.05	0.33±0.01
3c	0.33±0.007	0.15±0.02	0.95±0.08	0.21±0.04	0.76±0.04	0.26±0.02
3d	0.53±0.01	0.53±0.02	2.7±0.3	1.28±0.06	1.26±0.03	0.76±0.01
3e	0.41±0.01	0.37±0.02	0.72±0.02	0.42±0.03	0.59±0.03	0.42±0.01
3f	0.15±0.019	0.18±0.01	1.12±0.07	0.36±0.03	0.73±0.04	0.37±0.05
3g	0.18±0.007	0.184±0.04	1.12±0.12	0.45±0.009	0.71±0.067	0.5±0.05
3h	0.49±0.02	0.34±0.01	1.0±0.03	0.44±0.01	0.66±0.08	0.47±0.03
<i>cis</i> -Platin	9.09±0.80	15.20±1.40	13.83±0.70	13.03±1.30	13.03±1.30	7.13±0.20
Topotecan	0.03±0.003	0.5±0.07	0.5±0.05	0.473±0.023 ⁵⁰⁾	0.1±0.02	2.0±0.1

Los compuestos organoestánicos de la familia 5, tienen un esqueleto base proveniente del compuesto 5f, derivado de un grupo funcional que contiene un enlace doble carbono-nitrógeno (también nombrado base Schiff) y anillos aromáticos. Los compuestos 5a y 5c tienen una modificación en el C5, que consisten en un Br (5a) y un grupo nitro (5c) (Figura 12).

10,10-Dicyclohexyl-5-bromo-1,6-diaza-10-stanna-9,11-dioxatetracycle[8.7.0.0^{1,8}0.^{12,17}]heptadeca-1,3,5,7,13,15-hexaene (**1d**) (**5a**).



10,10-Dicyclohexyl-5-nitro-10-stanna-1,6-diaza-9,11-dioxatetracycle[8.7.0.0^{1,8}0.^{12,17}]heptadeca-1,3,5,7,13,15-hexaene (**1h**) (**5c**).



10,10-Dicyclohexyl-1,6-diaza-10-stanna-9,11-dioxatetracycle[8.7.0.0^{1,8}0.^{12,17}]heptadeca-1,3,5,7,13,15-heptaene (**1a**) (**5f**).

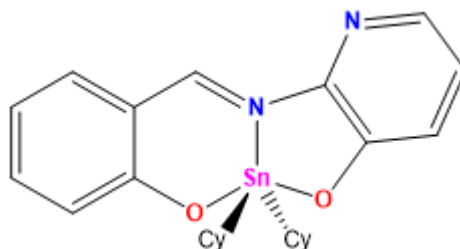


Figura 12. Estructuras químicas de los compuestos organometálicos de estaño de la familia 5.

A pesar de que no se ha establecido completamente el mecanismo por el cual los organometálicos de estaño (IV) ejercen sus actividades biológicas, se ha demostrado que poseen efecto antiproliferativo sobre una variedad de líneas celulares cancerígenas. Los limitados antecedentes con respecto a las actividades biológicas que puedan poseer este tipo de compuestos, soporta la idea de explorar sus mecanismos de acción que aporten los antecedentes para el diseño de fármacos contra el cáncer

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las personas que padecen de cáncer interactúan con medicamentos y tratamientos para eliminar la afección o atenuar el dolor producido. Sin embargo, en algunas ocasiones los tratamientos no tienen efecto, permitiendo el progreso de la enfermedad al punto de sucumbir con la vida del paciente. En la actualidad los compuestos utilizados son insuficientes y se necesita encontrar nuevos que tengan mayor efecto antitumoral, que potencialmente no dañen células sanas. Frente a estos antecedentes, han surgido diferentes estudios en donde se buscan nuevos compuestos que posean la capacidad de eliminar de forma eficiente y regulada a las células cancerosas.

JUSTIFICACIÓN.

El cáncer de mama provocó 685 000 decesos de mujeres a nivel mundial en el 2020. La generación de nuevos compuestos antineoplásicos es necesaria ya que

los tratamientos predecesores no siempre tienen el efecto antitumoral esperado. La orientación a la búsqueda y uso de compuestos organometálicos reside en que la información disponible sobre los derivados de estaño como lo son 5a, 5c y 5f es muy limitada, ya que se conoce sobre la síntesis de estos compuestos, pero no hay información detallada sobre su actividad nociva sobre células MDA-MB-231 (cáncer de mama). Por ello es importante la valoración sobre el efecto anticancerígeno y proapoptótico de estos compuestos organometálicos.

HIPÓTESIS.

Se ha descrito que los compuestos organometálicos tienen la capacidad de inducir un efecto antiproliferativo en células de diferentes tipos de cáncer, por lo que se espera que los compuestos de origen estaníico 5a, 5c y 5f ejerzan un efecto antiproliferativo y apoptótico sobre la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231.

OBJETIVOS.

- Objetivo general.

Evaluar la actividad antiproliferativa, citotóxica (necrótica) y apoptótica de los compuestos organoestánicos 5a, 5c, 5f en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231.

- Objetivos particulares.

- Evaluar la actividad antiproliferativa de los tres compuestos organometálicos 5a, 5c y 5f en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231, determinando la concentración que permita disminuir un 50% el número celular (IC_{50}).
- Determinar el efecto citotóxico (necrótico) de los compuestos 5a, 5c y 5f sobre las células de cáncer de mama MDA-MB-231, mediante la presencia de la enzima LDH en los sobrenadantes de los cultivos celulares.
- Identificar los cambios morfológicos correspondientes a la apoptosis (condensación de la cromatina, fragmentación nuclear, cuerpos apoptóticos) que inducen los compuestos 5a, 5c y 5f en cultivos de células MDA-MB-231.
- Determinar la presencia de la apoptosis en células MDA-MB-231 tratadas con los organometálicos 5a, 5c y 5f, mediante la inmunodetección de la caspasa-3 activa.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Cultivo de la línea celular MDA-MB-231.

Las células de cáncer de mama MDA-MB-231 se obtuvieron de *American Type Culture Collection* (ATCC, USA) y se cultivaron en cajas Petri de 100 x 20 mm

(Pirex, USA) con 10 ml de RPMI (Sigma, USA) con L-glutamina, rojo fenol bencilpenicilina, con 5% de suero de neonato de ternera (SNT). Manteniendo el cultivo en incubadora (Nuair, US) a una temperatura constante de 36 °C con 5% de CO_2 y con una atmosfera húmeda.

Preparación de los compuestos.

Los compuestos (5a, 5c y 5f) fueron suministrados por Dra. Elizabeth Gómez del Instituto de Química, UNAM. Se pesaron en una balanza analítica tomando 1000 µg de cada uno y solubilizándolos en 200 µl de Dimetil sulfóxido (DMSO) (J.T Baker, USA) con la intención de obtener una concentración de 5 µg por cada 1 µl. Fueron preparadas alícuotas de 10µl y mantenidas a -20°C para asegurar que no se pierda la actividad de los compuestos (sólo se descongelaban las alícuotas necesarias para trabajar).

Efecto sobre el número celular. Técnica de incorporación de cristal violeta.

Las células MDA-MB-231 se cultivan en placas de 96 pozos con una densidad de 7,000 células por pozo con 100 µl de RPMI al 5% de SNT, se incubaron por 24h en incubadora a 37 °C con 5% de CO_2 y atmosfera húmeda. Pasadas 24h se retiró el medio y las células fueron estimuladas con concentraciones seriadas: 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625, 0.078125, 0.0390625, 0.01953125 µg/mL, con cada compuesto para determinar un rango de IC_{50} . 24h después se retiró el medio y se colocó rápidamente 40 µL de glutaraldehído (Sigma, USA) al 1.1% por pozo, por 20 min en agitación constante para fijar las células; se lavó 3 veces con agua corriente, se dejó secar al aire, posteriormente se añadieron 40 µL de cristal violeta (Sigma, USA) al 0.1% en ácido fórmico por 20 min en agitación constante para teñir las células.

Se eliminó el exceso de colorante lavando la placa 3 veces a chorro de agua corriente, dejando secar la placa al aire. Después de secarse, se colocaron 100 µl de ácido acético al 10% por 20 min en agitación constante para solubilizar el colorante incorporado. Sin retirar el ácido acético, se determinó la absorbancia en un lector de placas a 590 nm. Los resultados fueron graficados y la IC_{50} fue calculada en Excel 2019 software.

Determinación de la muerte celular necrótica mediante la detección de la enzima lactato deshidrogenasa.

Se cultivó la línea celular MDA-MB-231 en placas de 96 pozos con una densidad de 7000 células por pozo con 100 µl de RPMI al 5% de SNT, se incubaron por 24h a 37°C, 5% de CO_2 y con atmósfera húmeda. Se retiró el medio y se colocaron las siguientes condiciones; blanco (pozo sin células), control (pozo con células, pero sin tratamiento), control positivo (células tratadas con triton X-100), control vehículo (células tratadas con DMSO) y las concentraciones de los diferentes compuestos. Pasado 24h se tomaron 70µl del sobrenadante de cada pozo transfiriéndolos a una

placa cónica de 96 pozos, se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min a 4°C. Posteriormente se tomaron 40µl del sobrenadante y colocaron en una placa de 96 pozos, adicionándole 40µl de reactivo para LDH (*Cyto Tox 96 Nonradiactive Cytotoxicity assay*) a cada pozo. La placa fue cubierta protegiéndola de la luz a temperatura ambiente por 25 min y posteriormente se le agregó a cada pozo 40 µl de la solución de paro, para proseguir con la lectura de absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro (Epoch Biotek, USA). Los datos obtenidos se procesaron en Microsoft Excel 2010.

Evaluación de la morfología celular.

Se sembraron células de la línea celular MDA-MB-231 en placas de 96 pozos con densidad de 7,000 células por pozo con 100µl de RPMI con SNT, se incubaron a 37°C con 5% de CO_2 y atmosfera húmeda por 24h. Transcurridas 24h se retiró el medio de cultivo y se realizaron los siguientes tratamientos: control (pozos con células, pero sin ningún tratamiento), colchicina 4µl por cada 1000µl de RPMI (control positivo para apoptosis), control vehículo (células tratadas con 1µl de DMSO por cada 1000µl RPMI) y las respectivas concentraciones, se mantuvo la placa en incubación por 24h en las mismas condiciones anteriores.

Pasadas 24h, se retiró el medio y sucesivamente se fijó con 30µl de paraformaldehído al 2% en PBS por 20 min en agitación constante, se realizaron 3 lavados de 3 min. cada uno con 100 µl de PBS. Al término se retiró el ultimo lavado y se permearon las células con 100µl de tritón al 2% en PBS (se colocaron sobre hielo para mantener una temperatura de 4°C) por 5 min. Se realizaron 3 lavados con PBS, Por último, se agregó 30µl del colorante DAPI a cada pozo durante 1 min. se prosiguió con 3 lavados con PBS y dejando 100µl del mismo. Posteriormente la placa se observó a través de un microscopio invertido de epifluorescencia (Nikon Eclipse) y se capturaron las imágenes con una cámara digital.

Determinación de la apoptosis mediante la inmunodetección de caspasa-3 activa a nivel de microscopía de fluorescencia.

Se sembraron células MDA-MB-231 en placas de 96 pozos con densidad de 7,000 células por pozo con 100µl de RPMI con SNT, se incubaron a 37°C con 5% de CO_2 y atmosfera húmeda por 24h. Después de cumplido 24h se retiró el medio y se cambió por un medio nuevo, designando pozos para controles y estímulos: control (pozos con células, pero sin ningún tratamiento), colchicina 4µl por cada 1000µl de RPMI (control positivo para apoptosis), control vehículo (células tratadas con 1µl de DMSO por cada 1000µl RPMI) y las respectivas concentraciones, se mantuvo la placa en incubación por 24h en las mismas condiciones anteriores.

Transcurridas 24h, se retiró el medio y rápidamente fue fijado con 30µl de paraformaldehído al 2% en PBS por 20 min en agitación constante, se lavó 3 veces por 3 min con 100µl de PBS. Al retirar el último lavado se permearon las células con 100µl de tritón al 2% en PBS (se colocaron sobre hielo para mantener una

temperatura de 4°C) por 5 min se realizaron 3 lavados con PBS, posteriormente se incubaron con anticuerpo primario anti-caspasa-3 activa (Abcam) 1 en 200 en PBS. Se colocaron 30µl por pozo a 4°C toda la noche en cámara húmeda. Posteriormente se realizaron 3 lavados y después fueron añadidos 30µl por pozo (1/500) de anticuerpo secundario a temperatura ambiente, protegido de la luz por 2h y posteriormente se realizaron 3 lavados con PBS.

Por último, se agregó 30µl del colorante DAPI a cada pozo, transcurrido 1 min se realizaron 3 lavados con PBS y dejando 100µl del mismo. Se prosiguió a observar las preparaciones bajo un microscopio invertido con epifluorescencia (Nikon Eclipse) y se capturaron las imágenes con una cámara digital.

RESULTADOS

Actividad antiproliferativa.

Con la intención de establecer si los compuestos 5a, 5c y 5f afectan el potencial proliferativo de las células tumorales, cultivos de la línea celular tumoral de mama MDA-MB-231 fueron tratadas con los compuestos 5a, 5c y 5f y el número celular fue determinado mediante la técnica de tinción con cristal violeta (Figura 13). La concentración requerida del compuesto para inducir un decremento en el número celular del 50% (IC_{50}) fue calculada para cada línea celular mediante una regresión lineal.

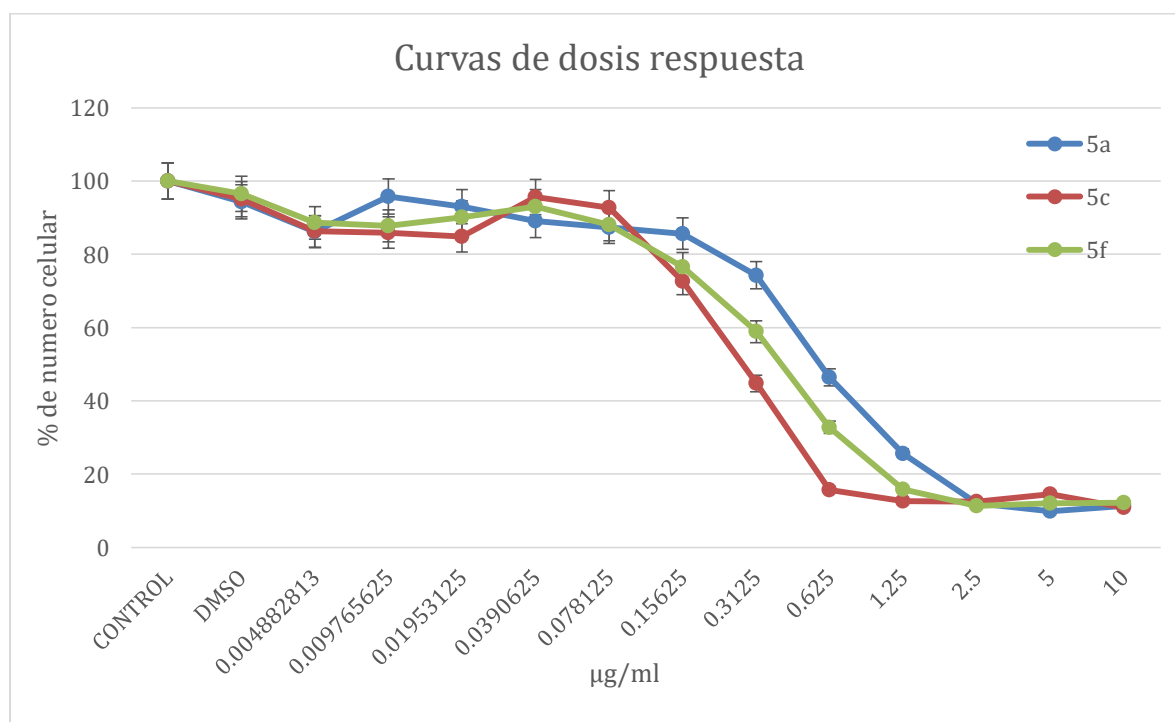


Figura 13. Curvas representativas de la actividad antiproliferativa de cada uno de los compuestos sobre la línea celular MDA-MB-231. Las células fueron sembradas en placas de 96 pozos y estimuladas por 24 hrs con cada uno de los compuestos. El número celular fue evaluado con la

técnica cristal violeta. El gráfico representa tres ensayos independientes con al menos 6 repeticiones cada una ($p < 0.05$ vs control, ANDEVA).

Los resultados obtenidos mostraron que el efecto de los organometálicos sobre la línea celular MDA-MB-231 es dosis dependiente, es decir, que a mayor concentración menor número celular. Los tres compuestos 5a, 5c y 5f, afectaron la actividad proliferativa de las células, con concentraciones de IC_{50} s que no superan 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Tabla 3). Los datos muestran que el compuesto 5c ejerce un mayor efecto antiproliferativo en comparación a 5a y 5f. Contrariamente, las células muestran una menor sensibilidad al compuesto 5a.

Tabla 3. Concentraciones necesarias para abatir el 50% de la población de la línea de cáncer de mama MDA-MB-231.

Compuestos organometálicos	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	IC_{50} (μM)
5a	0.51	0.86
5c	0.31	0.57
5f	0.49	0.985

Actividad necrótica mediante detección de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), en sobrenadantes de cultivos celulares.

Para conocer si los compuestos 5a, 5c y 5f ejercen un efecto necrótico sobre las células MDA-MB-231, se evaluó la presencia de la enzima LDH en los sobrenadantes de las células tratadas con los diferentes compuestos. Para ello, se trataron las células con las respectivas concentraciones de IC_{50} para cada compuesto, así como un control positivo de la pérdida de la integridad de la membrana plasmática. Para esto último, las células se trataron con Tritón X-100 al 10% y representó el 100% LDH; estos valores fueron contrastados con los obtenidos de los sobrenadantes de los cultivos tratados con los compuestos 5a, 5c y 5f. Los datos obtenidos en este ensayo demostraron que los compuestos no ejercen un efecto necrótico significativo (Figura 14).

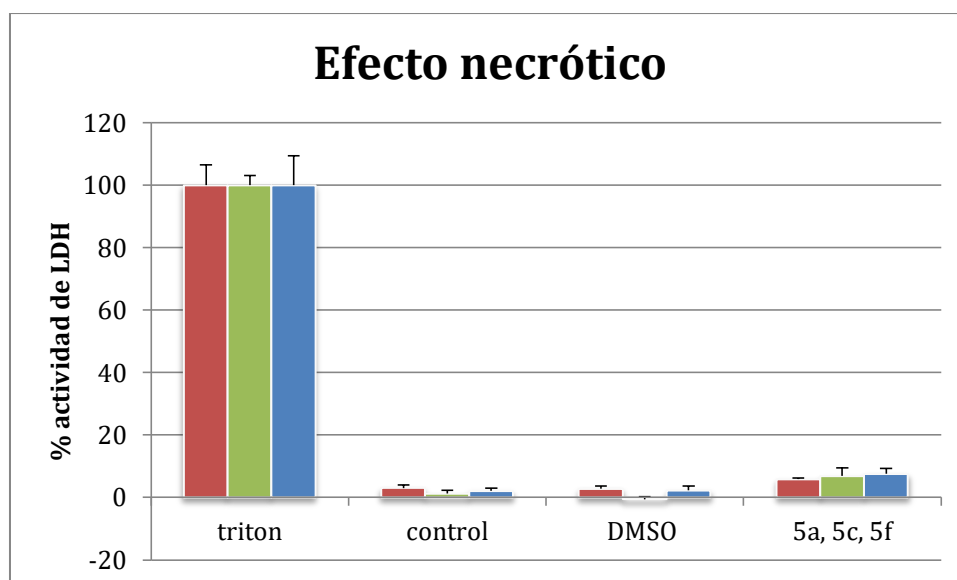


Figura 14. Porcentaje de actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en la línea celular MDA-MB-231 tratado con los compuestos organometálicos 5a, 5c y 5f. Se representa el tritón como el control positivo que muestra la máxima actividad de LDH. El gráfico representa tres ensayos independientes con al menos 6 repeticiones cada una ($p < 0.05$ vs control, ANDEVA).

Los valores correspondientes al porcentaje de la presencia de la enzima LDH en los sobrenadantes de los cultivos celulares tratados con los compuestos 5a, 5c y 5f, fueron menores al 8% (Tabla 4). Éstos no mostraron diferencia significativa con respecto a los encontrados en los sobrenadantes de las células control y de las células tratadas con el vehículo (DMSO). Lo anterior, evidencia que los compuestos no inducen la ruptura de la membrana citoplasmática, lo que señala que no generan necrosis.

Tabla 4. Porcentajes de actividad de la enzima LDH en los sobrenadantes de la línea celular MDA-MB-231. Tratados con su correspondiente IC_{50} .

Compuesto organometálico	Control	DMSO	IC_{50}
5a	3.5	2.8	5.2
5c	1.2	0	6.8
5f	2.1	2.2	7.5

Morfología apoptótica.

Para conocer si los diferentes compuestos con los que fueron tratadas las células MDA-MB-231 inducen cambios morfológicos sobre las células, se realizó un análisis tanto de la morfología general como del núcleo celular. Los resultados mostraron que las células correspondientes a las condiciones del control y del vehículo (DMSO) poseen una morfología alargada y se encuentran adheridas al plato de cultivo. La tinción del núcleo con el colorante fluorescente DAPI, permitió observar que en estas condiciones, las células poseen cromatina ampliamente distribuida en

el nucleoplasma, incluso se observan algunas figuras mitóticas (figuras 15-17 flecha vacías). Por otro lado, se observó que el tratamiento con los compuestos 5a, 5c y 5f provoca cambios en las células, como contracción celular y nuclear. Incluso en algunos casos se observaron la formación de ampollas en la membrana celular, evidenciando morfología correspondiente al proceso de apoptosis (Figuras 15-17 flechas).

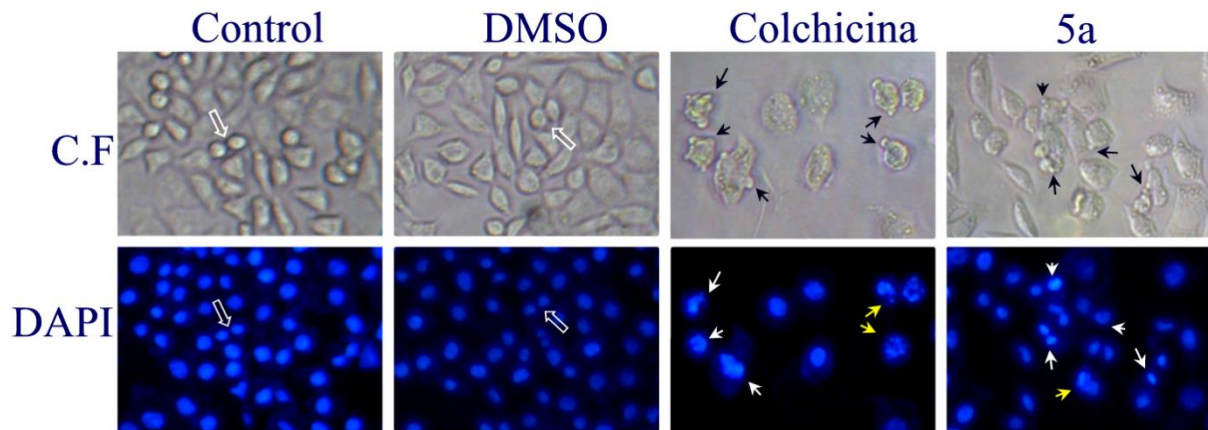


Figura 15. Micrografías ópticas del efecto del compuesto 5a en la morfología celular de las células MDA-MB-231. El contraste de fases muestra la morfología general de las células. Las flechas indican, que tras el tratamiento con el compuesto y en el control positivo para apoptosis, colchicina, existe una compactación celular, así como la formación de cuerpos apoptóticos (flechas), mientras que la tinción DAPI se observa la compactación de la cromatina (flechas blancas) y fragmentación nuclear (flechas amarillas). En el control y en el DMSO, se logran distinguir células en mitosis (flechas vacías). (Objetivo 10X; escala: 1:8)

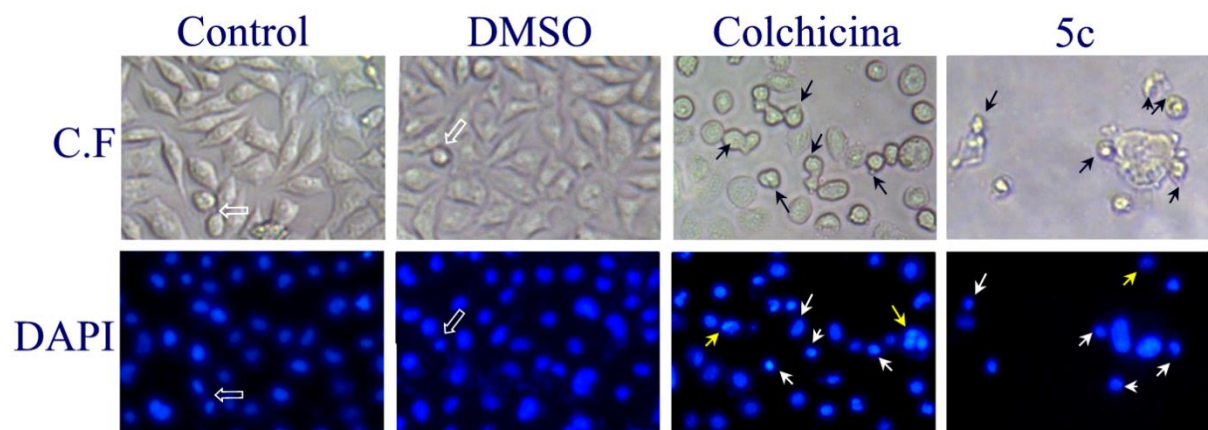


Figura 16. Micrografías ópticas del efecto del compuesto 5c en la morfología celular de las células MDA-MB-231. El contraste de fases muestra la morfología general de las células. Las flechas indican algunas células tratadas con el compuesto y con colchicina que muestran compactación celular, así como la formación de cuerpos apoptóticos, mientras que La tinción con DAPI evidencia la compactación de la cromatina (flechas blancas) y fragmentación nuclear (flechas amarillas). En el control y en el DMSO, se logran distinguir células en mitosis (flechas vacías). (Objetivo 10X; escala: 1:8).

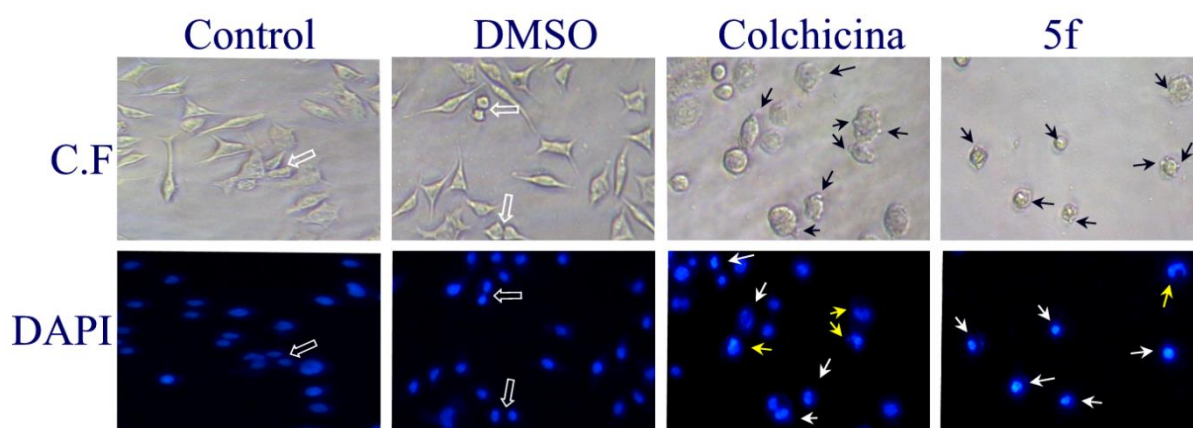


Figura 17. Micrografías del efecto del compuesto 5f en la morfología celular de las células MDA-MB-231. El contraste de fases muestra la morfología general de las células. Las flechas indican, en las condiciones de tratamiento y control positivo colchicina, las retracciones de las proyecciones citoplasmáticas, así como la formación de cuerpos apoptóticos, mientras que la tinción DAPI se observa la compactación de la cromatina (flechas blancas) y fragmentación nuclear (flechas amarillas). En el control y en el DMSO, se logran distinguir células en mitosis (flechas vacías). (Objetivo 10X; escala: 1:8).

Inmunodetección de caspasa-3 activa a nivel de microscopía de fluorescencia.

Con la finalidad de definir si los cambios morfológicos que inducen los 3 compuestos organometálicos corresponden a la apoptosis, se analizó la presencia de la caspasa-3 activa. Para ello, fueron sembradas 7000 células en placas de 96 pozos y estimuladas con sus respectivas IC_{50} por 24h. Las características morfológicas de la apoptosis como: la condensación de la cromatina, fragmentación nuclear, redondeamiento de la célula y retracción citoplasmática fueron observadas en las células tratadas con los organometálicos. Adicionalmente, la inmunodetección de la caspasa-3 activa, permitió observar que las células tratadas con los compuestos presentaron marca positiva a la inmunodetección, lo que permitió definir que en efecto, estos compuestos inducen una muerte celular mediada por la apoptosis (Figura 18, 19 y 20).

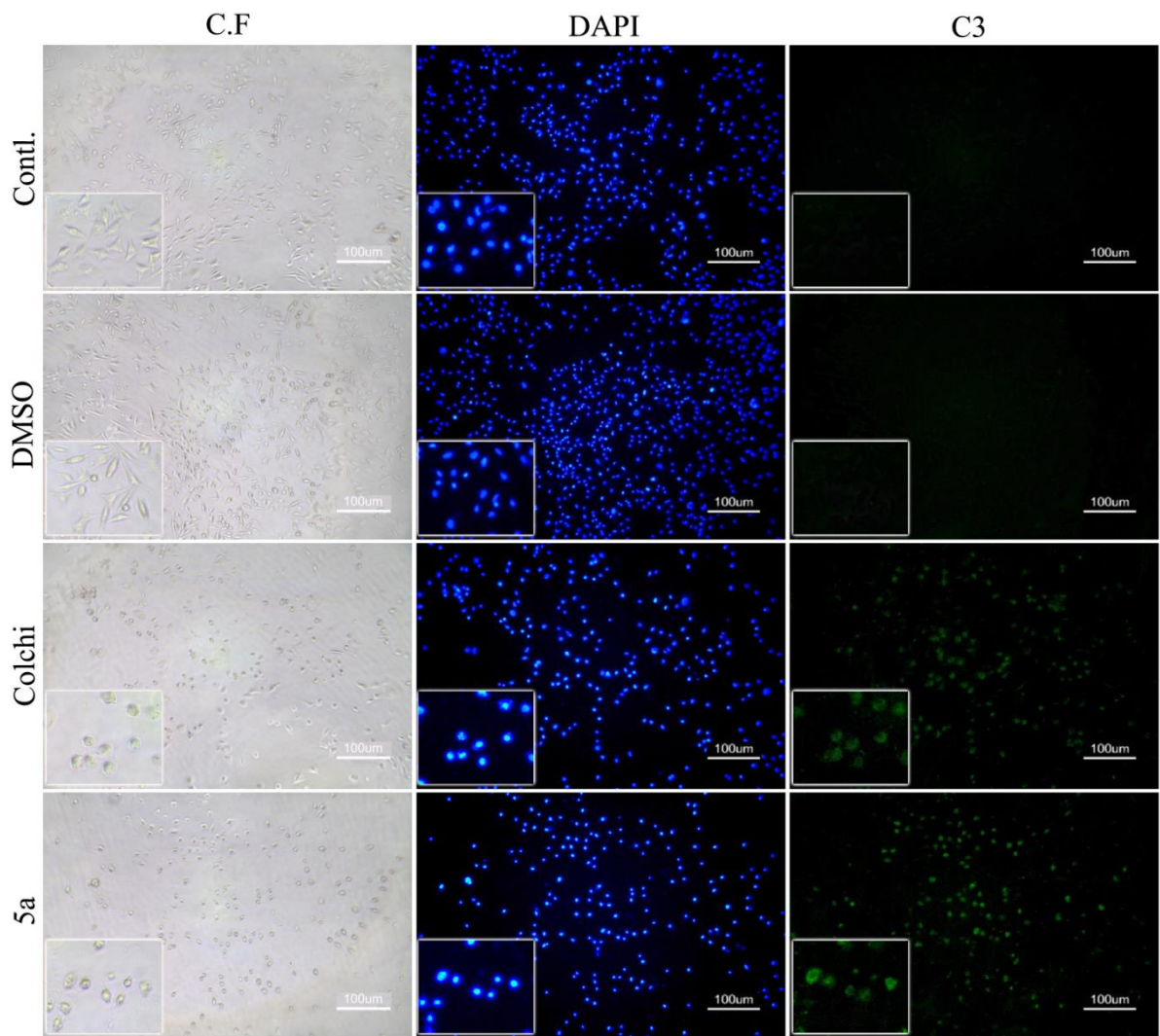


Figura 18. Inmunodetección de la caspasa-3 activa en células MDA-MB-231 tratadas con el compuesto 5a. Las células tratadas con el compuesto muestran compactación celular (CF), contracción nuclear (DAPI) y marca positiva a la presencia de la caspasa-3 activa, evidenciando a la apoptosis. (Objetivo 10X; imagen insertada la: 1:8).

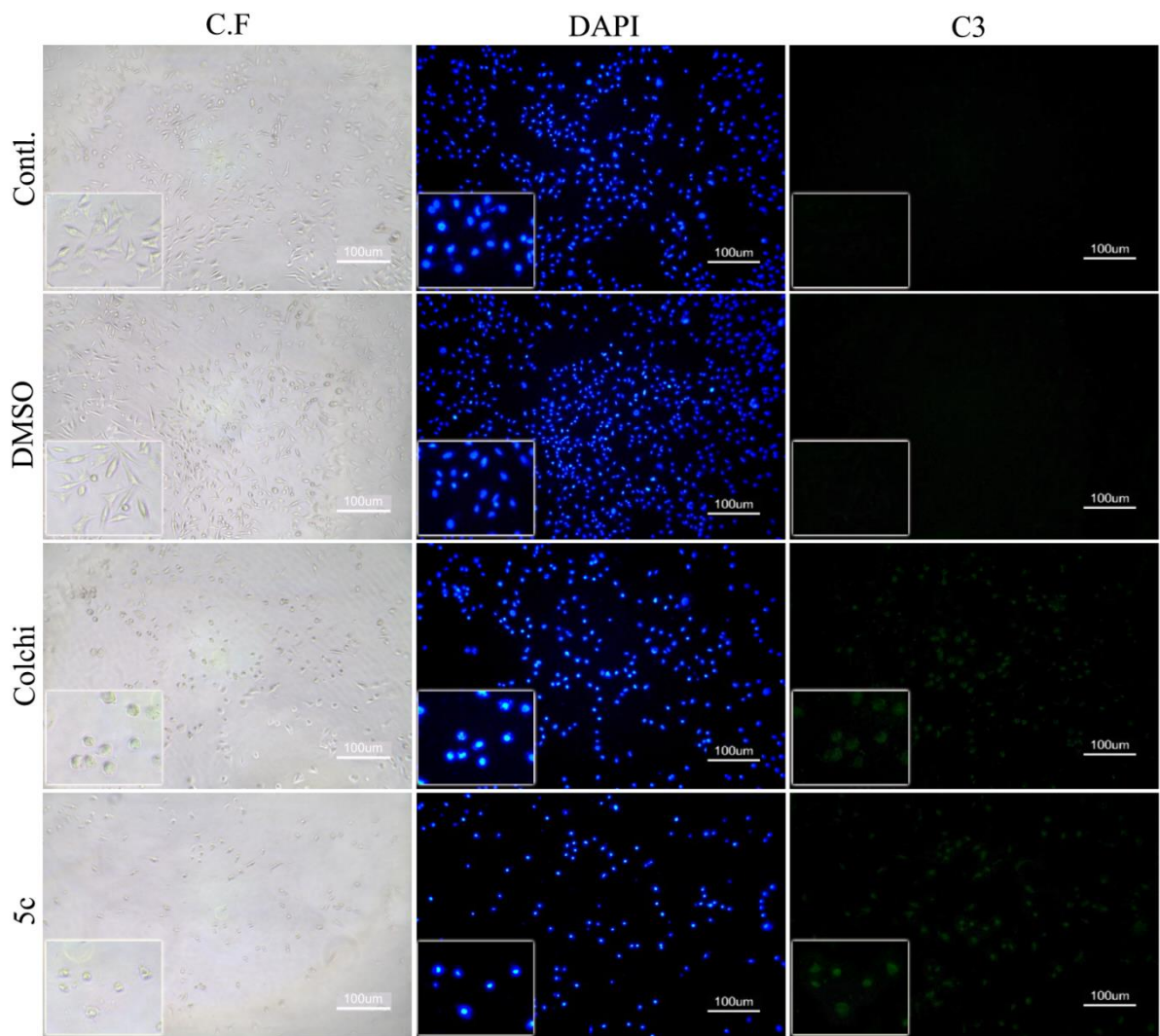


Figura 19. Detección de la proteasa caspasa-3 activa en células MDA-MB-231 tratadas con el organometálico 5c. Se aprecia el efecto del compuesto sobre la morfología celular como son condensación celular (CF), compactación de nuclear (DAPI) y marca positiva para la caspasa-3 activa. Estas características también son evidentes en las células tratadas con colchicina (Colchi), que es un inductor de apoptosis. (Objetivo 10X; imagen insertada la: 1:8).

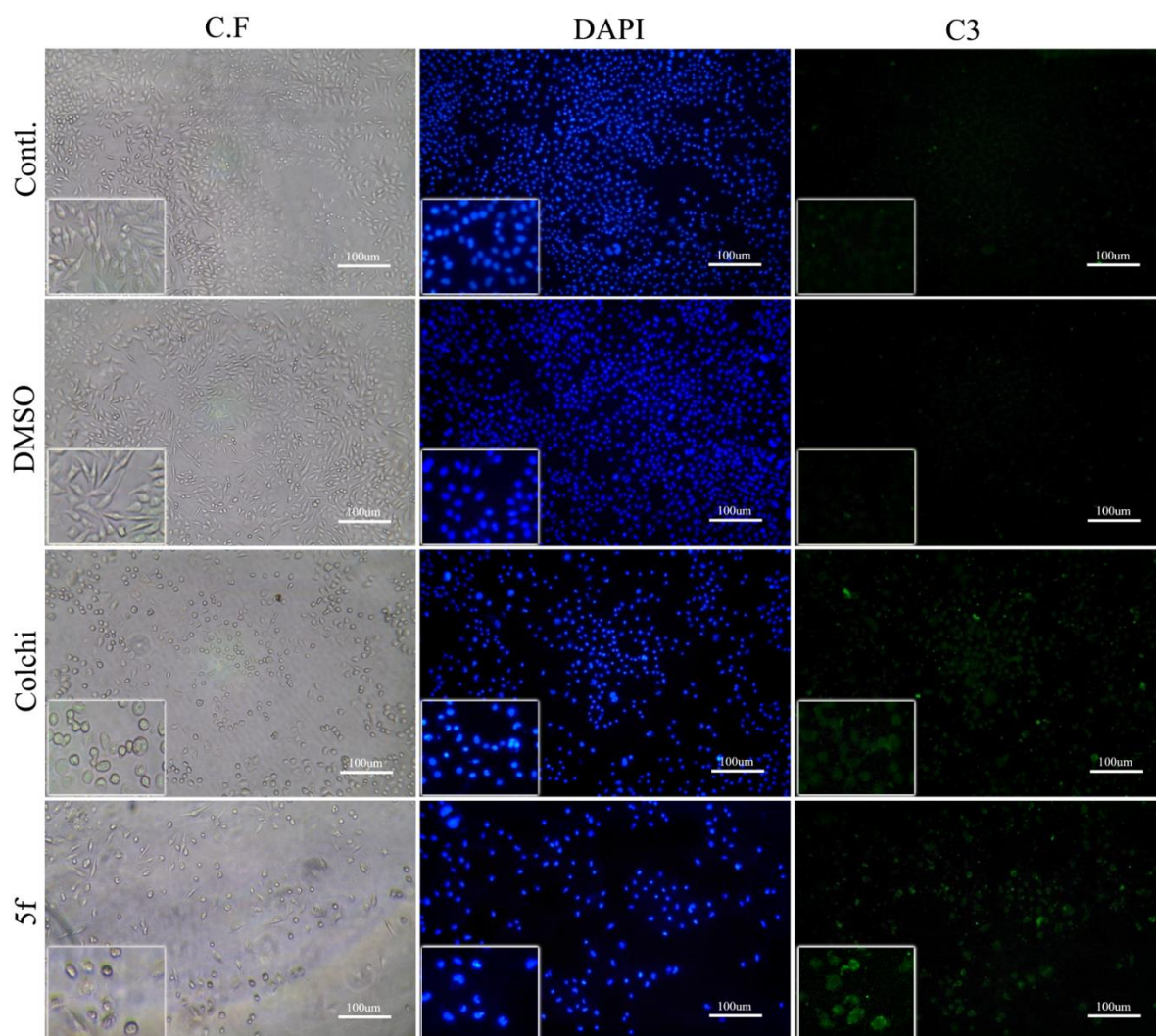


Figura 20. Micrografías ópticas de la inmunodetección de caspasa-3 activa. Se muestra el efecto del compuesto 5f sobre la morfología (CF) y la condensación de la cromatina (DAPI), así como de la presencia de la caspasa-3 activa sobre la línea celular MDA-MB-231. Se sembraron 7,000 células por pozo, tratadas con sus correspondientes IC_{50} por 24 hrs, fijadas y marcadas con DAPI y anticuerpo anti-caspasa-3 activa. (Objetivo 10X; imagen insertada la: 1:8).

Los resultados obtenidos en las figuras 18, 19 y 20 establecen que los compuestos organometálicos 5a, 5c y 5f indujeron cambios en la morfología de la línea celular MDA-MB-231. Estos cambios corresponden a las características propias de la apoptosis, tales como: condensación y fragmentación de la cromatina, retracción de las proyecciones citoplasmáticas, redondeamiento de la célula, formación de ampollas o cuerpos apoptóticos. De igual manera se pudo observar la marca positiva a la inmunodetección de la caspasa-3 (efectora de la muerte apoptótica), en las células con los cambios morfológicos mencionados.

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

La lucha contra el cáncer es uno de los campos de la investigación actual que se encuentra en continuo desarrollo en los últimos años, debido al creciente aumento de la extensión de esta enfermedad y que forma parte de las principales causas de muerte en el mundo.

El cáncer, considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente, que conduce a la formación de agregados que crecen dañando tejidos vecinos, nutriéndose del organismo y que tiene la capacidad de migrar e invadir tejidos lejanos, donde encuentran un nicho apropiado para continuar su crecimiento, originan una metástasis, que es la principal causa de muerte de los individuos afectados (Sánchez, 2013). En la búsqueda de tratamientos para combatir el cáncer, se involucran elementos que tengan efectos toxicológicos, como lo pueden ser los metales de transición; un ejemplo conocido, son los compuestos de platino, que tienen gran especificidad para enlazarse con el N7 de las guaninas del ADN, torciendo la doble hélice e impidiendo la replicación de éste (Ruiz, 2010).

Entre los compuestos no basados en metales de platino con actividad antitumoral, se ha prestado especial interés a los compuestos organoestánicos, que representan una opción atractiva debido a sus productos citostáticos y toxicológicos superiores en comparación con otros fármacos contra el cáncer, incluidos carbo-platino, 5-fluorouracilo, doxorrubicina y compuestos similares (Galvan *et al.*, 2015).

En el presente trabajo, se ha llevado a cabo el análisis del comportamiento de las células de cáncer de mama MDA-MB-231 al ser tratadas con los compuestos organoestánicos 5a, 5c y 5F. Los resultados han demostrado que los compuestos utilizados provocan el abatimiento celular de una manera dosis dependiente. Los datos indican que los compuestos 5a, 5c y 5f poseen una IC_{50} con concentraciones 0.51, 0.31, 0.49 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Estos compuestos son de síntesis reciente, por lo que, hasta el momento no se encuentran más reportes publicados acerca de los mismos. Sin embargo, existen datos generales de los compuestos organoestánicos (IV) que ocupan un lugar importante en la quimioterapia del cáncer, debido a su potencial terapéutico y a su carácter inductor de la apoptosis (Pellerito *et al.*, 2005).

Adicionalmente, se ha observado que en los complejos estudiados el fragmento organoestaño (IV) se enlaza a los grupos fosfatos del ADN, al contrario de lo que ocurre con los complejos de platino que se unían al N7 de las guaninas (Ruiz, 2010). Esta unión de los restos de estaño a los grupos fosfato altera el metabolismo intracelular de los fosfolípidos del retículo endoplásmico. Aún no se ha llegado a una conclusión clara sobre el mecanismo de acción de estos compuestos, pero sí se ha determinado que la actividad biológica de los mismos depende del número, labilidad

y tipo de ligandos salientes enlazados al átomo de estaño, así como del número y tipo de ligandos alquilo o arilo que tienen enlazados (Ruiz, 2010).

Según reportes de Galván y colaboradores a través de derivados di butílicos de la pirodoximina y de salicilaldehídos sustituidos para proporcionar complejos organoestánicos(IV) 1a-h que incorporan sustituyentes con diferente carácter electrónico en el anillo aromático, donde se esperaba que esta variación influyera en la actividad citotóxica. Los compuestos de organoestaño(IV) 1a-h en solución, demostraron en pruebas un efecto citotóxico en las líneas celulares de cáncer U-51(glioblastoma), PC-3 (próstata), k-562 (cáncer crónico de leucemia mielógena), HCT-15 (carcinoma colorrectal humano), MCF-7 (carcinoma de mama humano), SICLU-1 (cáncer de pulmón no microcítico) y MDA-MB-251 (carcinoma de mama humano) superior a la del *cis*-platino (Galvan *et al.*, 2015). Los datos de citotoxicidad de los compuestos de ensayo (1a-h) son del mismo orden de magnitud, y un cambio en el patrón de sustitución del ligando no mejora significativamente la actividad citotóxica. Sin embargo, una inspección más detallada de los datos muestra que, con respecto a la línea celular de leucemia humana k-562 los compuestos con grupos metoxi, NO_2 y *t-bu* en el anillo aromático tienen una citotoxicidad mayor que su homólogo que contiene átomos de halógeno en el anillo aromático (Galvan *et al.*, 2015).

Como ya se mencionó antes aún no se sabe con certeza qué tipo de mecanismos son los encargados de efectuar la actividad para inducir apoptosis en líneas celulares cancerígenas con los complejos de estaño (IV). En el caso de los organoestánicos 5a, 5c y 5f, se pudo observar que poseen la capacidad de generar cambios morfológicos en las células MDA-MB-231, ya que al ser estimuladas por los compuestos se presenta: la contracción celular, compactación de la cromatina e incluso la formación de cuerpos apoptóticos, características morfológicas de una muerte celular por apoptosis. Adicionalmente, se evidenció que, tras el tratamiento con los compuestos, las células cancerígenas empleadas en el presente trabajo muestran la presencia de la proteasa caspasa-3 en su forma activa, lo que permitió definir que los compuestos 5a, 5c y 5f poseen la capacidad de inducir apoptosis. Otro dato importante que arrojan los resultados obtenidos es que los compuestos 5a, 5c y 5f, no inducen necrosis, ya que al realizar el análisis de la presencia de la enzima LDH en los sobrenadantes de las células tratados, se encontró que las concentraciones porcentuales fueron menores al 8%, esto comprueba que la actividad antiproliferativa es consecuencia de una muerte celular apoptótica y no por una necrosis.

Los resultados que hemos obtenido en el presente trabajo, evidencian que el bromo presente en el compuesto 5a, no afecta su actividad antiproliferativa, comparándolo con el compuesto base 5f. Contrariamente el compuesto 5c, cuya modificación corresponde a la adición de un grupo nitro, presentó una mayor capacidad de

disminuir el número celular. Lo que indica que, dependiendo del grupo funcional agregado, los compuestos organometálicos de la familia 5, pueden modificar su actividad antiproliferativa.

Estos resultados generan una fuerte relevancia de los compuestos organometálicos derivados de estaño que se pueden tomar como precursores de nuevos fármacos para el uso de tratamientos que presenten una modulación de selectividad y baja toxicidad.

CONCLUSIONES.

Los compuestos de organoestaño 5a, 5c y 5f tienen efecto dosis dependiente que afecta al número celular de la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231.

Los valores de las IC_{50} obtenidos, evidenciaron que el compuesto 5c posee una mayor actividad antiproliferativa ($0.31\mu\text{g/ml}$), con respecto a los compuestos 5a ($0.51\mu\text{g/ml}$) y 5f ($0.49\mu\text{g/ml}$).

Los compuestos organometálicos 5a, 5c y 5f no inducen necrosis en las células MDA-MB-231.

Los compuestos organometálicos 5a, 5c y 5f producen compactación de cromatina, fragmentación nuclear y la formación de cuerpos apoptóticos en la línea celular MDA-MB-231, evidenciando la presencia de la muerte celular apoptótica.

Las células MDA-MB-231 son inducidas a una muerte celular apoptótica mediada por caspasa-3, al ser tratadas con los compuestos 5a, 5c y 5f.

BIBLIOGRAFÍA.

1. ACS (2020), Equipo de redactores y equipo de editores médicos de la Sociedad Americana Contra El Cáncer: noviembre 20, 2020. En línea: (www.cancer.org/cancer/acs-medical-content-and-news-staff.html)
2. Amando Luna-López, Norma Edith López-Diazguerrero, Viridiana Yazmín González-Puertos, Francisco Triana-Martínez, Mina Königsberg Fainstein (2008), EL FANTÁSTICO MUNDO DE LA PROTEÍNA Bcl-2, Departamento de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F, en línea: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2008/reb083d.pdf>
3. American Cancer Society (2019), Riesgo y prevención del cáncer de seno, Equipo de redactores y equipo de editores médicos de la American Cancer Society, en línea: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/9018.00.pdf>
4. Ana María Gagnetten, Alba Imhof, María del Rocío Marini, Juan Marcelo Zabala, Pablo Tomas, Patricia Amavet, Laura Ravera, Nora Ojea (2015), Biología conceptos básicos, Universidad Nacional del Litoral, Secretaría Académica, Dirección de Articulación, Ingreso y Permanencia, en línea: https://www.unl.edu.ar/ingreso/cursos/biologia/wp-content/uploads/sites/9/2016/11/BIO_04.pdf.pdf
5. Arturo Gonzales Hernández (2007), Síntesis y caracterización de compuestos heptacoordinados de Sn (IV) derivados de piridina y su estudio preliminar de actividad citotóxica, anti-inflamatoria y antioxidante, UNAM posgrado, Ciencias químicas.
6. Bernardo Enrique Heredia Martínez y Hailyn González Fernández (2020), Caracterización del cáncer de mama triple negativo, Revista Finlay (revista en Internet), en línea: <https://www.medigraphic.com/pdfs/finlay/fi-2020/fi203q.pdf>
7. Burgués Gasió, J. P., et al.(2005), Mecanismos del ciclo celular y la apoptosis implicados en las resistencias a los fármacos de uso intravesical en el cáncer superficial de vejiga. Actas Urológicas Españolas, 29(9), 846–859. doi:10.1016/s0210-4806(05)73356-8
8. CancerQuest (2022), Tratamientos para el cancer, Emory Winship Cancer Institute, En línea: <https://www.cancerquest.org/es/para-los-pacientes/tratamientos#terapia-si-KQBWdTdw>
9. Carranza Aguilar C., et al. (septiembre 2020), Tipos de muerte celular y sus implicaciones clínicas, El Residente, <https://dx.doi.org/10.35366/95960>, en línea: <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2020/rr203c.pdf>
10. CDC (2022), Centros para el control y la prevención de enfermedades, ¿Cómo se trata el cáncer de mama? En línea: https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/treatment.htm
11. Consuelo Hernández Álvarez, Catalina Romo Aguirre, Cecilia Ortiz-de Iturbide (2017), Cáncer de mama triple negativo: frecuencia y características en el Hospital Ángeles Pedregal, Acta Médica Grupo Ángeles, Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México. En línea: www.medigraphic.com/pdfs/actmed/am-2017/am174e.pdf
12. Consuelo Hernández Álvarez, Catalina Romo Aguirre, Cecilia Ortiz-de Iturbide (2017), Cáncer de mama triple negativo: frecuencia y características en el Hospital

- Ángeles Pedregal, Acta Médica Grupo Ángeles, Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México. En línea: www.medigraphic.com/pdfs/actmed/am-2017/am174e.pdf
13. División de Prevención y Control del Cáncer, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (2023), ¿Cuáles son los factores de riesgo del cáncer de mama?, en línea: https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/risk_factors.htm
 14. Donzello, M.P., Vittori, D., Viola, E., Manet, I., Mannina, L., Cellai, L., Monti, S. & Ercolani, C. (2011). Tetra-2,3- yrazinoporphyrazines with Externally Appended Pyridine Rings. 9. Novel Heterobimetallic Macrocycles and Related Hydrosoluble Hexacations as Potentially Active Photo/Chemotherapeutic, American Chemical Society, en línea: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ic200498s>
 15. Douglas Hanahan (Enero 2022), Características distintivas del cáncer: nuevas dimensiones, Agora Translational Cancer Research Center, Rue du Bugnon 25A, Lausanne CH-1011, Suiza, En línea: <https://aacrjournals.org/cancerdiscovery/article/12/1/31/675608/Hallmarks-of-Cancer-New-DimensionsHallmarks-of>
 16. E. Miñambres Garcíaay M. López Hoyos (2004), Apoptosis: implicaciones en Medicina Intensiva, Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander España, en línea: <https://www.medintensiva.org/es-apoptosis-implicaciones-medicina-intensiva-articulo-13065473>
 17. Erika Rocha Del Castillo, Omar Gómez García, Dulce Andrade Pavón, Lourdes Villa Tanaca, Teresa Ramírez-Apan, Antonio Nieto-Camacho, Elizabeth Gómez (2018), Complejos de dibutilestaño (IV) derivados de L-DOPA: Síntesis, Acoplamiento Molecular, Actividad Citotóxica y Antifúngica, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México.
 18. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. En línea (<https://gco.iarc.fr/today>)
 19. Fernando Johnatan Mejia Rivera (2018), Compuestos organometálicos de estaño(IV) hipervalente: Síntesis, caracterización estructural y estudio de la naturaleza del enlace químico, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO, en línea: <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/2321/Compu%20estos%20organomet%C3%A1licos%20de%20esta%C3%B1o%28IV%29%20hipervalente%20S%C3%ADntesis%2C%20caracterizaci%C3%B3n%20estructural%20y%20estudio%20de%20la%20naturaleza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 20. Gabriela Elizabeth Martínez Ruiz; Josselin Estefania Villamarin Barreiro; Vivian Dennise Palacios Vargas; Andrea Lisseth Oña Román, (2019), Cáncer de Mama: Factores de riesgo y respuesta, Revista Científica de Investigación actualización del mundo de las Ciencias. Vol. 3, en línea: <https://reciamuc.com/index.php/RECIAMUC/article/view/264/280>
 21. García Delgado Jorge Enrique, Gabriela Stefanía Morales Chaucalá, Mauro Glenn García Arana, (Mayo 2020), Cáncer de mama: una revisión para el cirujano general, Revista científica (RECIMUNDO), en línea (<https://recimundo.com/index.php/es/article/view/871/1370>)
 22. Gómez-Ruiz, S. (2010). Evolución y desarrollo de complejos metálicos con aplicación potencial como agentes antitumorales. Investigación Química, 106(1), 13-21., en línea: <https://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/320/313>

23. Gustavo Adolfo Elena (2002), Mecanismos de muerte celular: apoptosis y necrosis, simposio sobre anestesia y estrés, Argentina, en línea: https://www.anestesia.org.ar/search/articulos_completos/1/1/284/c.pdf
24. Hillard, E.A. & Jaouen, G. (2011). Bioorganometallics: Future Trends in Drug Discovery, Analytical Chemistry, and Catalysis. *Organometallics*.
25. Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE (2009). Cell death in disease: mechanisms and emerging therapeutic concepts. doi: 10.1056/NEJMra0901217.
26. Iván García Orozco y T. Jesús Morales Juárez (2020), La interesante historia del cisplatino: el primer compuesto inorgánico anticancerígeno, revista universitaria, Universidad Autónoma del Estado de México, en línea: <https://revistauniversitaria.uaemex.mx/article/view/14090>.
27. Javier Jesús Galindo Moreno (2015), Papel de proteínas de la familia Bcl-2 en el estrés metabólico. Implicación en cáncer y en daño neuronal por isquemia, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, en línea: https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/170650/6/JJGM_TESIS.pdf
28. Jesus Ceballos Torres (2014), Estudio de las propiedades biológicas y catalíticas de nuevos complejos organometálicos, Departamento de Biología y Geología, Física y Química Inorgánica y Analítica,
29. Joaquín Jordán (2003), Apoptosis: muerte celular programada, Centro Regional de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Castilla-La Mancha, en línea: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-apoptosis-muerte-celular-programada-13049112>
30. Jose M. Galvan, Elizabeth Gomez, Teresa Ramirez, Apan Nieto, Simon Hernandez (2015), Síntesis y actividad citotóxica de complejos de dibutilestano derivados de piridoxamina y salicilaldehidos. *MEDICINAL CHEMISTRY RESEARCH*, Springer Science+Business Media New York 2015.
31. Jose M. Galvan-Hidalgo, Teresa Ramírez-Apan, Antonio Nieto-Camacho, Simon Hernandez-Ortega, Elizabeth Gomez (2016), Schiff base Sn(IV) complexes as cytotoxic agents: Synthesis, structure, isosteric and bioisosteric replacement, *Revista de Química Organometálica*, Elsevier.
32. Julieth Tatiana Román Bothia (2022), Implementación y optimización del proceso sintético de i) complejos aminoácido - estaño IV y ii) péptidos conjugados con Ferroceno, como contribución al desarrollo de fármacos basados en moléculas Organometálicas, Departamento de Farmacia Bogotá D. C, Colombia, Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias.
33. Julio Sepúlveda Saavedra, Adolfo Soto Domínguez (2016), Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular, 2e, MC Graw Hill Education, en línea: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1506§ionid=98182026>
34. La opinión (agosto 2019), ¿Cuáles son los pros y contras de someterse a quimioterapia cuando se tiene cáncer? La opinión, En línea: <https://laopinion.com/2019/08/03/cuales-son-los-pros-y-contras-de-someterse-a-quimioterapia-cuando-se-tiene-cancer/>
35. Lizarbe Iracheta Antonia (2007), El suicidio y la muerte celular, *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* Vol. 101, N°. 2, pp
36. LÓPEZ T, MARCO; PESCI FELTRI, ADRIANA; GARCÍA F, ISABEL; GUIDA, VINCENT; FERNANDES, ANDREINA; BLANCH, RICARDO (2016), Factores de riesgo y protectores asociados al cáncer de mama, *Revista Venezolana de*

- Oncología, en línea:
<https://www.redalyc.org/jatsRepo/3756/375650363005/375650363005.pdf>
37. Luigi Alejandro, Felipe Macías, Gabriela Garces, Glenda Fernández (enero 2019), Cáncer de mama diagnóstico precoz Tratamiento Quirúrgico Autoimagen, Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento, Editorial Saberes del Conocimiento. En línea:
<https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/404/pdf>
 38. Manuel Megías, Pilar Molist, Manuel Pombal (Marzo 2022), Atlas de Histología Vegetal y Animal CICLO CELULAR, Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Facultad de Biología. Universidad de Vigo, en línea:
<https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/atlas-celula-08-ciclo-celular.pdf>
 39. María S. Orban Frontini, Ana L. Ulloa Bevacqua, Claudia P. Arias, Carina Gon, Verónica Sanchotena, Mary Carrasco Maldonado, Graciela Horton, Carlos Garbovesky, Diego Flaks (2017), Cáncer de mama Triple Negativo: evaluación de características clínico-patológicas y factores pronósticos, Revista Argentina de Mastología, en línea: https://www.revistasamas.org.ar/revistas/2017_v36_n130/SAM-130-completa-73-86.pdf
 40. Mayer Zaharia y Henry Gómez (2013), Cáncer de mama triple negativo: una enfermedad de difícil diagnóstico y tratamiento. Revista Peru Med Exp Salud Publica, en línea: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v30n4/a18v30n4.pdf>
 41. Miguel Ángel Ramírez-García, Horacio Márquez-González, Gilberto Barranco-Lampón, Javier Enrique López-Aguilar (2014), Bcl-2: su papel en el ciclo celular, apoptosis y cáncer, El residente, Medigraphic, en línea:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2014/rr143b.pdf>
 42. Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. (2018). Tratamiento basado en Trastuzumab para el Cáncer de Mama que Sobreexpresan el Gen HER2. PROTOCOLO 2018. Recuperado el 12 de enero de 2019, de <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2018/03/Protocolo-C%C3%A1ncer-de-mama.pdf>
 43. NIH (JUNI 2020) , Inmunoterapia para el cáncer, Medlineplus información para su salud, En línea:
https://medlineplus.gov/spanish/cancerimmunotherapy.html?_gl=1*r54sm*_ga*MTQ3NzE0OTYzMS4xNjY0MjE2MDU4*_ga_7147EPK006*MTY2NDY0MDg1OC41LjAuMTY2NDY0MDg1OC4wLjAuMA..*_ga_P1FPTH9PL4*MTY2NDY0MDg1OC41LjAuMTY2NDY0MDg1OC4wLjAuMA..
 44. NIH (septiembre 2019), Inmunoterapia para tratar el cáncer, Instituto Nacional Del Cáncer, En línea:
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia>
 45. Organización mundial de la salud (febrero 2, 2022), cáncer, en línea:
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
 46. Pamela Yanina Quintas (2016), Distribución de los compuestos orgánicos de estaño (OTC) en el estuario de Bahía Blanca, Universidad Nacional Del Sur, Argentina, en línea: <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/3413/Quintas-%20Tesis%20Doctoral.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 47. Pellerito C, D'Agati P, Fiore T, Mansueto C, Mansueto V, Stocco G, Nagy L, Pellerito L (2005), Synthesis, structural investigations on organotin(IV) chlorin-e6 complexes, their effect on sea urchin embryonic development and induced apoptosis, Journal Of Inorganic Biochemistry. doi:10.1016/j.jinorgbio.2005.03.002

48. Rebeca Nayely Osorio Yáñez y David Morales Morales (2021), Compuestos organometálicos y de coordinación: Más que sólo una buena relación de metales de transición y moléculas orgánicas, Universidad Autonoma de Chihuahua, Revista de ciencia y tecnología, Tecnología Chihuahua.
49. Ricardo R. Contreras, Jesús Urbina Gutiérrez, José Nelson Aranguren (2018), Compuestos Organometálicos y su potencial terapéutico en el tratamiento del cáncer. Una breve revisión, Universidad Nacional de Chimborazo, 1Laboratorio de Organometálicos, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela en línea:
<https://novasinerugia.unach.edu.ec/index.php/novasinerugia/article/view/21/14>
50. Ricardo Rafael Contreras, José N. Aranguren, Fernando Bellandi y Ángel Gutierrez, (2012), Una nueva generación de fármacos a basede compuestos organometálicos, Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Venezuela, en línea:
<https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/10065/10052>
51. Sánchez N. Catherine, (Julio 2013), Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer, Revista Médica Clínica Las Condes, en línea: (<https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-conociendo-comprendiendo-celula-cancerosa-fisiopatologia-S071686401370659X>)
52. Sosa et al.,(2012), Apoptosis, CATEDRA DE BIOQUIMICA FACULTAD DE MEDICINA UNNE, en línea:
<https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/apoptosis.pdf>
53. Steven I. Hajdu (2004)A Note from History:The First Tumor Pathologist, Annals of Clinical & Laboratory Science, en línea:
<http://www.annclinlabsci.org/content/34/3/355.full.pdf+html>