

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN**  
**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**



**“Evaluación de un triazaspirano como posible inhibidor del  
mimetismo vasculogénico en células MDA-MB-231”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA**

PRESENTA

**BRYAN ALEXIS RIVERA SUAREZ**

**DIRECTOR**

**DR. OCTAVIO GALINDO HERNANDEZ**

**Mexicali, Baja California**

**Enero 2026**

# Carta de Dictamen de la Evaluación Escrita del Examen de Grado

---



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN MEXICALI**  
**COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO**

## **CARTA DE DICTAMEN DE LA EVALUACION DE LA FASE ESCRITA DEL TRABAJO TERMINAL**

Mexicali, B.C., a 19 de diciembre del 2025.

Los abajo firmantes, miembros del Jurado Dictaminador del trabajo terminal titulado "Evaluación de un triazaspirano como posible inhibidor del mimetismo vasculogénico en células MDA-MB-231.", que, para obtener el Diploma de **Grado en Maestría en Ciencias en Biomedicina**, presenta el C. Bryan Alexis Rivera Suarez, una vez concluida la evaluación correspondiente, hemos resuelto **aprobado**.

Dr. Octavio Galindo Hernández

*Presidente*

Dra. María Jossé  
Navarro Ibarra

*Sinodal*

Dr. José Luis Vique Sánchez

*Sinodal*

Dr. José Gustavo Vázquez Jiménez

*Sinodal*

## **Agradecimientos**

Al Dr. Octavio Galindo, por darme la oportunidad de ser parte de la comunidad científica en UABC, con su constante guía, apoyo y comprensión durante la experiencia del posgrado.

A la Dra. Maria Josse Navarro, el Dr. José Luis Vique y el Dr. Gustavo Vázquez, que fueron mis sinodales y me apoyaron durante todo el proceso, con consejos y técnicas para mejorar tanto profesional como personalmente.

A los doctores y compañeros del departamento de bioquímica, por ayudarme en momentos de dificultad y por tener la paciencia de enseñarme las técnicas que fueron de utilidad durante todo el posgrado.

A la Facultad de Medicina y Nutrición, que en todo momento contribuyó en mi formación al permitirme utilizar sus instalaciones, así como el apoyo constante hacia el proyecto.

A la Secretaría de Ciencias, Humanidad, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el apoyo constante a mi proyecto y por darme la oportunidad de formarme como maestro en Ciencias en Biomedicina.

## **Dedicatoria**

Esta tesis está dedicada a mi madre Laura Luz Suarez Flores, mi abuela Luz María Flores Venegas y a Miguel Ortega Hernández, por apoyarme emocionalmente y darme las fuerzas necesarias para estar día a día comprometido a concluir el programa sin preocupaciones.

También a mis amigos, que indudablemente estuvieron junto a mí en los momentos más estresantes y complicados del posgrado.

Y especialmente a Jafet Sosa, quien lamentablemente, no tuvo la oportunidad de seguir acompañándonos en esta vida, quien perdió su batalla contra el cáncer y por quien seguimos investigando arduamente.

## ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AKT	Cinasa de serina/treonina / Proteína cinasa B
ANOVA	Análisis de varianza
ARN	Ácido ribonucleico
CD144	Cadherina Endotelio Vasculat
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
DMEM	Medio Eagle modificado de Dulbecco
EGA	European Genome Archive
EMT	Transición epitelio mesénquima
EphA2	Receptor de efrina tipo A2
FAK	Cinasa de adhesiones focales
FDA	Food and Drug Administration
HER2	Receptor 2 del factor de crecimiento epidermal
HIF-1 $\alpha$	Factor de transcripción inducible hipoxia 1 $\alpha$
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
JAK	Cinasa Janus
Ki67	Proteína marcadora de proliferación
MAPK	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
MMP	Metaloproteinasa de matriz
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
NF- $\kappa$ B	Factor nuclear kappa B
Opti-MEM	Medio esencial mínimo optimizado
PARP	Poli ADP ribosa polimerasa
PBS	Buffer salino de fosfatos
PD-L1	Ligando 1 de muerte celular programada
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
PVDF	Membrana de fluoruro de polivinilideno
RE	Receptor de estrógenos
RP	Receptor de progesterona

SERCA2	ATPasa de calcio del retículo sarcoplásmico/endoplásmico 2
SFB	Suero fetal bovino
STAT3	Transductor de señal y activador de transcripción 3
TBS	Solución salina tamponada con tris
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TNBC	Cáncer de mama triple negativo
TRIBE	8-bencil-1,3,8-triazaspiro-[4,5]-decano-2,4-diona
TRISR	1,3,8-triazaspiro-[4,5]-decano-2,4-diona
VE-Cadherina	Cadherina del endotelio vascular
VEGFR	Receptor del factor de crecimiento endotelial

# CONTENIDO

<b>Carta de Dictamen de la Evaluación Escrita del Examen de Grado</b> .....	II
<b>Agradecimientos</b> .....	IV
<b>Dedicatoria</b> .....	V
<b>CONTENIDO</b> .....	VIII
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	X
<b>RESUMEN</b> .....	XI
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria.....	1
1.2 Lesiones tumorales en la glándula mamaria.....	1
1.3 Epidemiología.....	2
1.4 Subtipos moleculares.....	3
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
2.1 Cáncer de mama triple negativo.....	4
2.1.1 Tratamientos dirigidos al cáncer de mama triple negativo.....	5
2.2 Angiogénesis y mimetismo vasculogénico.....	5
2.2.1 Angiogénesis.....	5
2.2.2 Mimetismo vasculogénico.....	6
2.3 Tratamientos del cáncer de mama triple negativo.....	9
2.3.1 Quimioterapia.....	9
2.3.2 Cirugía.....	10
2.4 Derivados de los azaspiranos para el tratamiento del cáncer.....	10
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	12
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b> .....	13
<b>5. HIPÓTESIS</b> .....	14
<b>6. OBJETIVOS</b> .....	14
6.1 Objetivo General.....	14
6.2 Objetivos Específicos.....	14
<b>7. METODOLOGÍA</b> .....	14
7.1 Diseño del estudio.....	14
7.2 Cultivos celulares.....	15
7.3 Ensayo de cierre de herida.....	15
7.4 Ensayo de Invasión en Cámara de Boyden.....	15

7.5 Ensayo de Zimografía .....	16
7.6 Ensayo de viabilidad celular .....	16
7.7 Ensayo Clonogénico .....	16
7.8 Ensayos de Formación de Tubos Angiogénicos en Matrigel.....	17
7.9 Análisis de base de datos <i>Kaplan-Meier Plotter</i> .....	17
7.10 Ensayo de Inmunodetección de Proteínas .....	17
7.11 Análisis estadístico .....	18
7.12 Aspectos éticos y de bioseguridad.....	18
<b>8. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
8.1 La migración de células MDA-MB-231 es inhibida por el triazaspirano .....	18
8.2 La invasión de células MDA-MB-231 es inhibida por el triazaspirano.....	19
8.3 La viabilidad celular y la proliferación de las células MDA-MB-231 no se ven afectadas por el triazaspirano .....	21
8.4 El mimetismo vasculogénico se ve inhibido por el triazaspirano .....	22
8.5 El triazaspirano no afecta a la expresión de la bomba SERCA2.....	24
<b>9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>25</b>
<b>10. Conclusiones.....</b>	<b>28</b>
<b>11. RECURSOS .....</b>	<b>29</b>
<b>12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>29</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1 Tasa de mortalidad del cáncer de mama del 2015 al 2024. (Tomado de INEGI)
- Figura 2 Subtipos moleculares del cáncer de mama.
- Figura 3 Vías de señalización implicadas en el mimetismo vasculogénico.
- Figura 4 Efecto del triazaspirano sobre la migración en células MDA-MB-231
- Figura 5 Efecto del triazaspirano sobre la invasión y la secreción de metaloproteinasas 9 en células MDA-MB-231
- Figura 6 Efecto del triazaspirano sobre la proliferación y viabilidad celular
- Figura 7 Impacto del triazaspirano sobre el mimetismo vasculogénico
- Figura 8 Efecto del triazaspirano sobre la expresión de SERCA2

## RESUMEN

**Introducción:** El cáncer de mama es el carcinoma con más incidencia y mortalidad en mujeres a nivel mundial y nacional, ya que tan solo en 2022 el INEGI reportó en México 23,790 casos nuevos, de los cuales existió un 17% de mortalidad. Esta patología se define como una proliferación alterada y descontrolada de las células de la glándula mamaria. Se puede clasificar de diferentes maneras, siendo la más relevante en el área de la investigación la categorización en subtipos moleculares, donde se clasifica como positivo a receptores hormonales (receptor de estrógeno y progesterona), positivo a HER2 y triple negativo. De esta clasificación, el subtipo molecular triple negativo es el más agresivo, ya que se caracteriza por su carencia de receptores hormonales y HER2. La angiogénesis y el mimetismo vasculogénico son dos mecanismos por los cuales los tumores pueden adquirir nutrientes y oxígeno, aumentando así la proliferación de los mismos y la generación de metástasis. El mimetismo vasculogénico tiene la capacidad de formar tubos parecidos a los angiogénicos a partir de células tumorales, siendo estos últimos de especial blanco terapéutico debido a que se ha asociado a tumores altamente agresivos y con resistencia a terapias antiangiogénicas. **Objetivos:** Evaluar el efecto del triazaspirano sobre el mimetismo vasculogénico en células MDA-MB-231. **Metodología:** Se realizaron ensayos de formación de tubos angiogénicos para evaluar el efecto sobre el mimetismo vasculogénico, así como ensayos de cierre de herida y ensayos de invasión en cámara de Boyden para evaluar el efecto del triazaspirano sobre los procesos relacionados con la metástasis. Para la evaluación de expresión proteica se realizaron ensayos de inmunodetección por western blot. Mientras que para la secreción de metaloproteinasas se realizaron ensayos de zimografía. **Resultados:** Durante este estudio se encontró que el triazaspirano tiene un efecto inhibitorio sobre la migración, invasión y formación de tubos angiogénicos de células MDA-MB-231, sin modular la viabilidad y la proliferación celular.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria**

La glándula mamaria es una estructura túbulo-alveolar ramificada que produce leche durante la lactancia, siendo una fuente de nutrientes durante el desarrollo de neonatos, así como roles en la función sexual, salud física y mental femenina (Biswas et al., 2022; Hall et al., 2024). Este órgano está compuesto por tejido secretor o glandular y adiposo, que se encargan de producir y transportar la leche hacia el pezón durante la lactancia (Biswas et al., 2022; Hassiotou & Geddes, 2013). El tejido secretor está conformado por 10 a 15 lóbulos por glándula mamaria, que contienen entre 10 y 100 alvéolos encargados de producir y almacenar la leche. La leche es transportada por otras estructuras llamadas ductos, que drenan la leche de los alvéolos hacia el pezón. Ambas estructuras están conformadas histológicamente por dos tipos de células epiteliales, denominadas células luminales y basales. Las células epiteliales luminales se encuentran en la parte interna de ambas estructuras, rodeando el lumen de ambas estructuras, también se diferencian entre los lóbulos y los alvéolos. Mientras que las células basales son células mioepiteliales que rodean la capa exterior de ambas estructuras principales, las cuales ayudan a transportar la leche desde los alvéolos al contraer los ductos (Biswas et al., 2022).

## **1.2 Lesiones tumorales en la glándula mamaria**

En la glándula mamaria pueden existir diferentes afecciones que, dependiendo del tipo, pueden ser de alta relevancia clínica para las pacientes. Existen dos tipos de lesiones tumorales que son clasificadas dependiendo del riesgo que presentan para la salud: benignas y malignas. Las lesiones tumorales benignas son aquellas que no generan metástasis a otras partes del cuerpo y generalmente no suponen un riesgo para la vida. Estas lesiones benignas son removidas por cirugía y no suele existir una recaída, siendo las más comunes: fibroadenoma, papiloma intraductal, tumores filoides (Canadian Cancer Society, s/f).

Por otro lado, las lesiones con mayor relevancia clínica son las lesiones tumorales malignas, las cuales, presentan la capacidad de diseminarse por el cuerpo a través del sistema sanguíneo y linfático, siendo el cáncer de mama la lesión maligna más frecuente en mujeres. Esta patología consiste en una proliferación acelerada y descontrolada de las células de la glándula mamaria, con la habilidad de diseminarse a órganos distantes. El cáncer de mama es curable en un 70 - 80% de las pacientes, cuando la enfermedad es detectada en un estadio temprano y no se generó metástasis, pero en pacientes con cáncer avanzado y metastásico se puede llegar a considerar incurable (Harbeck et al., 2019)

### **1.3 Epidemiología**

El cáncer de mama es un problema de salud mundial para las mujeres que ha ido en aumento a lo largo de los años y que afecta tanto en países en desarrollo como países desarrollados. Actualmente, el cáncer de mama tiene el primer lugar en incidencia y mortalidad en mujeres, teniendo una incidencia del 23.8% con respecto a todos los tipos de cáncer y una mortalidad de un 15.4% (Bray et al., 2024a).

A nivel nacional, el INEGI reportó que en 2024, el cáncer de mama fue la primera causa de muerte entre los tumores malignos, ocurriendo un 99.2% en mujeres. También, esta institución menciona que el índice de mortalidad ha ido en aumento en los últimos 10 años, aumentando de 15.7 en 2015 a 18.7 en 2024 por cada 100 mil mujeres (Figura 1) (Díaz, 2025).

## Defunciones registradas por cáncer de mama en mujeres de 20 años y más

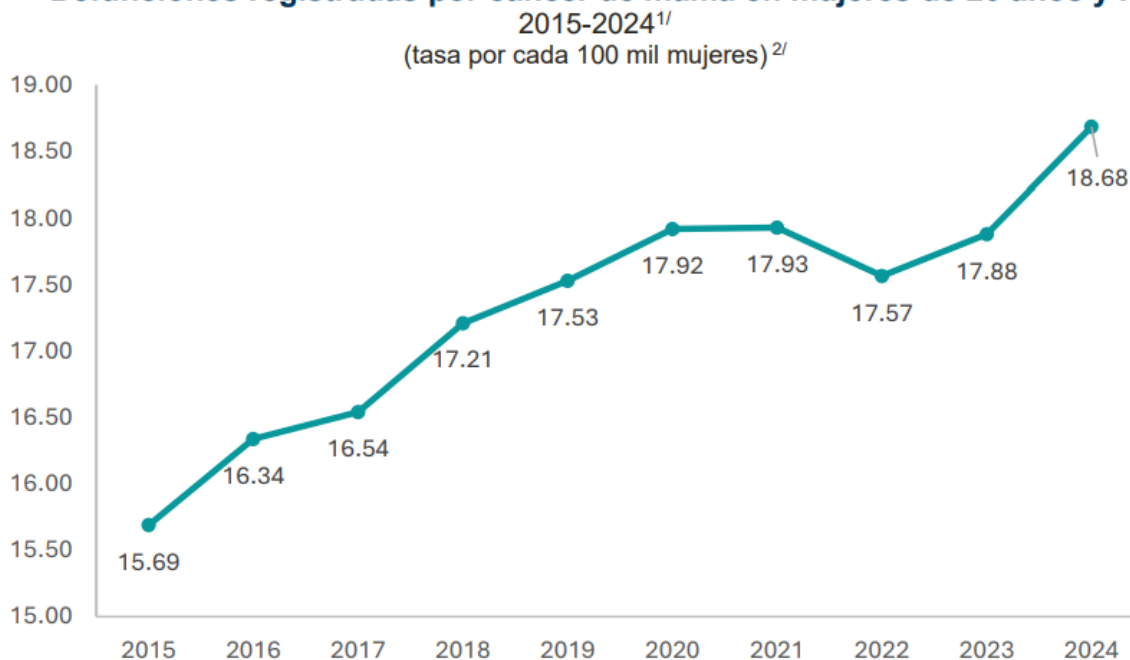


Figura 1. Tasa de mortalidad del cáncer de mama del 2015 al 2024. (Tomado de INEGI).

### 1.4 Subtipos moleculares

Existen varias formas de clasificar el cáncer de mama, para propósitos de este trabajo tomaremos en cuenta únicamente la clasificación según la inmunohistoquímica, que categoriza los carcinomas en base a la expresión de receptores de estrógenos (RE), progesterona (RP) y HER2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidermal), lo cual permite orientar el tratamiento de las pacientes y llevar a cabo un pronóstico del curso de la enfermedad.

Los subtipos principales son: el positivo a receptores de estrógeno (RE+), que puede subclasificarse en luminal A o luminal B dependiendo de la expresión de la proteína marcadora de proliferación (Ki67); el positivo al receptor 2 del factor de crecimiento epidermal (HER2+) y el triple negativo (TNBC) que no expresa receptores hormonales (Harbeck et al., 2019; Loibl & Gianni, 2017)

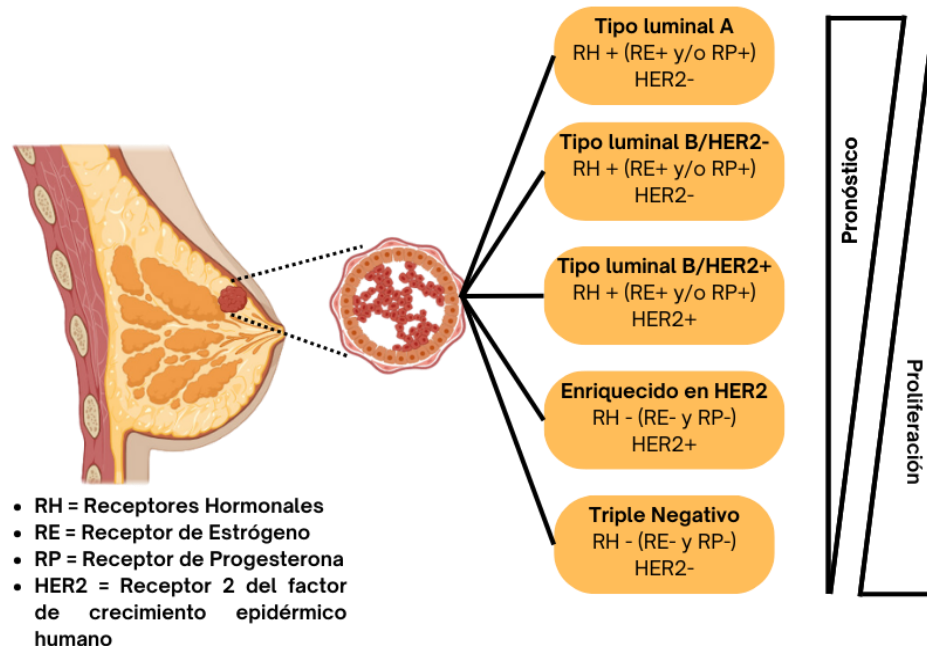


Figura 2. Subtipos moleculares del cáncer de mama.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Cáncer de mama triple negativo

El cáncer de mama triple negativo (TNBC) representa aproximadamente un 15% y 20% con respecto a otros tipos de cáncer y se define como un tipo de cáncer que no expresa los receptores hormonales de estrógeno, progesterona y HER2. Este tipo de cáncer también se caracteriza por ser más común en mujeres jóvenes, altamente invasivo y metastásico, siendo los principales órganos afectados hígado, pulmón, hueso y cerebro (Y. Li et al., 2022; Ortiz Valdez et al., 2022). Esta alta capacidad metastásica está asociada a un mal pronóstico para las pacientes con TNBC, provocando que tengan una supervivencia general de 10.2 meses con las terapias actuales (Won & Spruck, 2020). En el aspecto molecular, la elevada capacidad metastásica del TNBC se sustenta en la hiperactivación de vías de señalización clave, incluyendo PI3K/AKT/mTOR, MAPK/ERK, JAK/STAT3, NF-κB y Wnt/β-catenina, que regulan proliferación, supervivencia, inflamación tumoral y remodelación de la matriz extracelular. De forma adicional, la activación aberrante de cinasas no receptoras como FAK/Src facilita la dinámica focal adhesiva, la degradación de la matriz por metaloproteinasas (MMP-2, MMP-9) y la

migración dirigida, mecanismos críticos para la colonización de órganos diana como pulmón, hígado, hueso y cerebro (Borri & Granaglia, 2021; Ortiz Valdez et al., 2022).

### **2.1.1 Tratamientos dirigidos al cáncer de mama triple negativo**

El tratamiento de primera línea para el TNBC es la quimioterapia no específica, principalmente antraciclinas y taxanos, solos o en combinación (Y. Li et al., 2022). Es conocido que dichos fármacos presentan efectos secundarios graves como lo son la hemotoxicidad y cardiotoxicidad; además, es común que desarrolle resistencia a dicha terapia. Por dicha razón, se siguen buscando otras opciones de tratamiento y se ha optado por el desarrollo de opciones más específicas. Se ha descrito que algunos tumores triple negativo presentan altos niveles de expresión del ligando 1 de muerte celular programada (PD-L1), contribuyendo a la evasión de la respuesta inmune (Pauls et al., 2022). Para favorecer la respuesta inmunológica sobre el tumor, se han desarrollado fármacos inhibidores de PD-L1 como atezolizumab y pembrolizumab que actualmente se encuentran en estudios clínicos de fase III. (Pauls et al., 2022).

Alternativamente, se desarrollan fármacos en fase III dirigidos a la Poli ADP ribosa polimerasa (PARP) como OlympiAd y EMBRACA, especialmente para casos que presentan mutaciones en el gen BRCA. (Y. Li et al., 2022).

Otro de los blancos que se ha explorado para TNBC es el receptor del factor de crecimiento endotelial (VEGFR). Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal dirigido hacia este factor aprobado por la FDA, sin embargo, la evidencia no ha podido comprobar que su uso aumente la supervivencia de las pacientes (Pauls et al., 2022).

## **2.2 Angiogénesis y mimetismo vasculogénico**

### **2.2.1 Angiogénesis**

La angiogénesis es un proceso dinámico estrictamente controlado que puede ocurrir fisiológicamente en aquellos tejidos que experimentan una remodelación activa en respuesta al estrés o hipoxia tisular. Sin embargo, este proceso puede activarse de manera aberrante durante muchas condiciones patológicas como el cáncer.

Los tumores en proliferación tienden a activar un fenotipo angiogénico para satisfacer su mayor demanda de oxígeno y nutrientes. Además, la liberación paracrina de factores antiapoptóticos de las células endoteliales activadas en la vasculatura recién formada proporciona a las células tumorales un incremento en la supervivencia (Duran et al., 2017; T. Li et al., 2018). En consecuencia, para progresar, los tumores tienden a activar un evento llamado "cambio angiogénico" modificando el equilibrio de los activadores e inhibidores endógenos de la angiogénesis hacia un microambiente pro-angiogénico. Como resultado, la lesión latente progresa hasta generar un tumor vascularizado que prolifera y conduce al desarrollo de un fenotipo invasivo y metastásico (Duran et al., 2017). La hipoxia impulsa tal desequilibrio a través de la sobreexpresión del factor de transcripción factor inducible por hipoxia-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), que a su vez aumenta la expresión de muchos inductores de la angiogénesis y suprime la expresión de los inhibidores endógenos de la angiogénesis. A pesar de eso, la evidencia acumulada indica que la cascada angiogénica también puede ser impulsada por vías alternativas independientes de HIF- $\alpha$ , como la vía de VEGFR y VE-Cadherina (Duran et al., 2017).

### **2.2.2 Mimetismo vasculogénico**

La angiogénesis, creación de vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos preexistentes, y la vasculogénesis, formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de células endoteliales recién diferenciadas, son procesos utilizados por las células tumorales a partir de la regulación de microambientes con el objetivo de obtener nutrientes para seguir desarrollándose y realizar metástasis, pero no son los únicos mecanismos por los cuales las células tumorales pueden realizar este tipo de procesos (Morales-Guadarrama et al., 2021).

En 1999, Maniotis y colaboradores observaron canales conductores de fluidos en células de melanoma agresivas y metastásicas, determinando que estos canales no eran vasos sanguíneos, pero permiten el transporte de plasma y células rojas. A la formación de estos canales generados por células tumorales agresivas se le llamó mimetismo vasculogénico, "mimetismo" porque apenas pueden simular la función de los vasos sanguíneos y "vasculogénico" debido a que estos canales no se forman de vasos sanguíneos ya existentes (Luo et al., 2020a; Wei et al., 2021).

Estos canales formados en el mimetismo vasculogénico pueden compartir características con vasos dependientes de células endoteliales, pero hay rasgos distintivos que los diferencian. Por ejemplo, las células endoteliales producen VE-cadherina, la principal molécula relacionada en adhesiones célula-célula relacionadas con uniones adherentes endoteliales, las cuales se encuentran en las membranas celulares, mientras que en células tumorales que forman mimetismo vasculogénico, VE-cadherina se expresa de forma aberrante y parece estar involucrada en diferentes procesos celulares (Morales-Guadarrama et al., 2021; Wei et al., 2021).

También se ha encontrado que es inmune a la endostatina y a otros factores anti-angiogénicos. Y a diferencia de los vasos angiogénicos, son positivos a la tinción PAS (Técnica de Schiff) y negativos a la tinción de CD31 (Luo et al., 2020b).

A pesar de las distintas características que se puedan encontrar entre la angiogénesis y el mimetismo vasculogénico, cabe resaltar que en algunas ocasiones se pueden presentar sistemas híbridos en un tumor para aumentar la eficiencia al momento de obtener oxígeno y nutrientes. Por ejemplo, se ha encontrado que en áreas hipervascularizadas en la parte externa de un tumor se presenta angiogénesis, mientras que, en la zona central, con alta hipoxia, se presenta mimetismo vasculogénico (Morales-Guadarrama et al., 2021).

El mimetismo vasculogénico se asocia a malos pronósticos de cáncer, agresividad tumoral, metástasis y resistencia a medicamentos o tratamientos en muchos tumores, incluyendo el cáncer de mama.

Existen dos tipos de mimetismo vasculogénico, tipo tubular y tipo matriz. El tipo tubular, *in vitro*, se muestra como redes de cordones celulares sobre una matriz delgada encerrando espacios libres de células. In vivo, se muestra como ríos de matriz que se pueden acomodar de manera paralela con depósitos de matriz extracelular PAS+. En el tipo matriz, patrones de matriz extracelular PAS+ encierran paquetes de células tumorales en arreglos de matriz. Es posible que éste último tipo produzca mimetismo vasculogénico del tipo tubular una vez que las células empaquetadas entren en apoptosis (Morales-Guadarrama et al., 2021).

### 2.2.3 Vías de señalización del mimetismo vasculogénico

El mimetismo vasculogénico es regulado principalmente por un conjunto de eventos en los que participan un microambiente hipóxico, la transición epitelio-mesénquima (EMT) y las células troncales tumorales (Guan et al., 2025). En ausencia de oxígeno, se ha descrito que las células tumorales tienden a aumentar su agresividad, incrementando su resistencia a la apoptosis y la transición-epitelio mesénquima a través de la sobreexpresión del factor inducible por hipoxia 1  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). HIF-1 $\alpha$  es una proteína con función de factor de transcripción que promueve la expresión de múltiples proteínas pro mimetismo vasculogénico, en las que encontramos la cadherina del endotelio vascular (VE-Cadherina), receptores de efrina tipo A2 (EphA2), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), la cinasa de adhesiones focales (FAK) y metaloproteinasas de matriz (MMP) (Andonegui-Elguera et al., 2020; Guan et al., 2025; S. Li et al., 2016).

Distintos estudios han mostrado la importancia de la señalización de FAK para la formación del mimetismo vasculogénico. Por ejemplo, en ensayos *in vitro* e *in vivo* se demostró que al inhibir la activación de FAK, evita la fosforilación de VE-Cadherina lo que impide que se desencadene la señalización de esta proteína, en las que se incluye la traslocación de  $\beta$ -catenina al núcleo y la activación de factores de transcripción como Twist-1 y Snail-1/2 (Delgado-Bellido et al., 2023; Shuai et al., 2020).

También se ha descrito la implicación del receptor EphA2 en la señalización del mimetismo vasculogénico. Este es un receptor tirosina cinasa, que al activarse por medio un ligando, desencadena la señalización de una gran variedad de proteínas en las que podemos encontrar a FAK y VE-Cadherina, que a su vez, estas pueden favorecer la activación de vías de señalización PI3K/AKT y ERK 1/2, las cuales están relacionadas con una alta secreción de MMP-2 y MMP-9, expresión de VEGF y VEGFR, activación de factores de transcripción Twist-1 y Snail-1/2, y proteínas relacionadas con la EMT como N-cadherina y vimentina (H. Kim et al., 2019; H. S. Kim et al., 2019; Luo et al., 2020a; Mitra et al., 2020).

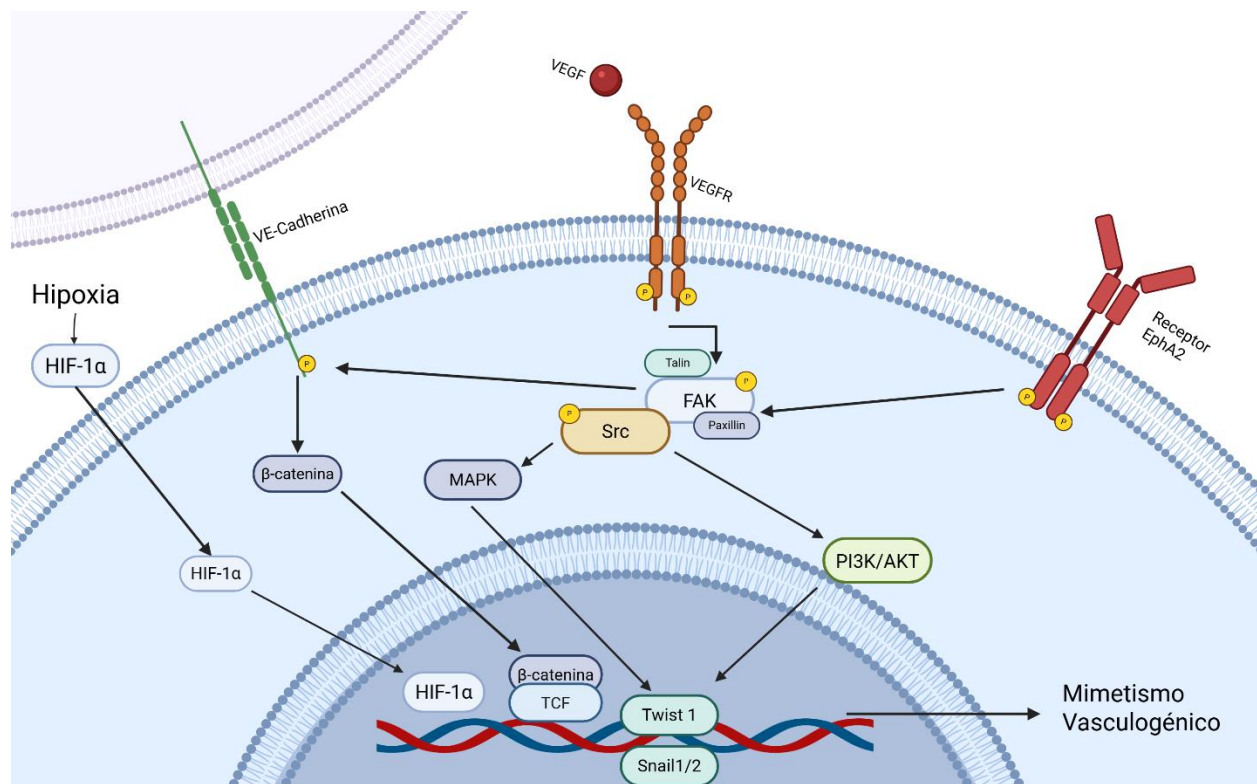


Figura 3. Vías de señalización implicadas en el mimetismo vasculogénico.

## 2.3 Tratamientos del cáncer de mama triple negativo

Este subtipo molecular de cáncer es complicado de tratar debido a que las terapias hormonales no funcionan por su carencia de receptores hormonales, y se tiene que recurrir principalmente a tratamientos bastante agresivos, como quimioterapia, radioterapias y tratamientos quirúrgicos (Wei et al., 2021).

### 2.3.1 Quimioterapia

Debido a la carencia de receptores hormonales, no se pueden utilizar tratamientos hormonales convencionales como en otros tipos de cáncer de mama, como el tamoxifeno y el trastuzumab. En cambio, se utiliza una combinación de diferentes agentes terapéuticos, como paclitaxel, inhibidor de la mitosis, y la doxorubicina, inhibidor de la síntesis de ADN y ARN. (Ureña & Rosenkranz, 2018)

### 2.3.2 Cirugía

La cirugía es un pilar del tratamiento de cáncer de mama y se realiza según el estadio en el que se encuentre el cáncer (estadio I, II, IIIA al IIIC):

En general, existen dos opciones:

1. Cirugía conservadora de mama
2. Mastectomía radical modificada con disección de niveles de ganglios axilares 1 y 2 con o sin reconstrucción mamaria.

El ganglio Centinela, es el ganglio donde primero se descubre la metástasis nodal proveniente del tumor primario, ha venido a reemplazar la disección nodal axilar de rutina, con esto disminuir la morbilidad que esto conlleva; como edema del miembro superior y el desarrollo de neuropatías. La biopsia del ganglio centinela es un procedimiento estándar y no puede ser reemplazado por estudios de imágenes como resonancia magnética o tomografía computarizada (Ureña & Rosenkranz, 2018).

### 2.4 Derivados de los azaspiranos para el tratamiento del cáncer

Durante el desarrollo y evaluación de diferentes moléculas antitumorales, ha surgido un grupo de moléculas que han tenido un impacto considerable sobre el cáncer: los azaspiranos. Estas moléculas se caracterizan por estar formadas por compuestos heterocíclicos espiro con al menos un átomo de nitrógeno en su composición.

Estos compuestos fueron descritos hace más de 30 años y su uso principal era como moléculas inmunomoduladoras, las cuales se pretendían utilizar como tratamiento para la artritis reumatoide (Mirabelli & Picker, 1990). Sin embargo, a lo largo de los años, sus derivados han sido utilizados como fármacos que inhiben la capacidad proliferativa, así como la capacidad de realizar procesos relacionados con la metástasis, como la angiogénesis, migración e invasión celular en modelos *in vitro* e *in vivo*.

La molécula Atiprimod, la cual inicio como un posible tratamiento para la artritis reumatoide (Badger et al., 1997), es actualmente un tratamiento aceptado para tratar distintos tipos de cáncer, entre ellos el mieloma múltiple y cáncer de mama, afectando la

vía de señalización STAT3, causando estrés de retículo y activando vías pro-apoptóticas (Amit-Vazina et al., 2005; Coker-Gurkan et al., 2021; Coker-Gurkan et al., 2019).

En ese sentido, se ha evaluado un derivado del triazaspirano, 8-bencil-1,3,8-triazaspiro-[4,5]-Decano-2,4-diona (TRIBE), como una molécula inhibidora de la progresión tumoral. En ensayos *in silico*, el TRIBE muestra capacidad de interactuar con la cinasa FAK en su dominio tirosina cinasa, lo que sugiere fuertemente que esta molécula puede inhibir su fosforilación y activación. Ensayos de western blot corroboran esta información *in vitro*, mostrando que el TRIBE inhibe la fosforilación de FAK en células PC3, una línea altamente invasiva y metastásica. Asimismo, distintos ensayos muestran que el TRIBE inhibe la migración e invasión en células tumorales PC3, por lo que presenta alta capacidad de inhibir la progresión tumoral (J. D. J. Vasconcelos-Ulloa et al., 2023).

Por ello, el presente proyecto pretende evaluar el 1,3,8-triazaspiro-[4,5]-Decano-2,4-diona (TRISR) como inhibidor del mimetismo vasculogénico en células de cáncer de mama triple negativo, esto basado en la capacidad del TRISR de interactuar e inhibir a la cinasa FAK, la cual es un regulador del proceso del mimetismo vasculogénico. Por tanto, se busca evaluar la capacidad del TRISR de presentar propiedades duales: inhibiendo a la invasión de células tumorales, y a la par inhibir el mimetismo vasculogénico, con la finalidad de que en el futuro cercano sea evaluado su efecto en modelos *in vivo*.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer de mama se ha convertido en un problema de salud mundial debido a su alta incidencia y mortalidad, se estima que en 2022 más de dos millones de mujeres tuvieron cáncer de mama, de las cuáles aproximadamente 600 mil fallecieron debido a este padecimiento (Bray et al., 2024b). Dentro de la población mexicana, el INEGI reportó que en 2024 hubo una tasa de defunción por cáncer de mama de 18.7 por cada 100 mil mujeres, yendo en aumento desde hace 10 años (Díaz, 2025).

De los principales problemas que se enfrentan con el cáncer de mama, es la diseminación de las células tumorales a órganos distantes (metástasis), causando una falla multisistémica, y, por consiguiente, el fallecimiento de las pacientes. La metástasis se presenta principalmente en el cáncer de mama triple negativo (TNBC), que representa entre un 15% y 20% de los casos de cáncer de mama. Este subtipo tiene un comportamiento agresivo, con un pronóstico poco prometedor para las pacientes. Presenta una supervivencia media de aproximadamente 5 años sin metástasis, pero con una alta probabilidad de reincidencia, y una supervivencia de aproximadamente 13 meses después de presentarla (Yin et al., 2020).

Para que la metástasis se desarrolle, es necesario que las células obtengan una vía de acceso hacia la circulación, para lo que utilizan diferentes mecanismos, entre los que se encuentra la angiogénesis y el mimetismo vasculogénico (Guan et al., 2025; Luo et al., 2020a).

Actualmente existen tratamientos antiangiogénicos, que inhiben la formación de vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes, sin embargo, se ha reportado que éstos no son efectivos contra el mimetismo vasculogénico, ya que utilizan vías de señalización alternativas a las angiogénicas (Sun et al., 2017). Esto señala la importancia de encontrar nuevas alternativas que eviten la activación de este mecanismo. Por ello, en este estudio proponemos el uso de TRISR, un derivado del triazaspirano, como posible inhibidor del mimetismo vasculogénico en células de cáncer de mama triple negativo.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, es urgente investigar moléculas innovadoras que puedan servir como potenciales tratamientos antitumorales, especialmente en los tipos de cáncer han ido en aumento en incidencia y mortalidad, como es el cáncer de mama.

Además, es de suma importancia actuar sobre mecanismos distintos a los canónicos, mecanismos alternativos, que pueden evadir los tratamientos convencionales, como el mimetismo vasculogénico, que es resistente a diversos tratamientos antiangiogénicos. Este mecanismo es fundamental para la progresión tumoral porque brinda al tumor nutrientes, oxígeno y una vía de escape a la circulación y vasos linfáticos para realizar metástasis. También es importante señalar que, si bien hay terapias dirigidas hacia el proceso de angiogénesis, no hay suficiente evidencia de terapias que tengan como objetivo inhibir el mimetismo vasculogénico, lo que remarca la importancia de esa área de investigación. Además, es necesario resaltar que el mimetismo vasculogénico se puede formar como resistencia a la terapia antiangiogénica, disminuyendo así la eficacia de este tipo de tratamientos, y aumentando la necesidad de investigar nuevas opciones específicas para este mecanismo.

Se propone el uso del TRISR, un derivado del triazaspirano, como posible inhibidor del mimetismo vasculogénico, esto derivado de que en estudios anteriores se ha demostrado que puede inhibir la activación de FAK y se ha demostrado que esta proteína está altamente relacionada con la activación del mimetismo vasculogénico, lo que hace que se convierta en un blanco prometedor para la inhibición del mismo.

## **5. HIPÓTESIS**

El triazaspirano promueve una reducción en la secreción de MMP-9 y una disminución en la migración e invasión celular, resultando en la inhibición del mimetismo vasculogénico en células MDA-MB-231.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto del triazaspirano sobre el mimetismo vasculogénico en células tumorales mamarias invasivas MDA-MB-231.

### **6.2 Objetivos Específicos**

1. Estudiar el efecto del triazaspirano sobre la migración e invasión de células tumorales mamarias MDA-MB-231.
2. Determinar el papel del triazaspirano sobre la secreción de MMP-9 en células MDA-MB-231.
3. Conocer el efecto del triazaspirano en la proliferación y viabilidad de células MDA-MB-231.
4. Analizar el impacto del triazaspirano sobre la formación de tubos angiogénicos generados por células MDA-MB-231.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 Diseño del estudio**

Se realizó una investigación experimental cuantitativa en la Facultad de Medicina Mexicali, UABC, en Mexicali, Baja California desde el 31 de agosto del 2023 al 31 de agosto del 2025. Los experimentos se realizaron en cultivo celular de cáncer de mama triple negativo con la línea MDA-MB-231, la cual presenta altas capacidades metastásicas.

## **7.2 Cultivos celulares**

Células MDA-MB-231 fueron cultivadas en medio DMEM suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 5%, 3,7 g/l de bicarbonato de sodio y 1% de antibiótico (penicilina 5000 I.U./mL y estreptomina 5000 µg/mL) en una atmósfera humidificada con 5% CO<sub>2</sub> y 95% aire a 37 °C. Los cultivos de células MDA-MB-231 se privaron de suero durante 24 h para posteriormente realizar los ensayos.

## **7.3 Ensayo de cierre de herida**

Se realizaron ensayos de cierre de herida acorde al protocolo descrito previamente por Galindo, et al. (Galindo-Hernandez et al., 2014, 2015). Para ello, a cultivos confluentes de células MDA-MB-231 se les realizó una rayadura o herida en la monocapa de células con una punta de una micropipeta de 200 µl. Posteriormente, los cultivos se trataron con TRISR (10 µM). A continuación, las células se fijaron, tiñeron con azul brillante de coomassie G250 0.125% y la migración resultante dentro de la herida se fotografió utilizando un microscopio invertido.

## **7.4 Ensayo de Invasión en Cámara de Boyden**

Se exploró la capacidad del TRISR como reguladora de invasión tumoral mediante ensayos en cámara de Boyden acorde a su descripción en la literatura (Galindo-Hernandez et al., 2014, 2015). Los ensayos de invasión se realizaron en cámaras de Boyden con filtros recubiertos con Matrigel 25% que presentan un tamaño de poro de 8 µm. Las células MDA-MB-231 (400.000 células/cámara) se colocaron en la parte superior de la cámara de Boyden, mientras que en la parte inferior de la misma se agregaron 600 µL de medio con TRISR (10 µM). Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C para posteriormente fijarse con metanol a -70 °C durante 10 minutos. Las células que no invadieron se removieron mediante hisopos de algodón. Una vez realizado este procedimiento, las células presentes en la parte inferior se tiñeron con azul brillante de coomassie G250 0.125% y finalmente se lavaron con PBS 1X. Se evaluó la invasión resultante fotografiando las cámaras de Boyden utilizando un microscopio invertido.

### **7.5 Ensayo de Zimografía**

Para determinar la secreción de MMP-9, se realizó el ensayo de zimografía (Khalil, 2025). Brevemente, cultivos confluentes de la línea celular MDA-MB-231 se estimularon con TRISR (10  $\mu$ M) durante 24 horas, momento en que los medios condicionados se colectaron. A continuación, volúmenes iguales de medio condicionado se cargarán en geles de poliacrilamida 8% co-polimerizados con gelatina a 1%. Posteriormente, los geles se lavaron e incubaron en buffer de activación de metaloproteinasas. Finalmente, se tiñeron con azul brillante de coomassie G250 0.125%. La actividad proteolítica se detectó como bandas claras sobre fondo teñido de sustrato no degradado.

### **7.6 Ensayo de viabilidad celular**

Para evaluar el efecto del triazaspirano sobre la viabilidad celular, se realizaron ensayos de viabilidad celular por degradación de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) a cristales de formazan. Se realizó colocando 5.000 células/pozo en microplacas de 96 pocillos e incubando durante 48 horas. Las células fueron ayunadas durante 2 horas con medio OptiMEM y, sucesivamente, se trataron con TRISR (10  $\mu$ M) durante 24 horas. Después del tiempo de tratamiento, se agregó el reactivo MTT a una concentración de 2.1 mg/mL durante 4 horas, para después agregar buffer de lisis (50% dimetilformamida, 20% SDS a pH = 4) durante 16 horas. Los resultados obtenidos se midieron por absorbancia en un lector de microplacas a 590 nm y se analizaron estadísticamente.

### **7.7 Ensayo Clonogénico**

Se evaluó el efecto del triazaspirano sobre la proliferación celular y la formación de colonias en un ensayo clonogénico, el cual se realizó colocando 1.000 células MDA-MB-231 en cajas Petri de 35 mm x 12 mm, se incubaron un día, se trataron en ausencia o presencia de TRISR (10  $\mu$ M) al día 1 y se incubaron durante 3 días más. Al día 4, las células se fijaron con metanol a -70 °C, teñirán con azul brillante de coomassie G250 0.125% y las colonias formadas se fotografiaron con fotodocumentador y fueron evaluadas utilizando ImageJ.

### **7.8 Ensayos de Formación de Tubos Angiogénicos en Matrigel**

Los ensayos de formación de mimetización vasculogénica se realizaron acorde a los protocolos anteriormente descritos (Francescone III et al., 2011). Brevemente, se añadió Matrigel al 75% (50  $\mu$ L/pocillo) a pocillos en microplacas de 96 y se dejó polimerizar a 37 °C durante 30 min. Se colocaron células MDA-MB-231 (60.000 células/pocillo) en la parte superior del Matrigel y se trataron con TRISR (10  $\mu$ M). Después de la incubación durante 18 h, se evaluó la formación de tubos angiogénicos utilizando un microscopio invertido. Se realizó la cuantificación de ramas (elongaciones de tubos) y nodos (intersecciones donde se conectan 2 o más ramas) de acuerdo a la metodología de Hulin (Hulin et al., 2017).

### **7.9 Análisis de base de datos *Kaplan-Meier Plotter***

Se decidió utilizar la base de datos *Kaplan-Meier Plotter* para realizar una gráfica de supervivencia para la proteína SERCA2. Esta base de datos permite la realización de las gráficas de supervivencia general de mRNA y proteínas blanco utilizando bases de datos provenientes de The Cancer Genome Atlas (TCGA), European Genome-Phenome Archive (EGA), Metabarc y PUBMED (Balázs, s/f; Györfy, 2021).

### **7.10 Ensayo de Inmunodetección de Proteínas**

Cultivos confluentes de células MDA-MB-231 se trataron con TRISR (10  $\mu$ M) durante 24 horas. Al finalizar el tratamiento, los lisados celulares se obtuvieron utilizando el buffer de lisis RIPA 1X y se cuantificaron con el método de ácido bicinonínico. Las proteínas se separaron por electroforesis SDS-PAGE al 8%, y fueron transferidas a una membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF). Posteriormente, las membranas de PVDF se bloquearon con leche al 5% durante 2 horas a 37 °C, para después colocar el anticuerpo primario correspondiente e incubarlo durante toda la noche a 4°C. Una vez transcurrido el tiempo, las membranas se lavaron 4 veces durante 15 minutos con TBS Tween al 0.1% y posteriormente se incubaron con anticuerpo secundario especie-específico peroxidado durante 2 horas a 37 °C, seguido de 4 lavados durante 15 minutos con TBS-Tween al 0.1% y revelando mediante quimioluminiscencia. Las autorradiografías se escanearon y las bandas cuantificadas usando el programa ImageJ 1.54p.

### **7.11 Análisis estadístico**

Los resultados se expresaron como promedio  $\pm$  D.E de, al menos, tres experimentos independientes de cada uno de los ensayos y cuantificaciones que se proponen en la metodología. Los datos se analizaron estadísticamente usando la prueba ANOVA de una vía comparada mediante la prueba múltiple de Dunnett. La probabilidad estadística  $P < 0.05$  se consideró significativa.

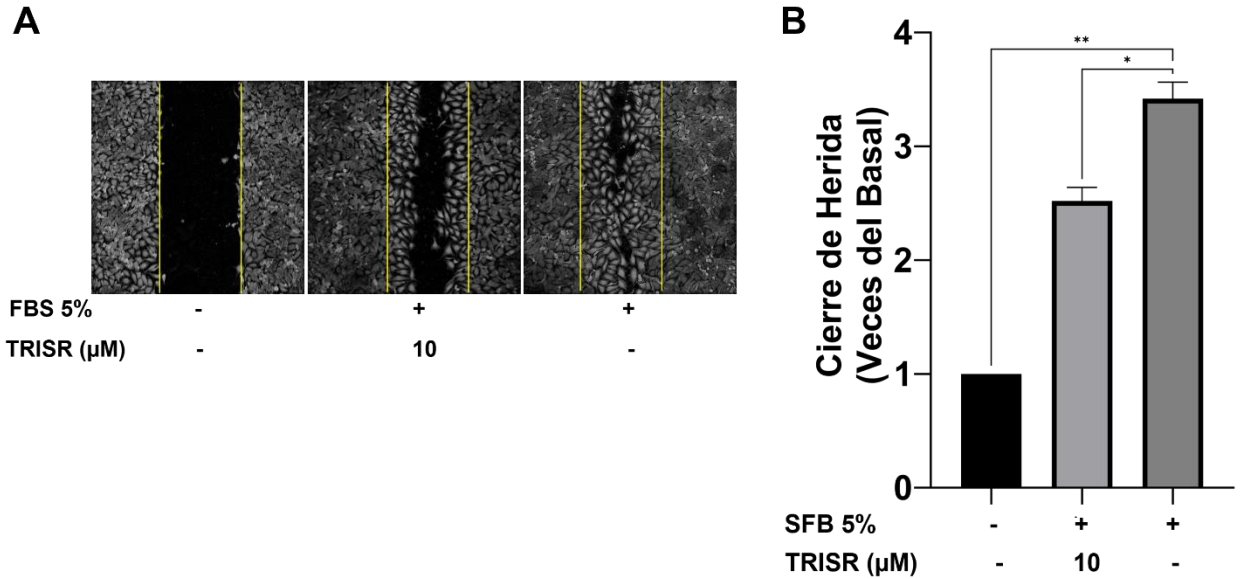
### **7.12 Aspectos éticos y de bioseguridad**

El presente trabajo se realizó con apego a los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental – Salud ambiental – Residuos peligrosos biológico-infecciosos – Clasificación y especificaciones de manejo.

## **8. RESULTADOS**

### **8.1 La migración de células MDA-MB-231 es inhibida por el triazaspirano**

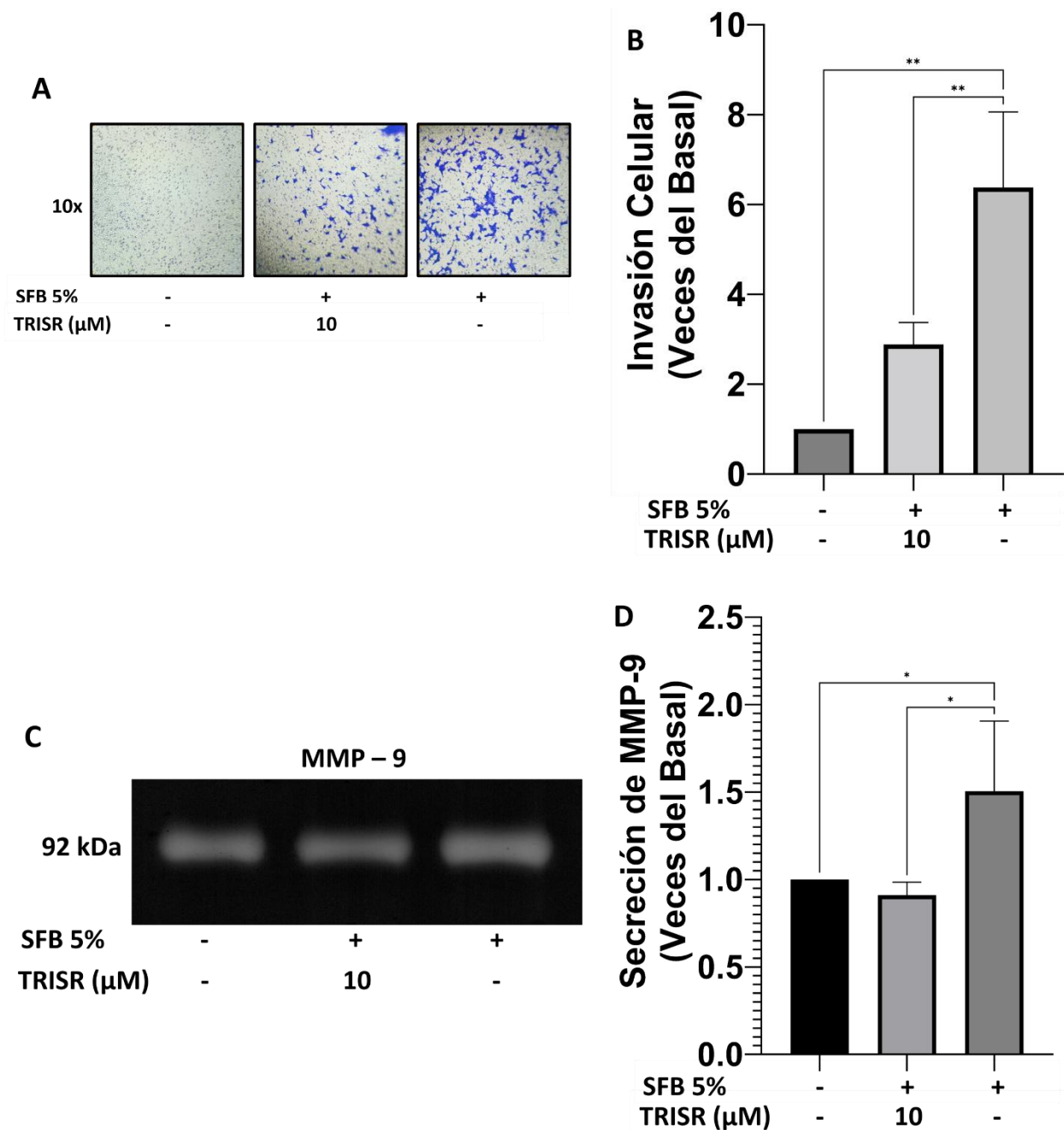
La migración celular es un proceso fundamental para la progresión de carcinomas invasivos, ya que es por este mecanismo que las células adquieren características móviles para diseminarse a órganos distantes. Por esto, se decidió evaluar la migración celular por medio de ensayos de cierre de herida. En los resultados obtenidos apreciamos una reducción significativa en la cerradura de la herida con el tratamiento de TRISR a una concentración de 10  $\mu$ M con respecto al control con estímulo de SFB 5%, (fig. 4A y 4B).



**Figura 4. Efecto del triazaspirano sobre la migración en células MDA-MB-231.** A) Cultivo celular confluyente de células MDA-MB-231 fueron ayunados y pretratados con mitomicina C. Sucesivamente, se realizaron las heridas y se incubaron con los tratamientos mostrados durante 24 horas. Para finalizar, las células fueron fijadas con metanol puro y teñidas con azul de coomassie. Las células fueron fotografiadas con un microscopio invertido y cuantificadas con el software ImageJ 1.54g. B) Gráfica resultado del análisis estadístico de la media  $\pm$  D. E. de al menos tres experimentos independientes utilizando el software GraphPad Prism v. 9.4.1.

## 8.2 La invasión de células MDA-MB-231 es inhibida por el triazaspirano

La invasión celular es clasificada como una de las características distintivas del cáncer y una de las propiedades que adquieren las células tumorales altamente invasivas al realizar la transición epitelio-mesénquima, la cual es realizada gracias a su capacidad de secretar las metaloproteinasas 2 (MMP-2) y 9 (MMP-9), que permiten remodelar la matriz extracelular y generar vías para realizar metástasis. Es por esto, que se evaluó el efecto del TRISR sobre la invasión celular en cámaras de Boyden y la secreción de MMP-9 en zimogramas. Se puede observar en los resultados obtenidos en los ensayos de invasión, que, a una concentración de 10  $\mu$ M de TRISR, existe una reducción en la capacidad invasiva de las células MDA-MB-231 de aproximadamente el 50% (figuras 5A y 5B). Como se observa en las figuras 5C y 5D, existe una reducción significativa en la secreción de MMP-9 en células MDA-MB-231 bajo el tratamiento de 10  $\mu$ M de TRISR.

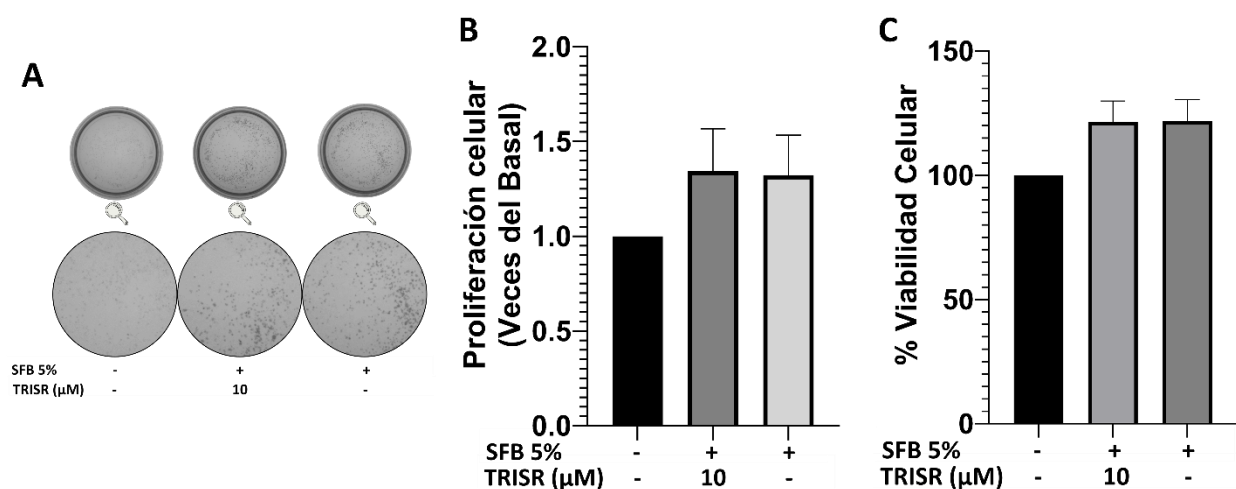


**Figura 5. Efecto del triazaspirano sobre la invasión y la secreción de metaloproteinas 9 en células MDA-MB-231.** A) Cultivo confluyente de células MDA-MB-231 fueron ayunadas y tratadas con mitomicina C antes de iniciar el ensayo de invasión. Se colocaron las células en cámaras de Boyden con filtros cubiertos con matrigel al 25%. Los tratamientos indicados fueron colocados en la zona inferior de las cámaras de Boyden e incubados durante 24 horas. Posteriormente, las células fueron fijadas y teñidas, para sucesivamente ser fotografiadas con un microscopio invertido y cuantificadas con el software ImageJ 1.54g. B) Análisis estadístico de la media  $\pm$  D. E. de al menos tres experimentos independientes expresada con respecto al control positivo analizados utilizando el software GraphPad Prism v. 9.4.1. C) Cultivos

confluentes de células MDA-MB-231 fueron ayunados durante 24 horas y después tratados con los estímulos indicados durante 24 horas. Seguidamente, se recolecto el medio de cultivo para evaluar la secreción de MMP-9 por zimografía. El gel obtenido fue incubado en buffer de activación durante 48 horas y teñido durante 24 horas para posteriormente ser fotografiado utilizando un fotodocumentador y analizadas utilizando el software ImageJ 1.54g. D) Análisis estadístico de la media  $\pm$  D.E. de, al menos, tres ensayos independientes de zimografía expresados con respecto al control negativo analizados con el software GraphPad Prism v. 9.4.1. D.E. = Desviación Estándar. \*  $P < 0.05$ . \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

### 8.3 La viabilidad celular y la proliferación de las células MDA-MB-231 no se ven afectadas por el triazaspirano

En diferentes estudios, se han utilizado los ensayos de MTT para evaluar viabilidad y formación de colonias para evaluar la proliferación celular y determinar los efectos citotóxicos de diferentes compuestos durante los ensayos *in vitro* (Ding et al., 2021; Rama et al., 2022; J. D. J. Vasconcelos-Ulloa et al., 2023). Por ello, se decidió evaluar el efecto del TRISR sobre la viabilidad y la proliferación de las células MDA-MB-231. En los datos obtenidos se aprecia que el TRISR, a una concentración de 10  $\mu\text{M}$ , no afecta la proliferación y la viabilidad de células MDA-MB-231 (fig. 6A, B, y C).

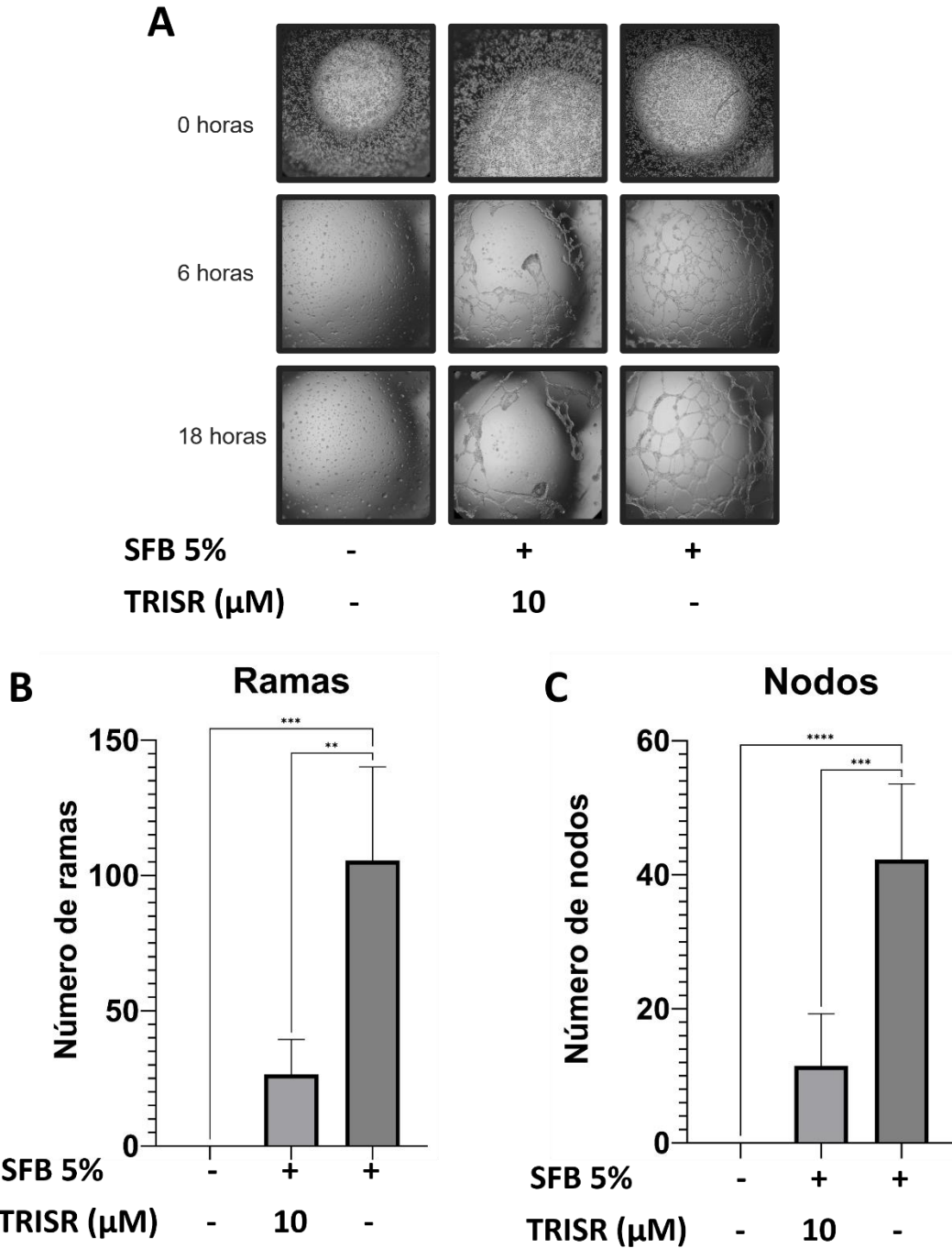


**Figura 6. Efecto del triazaspirano sobre la proliferación y viabilidad celular.** A)  $1 \times 10^3$  células fueron cultivadas en cajas de 35 mm durante 24 horas y posteriormente fueron estimuladas con los tratamientos indicados durante 4 días, para posteriormente ser fijadas y teñidas. Las células teñidas fueron fotografiadas utilizando un fotodocumentador y cuantificadas con ImageJ 1.54g. B) Análisis estadístico de la media  $\pm$  D.

E. de al menos 3 experimentos independientes expresada con respecto al control positivo. C) Células MDA fueron cultivadas en microplacas de 96 pozos en medio DMEM + SFB 5% hasta alcanzar el 80% de confluencia, sucesivamente se ayunaron durante 2 horas en medio OptiMEM para posteriormente ser tratadas con las condiciones indicadas durante 24 horas. Sucesivamente, se agregó el reactivo MTT a una concentración de 2.1 mg/mL durante 4 horas y se añadió buffer de lisis durante 16 horas para medir la absorbancia a 590 nm. La gráfica representa la media  $\pm$  D.E. de 2 experimentos independientes expresada con respecto al control positivo. D.E. = Desviación Estándar, DMEM =Dulbecco's Modified Eagle's Medium, SFB = Suero Fetal Bovino. \*  $P < 0.05$ .

#### **8.4 El mimetismo vasculogénico se ve inhibido por el triazaspirano**

El mimetismo vasculogénico ha sido descrito como un proceso necesario para la progresión tumoral, ya que es una fuente de nutrientes y oxígeno, así como, una vía de acceso hacia la circulación para poder llevar a cabo metástasis. Para que este proceso se lleve a cabo, es necesario que se coordinen los procesos de migración, proliferación y remodelación de matriz extracelular. Nuestros datos previos revelan que el TRISR inhibe de forma significativa estos procesos, llevándonos a evaluar el efecto del mismo sobre la formación del mimetismo vasculogénico con un ensayo de formación de tubos angiogénicos. Como se muestra en las Fig. 7A-C, después de 18 horas de tratamiento se genera una reducción en la formación de tubos (disminución de ramas y nodos) en células MDA-MB-231 tratadas con TRISR. Estos datos indican que el TRISR a 10  $\mu$ M inhibe la formación del mimetismo vasculogénico en células tumorales mamarias MDA-MB-231.

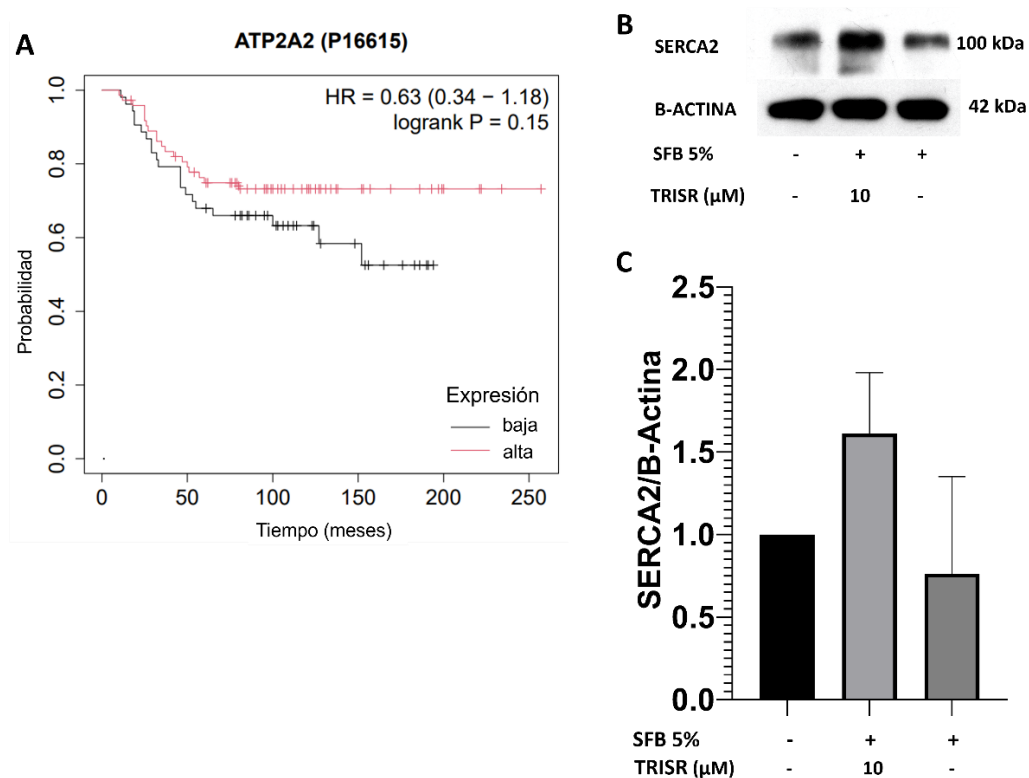


**Figura 7. Impacto del triazaspirano sobre el mimetismo vasculogénico.** A) Células MDA-MB-231 fueron cultivadas en cajas de 96 pozos cubiertas con matrigel al 75% y estimuladas con los tratamientos indicados, para posteriormente ser incubadas y fotografiadas utilizando un microscopio invertido en los intervalos de tiempo de 0, 6 y 18 horas. Se realizó la cuantificación de nodos y ramas después de 18 horas de estimulación utilizando el software ImageJ 1.54g. B) Análisis estadístico de la media  $\pm$  D.E. de la cuantificación de ramas de al menos 3 experimentos independientes analizadoss con el software

GraphPad Prism v. 9.4.1. C) Análisis estadístico de la media  $\pm$  D.E. de la cuantificación de nodos de al menos 3 experimentos independientes analizados con el software GraphPad Prism v. 9.4.1. D.E. = Desviación Estándar. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ . Rama = Túbulo formado por células de cáncer de mama que simulan los vasos sanguíneos. Nodo = Cumulo de células donde se conectan 2 o más ramas.

### **8.5 El triazaspirano no afecta a la expresión de la bomba SERCA2.**

La ATPasa de calcio del retículo sarcoplásmico/endoplásmico 2 es una bomba que se encarga de introducir calcio al retículo endoplásmico para el correcto plegamiento de las proteínas, cuando ésta se encuentra sobreexpresada es un indicador de estrés de retículo endoplásmico. Utilizando herramientas bioinformáticas encontramos que una sobreexpresión de la bomba SERCA2 está relacionado a una mayor supervivencia general en pacientes con TNBC (Figura 8A). Por ello realizamos un análisis de inmunodetección de proteínas para determinar si el tratamiento con TRISR afectaba la expresión de SERCA2 y, por lo tanto, desencadenaba estrés de retículo endoplásmico. Sin embargo, en nuestros resultados (figura 8B y 8C), encontramos que no hay diferencia significativa en la expresión de SERCA2 con el tratamiento con TRISR a una concentración de 10  $\mu$ M.



**Figura 8. Efecto del triazaspirano sobre la expresión de SERCA2.** A) Utilizando la base de datos Kaplan-Meier Plotter, se obtuvo la gráfica de supervivencia general de la proteína SERCA2 (Gen: ATP2A2) de pacientes con cáncer de mama triple negativo. B) Ensayo de inmunodetección para la proteína SERCA2. C) Análisis estadístico de la media  $\pm$  D.E. de por lo menos tres ensayos independientes del ensayo de inmunodetección de proteínas de SERCA2 con respecto al control de carga  $\beta$ -Actina, analizados con el software GraphPad Prism v. 9.4.1. D.E. = Desviación Estándar.

## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El cáncer de mama triple negativo es uno de los más estudiados debido a su capacidad de realizar procesos metastásicos, rápida proliferación y a las pocas opciones terapéuticas que existen actualmente (Yin et al., 2020).

En este tipo de cáncer, es importante la detección oportuna, para evitar la diseminación de células tumorales a órganos distantes, ya que se ha demostrado que disminuyen en gran medida el pronóstico del paciente, disminuyendo de un 65% aproximadamente a un 11% en aquellos pacientes con metástasis, indicando que también hay que optar por investigar fármacos que puedan inhibir la capacidad migratoria e invasiva de estas células tumorales (Won & Spruck, 2020).

Los azaspiranos son compuestos espiro heterocíclicos que contienen por lo menos un átomo de nitrógeno en su estructura y han sido investigados como posibles moléculas anticancerígenas en los últimos años, demostrando capacidad para inhibir la proliferación, la migración y la invasión celular en diferentes tipos de cáncer (Amit-Vazina et al., 2005; Sulaiman et al., 2016; J. D. J. Vasconcelos-Ulloa et al., 2023).

El TRISR es un tipo de azaspirano que ha demostrado tener capacidad antitumoral en células de cáncer de próstata, inhibiendo la migración celular, la invasión celular y la secreción de metaloproteinasas, así como la inhibición de las proteínas FAK y Src, relacionadas con los procesos antes mencionados (J. Vasconcelos-Ulloa, 2023). Debido a estos hallazgos, es que se decidió utilizar el TRISR para investigar su efecto sobre la regulación de procesos relacionados con la metástasis en células de cáncer de mama triple negativo, así como poder dilucidar su mecanismo de acción sobre este mismo modelo celular.

La migración e invasión celular son un procesos fundamentales para la progresión tumoral, y son necesarias para la generación de metástasis, siendo esta última una de las principales causas de muerte en pacientes con cáncer de mama triple negativo (Lehmann et al., 2011). Es por esto que se decidió evaluar este proceso en las células correspondientes a este tipo de cáncer, donde se encontró un efecto de inhibición sobre los procesos de migración celular e invasión utilizando una concentración de 10  $\mu$ M de TRISR, teniendo un efecto similar al obtenido en los estudios en células de cáncer de próstata (J. D. J. Vasconcelos-Ulloa et al., 2023). Las células tumorales secretan metaloproteinasas de matriz (MMP) para la degradación de las proteínas de la matriz extracelular, permitiéndoles remodelarla y tener una vía de escape hacia los vasos sanguíneos y realizar metástasis. Es por esto que se decidió evaluar la MMP más relacionada a procesos invasivos en cáncer de mama triple negativo, la MMP-9, con la molécula de triazaspirano, donde se encontró una disminución significativa en la secreción de la misma, lo cual tiene una relación directa con la disminución encontrada sobre el proceso de invasión celular. Los anterior demuestra que la capacidad del triazaspirano para inhibir los procesos relacionados con la metástasis no son específicos para tumores prostáticos, si no que están relacionados con la agresividad de los tumores.

También se decidió evaluar si la concentración utilizada podría tener un efecto citotóxico sobre la viabilidad celular y la proliferación celular, como es el caso de la molécula CIMO y Atiprimod, donde en concentraciones muy pequeñas pueden llevar a las células a un estado apoptótico (Amit-Vazina et al., 2005; Sulaiman et al., 2016).

En nuestro trabajo se encontró que con el triazaspirano no hay efecto significativo sobre la viabilidad y la proliferación, lo que no es lo esperado en tratamientos antitumorales, sin embargo, también se ha observado que los tratamientos antitumorales pueden ser agresivos para los pacientes con este tipo de neoplasias (*Triple-Negative Breast Cancer | Details, Diagnosis, and Signs, s/f*), por lo que también es necesario realizar investigaciones donde se busque controlar los tumores sin afectar la calidad de vida de los pacientes.

El mimetismo vasculogénico es un proceso recientemente descrito, donde las células tumorales forman tubos parecidos a los vasos sanguíneos para poder abastecerse de sangre y nutrientes, así como para abrir una vía de acceso a la circulación para realizar metástasis a órganos distantes, este proceso se ha relacionado también a un menor pronóstico en pacientes de cáncer de mama triple negativo, lo que lo hace un blanco interesante para las investigaciones novedosas de nuevos tratamientos antitumorales (Guan et al., 2025; Morales-Guadarrama et al., 2021). Es por esto que se utilizó el triazaspirano como posible inhibidor de este proceso *in vitro* con células de cáncer de mama triple negativo, teniendo efectos significativos a una concentración de 10  $\mu\text{M}$ .

El retículo endoplásmico (RE) es un organelo fundamental para la producción de proteínas, en éste, se las proteínas son sintetizadas, plegadas y modificadas después de la traducción. Sin embargo, a pesar de ser un organelo crítico para el plegamiento de las proteínas, existe una variedad de factores que pueden afectar a su funcionamiento, evitando así el correcto plegamiento de las proteínas, a este mecanismo se le conoce como estrés de retículo endoplasmático (Chen & Cubillos-Ruiz, 2021; Ghemrawi et al., 2025). Entre los factores que pueden activar el estrés RE, se encuentra la bomba SERCA2, la cual se encarga de mantener la homeostasis de  $\text{Ca}^{+2}$  entre el citoplasma y el RE, el cual es fundamental para el buen plegamiento de las proteínas dentro del RE. La inhibición de SERCA2 puede llevar a una sobreexpresión de la misma, lo que

desencadena la activación del estrés RE. Se ha demostrado que activar este mecanismo en células tumorales puede activar vías pro-apoptóticas e inhibir vías vinculadas a la invasión y migración celular (C. Kim & Kim, 2018; Lin et al., 2019; Peterková et al., 2020; Xu et al., 2024). También se ha descrito que la molécula Atiprimod, un derivado de los azaspiranos, puede inhibir la progresión tumoral en células de cáncer de mama triple negativo al causar estrés de retículo (Coker-Gurkan et al., 2021), lo que nos llevó a probar si el TRISR podría tener el mismo efecto y causar estrés RE a través de la sobreexpresión de SERCA2, sin embargo, como se demostró en los resultados, no se observa una relación entre la molécula TRISR y la expresión SERCA2. Este resultado refuerza los datos presentados por Vasconcelos, et al., donde propone que el mecanismo de acción principal del TRISR se da por la inhibición de la vía FAK/Src (J. D. J. Vasconcelos-Ulloa et al., 2023).

También, es importante resaltar que si bien se han utilizado derivados del azaspiranos como inhibidores de proliferación, migración y angiogénesis (Amit-Vazina et al., 2005; Coker-Gurkan et al., 2021; Sulaiman et al., 2016; J. D. J. Vasconcelos-Ulloa et al., 2023), este es el primer trabajo donde se demuestra la capacidad de un derivado del azaspirano como inhibidor del mimetismo vasculogénico.

## **10. Conclusiones**

Se demostró que el triazaspirano tiene un efecto inhibitorio sobre la migración e invasión celular y sobre la secreción de MMP-9 en células de cáncer de mama triple negativo. También se encontró que el triazaspirano no tiene un efecto significativo sobre la proliferación y la viabilidad de las células tumorales de cáncer de mama triple negativo. Para finalizar, se observó que el triazaspirano tiene un efecto inhibitorio del mimetismo vasculogénico en células de cáncer de mama triple negativo. Con lo anterior se abren las bases para poder llevar a cabo diferentes investigaciones sobre el efecto que pueden tener en otros tipos de líneas celulares, así como avanzar la investigación a un modelo *in vivo*, para tener mejor conocimiento del efecto de la molécula en sistemas más complejo, así como la dilucidación de su mecanismo de acción.

## 11. RECURSOS

El presente proyecto cuenta con el apoyo económico de la Convocatoria del Consejo de Vinculación 2023.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amit-Vazina, M., Shishodia, S., Harris, D., Van, Q., Wang, M., Weber, D., Alexanian, R., Talpaz, M., Aggarwal, B. B., & Estrov, Z. (2005). Atiprimod blocks STAT3 phosphorylation and induces apoptosis in multiple myeloma cells. *British Journal of Cancer*, 93(1), 70–80. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602637>
- Andonegui-Elguera, M. A., Alfaro-Mora, Y., Cáceres-Gutiérrez, R., Caro-Sánchez, C. H. S., Herrera, L. A., & Díaz-Chávez, J. (2020). An Overview of Vasculogenic Mimicry in Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 10, 220. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00220>
- Badger, A. M., Newman-Tarr, T. M., & Satterfield, J. L. (1997). Selective immunomodulatory activity of SK&F 106615, a macrophage-targeting antiarthritic compound, on antibody and cellular responses in rats and mice. *Immunopharmacology*, 37(1), 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(97\)00003-9](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(97)00003-9)
- Balázs, G. (s/f). *KM-plot*. Kaplan-Meier Plotter. Recuperado el 19 de noviembre de 2025, de <http://www.kmplot.com/analysis>
- Biswas, S. K., Banerjee, S., Baker, G. W., Kuo, C.-Y., & Chowdhury, I. (2022). The Mammary Gland: Basic Structure and Molecular Signaling during Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3883. <https://doi.org/10.3390/ijms23073883>
- Borri, F., & Granaglia, A. (2021). Pathology of triple negative breast cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 72, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.06.005>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024a). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>

- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024b). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Canadian Cancer Society. (s/f). *Non-cancerous tumours of the breast*. [https://cancer.ca/en/cancer-information/cancer-types/breast/what-is-breast-cancer/non-cancerous-tumours#:~:text=A%20non%2Dcancerous%20\(benign\),usually%20come%20back%20\(recur\).](https://cancer.ca/en/cancer-information/cancer-types/breast/what-is-breast-cancer/non-cancerous-tumours#:~:text=A%20non%2Dcancerous%20(benign),usually%20come%20back%20(recur).)
- Chen, X., & Cubillos-Ruiz, J. R. (2021). Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment. *Nature Reviews Cancer*, 21(2), 71–88. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00312-2>
- Coker-Gurkan, A., Ayhan-Sahin, B., Keceloglu, G., Obakan-Yerlikaya, P., Arisan, E., & Palavan-Unsal, N. (2019). Atiprimod induce apoptosis in pituitary adenoma: Endoplasmic reticulum stress and autophagy pathways. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(12), 19749–19763. <https://doi.org/10.1002/jcb.29281>
- Coker-Gurkan, A., Can, E., Sahin, S., Obakan-Yerlikaya, P., & Arisan, E.-D. (2021). Atiprimod triggered apoptotic cell death via acting on PERK/eIF2 $\alpha$ /ATF4/CHOP and STAT3/NF-KB axis in MDA-MB-231 and MDA-MB-468 breast cancer cells. *Molecular Biology Reports*, 48(6), 5233–5247. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06528-1>
- Delgado-Bellido, D., Zamudio-Martínez, E., Fernández-Cortés, M., Herrera-Campos, A. B., Olmedo-Pelayo, J., Perez, C. J., Expósito, J., De Álava, E., Amaral, A. T., Valle, F. O., Diaz, A. G., & Oliver, F. J. (2023). VE-Cadherin modulates  $\beta$ -catenin/TCF-4 to enhance Vasculogenic Mimicry. *Cell Death & Disease*, 14(2), 135. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05666-7>
- Díaz, M. (2025). *Estadísticas a propósito del Día Internacional de la Lucha contra el Cáncer de Mama (19 de octubre)*.
- Ding, Y., Chen, X., Liu, C., Ge, W., Wang, Q., Hao, X., Wang, M., Chen, Y., & Zhang, Q. (2021). Identification of a small molecule as inducer of ferroptosis and apoptosis

- through ubiquitination of GPX4 in triple negative breast cancer cells. *Journal of Hematology & Oncology*, 14(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-01016-8>
- Duran, C. L., Howell, D. W., Dave, J. M., Smith, R. L., Torrie, M. E., Essner, J. J., & Bayless, K. J. (2017). Molecular Regulation of Sprouting Angiogenesis. En Y. S. Prakash (Ed.), *Comprehensive Physiology* (1a ed., pp. 153–235). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160048>
- Francescone lii, R. A., Faibish, M., & Shao, R. (2011). A Matrigel-Based Tube Formation Assay to Assess the Vasculogenic Activity of Tumor Cells. *Journal of Visualized Experiments*, 55, 3040. <https://doi.org/10.3791/3040>
- Galindo-Hernandez, O., Gonzales-Vazquez, C., Cortes-Reynosa, P., Reyes-Uribe, E., Chavez-Ocaña, S., Reyes-Hernandez, O., Sierra-Martinez, M., & Salazar, E. P. (2015). Extracellular vesicles from women with breast cancer promote an epithelial-mesenchymal transition-like process in mammary epithelial cells MCF10A. *Tumor Biology*, 36(12), 9649–9659. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3711-9>
- Galindo-Hernandez, O., Serna-Marquez, N., Castillo-Sanchez, R., & Salazar, E. P. (2014). Extracellular vesicles from MDA-MB-231 breast cancer cells stimulated with linoleic acid promote an EMT-like process in MCF10A cells. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 91(6), 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2014.09.002>
- Ghemrawi, R., Kremesh, S., Mousa, W. K., & Khair, M. (2025). The Role of ER Stress and the Unfolded Protein Response in Cancer. *Cancer Genomics - Proteomics*, 22(3), 363–381. <https://doi.org/10.21873/cgp.20507>
- Guan, C., Hao, L., Gong, B., & Zheng, L. (2025). The mechanisms of action and targeting potential of vasculogenic mimicry in breast cancer metastasis. *Advances in Cancer Biology - Metastasis*, 15, 100153. <https://doi.org/10.1016/j.adcanc.2025.100153>
- Györfy, B. (2021). Survival analysis across the entire transcriptome identifies biomarkers with the highest prognostic power in breast cancer. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 4101–4109. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.07.014>
- Hall, M. I., Suarez-Venot, A., Lindvall, T., Plochocki, J. H., Grossman, A., Rodriguez-Sosa, J. R., Voegelé, G. M., Valdez, D. R., & Georgi, J. A. (2024). A reinterpretation

- of human breast anatomy includes all the layers of the anterior body wall. *The Anatomical Record*, 307(11), 3564–3573. <https://doi.org/10.1002/ar.25456>
- Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., Ruddy, K., Tsang, J., & Cardoso, F. (2019). Breast cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 66. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0111-2>
- Hassiotou, F., & Geddes, D. (2013). Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. *Clinical Anatomy*, 26(1), 29–48. <https://doi.org/10.1002/ca.22165>
- Hulin, J.-A., Tommasi, S., Elliot, D., Hu, D. G., Lewis, B. C., & Mangoni, A. A. (2017). MiR-193b regulates breast cancer cell migration and vasculogenic mimicry by targeting dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1. *Scientific Reports*, 7(1), 13996. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14454-1>
- Khalil, R. A. (Ed.). (2025). *Zymography: Biological and Clinical Applications, Volume 2* (Vol. 2918). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4482-9>
- Kim, C., & Kim, B. (2018). Anti-Cancer Natural Products and Their Bioactive Compounds Inducing ER Stress-Mediated Apoptosis: A Review. *Nutrients*, 10(8), 1021. <https://doi.org/10.3390/nu10081021>
- Kim, H. S., Won, Y. J., Shim, J. H., Kim, H. J., Kim, J., Hong, H. N., & Kim, B. S. (2019). Morphological characteristics of vasculogenic mimicry and its correlation with EphA2 expression in gastric adenocarcinoma. *Scientific Reports*, 9(1), 3414. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40265-7>
- Kim, H., Won, Y., Shim, J., Kim, H., Kim, B., & Hong, H. (2019). Role of EphA2-PI3K signaling in vasculogenic mimicry induced by cancer-associated fibroblasts in gastric cancer cells. *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10677>
- Lehmann, B. D., Bauer, J. A., Chen, X., Sanders, M. E., Chakravarthy, A. B., Shyr, Y., & Pietersen, J. A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *Journal of Clinical Investigation*, 121(7), 2750–2767. <https://doi.org/10.1172/JCI45014>
- Li, S., Meng, W., Guan, Z., Guo, Y., & Han, X. (2016). The hypoxia-related signaling pathways of vasculogenic mimicry in tumor treatment. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 80, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.03.010>

- Li, T., Kang, G., Wang, T., & Huang, H. (2018). Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer (Review). *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8733>
- Li, Y., Zhang, H., Merkhher, Y., Chen, L., Liu, N., Leonov, S., & Chen, Y. (2022). Recent advances in therapeutic strategies for triple-negative breast cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, *15*(1), 121. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01341-0>
- Lin, Y., Jiang, M., Chen, W., Zhao, T., & Wei, Y. (2019). Cancer and ER stress: Mutual crosstalk between autophagy, oxidative stress and inflammatory response. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *118*, 109249. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109249>
- Loibl, S., & Gianni, L. (2017). HER2-positive breast cancer. *The Lancet*, *389*(10087), 2415–2429. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32417-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32417-5)
- Luo, Q., Wang, J., Zhao, W., Peng, Z., Liu, X., Li, B., Zhang, H., Shan, B., Zhang, C., & Duan, C. (2020a). Vasculogenic mimicry in carcinogenesis and clinical applications. *Journal of Hematology & Oncology*, *13*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00858-6>
- Luo, Q., Wang, J., Zhao, W., Peng, Z., Liu, X., Li, B., Zhang, H., Shan, B., Zhang, C., & Duan, C. (2020b). Vasculogenic mimicry in carcinogenesis and clinical applications. *Journal of Hematology & Oncology*, *13*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00858-6>
- Mirabelli, C. K., & Picker, D. H. (1990). *75 Inventors: Alison M. Badger, Bryn Mawr; Elaine N. Cheeseman, Phoenixville; Michael J. DiMartino, Philadelphia; James W. Dorman, West Chester;*
- Mitra, D., Bhattacharyya, S., Alam, N., Sen, S., Mitra, S., Mandal, S., Vignesh, S., Majumder, B., & Murmu, N. (2020). Phosphorylation of EphA2 receptor and vasculogenic mimicry is an indicator of poor prognosis in invasive carcinoma of the breast. *Breast Cancer Research and Treatment*, *179*(2), 359–370. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05482-8>
- Morales-Guadarrama, G., García-Becerra, R., Méndez-Pérez, E. A., García-Quiroz, J., Avila, E., & Díaz, L. (2021). Vasculogenic Mimicry in Breast Cancer: Clinical Relevance and Drivers. *Cells*, *10*(7), 1758. <https://doi.org/10.3390/cells10071758>

- Ortiz Valdez, E., Rangel-Escareño, C., Matus Santos, J. A., Vázquez Romo, R., Guijosa, A., Villarreal-Garza, C., Arrieta, O., Rodríguez-Bautista, R., Caro-Sánchez, C., & Ortega Gómez, A. (2022). Characterization of triple negative breast cancer gene expression profiles in Mexican patients. *Molecular and Clinical Oncology*, *18*(1), 5. <https://doi.org/10.3892/mco.2022.2601>
- Pauls, M., Chia, S., & LeVasseur, N. (2022). Current and New Novel Combination Treatments for Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *Current Oncology*, *29*(7), 4748–4767. <https://doi.org/10.3390/curroncol29070377>
- Peterková, L., Kmoníčková, E., Ruml, T., & Rimpelová, S. (2020). Sarco/Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase Inhibitors: Beyond Anticancer Perspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, *63*(5), 1937–1963. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01509>
- Rama, A. R., Lara, P., Mesas, C., Quiñonero, F., Vélez, C., Melguizo, C., & Prados, J. (2022). Circular Sponge against miR-21 Enhances the Antitumor Activity of Doxorubicin against Breast Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(23), 14803. <https://doi.org/10.3390/ijms232314803>
- Shuai, Q., Cao, L., Qin, Z., Zhang, Y., Gu, Z., & Yang, J. (2020). VE-cadherin fusion protein substrate enhanced the vasculogenic mimicry capability of hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Materials Chemistry B*, *8*(8), 1699–1712. <https://doi.org/10.1039/C9TB02790D>
- Sulaiman, N. B. S., Mohan, C. D., Basappa, Pandey, V., Rangappa, S., Bharathkumar, H., Kumar, A. P., Lobie, P. E., & Rangappa, K. S. (2016). An azaspirane derivative suppresses growth and induces apoptosis of ER-positive and ER-negative breast cancer cells through the modulation of JAK2/STAT3 signaling pathway. *International Journal of Oncology*, *49*(3), 1221–1229. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3615>
- Sun, H., Zhang, D., Yao, Z., Lin, X., Liu, J., Gu, Q., Dong, X., Liu, F., Wang, Y., Yao, N., Cheng, S., Li, L., & Sun, S. (2017). Anti-angiogenic treatment promotes triple-negative breast cancer invasion via vasculogenic mimicry. *Cancer Biology & Therapy*, *18*(4), 205–213. <https://doi.org/10.1080/15384047.2017.1294288>

- Triple-negative Breast Cancer | Details, Diagnosis, and Signs.* (s/f). Recuperado el 31 de mayo de 2025, de <https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/about/types-of-breast-cancer/triple-negative.html>
- Ureña, A. M., & Rosenkranz, B. M. (2018). *Generalidades de cáncer de mama para médico general.* 35.
- Vasconcelos-Ulloa, J. (2023). *Evaluación de la actividad de dos triazaspiranos como inhibidores de la migración e invasión en células tumorales prostáticas PC3.* Universidad Autónoma de Baja California.
- Vasconcelos-Ulloa, J. D. J., García-González, V., Valdez-Salas, B., Vázquez-Jiménez, J. G., Rivero-Espejel, I., Díaz-Molina, R., & Galindo-Hernández, O. (2023). A Triazaspirane Derivative Inhibits Migration and Invasion in PC3 Prostate Cancer Cells. *Molecules*, 28(11), 4524. <https://doi.org/10.3390/molecules28114524>
- Wei, X., Chen, Y., Jiang, X., Peng, M., Liu, Y., Mo, Y., Ren, D., Hua, Y., Yu, B., Zhou, Y., Liao, Q., Wang, H., Xiang, B., Zhou, M., Li, X., Li, G., Li, Y., Xiong, W., & Zeng, Z. (2021). Mechanisms of vasculogenic mimicry in hypoxic tumor microenvironments. *Molecular Cancer*, 20(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01288-1>
- Won, K., & Spruck, C. (2020). Triple-negative breast cancer therapy: Current and future perspectives (Review). *International Journal of Oncology*, 57(6), 1245–1261. <https://doi.org/10.3892/ijo.2020.5135>
- Xu, Z., Shi, Y., Zhu, L., Luo, J., Hu, Q., Jiang, S., Xiao, M., Jiang, X., Wang, H., Xu, Y., Jin, W., Zhou, Y., Wang, P., & Wang, K. (2024). Novel SERCA2 inhibitor Diphyllin displays anti-tumor effect in non-small cell lung cancer by promoting endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *Cancer Letters*, 598, 217075. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.217075>
- Yin, L., Duan, J.-J., Bian, X.-W., & Yu, S. (2020). Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Research*, 22(1), 61. <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01296-5>