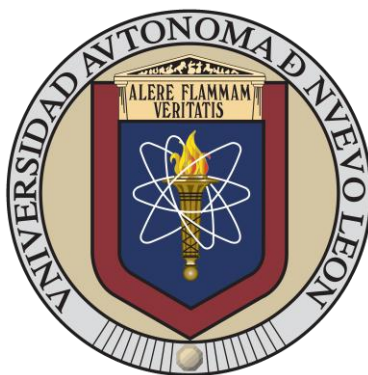


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ACTIVIDAD PROLIFERATIVA, ANTIMICROBIANA Y ANTITUMORAL DE UNA  
MEMBRANA ELECTROHILADA DE POLIURETANO CARGADA CON  
NANOPARTÍCULAS LIPOFÍLICAS DE BISMUTO (BISBAL NPS)  
CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A  
METICILINA Y CÁNCER DE MAMA HUMANO.

POR

JESÚS ALEJANDRO TORRES BETANCOURT

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORADO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN  
EN BIOTECNOLOGÍA

2025

**ACTIVIDAD PROLIFERATIVA, ANTIMICROBIANA Y ANTITUMORAL DE  
UNA MEMBRANA ELECTROHILADA DE POLIURETANO CARGADA CON  
NANOPARTÍCULAS LIPOFÍLICAS DE BISMUTO (BISBAL NPS)  
CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A  
METICILINA Y CÁNCER DE MAMA HUMANO.**

**Comité de Tesis**



**Dra. Katiushka Arevalo Niño**

**Presidente**



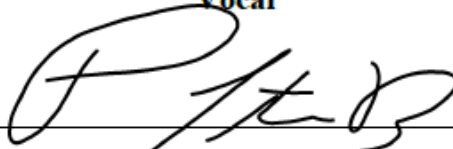
**Dr. Luis J. Galán Wong**

**Secretario**



**Dra. Verónica Almaguer Cantú**

**Vocal**




**Dr. Pablo Zapata Benavides**

**Vocal**



**Dr. Hamlet Avilés Arnaut**

**Vocal**



**Dra. Katiushka Arevalo Niño**


**Subdirectora de Posgrado**



**SUBDIRECCIÓN  
DE POSGRADO**

**ACTIVIDAD PROLIFERATIVA, ANTIMICROBIANA Y ANTITUMORAL DE  
UNA MEMBRANA ELECTROHILADA DE POLIURETANO CARGADA CON  
NANOPARTÍCULAS LIPOFÍLICAS DE BISMUTO (BISBAL NPS)  
CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A  
METICILINA Y CÁNCER DE MAMA HUMANO.**

**Dirección de Tesis**



---

**Director de Tesis**  
**Dra. Katiushka Arévalo Niño**



---

**Director Externo**  
**Dr. Claudio Cabral Romero**

DERECHOS RESERVADOS© PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL.

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Este trabajo fue realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), mediante una beca de posgrado nacional otorgada al estudiante Jesús Alejandro Torres Betancourt, así como de recursos propios procedentes del Instituto de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y del Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradecer a mi directora de tesis la Dra. Katiushka Arévalo Niño, por su guía, paciencia, y orientación a lo largo de estos 4 años. Gracias por darme un espacio para trabajar en el Instituto de Biotecnología, como un externo con una formación académica enfocada más al área de salud, contar con su apoyo y confianza fue fundamental para perseverar a lo largo de este tiempo.

Un agradecimiento especial al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) con numero de apoyo 807624 gracias por el incentivo para el desarrollo y conclusión del grado.

Al instituto de Biotecnología, plantilla docente y administrativa por brindar las instalaciones, capacitaciones, servicios, clases y la atención a sus estudiantes de forma ejemplar.

Al Dr. Rene Hernández Delgadillo por su apoyo y grata amistad, fue como un compañero de doctorado para mí, siempre con disposición de explicar, ayudar y mantener un buen ambiente laboral, sin perder el enfoque principal que es, producir, publicar, trabajar.

Mi familia siempre presente dando todo su apoyo en este paso tan difícil e importante para mí.

A mis compañeros de generación, Gustavo, Jhossepp y Mariana, los 4 de diferentes partes del mundo, con diferentes formaciones, pero unidos como una familia para acompañarnos en todo el proceso.

A mi esposa, Alondra Bocanegra, quien llevo estos 4 años conmigo, con amor incondicional, su apoyo constante y su comprensión en los momentos de mayor exigencia. Gracias por acompañarme en cada etapa de este camino, por tu paciencia ante mi estrés, frustración, largas noches de estudio y por recordarme siempre que, si puedo, que solo me la tengo que creer, este logro también es tuyo.

Finalmente, me agradezco a mí mismo, por no rendirme, por haber creído que era posible culminar este objetivo. Este doctorado representa más que un grado académico: es el reflejo de años de perseverancia y de crecimiento personal.

A todos los que de una u otra forma contribuyeron a que este camino llegara a buen término, gracias.

## **DEDICATORIAS**

A mi esposa, por su amor, su paciencia y su fe inquebrantable en mí.

Por acompañarme en cada paso, incluso cuando el cansancio y el tiempo parecían jugar en contra. Este logro también le pertenece, porque sin su apoyo, nada de esto habría sido posible.

A mi padre, quien, sin importar la circunstancia, que tal difícil parezca, que tan en contra este el mundo de ti o de tus objetivos, siempre dice “Si se puede, todo se puede”.

Y a mí mismo,

por no rendirme, por creer incluso cuando las fuerzas flaqueaban, y por haber recorrido con determinación este camino que hoy culmina.

<b>ÍNDICE</b>	
AGRADECIMIENTOS .....	5
DEDICATORIAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	11
ABSTRACT .....	13
1. INTRODUCCIÓN .....	14
2. JUSTIFICACIÓN .....	16
3. HIPÓTESIS.....	17
5. OBJETIVOS .....	18
5.1 Objetivo General .....	18
5.2 Objetivos Específicos .....	18
4. ANTECEDENTES.....	19
2.1. Cáncer de mama .....	19
2.2.1 Clasificación histológica .....	20
2.2 Tratamientos locales a base de membranas.....	23
2.3 Membranas electrohiladas .....	24
2.4 Aplicaciones de membranas electrohiladas .....	25
2.5 Tratamiento antitumoral basado en membranas electrohiladas.....	27
2.6 Técnica .....	28
2.7 Poliuretano (Tecoflex™).....	28
2.8 Bismuto .....	29
2.9 Nanomedicina.....	30
2.10 Nanopartículas de bismuto .....	31
MATERIALES Y MÉTODOS .....	32
6.1 Síntesis y caracterización de nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs) .....	32
6.2 Desarrollo de membranas electrohiladas (ME) de Tecoflex™-BisBAL NPs. ....	32
6.3 Propiedades fisicoquímicas de las ME de Tecoflex™-BisBAL (SEM, FTIR y Raman) .....	33
6.4 Capacidad de absorción de agua de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	33
6.5 Fuerza tensional de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	34

6.6 Propiedades biológicas de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	34
6.7 Análisis estadístico .....	38
7. RESULTADOS .....	39
7.1 Caracterización de las BisBAL NPs.....	39
7.2 Caracterización de membrana electrohilada de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	39
7.3 Propiedades físicoquímicas, absorción de agua y fuerza tensional de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	43
7.4 Ensayo de proliferación.....	45
7.5 Presencia de MRSA en aislados clínicos de pacientes. ....	46
7.6 Potencial antimicrobiano de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs .....	47
7.7 Propiedad antitumoral de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	49
7.8 Mecanismo de acción de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.....	50
8. DISCUSIÓN .....	51
9. CONCLUSIÓN.....	55
10. PERSPECTIVAS.....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1 Espectro FTIR de las membranas electrohiladas libres de fármaco y con BisBAL NPs.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
Figura 1. Caracterización de BisBAL NPs mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).....	36
Figura 2. Comportamiento de solución polimérica electrificada.....	33
Figura 3. Micrografías de Tecoflex <sup>TM</sup> electrohilado a diferentes concentraciones.....	33
Figura 4. Caracterización de ME de Tecoflex <sup>TM</sup> -BisBAL NPs mediante SEM.....	37
Figura 5. Caracterización FTIR, Raman, absorción de agua y resistencia tensional de ME de Tecoflex <sup>TM</sup> -BisBAL NPs.....	39
Figura 6. Ensayo de proliferación de ME de Tecoflex <sup>TM</sup> sin fármacos en FGH.....	40
Figura 7. Espectros de masas MALDI-TOF de MRSA-CI.....	41
Figura 8. Propiedad antimicrobiana de ME de Tecoflex <sup>TM</sup> -BisBAL NPs mediante difusión en disco y ensayo de recuento de colonias.....	43
Figura 9. Propiedad antitumoral de las ME de Tecoflex <sup>TM</sup> -BisBAL NPs en células de cáncer de mama humano.....	44
Figura 10. Evaluación de la permeabilidad de la membrana celular de MCF-7 después de 24 h de exposición a ME de Tecoflex <sup>TM</sup> -BisBAL NPs.....	45

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

BisBAL NPs.....	Nanopartículas lipofílicas de bismuto
Bi (NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O.....	Nitrato de bismuto pentahidratado
NaBH <sub>4</sub> .....	Borohidruro de Sodio
SEM.....	Microscopia electrónica de barrido
EDX.....	Espectroscopia de energía dispersiva
PU.....	Poliuretano
ME.....	Membrana Electrohilada
ME de Tecoflex <sup>TM</sup> -BisBAL NPs.....	Membrana electrohilada de Tecoflex <sup>TM</sup> cargada con nanopartículas lipofílicas de bismuto
MCF-7.....	Línea celular de cáncer de mama humano
FGH.....	Fibroblastos gingivales humanos
MRSA.....	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
MSSA.....	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible a la Meticilina
CM.....	Cáncer de mama
IP.....	Infecciones postoperatorias
DOX.....	Doxorrubicina
MALDI-TOF MS.....	Espectrometría de masas de tiempo de vuelo de ionización/desorción láser asistida por matriz
CMI.....	Concentración mínima inhibitoria
UFC.....	Unidades formadoras de colonias
SFB.....	Suero Fetal Bovino
kV.....	Kilovoltio
CO <sub>2</sub> .....	Dióxido de carbono
DMEM.....	Dulbecco modified Eagles minimal essential medium
FTIR.....	Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier
ATR.....	Reflectancia total atenuada
PBS.....	Solución Salina Tamponada con Fosfato
UV.....	Ultravioleta
DAPI.....	4',6-diamidino-2-fenilindol

## RESUMEN

Las membranas electrohiladas como sistemas de liberación local de fármacos cuentan con una amplia gama de aplicaciones debido a la versatilidad con la que pueden ser cargadas para la exposición directa de fármacos a un sitio de interés. Las nanopartículas de bismuto debido a su propiedad catiónica y su liposolubilidad constituyen una opción altamente viable para el tratamiento local de cáncer. Para este proyecto se desarrolló una membrana electrohilada (ME) de poliuretano Tecoflex™ cargada con nanopartículas lipofílicas de bismuto (ME de Tecoflex™-BisBAL NPs), se caracterizó por microscopía electrónica de barrido, espectroscopia de rayos X de energía dispersiva, espectroscopía infrarroja transformada de Fourier y espectroscopía de Raman. Se exploraron sus propiedades mecánicas como su resistencia a la fuerza tensional y capacidad de absorción de agua, así como también; su actividad biológica en células de cáncer de mama MCF-7 a través del ensayo de viabilidad celular PrestoBlue con microscopía de fluorescencia, y frente a *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (MSSA-ATCC) y resistente a Meticilina (MRSA) aislado clínico con ensayos de difusión en disco y conteo de unidades formadoras de colonias. Las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y ME de Tecoflex™ sin fármaco presentaron diámetros promedio de  $3.95 \pm 1.32 \mu\text{m}$  y  $4.65 \pm 1.42 \mu\text{m}$  respectivamente. ME de Tecoflex™-BisBAL NPs mostró una elevada capacidad de absorción con el 94%. ME de Tecoflex™ sin fármacos demostró ser un vehículo apropiado para la administración de fármacos al mantener una alta proliferación de fibroblastos humanos, además mostró actividad antimicrobiana contra MSSA-ATCC y MRSA, reduciendo en 93.11% y 61.70% del crecimiento bacteriano, respectivamente. En los resultados del ensayo de viabilidad celular PrestoBlue, ME de Tecoflex™-BisBAL NPs disminuyó la viabilidad de las células MCF-7 un 70.1% del crecimiento de células tumorales después de 15 minutos y 86% después de 24 h. el. Se sugiere que la alteración de la permeabilidad de la membrana de las células tumorales es el mecanismo de acción de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs. ME de Tecoflex™ constituye un innovador sistema de administración local de BisBAL NPs de bajo costo para el tratamiento del cáncer de mama humano.

## ABSTRACT

Electrospun membranes as local drug delivery systems have a wide range of applications due to the versatility which can be loaded for direct exposure of drugs to a site of interest. Bismuth nanoparticles, due to their cationic property and liposolubility, constitute a viable option for the local treatment of cancer. For this project, a Tecoflex™ polyurethane electrospun membrane (EM) loaded with lipophilic bismuth nanoparticles (Tecoflex™-BisBAL NPs EM) was developed and characterized by scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, and Raman spectroscopy. Its mechanical properties by wetting and tensile strength, as well as its biological activity, were explored. in MCF-7 breast cancer cells via PrestoBlue cell viability assay and fluorescence microscopy, as well as in clinical isolates of methicillin-sensitive (MSSA-ATCC) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* using disk diffusion assays and colony-forming unit counting. Tecoflex™-BisBAL NPs EM and drug-free Tecoflex™ EM exhibited average diameters of  $3.95 \pm 1.32 \mu\text{m}$  and  $4.65 \pm 1.42 \mu\text{m}$ , respectively. Tecoflex™-BisBAL NPs EM showed a high hydration capacity of 94%. Drug-free Tecoflex™ EM was shown to be an appropriate vehicle for drug delivery by maintaining high proliferation of human fibroblasts and showed antimicrobial activity against MSSA-ATCC and MRSA, reducing bacterial growth by 93.11% and 61.70%, respectively. In PrestoBlue cell viability assay results, Tecoflex™-BisBAL NPs EM reduced the viability of MCF-7 cells by 70.1% of tumor cell growth after 15 minutes and 86% after 24 hours. It is suggested that alterations in tumor cell membrane permeability is the mechanism of action of Tecoflex™-BisBAL NPs EM. Tecoflex™ EM constitutes an innovative, low-cost local delivery system of BisBAL NPs for the treatment of human breast cancer.

## 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer representa una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. Según datos recientes de la American Cancer Society, tan solo en el año 2024 se registraron aproximadamente 618,120 muertes por esta enfermedad (Siegel et al., 2025). Dentro de sus diversas manifestaciones, el cáncer de mama (CM) destaca como la neoplasia maligna más común en mujeres, con una incidencia estimada de 1.38 millones de nuevos casos anuales (Ferlay et al., 2010). Esta patología ocupa el primer lugar en incidencia y el segundo en mortalidad por cáncer entre la población femenina (Siegel et al., 2025). En México, hasta octubre de 2024, se reportaron 8,034 muertes por cáncer de mama, de las cuales el 95% correspondió a mujeres (INEGI, 2024). El abordaje terapéutico del CM depende en gran medida del tipo de tumor, su estadio y características moleculares, aunque la mayoría de las estrategias se enfocan en reducir el volumen tumoral para su posterior extirpación quirúrgica. No obstante, este enfoque conlleva riesgos asociados, como las infecciones de herida postoperatorias (IP), que pueden comprometer la recuperación del paciente y su respuesta a tratamientos complementarios como la quimioterapia (Al-Hilli et al., 2021; Bolton, 2021). Las IP prolongan la estancia hospitalaria, elevan los costos de atención médica y exponen al paciente a infecciones nosocomiales. Entre los microorganismos más frecuentemente aislados en este tipo de infecciones se encuentran *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* (Tahri et al., 2024). A la fecha, no se dispone de una opción terapéutica local que combine simultáneamente propiedades antimicrobianas y antitumorales para su aplicación directa en sitios quirúrgicos en pacientes con CM. En este contexto, el electrohilado se presenta como una técnica prometedora para el desarrollo de membranas a partir de polímeros sintéticos o naturales, mediante la aplicación de altos voltajes para obtener fibras con características estructurales similares a la matriz extracelular (Chernonosova et al., 2018; Macossay et al., 2014). Estas membranas electrohiladas (ME) ofrecen ventajas significativas, como su capacidad para servir de soporte celular, integrarse con tejidos adyacentes y ser utilizadas en múltiples aplicaciones biomédicas, incluyendo la ingeniería de tejidos blandos y duros (Sperling et al.; Guarino et al., 2016), la promoción de la cicatrización (Yang y Xu, 2023) y la liberación controlada de fármacos antitumorales como

doxorubicina, 5-fluorouracilo y cisplatino (Lin et al., 2023). Entre los polímeros más empleados para la fabricación de ME se encuentran los poliuretanos, en particular Tecoflex™, debido a su excelente biocompatibilidad, elasticidad y propiedades mecánicas. Los poliuretanos son copolímeros formados por segmentos rígidos derivados de diisocianatos alifáticos y extensores de cadena, así como segmentos flexibles de poliéteres, polibutadienos o poliésteres terminados en dioles, que les confieren su distintiva elasticidad (Macossay et al., 2014). Desde hace décadas, los poliuretanos han sido ampliamente utilizados en aplicaciones médicas (Gogolewski, 1989), y se ha demostrado que las ME elaboradas con Tecoflex™ presentan una adecuada biocompatibilidad y permiten la adhesión de fibroblastos humanos (Venegas et al., 2021). Sin embargo, hasta ahora no se han reportado ME basadas en Tecoflex™ funcionalizadas con capacidades antimicrobianas y antitumorales. Algunas investigaciones previas han explorado la incorporación de agentes terapéuticos en ME, como en el caso del desarrollo de nanofibras a base de poliuretano y policaprolactonediol (PCL-diol-b-PU) cargadas con temozolomida para el tratamiento local de glioblastoma (Irani et al., 2017). Por otra parte, las nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs) han mostrado efectos antitumorales destacados y buena biocompatibilidad en diversos modelos celulares (Hernández-Delgadillo, 2018; García-Cuellar et al., 2022). En células de cáncer de mama humano (MCF-7), estas nanopartículas demostraron una acción selectiva y dependiente de la dosis, alcanzando una inhibición del 81% del crecimiento celular a una concentración de 25  $\mu$ M. En el presente estudio, se plantea el desarrollo de una membrana electrohilada basada en Tecoflex™ cargada con BisBAL NPs, con el objetivo de evaluar su potencial como tratamiento antitumoral localizado y a su vez para abordar las heridas postquirúrgicas en pacientes con cáncer de mama. Se analizaron sus propiedades antimicrobianas, antitumorales y su viabilidad celular. De obtenerse resultados favorables, este biomaterial podría representar una alternativa innovadora y eficaz para la prevención de infecciones postoperatorias y el control local del crecimiento tumoral, sin efectos secundarios indeseables.

## 2. JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama continúa siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, con más de 600 mil muertes registradas en mujeres durante el año 2024. Las limitaciones asociadas a los tratamientos antitumorales convencionales, como la baja selectividad de los fármacos y la aparición de efectos adversos, se vinculan estrechamente con estas cifras alarmantes. Actualmente, existen diversas opciones terapéuticas locales, entre ellas la extirpación quirúrgica del tumor, la radioterapia y la quimioterapia. No obstante, la recurrencia del cáncer, los efectos colaterales y el riesgo de infecciones nosocomiales impactan negativamente en el pronóstico y calidad de vida de las pacientes. Este estudio propone la síntesis de una membrana electrohilada a base de poliuretano (Tecoflex™) incorporando nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs), con el objetivo de evaluar su potencial antimicrobiano y antitumoral. De obtenerse resultados positivos, se estaría desarrollando un biomaterial innovador, selectivo y con un alto potencial para su futura aplicación clínica.

### 3. HIPÓTESIS

La membrana electrohilada elaborada a partir de poliuretano Tecoflex™ e incorporada con nanopartículas lipofílicas de bismuto (ME-Tecoflex™ BisBAL NPs) presentará propiedades proliferativas adecuadas, así como actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y efecto antitumoral sobre células de cáncer de mama humano MCF-7.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

- Determinar el potencial proliferativo, antimicrobiano y antitumoral de una membrana sintetizada por electrohilado de poliuretano (Tecoflex™) cargado con nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs).

### 5.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs) y caracterizarlas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía de energía dispersiva (EDX).
- Fabricar una membrana electrohilada a base de poliuretano Tecoflex™ incorporando BisBAL NPs y caracterizar su morfología y composición mediante SEM y EDX.
- Analizar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de la membrana Tecoflex™ - BisBAL NPs.
- Evaluar la viabilidad y el efecto proliferativo de la membrana sobre fibroblastos humanos (FGH).
- Examinar la actividad antimicrobiana de la membrana frente a *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (MSSA-ATCC) y resistente a meticilina (MRSA clínico).
- Investigar el efecto antitumoral de la membrana sobre la línea celular de cáncer de mama humano MCF-7.
- Comprender el posible mecanismo de acción de la membrana Tecoflex™-BisBAL NPs en células MCF-7.

## **4. ANTECEDENTES**

### **2.1. Cáncer de mama**

La organización mundial de la salud ha catalogado el cáncer como la segunda causa de muerte a nivel mundial seguida solo de enfermedad isquémica cardiaca y su desarrollo es ocasionado por la existencia de mutaciones originadas por agentes biológicos, infecciones virales o bacterianas, agentes químicos como el cigarro, agentes físicos como los rayos UV o la radiación ionizante. Estas mutaciones causan una activación de proto-oncogenes e inactivación de genes supresores de tumores, de la mano de un cambio significativo en las funciones celulares, como insensibilidad a señalizaciones anti-crecimiento, potencial replicativo ilimitado, evasión de apoptosis, etc. (Khursheed R, et. al, 2022). Dentro de las opciones terapéuticas, se encuentra la quimioterapia, relacionada al transporte de fármacos que presentan pobre solubilidad, inestables o tóxicos en algunos órganos o regiones del cuerpo. (Kamoun E, et. al., 2021), sin embargo, el abordaje es multidisciplinario; farmacológico, quirúrgico, endocrino, inmunoterapia y radiación (Trayes K y Cokenakes S, 2021). Los factores de riesgo más comúnmente asociados a la incidencia de cáncer de mama son la edad, es más común en pacientes mayores a 35 años el sexo, teniendo predisposición el sexo femenino, menarquia temprana, menopausia tardía, nuliparidad (suceso donde una mujer nunca ha tenido un parto), ausencia de lactancia materna así como un historial familiar con diagnóstico de cáncer (O'Sullivan C, et. al. 2018). Genéticamente hablando, cada persona hereda 2 copias de los genes BRCA 1 y BRCA 2, en estado natural estos genes ayudan en la reparación del ADN dañado, participan en la síntesis de ADN, en la detección y corrección de rupturas de doble cadena funcionan como agentes reguladores, se les atribuye la descripción de genes supresores de tumores sin embargo si estos genes son dañados o presentan alguna mutación, aumentan la susceptibilidad de cáncer de mama (Bailey, et. al., 2018).

### **2.2. Clasificación de cáncer de mama**

El cáncer de mama puede clasificarse de diferentes maneras, por su apariencia histológica, tamaño, involucramiento de ganglios, presencia de metástasis o por marcadores biológicos específicos, es decir, receptores de estrógeno, progesterona o ERBB2 (HER2). Para su clasificación, se realiza la obtención de una biopsia y se determina el diagnóstico

de cáncer por histología, seguido se realizan pruebas para receptores de estrógeno, receptores de progesterona y la expresión del gen ERBB2 que codifica la proteína HER2, proteína que promueve el crecimiento celular, si la muestra expresa alguno de estos marcadores recibe de ahí su clasificación, si no expresa ninguno de estos marcadores es definido como cáncer de mama triple negativo. Otra forma de clasificarlo es por su localización, pudiendo ser ductal, es decir, de los conductos galactóforos o lobulillar, de las glándulas galactóforas. Una clasificación mas apropiada es aquella en base a su avance o progresión, la cual se describe a detalle (Nascimento R. G. y Otoni K. M., 2020).

### 2.2.1 Clasificación histológica

Presentan cambios en su estructura celular, comportamiento biológico, entre ellos se encuentran el carcinoma ductal no específico, carcinoma medular, metaplásico, apocrino, mucinoso, cribiforme, tubular, neuroendocrino, lobular invasivo.

### 2.2.2. Clasificación molecular

Esta clasificación es ampliamente utilizada y su fundamento va relacionado a la expresión de diferentes genes que se reflejan en su fenotipo, pronostico y tratamiento sistémico. Basado en ello, se describen 4 subtipos con relevancia clínica:

- **Luminal A:** Es el más común, la mitad de los diagnósticos coinciden en este luminal. Su perfil histoquímico consiste en positivo para receptores de estrógeno (ER+), alta expresión de progesterona (PR+) y HER2, con bajos niveles de Ki-67 (Regulador de proliferación celular). Es de buen pronóstico, los pacientes responden bien a la administración de tamoxifeno e inhibidores de aromatasa.
- **Luminal B:** Responsable del 20%-30% de los casos de cáncer invasivo, cuenta con 2 subclasificaciones,
  - **HER2-:** ER+, PR-, HER2-, Ki-67+
  - **HER2+:** ER+, HER2+ y cualquier nivel de PR y Ki-67.

Es considerado uno de los mas agresivos y no responde bien a tratamiento endocrino.

- **HER2+:** Representa el 15%-20% de los diagnósticos de cáncer de mama, se caracteriza por alta expresión de HER2 y Ki-67 con poca expresión de ER y PR,

este es de un índice de crecimiento rápido, propenso a metástasis, dando así una tasa baja de supervivencia, pobre pronóstico, responden bien a trastuzumab.

- **Triple negativo:** 10%-20% de todos los casos de cáncer de mama, se caracteriza por la ausencia en expresión de receptores para ER, PR y HER2, son de un alto potencial proliferativo, más comunes en pacientes con mutaciones en BRCA -1 (Nascimento y Otoni, 2020).

### ***2.2.3. Clasificación clínica***

#### ***Etapa 0 Carcinoma ductal in situ (CDIS) No invasivo***

El CDIS es el tipo más común identificable en mamografías, muestra calcificaciones en los conductos mamarios, si no es tratado oportunamente, el 40% de los casos evolucionan a cáncer de mama invasivo.

Su tratamiento conservador consiste en la lumpectomía (remoción quirúrgica del tumor) con márgenes de al menos 2 mm, es decir, remoción del tejido tumoral con márgenes de tejido sano en toda su periferia de al menos 2 mm circunferenciales, acompañado de radioterapia. Otra opción es la mastectomía que consiste en la remoción completa del tejido mamario, en este caso, dado a que el tejido mamario se ha retirado por completo, no es necesario la biopsia de ganglios centinela ni la radioterapia.

Si resulta positivo a estrógeno, se complementa el tratamiento previamente mencionado con terapia endocrina a base de tamoxifeno (bloquea receptores de estrógeno) o inhibidor de la aromatasa (Enzima que convierte hormonas en estrógeno) en el caso de mujeres postmenopáusicas.

Antes de mencionar el tratamiento de las demás clasificaciones, es importante recalcar que el propósito del tratamiento sistémico preoperatorio es disminuir el tamaño del tumor con el fin de que sea más fácil retirarlo, es empleado en casos con tumores de gran tamaño, o pacientes que originalmente son inoperables. En una cirugía para la remoción del tejido afectado, se acostumbra a retirarlo rodeado de tejido sano, cuando se hace la mención de márgenes negativos hacen referencia a que no se observa masa tumoral en la periferia, márgenes positivos indican que si sobresale un poco de tejido tumoral. De obtener márgenes negativos solo se indicará radioterapia postoperatoria. Cuando tenemos tumores muy grandes o no se puede ofrecer una radioterapia post quirúrgica, se decide menor una mastectomía. Durante la cirugía, se presenta una posibilidad potencial de esparcir el

cáncer a través del sistema linfático. para ello se realiza una biopsia de nódulos linfáticos centinelas (NLC) Esa biopsia se realiza infiltrando una solución tracker, se observa su drenaje hasta los ganglios axilares y se extirpar esos mismos ganglios Si la biopsia de ganglios centinela resulta positiva y el paciente se realizará una mastectomía, se procede a una disección de ganglios linfáticos axilares (DGLA - ALND).

Además, el tratamiento hormonal es evidentemente indicado cuando el análisis de la biopsia indica que son modulados por estrógeno o progesterona, de no ser así, solo se indica quimioterapia con tratamiento sistémico. Para mujeres premenopáusicas, si son diagnosticadas con cáncer de mama con receptores hormonales positivos deben recibir 5 años de terapia hormonal con hormona liberadora de gonadotropina (GnRH para supresión ovárica ya que la supresión ovárica se traduce en ausencia de liberación de estrógeno. En postmenopáusicas, reciben terapia endocrina hasta por 10 años post diagnóstico con tamoxifeno y/o aromatasa.

Para el cáncer de mama positivo a ERBB2, se utiliza inmunoterapia basada en trastuzumab, que son anticuerpos monoclonales que se unen a HER2 para facilitar su eliminación por el sistema inmunológico.

Finalmente, en lo que refiere a la radiación, se ha mostrado que reduce la recurrencia en un periodo de 20 años en casos de lumpectomías unilaterales, se administra después de la remoción quirúrgica para eliminar remanentes subclínicos.

### ***Etapa I Localizado con tumoración pequeña***

Consiste en una lesión invasiva pequeña sin o con mínima afectación de nódulos linfáticos, no mayores a 20 mm, casos en etapa I tienen alta probabilidad de recuperación favorable con cirugía conservadora o mastectomía, supervivencia de 5 años para el 95% de los diagnósticos, este porcentaje reduce si se presenta negativo a receptores hormonales.

### ***Etapa II Localizado avanzado moderado***

Tumoraciones de tamaño entre 20-50 mm con afectación ganglionar detectada limitada, sin metástasis requiere de abordaje desde múltiples perspectivas, cirugía, terapia sistémica para la afectación ganglionar, radioterapia posterior a mastectomía.

### ***Etapa III Localizado avanzado***

Extensión considerable a ganglios, compromiso regional. Incluye afección ganglionar más numerosa o con extensión a ganglios supraclaviculares, involucra parénquima mamario, piel o pared torácica, . No hay metástasis a distancia. Requiere tratamiento múltiple intensivo; quimioterapia, cirugía, radioterapia loco regional y terapia sistémica dirigida según subtipo. El riesgo de recurrencia y la necesidad de terapia sistémica completa son mayores que en estadios I–II. La supervivencia difiere considerablemente a comparación de los estadios anteriores, con un 72% a 5 años, este porcentaje reduce si se presenta un diagnóstico triple negativo, edad avanzada, compromiso extenso de ganglios, márgenes no ideales, altos niveles de proliferación tumoral (Schwartz G, et. al. 2005).

### ***Etapa IV: Metastásico***

Si bien en casos puntuales se cura por completo, la supervivencia actual va de 24-40 meses. Su tratamiento tiene un enfoque paliativo, se aborda con todas las opciones, en diferentes fases dependiendo el desarrollo, tratamiento endocrino, quimioterapia, inmunoterapia, cirugía, radiación. Si la metástasis llega a hueso, se trata con denosumab o bifosfonatos como ácido zolendrónico (Maughan, et. al., 2010).

## **2.2 Tratamientos locales a base de membranas**

Las membranas nanoestructuradas se pueden definir como aquellos compuestos por fibras con un diámetro no mayor a 500 nm, presentan ventajas sobre sus contrapartes macroestructurales ya que muestran cambios en sus propiedades físicas, esto gracias a la relación superficie/volumen (Durán J, et. al., 2018).

Recientemente se ha dicho que las nanofibras representan un candidato prometedor ya que poseen propiedades físicas destacadas y desempeño biológico extraordinario. Se han empleado para la cicatrización de heridas, ingeniería tisular, sistemas de liberación de fármacos, etc (Rasouli R. et. al., 2019).

Dentro de las técnicas para fabricación nanofibras poliméricas, tenemos

- Drawing: Si bien no requiere un equipo especial para su realización, su proceso es discontinuo y no hay control sobre la dimensión de las nanofibras.

- Síntesis de plantilla: En el caso de la síntesis por plantilla, si se pueden manipular las dimensiones, pero no produce fibras homogéneas, no es escalable (Liang H, et. al., 2012)

- Proceso de estirado: Empleado para materiales viscoelásticos.

Estos dos métodos nos son compatibles para la fabricación de membranas nanoestructuradas, para ello se sugiere:

- Separación de fases, es de las más utilizadas, su desventaja es que requiere un tiempo prolongado para la formación de esta, no se controla el diámetro de las fibras, dando como resultado membranas delgadas e irregulares.

- Autoensamblaje: Su fabricación se da por la interacción de átomos y moléculas que forman enlaces no covalentes débiles, su fabricación es muy sensible, el costo de esta es alto y las propiedades mecánicas resultantes no son las óptimas (El-Aassar M, et. al., 2021).

- Electrohilado: Es el único proceso para la fabricación de fibras regulares, uniformes, con estructura controlable y que llega a tener similitud a la estructura de la matriz extracelular. Permite con facilidad el uso de diferentes polímeros de origen natural y sintético (Hernández A, et. al., 2021 y Teixeira M. et. al., 2020).

Entre todas ellas, el electrohilado es la técnica más utilizada debido a su practicidad, simplicidad operacional, eficiencia y versatilidad (El-Aassar M, et. al., 2021).

### **2.3 Membranas electrohiladas**

En las últimas décadas el hilado electrostático o electrohilado ha sido el método más popular para producir fibras de escala micro o nanométrica, debido a su relativa simplicidad de fabricación, bajo costo y principalmente por la alta manipulación de sus características estructurales, físicas y funcionales (Hussein Y, et. al., 2020, Durán J, et. al., 2018 y Jiang S, et. al., 2020).

El electrohilado es un método de manufactura que ofrece productos con una amplia área superficial, estructura porosa y la capacidad de cargar moléculas de interés para una determinada aplicación (Gostev A, et. al. 2022). Este proceso promueve las interacciones celulares debido a que las fibras y los poros entre ellas, incrementan el área superficial lo que permite procesos como la adhesión. El proceso de electrohilado involucra varios factores o variables para la obtención del resultado más óptimo, en el desarrollo de

membranas el voltaje, la concentración del polímero y su viscosidad son responsables directos de resultados como una formación inadecuada de la eyección en la punta de la aguja, fibras aplanadas, diámetros variables, (Venegas G, et. al., 2021).

Esta técnica depende de la atracción electrostática, presenta un campo eléctrico donde el polímero funciona como un electrodo positivo y la placa o tubo colector presenta una carga negativa. La diferencia de potencial resultante entre los electrodos hace que la solución polimérica se polarice, formando un chorro constante con carga en forma cónica llamado cono de Taylor (Memic A. et. al., 2019).

En lo que se refiere al equipo, los componentes básicos se pueden generalizar en 4 principales, regulador de voltaje, bomba de presión, aguja o eyector metálico y la placa o tubo colector (Kanmaz D, et. al., 2018)

La bomba impulsa a la solución polimérica para salir a través de la aguja o eyector, el voltaje induce al polímero conductor a estirarse en lugar de caer, al estirarse el solvente se evapora y el resultado de este estiramiento es recolectado en el tubo o placa colectora que eventualmente formará una membrana recuperable. La solución que es estirada por el voltaje en la punta del eyector formará una estructura cónica llamada Cono de Taylor, este cono forma el punto de cambio donde el voltaje supera a la tensión superficial del polímero, ocasionando su estiramiento (El-Aassar M, et. al., 2021).

## **2.4 Aplicaciones de membranas electrohiladas**

### ***2.4.1 Biosensores***

Los biosensores son instrumentos analíticos utilizados para el análisis de muestras biológicas, convierte una señal biológica, química o bioquímica, en una señal eléctrica. Las unidades básicas de un biosensor son un bioelemento que principalmente pueden ser Ácidos nucleicos, enzimas, células, anticuerpos, etc, un transmisor que puede ser óptico, electrónico, piroeléctrico, piezoeléctrico o gravimétrico y una unidad eléctrica que consiste en un amplificador, procesador y display. Los biosensores en cáncer permiten el monitoreo y la terapia personalizada, dando como resultado tratamientos simplificados con una reducción significativa en su costo. Las nanopartículas (NPs) son candidatas a aplicaciones como biosensores ya que se pueden conjugar con moléculas de

reconocimiento como anticuerpos o biomoléculas de superficie para la detección (Khursheed R, et. al, 2022).

#### ***2.4.2 Imagenología***

Las nanopartículas pueden participar de forma directa en la imagenología con la detección de tumores en base a catalizadores térmicos o fluorescencia conjugados (Khursheed R, et. al, 2022).

#### ***2.4.3 Fotoablación***

Se divide en terapia fototérmica y terapia fotodinámica, en este último, utilizan luz y un compuesto fotosensible no tóxico que posteriormente exponen a luz en una longitud de onda en particular y se convierte en tóxico. Funciona para marcar las células tumorales, para ello emplean NPs de dióxido de titanio, la exposición a luz en determinada longitud de onda conduce a la formación de especies radicales de oxígeno. En el caso de la terapia fototérmica, se utiliza luz infrarroja corta para irradiar las células, la luz se convierte en calor generando una hipertermia que culmina en la muerte celular (Khursheed R, et. al, 2022).

#### ***2.4.4 Liberación de fármacos basado en la aplicación de membranas electrohiladas.***

Los sistemas de liberación de fármacos son divididos en sistemas de liberación en sitio específico y sistemas de transporta en torrente sanguíneo, las membranas electrohiladas entran en la primera clasificación, aquellos que van enfocados a un punto específico.

El objetivo principal de este método es el llevar la concentración correcta o necesaria del fármaco al sitio de acción.

Las membranas electrohiladas son sugeridas en esta aplicación por 2 motivos principales 1) las nanofibras poseen un área superficial amplia y 2) es muy manipulable el producto final, en cuestión a diámetro, porosidad, tasa de liberación, etc (Kamoun E, et. al., 2021).

La liberación de fármacos se puede dar por medio de diferentes mecanismos:

- Desorción de las fibras con difusión en fase acuosa
- Difusión solida

- Degradación in vivo de las nanofibras: Nos enfocaremos principalmente en este mecanismo, está relacionado a una liberación rápida del fármaco o compuesto activo, para ello se requieren polímeros que sean degradables como quitosano, alginato, dextrano, glucano, polivinil-alcohol, etc (Srikar R, et. al., 2008 y Zeng J, et. al., 2005).

Si bien la técnica es relativamente sencilla, cuenta con la necesidad de regular diferentes variables que pueden afectar el resultado en la formación de las fibras.

Los parámetros se pueden dividir en 3 categorías:

1- Parámetros de la solución polimérica: Viscosidad, concentración del polímero, peso molecular, tensión superficial, conductividad.

2- Parámetros del equipo o procesamiento: Flujo de inyección, voltaje, distancia eyector-colector, forma y diámetro del eyector y tipo de colector.

3- Parámetros del ambiente: Temperatura, humedad, flujo de aire (El-Aassar M, et. al., 2021).

De todos ellos podemos resaltar algunos puntos importantes a considerar

- El flujo siempre se recomienda utilizar lo más bajo posible para darle tiempo suficiente al polímero de que se polarice, además de darle tiempo suficiente al solvente para evaporarse y con ello evitar la formación de perlas o gotas obtenidas.
- La viscosidad y tensión superficial de la solución polimérica deben ser bajos para no presentar tanta resistencia al hilado.
- La distancia entre el eyector y el colector debe ser tan larga como sea posible para permitir la evaporación completa del solvente (Morais A, et. al., 2020).

## **2.5 Tratamiento antitumoral basado en membranas electrohiladas**

La administración de fármacos antitumorales presenta diferentes dificultades, pobre solubilidad, inestabilidad, baja eficiencia, toxicidad y efectos secundarios en células sanas, además de requerir ser inyectada y largos periodos para eliminación de efectos tóxicos o recuperación. Con este modelo, se puede dirigir puntualmente a la región donde se encuentra el tumor o al removerlo quirúrgicamente, se puede colocar en la región donde se extrajo el tumor para eliminar las células tumorales restantes y con ello prevenir una reincidencia (Anjum F, et. al., 2017). Ya se ha empleado en carcinoma hepatocelular humano, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón (Rasouli R, et. al., 2019).

## 2.6 Técnica

- 1- Electrohilado con mezcla: Basado en la combinación de varios polímeros con moléculas bioactivas que se disuelven en la solución polimérica, dando como resultado unas fibras que en su interior tienen encapsulados los fármacos
- 2- Electrohilado coaxial: Utilizado para la formación de fibras con estructuras compartimentadas en un núcleo y una cobertura.
- 3- Electrohilado con emulsión: Combina las técnicas de blending con coaxial, con un enfoque de emulsificación, es utilizado para encapsular materiales inorgánicos hidrofílicos y proteínas (El-Aassar M, et. al., 2021).

## 2.7 Poliuretano (Tecoflex™)

Los poliuretanos (PU) son polímeros sintéticos utilizados en el área médica debido a su semipermeabilidad, propiedades mecánicas, procesamiento sencillo y biocompatibilidad, cuentan con diferentes tasas de biodegradación, eso en base a las estructuras de sus segmentos duros y blandos, estos son degradados por hidrólisis de sus grupos éster y uretanos, o por oxidación de los fragmentos alifáticos. (Gostev A, et. al. 2022). Eso ha permitido su aplicación como dispositivos permanentes, scaffolds vasculares o cutáneos, etc. (Venegas G, et. al., 2021). Originalmente, aun y con sus reportes de alta biocompatibilidad, cuenta con la desventaja de no permitir un entorno para la adhesión y proliferación celular (Perales J, et. al., 2013) por ello se han propuesto a lo largo de los años diferentes opciones para su mejoramiento, dentro de ellas la posibilidad de fabricar una membrana por medio de electrohilado, que nos permita la formación de fibras poliméricas de escala nano a micrométrica, junto con la porosidad aumentada que arroja este método de fabricación, promoviendo así, la interacción célula-sustrato.

En el 2021, Venegas y col. realizaron un estudio donde compararon Tecoflex™ (Poliuretano comercial de grado médico que en condiciones de electrohilado promueve una buena adhesión y estimulación celular) y poliuretano con arginina en relación a la adhesión celular de fibroblastos humanos y sus resultados determinaron que las fibras formadas por electrohilado de Tecoflex™ al 9% con 20 Kv y flujo de 1 ml/h fueron más

regulares, sin formación de aglomerados, fibras planas o perlas, con ello reafirmando una uniformidad a lo largo de la membrana obteniendo así, una mejor estabilidad mecánica. Además, observaron por microscopía óptica, confluencia celular sobre la membrana de Tecoflex™ con células ahusadas, el ensayo MTT reportó viabilidad celular por encima del 80%, por LIVE/DEAD Tecoflex™ mostró los resultados de adhesión más altos. Finalmente, una inspección de las células por microscopía electrónica de barrido nos afirma que aun y siendo los mismos polímeros, el método de síntesis de la membrana tiene relevancia ya que, tanto en el poliuretano convencional como en el Tecoflex™, la adhesión celular fue mayor en las membranas electrohiladas que en las membranas densas. Es necesario destacar que se requiere un procesamiento de esterilización y lavado postproducción de fibra para reducir su toxicidad, el cual consiste en: (Venegas G, et. al., 2021)

En cámara de flujo laminar.

- 20 min. de luz UV
- Enjuague con agua destilada estéril
- Sonicado por 1 hora en agua fría.
- Realizar este proceso cada 24h durante 3 días.

Este procesamiento postproducción de la membrana es de suma importancia ya que hay evidencia aún y contando con polímeros que no son tóxicos, los productos resultantes de su degradación o de su síntesis, así como los solventes empleados, son causa de la toxicidad de las fibras electrohiladas (Venegas G, et. al., 2021). Ensayos de interacción de membranas de Tecoflex™ densas o por electrohilado con fibroblastos gingivales humanos (FGH) han reportado que en el caso de la membrana electrohilada, la morfología celular que es indicador de viabilidad y adhesión celular, se detecta husos bipolares o forma estrellada multipolar con fibroblastos alargados, lo cual difiere con el comportamiento de la membrana densa, puntualizando la importancia de la técnica empleada para la fabricación de las fibras.

## **2.8 Bismuto**

Los compuestos basados en bismuto se caracterizan por su potencial terapéutico (con aplicaciones tanto en el área de diagnóstico como en el tratamiento de diferentes

afecciones) gracias a su biocompatibilidad, radiosensibilidad, bajo costo y fácil eliminación del cuerpo, esto minimiza los posibles riesgos asociados a las interacciones del bismuto con sistemas biológicos (Badrigilan, S, et. al., 2020). Pertenece al grupo 15 de la tabla periódica. Pose un número atómico de 83 y masa atómica de 209, presenta dos estados de oxidación; +3 y +5, siendo el +3 el más estable (Kirk, 2004). México es el segundo productor más importante de bismuto a nivel mundial, después de China. Actualmente se utiliza en medicamentos tales como; Pepto Bismol para malestar estomacal y diarrea, Synalar rectal para el tratamiento de hemorroides, Labcatal para afecciones del tracto respiratorio y Gastronedol como gastroprotector (Brum, et. al. 2021). La toxicidad de los compuestos basados en bismuto, dependen de varios factores como, concentración, duración de la interacción con el tejido, estabilidad biológica y la dosis acumulada en órganos. .

Se estima que, para un adulto de 70 kg de peso, la dosis letal de bismuto sería de alrededor de 15 g. Los compuestos de bismuto son poco absorbidos y por lo tanto son considerados de baja toxicidad. Al quelarse con moléculas que contengan grupos sulfhidrilo aumentan su solubilidad en agua y biocompatibilidad, a su vez, su lipofilidad es mejorada cuando se agregan moléculas lipofílicas como el dimercaptopropanol (Gomez C, et. al., 2021). Una vez que es absorbido, el bismuto es transportado a través del suero por la transferrina y excretado por vía urinaria. Los aspectos toxicológicos del bismuto y sus compuestos son bien conocidos y después de consumir dosis altas por más de 14 días se puede presentar; nefropatía, hepatitis, encefalitis, gastroenteritis y osteoartrofia (Karahana, et. al. 2013).

## **2.9 Nanomedicina**

Parte de la creación de materiales con un rango de entre 1-100 nanómetros, incluye la fabricación de nanopartículas, nanofibras, nanotubos, etc. Toma relevancia al demostrar que su comportamiento es diferentes al del mismo compuesto en escala mayor, presentan una mejor relación 'área/superficie' haciéndolos químicamente más reactivos o potencializando su propósito (Jeevanandam J, et. al., 2018).

Para la síntesis de nanopartículas, se parte de 2 técnicas principales, el top down y el bottom up. El top down es un abordaje que consiste en la ruptura secuencial de un compuesto de interés a escala nanométrica, aquí se incluye la ablación laser, litografía, descomposición térmica. El bottom up consiste en que los átomos son organizados para

formar partículas a escala nanométrica (Khursheed R, et. al., 2022). La exposición de sales metálicas a agentes reductores como ácido cítrico, borohidruros u otros compuestos orgánicos representan los métodos más comunes de preparación de nanopartículas metálicas (Ibrahim H, et. al., 2020).

### **2.10 Nanopartículas de bismuto**

Las nanopartículas metálicas sobresalen debido a sus propiedades antimicrobianas, baja toxicidad, amplia superficie, acción prolongada y estabilidad (Anjum F, et. al., 2017). Actualmente la nanotecnología ofrece un gran potencial tanto para el diagnóstico, así como para el tratamiento de enfermedades (Zhu, et. al. 2014). El área de la terapia basada en nanopartículas recibe una atención particular para revolucionar el tratamiento médico con terapias "inteligentes" que son simultáneamente más potentes con menos efectos secundarios (Badireddy, et. al. 2014). Recientemente se describieron las propiedades antitumorales de nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs) células tumorales de próstata, colon, cervicouterino, carcinoma de células escamosas y mama, inhibiendo la el crecimiento tumoral, (Cabral-Romero, et. al. 2020 y Martínez-Pérez, et. al. 2019) el mecanismo de acción propuesto sostiene que se altera la permeabilidad de la membrana y efectos genotóxicos (Hernández et. al. 2018). El mecanismo de BisBAL NPs aún no está completamente determinado. Según su naturaleza lipofílica, es posible que puedan interactuar con la membrana plasmática alterando su permeabilidad y causando lisis celular. Una vez dentro de la célula, los BisBAL NPS pueden modificar la expresión de proteínas o dañar el ADN genómico (Badireddy, et. al. 2014).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Síntesis y caracterización de nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs)

Las nanopartículas lipofílicas de bismuto fueron sintetizadas por método coloidal, mediante reducción química a base de borohidruro de sodio, se utilizaron reactivos de grado analítico obtenidos de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO). Se empleó nitrato de bismuto pentahidratado ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), 2,3-dimercapto-1-propanol (Fracción BAL), propilenglicol y borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ). El proceso convella los siguientes pasos. Disolución de nitrato de bismuto pentahidratado ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) en propilenglicol (0.485g / 20 ml) a 80°C bajo agitación 2h., incorporación de 50  $\mu\text{L}$  de 2,3-dimercapto-1-propanol a relación 2:1, reducción con borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) a 75 mM (0.1 g/1 ml de agua destilada). Seguido de la síntesis se procedió a la caracterización de forma, tamaño, disposición y composición química mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía de rayos X dispersiva (SEM; Carl Zeiss Auriga FIB-SEM & TEM, Oberkochen, Alemania y EDX; Oxford INCA X-Sight, Tubney Woods, Reino Unido). Para su exposición al SEM se realizan ciclos de lavado y Resuspensión con isopropanol con la intención de eliminar el propilenglicol ya que, al ser conductor eléctrico, puede ocasionar ruido o errores de lectura. Mediante un difractómetro de rayos X se obtuvieron los patrones de difracción de las nanopartículas (Panalytical X). 'Pert PRO MRD) y  $\text{Cu K}\alpha$  como fuente de rayos X ( $\lambda=1,541874 \text{ \AA}$ ).

### 6.2 Desarrollo de membranas electrohiladas (ME) de Tecoflex™-BisBAL NPs.

Tecoflex™ SG-80A, polímero a base de poliuretano fue adquirido de Lubrizol Advanced Materials, EC (Ohio, EUA), y para su solubilización se utilizó cloroformo (MERCK; Darmstadt, Alemania). Se han utilizado diferentes concentraciones y parámetros reportados en la literatura, por ello se llevaron pruebas de Tecoflex™ a 3%, 5%, 7% y 8%, para determinar la concentración apropiada a trabajar, con lo que respecta a los parámetros, se utilizaron rangos establecidos por la literatura, distancia al colector de 15 cm, 17 cm, 18 cm y 20 cm, voltaje de 10 kV – 24 kV y flujos de 0.2, 0.4, 0.7 y 1 ml/h, hasta obtener hilos homogéneos, lineales, ausentes de perlas. Como solvente se utilizó

cloroformo a temperatura ambiente para la obtención de una concentración final para los siguientes ensayos. Para el grupo experimental, se incorporaron nanopartículas de bismuto (BisBAL NPs) en la solución a concentración de 1 mM. Seguido se procedió a la fabricación de las membranas por electrohilado utilizando el equipo NEU-01 (Tong Li Tech Co, Nanshan, Shenzhen, China), cargando en una jeringa de 20 ml la solución polimérica de Tecoflex™ SG-80A como grupo control y Tecoflex™ SG-80A-BisBAL NPs 1mM como grupo experimental. El diámetro interno de la aguja utilizada fue de 0.8 mm. Finalmente las membranas obtenidas fueron cortadas en piezas redondas de aproximadamente 5 mm para facilitar la realización de los siguientes ensayos.

### **6.3 Propiedades fisicoquímicas de las ME de Tecoflex™-BisBAL (SEM, FTIR y Raman)**

Las membranas obtenidas tanto control como experimental se analizaron con microscopía óptica y electrónica de barrido (SEM; FEI Tecnai G2 Twin, Hillsboro, Oregon, EE. UU.; voltaje de aceleración de 160 kV), seguido se determinó la composición química mediante espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDX) SEM (EDX; Oxford INCA X-Sight, Tubney Woods, Reino Unido), espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) mediante un Nicolet 8700 (Thermo Scientific, Madison WI, EE. UU.) utilizando reflectancia total atenuada (ATR) con cristal de ZnSe y un rango espectral de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , con 200 escaneos promedio y resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . También se utilizó espectroscopía Raman para analizar la calidad estructural con un espectrómetro Renishaw InVia (Renishaw Gloucestershire, Reino Unido) equipado con un láser de 633/532 nm y una exposición de 10 s. en el rango de 3.200  $\text{cm}^{-1}$  y 100  $\text{cm}^{-1}$  a una potencia del 100%.

### **6.4 Capacidad de absorción de agua de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs**

La posibilidad de liberación de compuesto de interés y de un correcto intercambio de nutrientes son determinantes en la aceptación de las células a vehículos como las membranas electrohiladas, por ello se exploró la capacidad de absorción de agua, para ello, se cortaron piezas cuadrangulares de 1 cm x 1 cm (n=3) de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y se sumergieron en PBS durante 24 h a 37 °C. Utilizando balanza analítica las piezas fueron pesadas antes y después de su periodo de incubación. Mediante la

ecuación: Relación de hinchamiento =  $(W_w - W_d) / W_d \times 100$  para determinar el hinchamiento volumétrico

### **6.5 Fuerza tensional de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs**

La fuerza tensional de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y las ME de Tecoflex™ sin fármacos se analizaron con Shimadzu AGS-X (Kyoto, Japón). Para ello se utilizaron piezas rectangulares de 2.5 cm x 5 cm con tijeras quirúrgicas estériles. Se utilizó una celda de 10 N con una velocidad de cruceta de 10 mm/min a 25°C con al menos tres muestras para cada tipo de ME.

### **6.6 Propiedades biológicas de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs**

#### ***6.6.1 Cultivo celular***

Las células de carcinoma de mama humano (MCF-7) y los fibroblastos gingivales humanos (FGH) usados como células control fueron adquiridas de la Colección Americana de Tipos de Cultivos (ATCC HTB-22, Rockville, MD, EE. UU.). Se cultivaron en DMEM/Ham's F12 (DMEM/F12) con suero fetal bovino (SFB) al 15% (Gibco-invitrogen, Carlsband, CA, EE. UU.) y penicilina 100 U/mL, estreptomycin 100 µg/mL y 0,25 µg/ml de anfotericina B (Sigma-Aldrich Corporation, St Louis, MO, EE. UU.). Se incubaron a 37°C con 5 % de CO<sup>2</sup> y 95 % de aire.

#### ***6.6.2 Proliferación celular en fibroblastos gingivales humanos***

Para todos los ensayos biológicos, proliferación, antimicrobiana y antitumoral, las membranas electrohiladas control y con BisBAL NPs fueron esterilizadas por medio de luz ultravioleta 20 min. bajo cámara de flujo laminar.

El ensayo de proliferación se utilizó una placa de 96 pozos donde se sembraron  $1 \times 10^5$  de FGH al fondo de pocillos como control y también se sembraron sobre piezas circulares de 5 mm de membranas electrohiladas esterilizadas por medio de luz UV con la intención de que el ensayo represente una respuesta a contacto directo con la membrana. Posteriormente fueron incubadas a 37°C; con CO<sup>2</sup> al 5% durante 24, 48 y 72 h. Después de cada tiempo de incubación, se desprendió la monocapa celular con 50 µL de tripsina al 0.005 % / pocillo por grupo y se centrifugó a 900 rpm durante 5 min. Se retiró el

sobrenadante y se resuspendió la pastilla en PBS 1x para contarlas por medio de cámara de Neubauer. Se realizó el conteo celular por triplicado a diferentes tiempos, a 24, 46 y 72 h y el experimento. Luego se tiñó con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI; 1 µg/mL) y se observó con un filtro DAPI empleando un EVOS Cell Imaging System (Thermo Fisher Scientific, CA, EE. UU.). La tinción con DAPI fue utilizada como marcador fluorescente de viabilidad celular al denotar la presencia de núcleo sano.

### ***6.6.3 Aislamiento e identificación de MRSA***

Para el aislamiento de *MRSA* se utilizó una muestra de paciente internado en el Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González", puntualmente fue aislado por el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas UANL. Para la identificación de *MRSA* se utilizó el equipo de espectrometría de masas de tiempo de vuelo de ionización/desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS, sistema Microflex LT, Bruker Daltonics, Bremen, Alemania). Para ello, el aislado se cultivó en placas de agar sangre por 24 h a 37°C, seguido se colocó una sola colonia en una placa objetivo de acero inoxidable de 96 pozos (Bruker Daltonics) con 1 µL de ácido fórmico al 70 % y 1 µL de solución de matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico (Sigma-Aldrich, Toluca, México). El láser, al incidir en la muestra expulsa el analito, este se ioniza por protones brindados de la matriz y son aceleradas por un mismo campo eléctrico hacia la parte superior donde se encuentra el detector, el patrón de llegada de las moléculas en base a su relación carga/peso es específico para cada microorganismo, dando así, el espectro de un microorganismo correspondiente. La placa se analizó con el software Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics) para detectar coincidencias con la base de datos del perfil espectral a nivel de género (puntuación 2.000-2.299) y especie (2.300-3.000). Para obtener imágenes de alta calidad, los espectros se capturaron utilizando el software flexControl V.3.4 (Bruker Daltonics) y se llevó a cabo un proceso fluido con el algoritmo Savitzky/Golay durante 10 ciclos con un ancho de 2 m/z.

### ***6.6.4 Susceptibilidad a antibióticos de Staphylococcus aureus aislado***

Mediante microdilución en caldo utilizando VITEK 2.0 (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) se determinó la susceptibilidad a los antimicrobianos. Los microorganismos son incubados en placas agar de tripticaseína de soya a 37°C 12 horas, seguido se preparó una

suspensión bacteriana en una solución de NaCl al 0.45 % ajustada a un estándar de McFarland de 0.5. Posteriormente se introdujo esta suspensión en el equipo y se inocularon tarjetas AST-GP75 VITEK para especies Gram positivas. Terminado el periodo de incubación, se obtuvo la concentración mínima inhibitoria (CMI) y según los criterios de puntos de corte actuales del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2023) los aislados se clasificaron como susceptibles, intermedios o resistentes.

#### **6.6.5 Cultivo bacteriano**

*S. aureus* sensible a Meticilina ATCC 29213 (*MSSA-ATCC*) (Rockville, MD, EE. UU.) y *S. aureus* resistente a Meticilina aislado (*MRSA-CI*) se cultivaron en caldo de tripticaseína de soya (TSB; BD DIFCO, Sparks, MD, EE. UU.) a 37°C durante 24 h en condiciones aeróbicas.

#### **6.6.6 Potencial antimicrobiano de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs**

Siguiendo la metodología de Tian et al., 2013, donde se desarrolló una fibra por electrohilado y se complementó con nanopartículas de plata (Tian et al. 2013) se realizó un ensayo de difusión en disco para investigar el potencial antimicrobiano de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en el crecimiento de ambos tipos de bacterias (cepas *MSSA-ATCC* y *MRSA-CI*). Se cultivaron en caldo de TSB (37°C; O<sub>2</sub>+; 18h) con inóculos estándar (0.5 MacFarland). Seguido se sembraron 100 µl de cultivo bacteriano en placas de Petri con agar TSB. Se agregó las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs como grupo experimental, 10 mM de vancomicina como control positivo, 10 mM de BisBAL NPs en solución y Tecoflex™ sin fármacos como control negativo y BisBAL NPs en suspensión a 10 mM. El experimento se realizó por triplicado. Adicionalmente se realizó un recuento de colonias (Ben-David y Davidson 2014) para obtener datos cuantitativos a la exposición de las cepas por 3 horas (37 °C; O<sub>2</sub>+) con los mismos grupos descritos previamente. Una vez concluidas las 3 h de incubación, se procedió a realizar diluciones y la tercera dilución se sembró por triplicado, con incubación a 24 h para finalmente realizar el conteo de UFC. Los resultados obtenidos por triplicado para validar los datos se expresaron como porcentaje y se compararon entre grupos.

### ***6.6.7 Propiedad antitumoral de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs***

Para determinar la viabilidad celular de la línea tumoral MCF-7 procedente a cancer de mama humano, se empleó el ensayo de viabilidad celular PrestoBlue (Life Technologies Corporation, Oregon, EE. UU.) (Xu et al. 2015). El ensayo sigue el principio de viabilidad celular expresada por el reactivo resazurina metabolizado y convertido en resofurina, la resazurina es un compuesto azul no fluorescente que, al ser metabolizado por células sanas, refleja fluorescencia y se torna color rojo, ese aumento de fluorescencia y cambio de coloración, son los que permiten cuantificarlo por fluorescencia o densidad óptica para obtener datos de viabilidad celular. Se sembraron  $1 \times 10^5$  células/ml de MCF-7 en placas de cultivo celular de 96 pocillos y se incubaron ( $37\text{ }^\circ\text{C}$ ; 5 % de  $\text{CO}_2$ ; 24 h). Después de esto, se expusieron a las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs, ME de Tecoflex™ sin fármacos de 5 mm y doxorubicina (DOX) 1 mM como control positivo durante 24 h ( $37\text{ }^\circ\text{C}$ ; 5 % de  $\text{CO}_2$ ). A continuación, se añadió 10  $\mu\text{l}$  de reactivo PrestoBlue por pocillo y se incubó por 30 minutos a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  con  $\text{CO}_2$  al 5%. Pasado el periodo de incubación, se realizó lectura de absorbancia a 570 nm con el lector de placas multipocillo (Biotek, Winooski, Vermont, EE. UU.). La viabilidad celular fue expresada como porcentaje con respecto al control.

### ***6.6.8 Mecanismo de acción de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs***

Ya previamente se ha reportado que uno de los mecanismos de acción de las BisBAL NPs tanto en suspensión como en otros vehículos de administración, consiste en la alteración de la integridad de la membrana celular de células tumorales (Hernández-Delgadillo et al. 2018). Con la intención de corroborar si su presentación actual en una membrana electrohilada conlleva al mismo mecanismo de acción en células MCF-7 se realizó un ensayo por microscopia de fluorescencia evaluado por medio del reactivo fluorescente Calceína AM. La calceína AM originalmente no es fluorescente, sin embargo, cuando es metabolizado por esterases intracelulares, se vuelve fluorescente y medible. Las células tumorales de MCF-7 se expusieron durante 24 h a las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs, ME de Tecoflex™ sin fármacos, doxorubicina (DOX) 1 mM como control positivo y medio libre de fármaco como control de crecimiento a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  con  $\text{CO}_2$  al 5%. Seguido se lavaron con PBS frío y se tiñeron con Calceína AM (2  $\mu\text{M}$  como concentración final; Biotium, Fremont, CA, EEUU) ( $37\text{ }^\circ\text{C}$ ; 5% de  $\text{CO}_2$ ; 30 min). El excedente fue retirado,

posteriormente se realizó un lavado con PBS y se dejaron secar en oscuridad. Las células se observaron a 485 nm con un filtro FITC y un sistema de imágenes de células EVOS (Thermo Fisher Scientific, CA, EE. UU.).

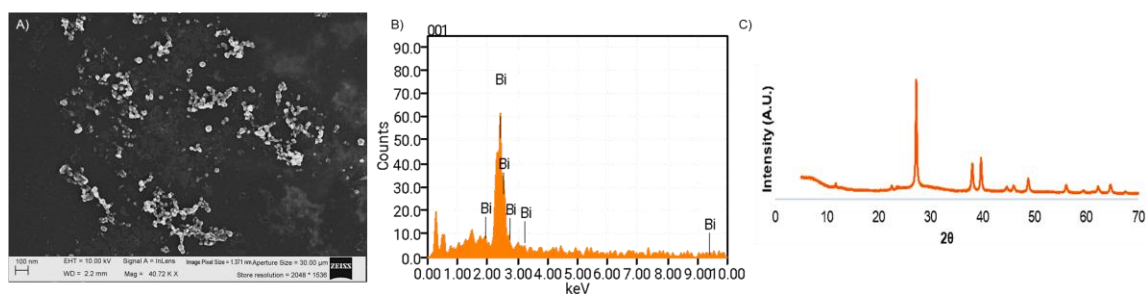
### **6.7 Análisis estadístico**

Se empleó un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para analizar los datos entre los grupos. Se consideró un nivel de significación de  $\alpha = 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Caracterización de las BisBAL NPs

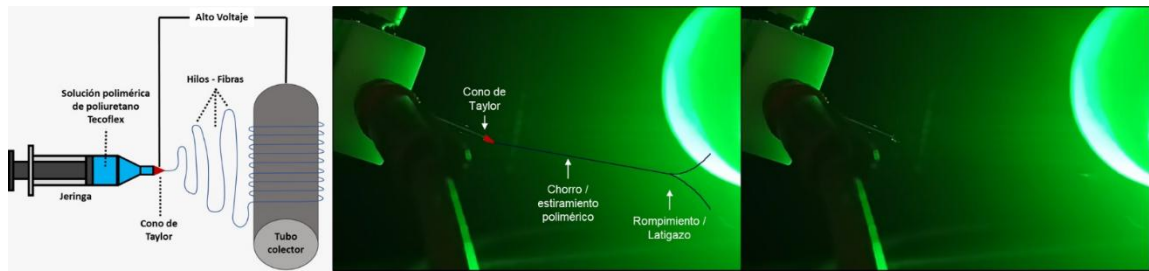
Las micrografías obtenidas por SEM revelan unas nanopartículas esféricas con diámetro promedio de 28 nm y distribución en aglomerados. El correspondiente análisis de espectro EDX confirma la presencia específica y exclusiva del elemento bismuto y su correspondiente estructura cristalina (Figura 1). Los datos obtenidos reafirman la correcta síntesis de nanopartículas sin presencia de otro elemento químico o derivado.



**Figura 1.** Caracterización de BisBAL NPs mediante microscopía electrónica de barrido (SEM; Carl Zeiss Auriga FIB-SEM & TEM, Oberkochen, Alemania). A) Se obtuvieron datos de apariencia, dimensiones y distribución de las nanoestructuras de bismuto. B) El análisis de la composición química y C) el patrón de difracción de rayos X corroboran la presencia de bismuto (Bi) en las muestras.

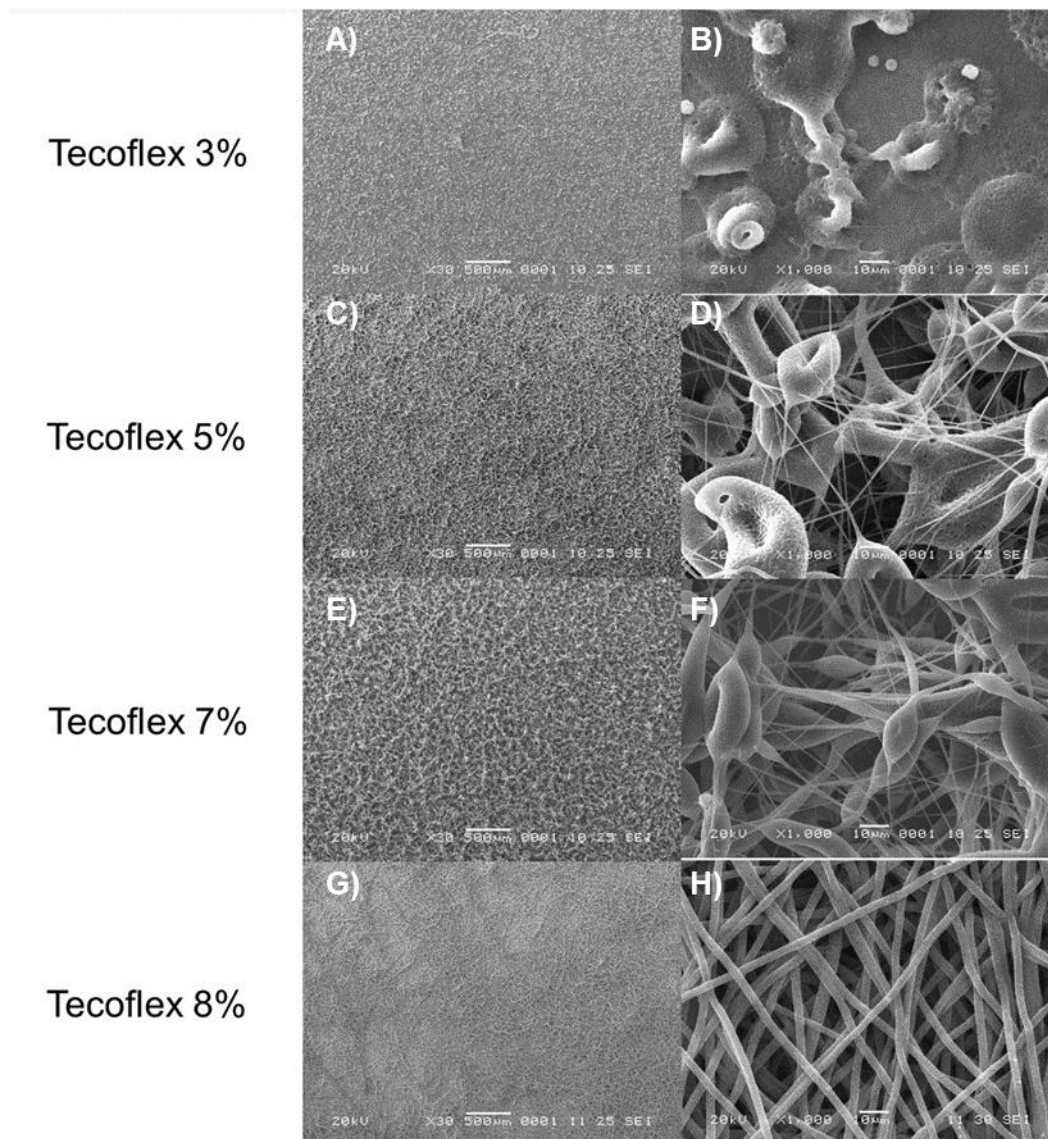
### 7.2 Caracterización de membrana electrohilada de Tecoflex™-BisBAL NPs

Utilizando el polímero Tecoflex™ SG-80<sup>a</sup>, poliuretano sintético de grado médico, se desarrolló una membrana por electrohilado cargada con nanopartículas lipofílicas de bismuto (BisBAL NPs). Es de conocimiento en el área de electrohilado que el comportamiento de la solución polimérica con los parámetros apropiados consiste en la formación de un Cono de Taylor constante que rompe su tensión superficial por la atracción electrostática en dirección lineal hasta romperse próximo al colector sin gotear o interrumpir su flujo (Figura 2).



**Figura 2.** Comportamiento de solución polimérica electrificada, A) Descripción de los componentes fundamentales B) Esquemización de las características ideales de electrohilado de una solución polimérica. C) Fotografía representativa de electrohilado de Tecoflex™ 8%.

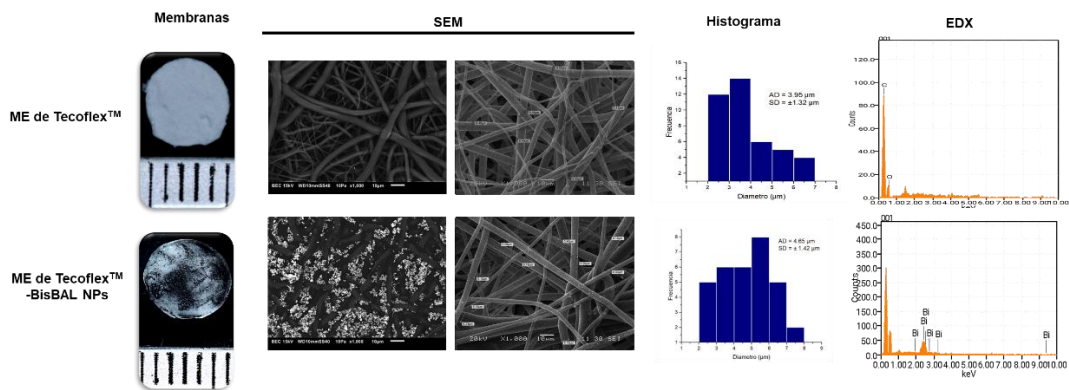
Los parámetros empleados para la corrida de grupo control fueron; electrodo positivo de +22 kV a la aguja y electrodo negativo con voltaje de -22 kV al colector, 18 centímetros de distancia entre el eyector y la placa colector y la velocidad de alimentación fue de 0.5 ml/h. Para el grupo experimental de Tecoflex™-BisBAL NPs los parámetros fueron similares de 18 centímetros de distancia eyector-colector, con la única variación en el voltaje; +12 kV para la aguja y -12 kV para el colector y flujo de 0.5 ml/h. En la figura 3 Se ven caracterizaciones morfológicas de diferentes concentraciones del polímero hasta observar parámetros apropiados.



**Figura 3.** Micrografías de Tecoflex™ electrohilado a diferentes concentraciones, A)-B) a 3% con ausencia de fibras, presencia de gotas y aglomerados, C)-D) Tecoflex™ al 5% y E)-F) Tecoflex™ al 7% con fibras de tamaño y estructura irregular, presencia de perlas de tamaño variable, G y H Tecoflex™ al 8% empleado para los siguientes ensayos.

Puntualmente el grupo de Tecoflex™-BisBAL NPs paso por un proceso post-fabricación de recubrimiento por inmersión en una solución de 1mM de BisBAL NPs que le brindara las características macroscópicas observadas en LA figura 4, en ella tenemos el aspecto macroscópico de las membranas de las ME de Tecoflex™ sin fármacos y la ME de Tecoflex™-BisBAL NPs, hay cambio en la coloración por la presencia de las nanopartículas con un color grisáceo a negro, mientras que la membrana control mantiene el aspecto blanco correspondiente al polímero. En la misma figura ya podemos apreciar

de forma comparativa las características microscópicas entre el grupo control y el grupo con BisBAL NPs., datos como el diámetro promedio de fibras, ME de Tecoflex™-BisBAL NPs tienen un tamaño promedio de  $4,65 \pm 1,42 \mu\text{m}$  con nanoestructuras en aglomerados correspondientes a las BisBAL NPs, mientras que las ME de Tecoflex™ libres de fármacos exhibieron un diámetro menor de  $3,95 \pm 1,32 \mu\text{m}$ . Cuando se realizó el análisis de elementos químicos, el espectro EDX exhibió elementos similares como carbono (C) y oxígeno (O), componentes asociados al poliuretano y se detectó bismuto (Bi) solo en las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs.



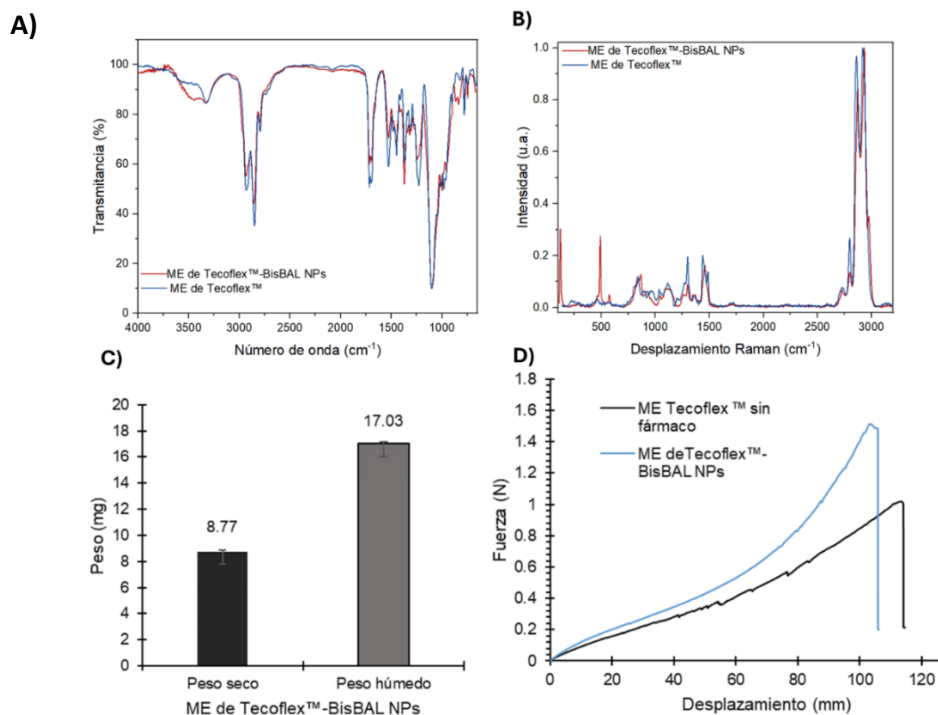
**Figura 4.** Caracterización de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs por SEM. A través del microscopio podemos ver las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y ME de Tecoflex™ sin fármaco para obtener detalles sobre el color y la rugosidad. El análisis SEM permitió observar las dimensiones y morfología de las fibras. El espectro EDX confirmó la composición química esperada de las muestras analizadas.

### 7.3 Propiedades fisicoquímicas, absorción de agua y fuerza tensional de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs

Los espectros FTIR de las ME de Tecoflex™ (Figura 3a, azul) mostraron una absorción a 3326  $\text{cm}^{-1}$  debido al NH libre en los uretanos, bandas en 2932 y 2850  $\text{cm}^{-1}$  fueron asignadas al  $\text{CH}_2$  asimétrico y la de 2798  $\text{cm}^{-1}$  al  $\text{CH}_2$  simétrico. A 1716  $\text{cm}^{-1}$ , vibraciones de estiramiento C=O (Amida I), a 1525  $\text{cm}^{-1}$ , se observó flexión N-H y C-H (amida II). A 1446 y 1366  $\text{cm}^{-1}$  se observó flexión de  $\text{CH}_2$  mientras que a 1228  $\text{cm}^{-1}$  y 1228  $\text{cm}^{-1}$  también se observó flexión de CN (amida III). Finalmente, el pico a 1100  $\text{cm}^{-1}$  correspondió al C-O-C simétrico en el politetrametilenglicol utilizado como segmento blando y debido al C-O-C en el uretano, mientras que a 980  $\text{cm}^{-1}$  se produjo flexión simétrica de C-O-C mientras que a 779  $\text{cm}^{-1}$  se produjo flexión simétrica en ciclohexano observado. Las diferencias de las ME de Tecoflex™ con relación a las que contienen nanopartículas fueron ligeras (Figura 3a, rojo) a medida que la región NH se dividió en las absorciones principales ubicadas en 3449 y 3334  $\text{cm}^{-1}$ . Un pequeño cambio en la flexión del  $\text{CH}_2$  a 1371  $\text{cm}^{-1}$  con un desplazamiento del C-O-C a 1247  $\text{cm}^{-1}$ . Nuevas bandas en 997, 956, 836, 864 y 779  $\text{cm}^{-1}$ . La espectroscopia Raman se muestra en la Figura 3b. Tecoflex™ sin fármaco mostró picos a 2921, 2862 y 2798  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a absorciones de CH. También se detectó un pico de baja intensidad a 1720  $\text{cm}^{-1}$  asignado a C=O. A las 1486 y 1438 se observó absorción de  $\text{CH}_2$ . Las absorciones a 1298, 1115, 1037, 966, 900 y 834  $\text{cm}^{-1}$  mostraron el cambio esperado con respecto a los espectros IR. Cuando se incorporan BisBAL NP a las bandas Tecoflex™ EM en 2928, 2864, 2798, 1488, 1438, 1297, 1122 y 838  $\text{cm}^{-1}$  quedaron muy similar. Esto significa que no se detectó la incorporación de nanopartículas probablemente debido a su baja concentración. Por otra parte, la absorción de agua de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs demostraron un hinchamiento de más del 94 % en peso húmedo (Ph) en comparación con el peso seco (Ps) después de 24 h de exposición en PBS (Fig. 3C). Finalmente se realizó una prueba de fuerza tensional para determinar las características mecánicas de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y ME de Tecoflex™ sin fármaco. La curva de carga-desplazamiento de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y ME de Tecoflex™ sin fármaco se presenta en la Figura 3D. La resistencia a la tensión de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs fue de 1,76 MPa  $\pm$  0,84 SD y de 0,95 MPa  $\pm$  0,23 SD para ME de Tecoflex™ sin fármaco.

Tabla 1. Espectros FTIR de ME de Tecoflex™ y Tecoflex™-BisBAL NPs

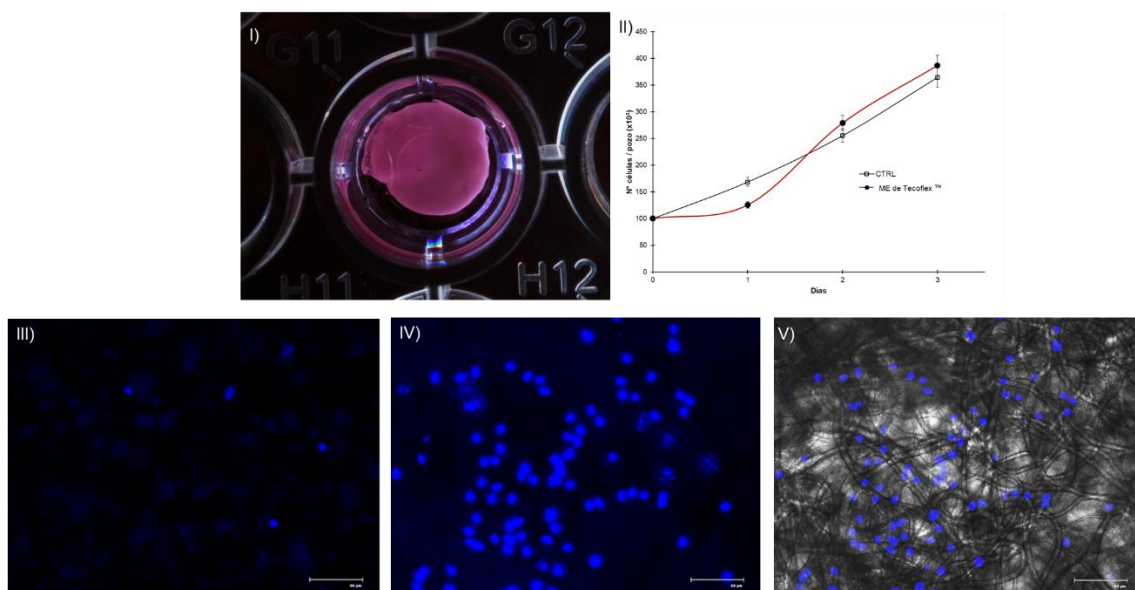
Enlace químico	Absorción en longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	
	Tecoflex™	Tecoflex™ BisBAL NPs
N-H Libre	3326	3449 y 3334
CH <sub>2</sub> Asimétrico	2932 y 2850	Similar
CH <sub>2</sub> Symmetric	2798	Similar
C=O (Amida I)	1716	Similar
N-H y C-H (amida II)	1525	Similar
Curva CH <sub>2</sub>	1446-1366	1371
Curva C-N (amida III)	1228	1247
Curva simétrica de Politetrametilenglicol C-O-C	1100	Similar
Curva simétrica de uretano C-O-C	980	Similar
Específicos de Tecoflex™-BisBAL NPs		997, 956, 864, 836
Curva simétrica de ciclohexano	779	Similar



**Figura 5.** Caracterización FTIR, Raman, prueba de absorción de agua y resistencia tensional de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs. A) Espectro Raman, B) Espectro FTIR y C) Patrón de absorción de agua de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y ME de Tecoflex™. D) La curva carga-desplazamiento de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y ME de Tecoflex™ sin fármacos.

## 7.4 Ensayo de proliferación

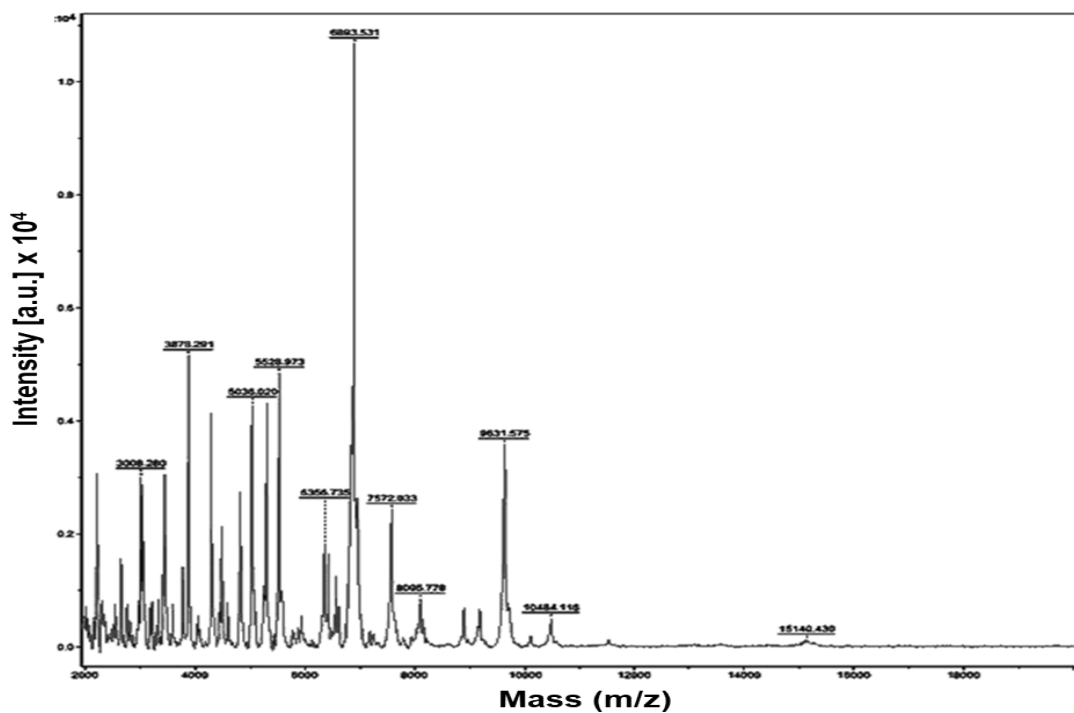
A 24 h de incubación, los FGH no aumentaron en número en el grupo sembrado en las ME de Tecoflex™ sin fármacos (Figura 4), manteniendo un estado de latencia o adaptación al sustrato, en contraste con el grupo control con un aumento 1,5 veces después de 24 h de incubación (37 °C; 5 % de CO<sub>2</sub>). Fue a partir de las 48 h que el comportamiento exponencial de proliferación fue similar en el grupo experimental de Tecoflex™ libre de fármacos al igual que en el grupo control. Se observaron núcleos celulares sanos después de la tinción con DAPI (Fig. 4-III) y una imagen fusionada con campo claro demuestra la presencia de las células a diferentes niveles de las fibras de Tecoflex™ al apreciar los núcleos tanto por encima de las fibras, como al fondo. En conjunto, estos resultados apoyan la hipótesis de que las ME de Tecoflex™ promueven la proliferación entre los FGH dando pie a su uso como vehículos para liberación localizada.



**Figura 6.** Ensayo de proliferación de FGH sobre ME de Tecoflex™ se analizaron a 24, 48 y 72 h después de la incubación (37 °C; 5 % de CO<sub>2</sub>). I) Fotografía representativa de exposición directa de la membrana a los FGH. Se utilizaron como control (CTRL) células que crecieron sin ninguna ME. II) Curva tiempo-respuesta de ME de Tecoflex™ sin fármacos en FGH durante 24, 48 y 72 h. III) FGH expuestos a nocodazol 200 nM como control de muerte celular. IV). Núcleos de células sembradas sobre una placa de 96 pocillos. V) Fusión de campo claro y microscopía de fluorescencia que ilustra la presencia de células sobre las fibras de Tecoflex™.

## 7.5 Presencia de MRSA en aislados clínicos de pacientes.

La cepa *MRSA* se aisló de una paciente con lesión mamaria en la sala de Medicina Interna durante el año 2023 (Figura 5). Los resultados de susceptibilidad mostraron resistencia a oxacilina (es decir, resistencia a Meticilina) y susceptibilidad a ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, clindamicina, daptomicina, eritromicina, gentamicina, tetraciclina, trimetoprima y linezolid.

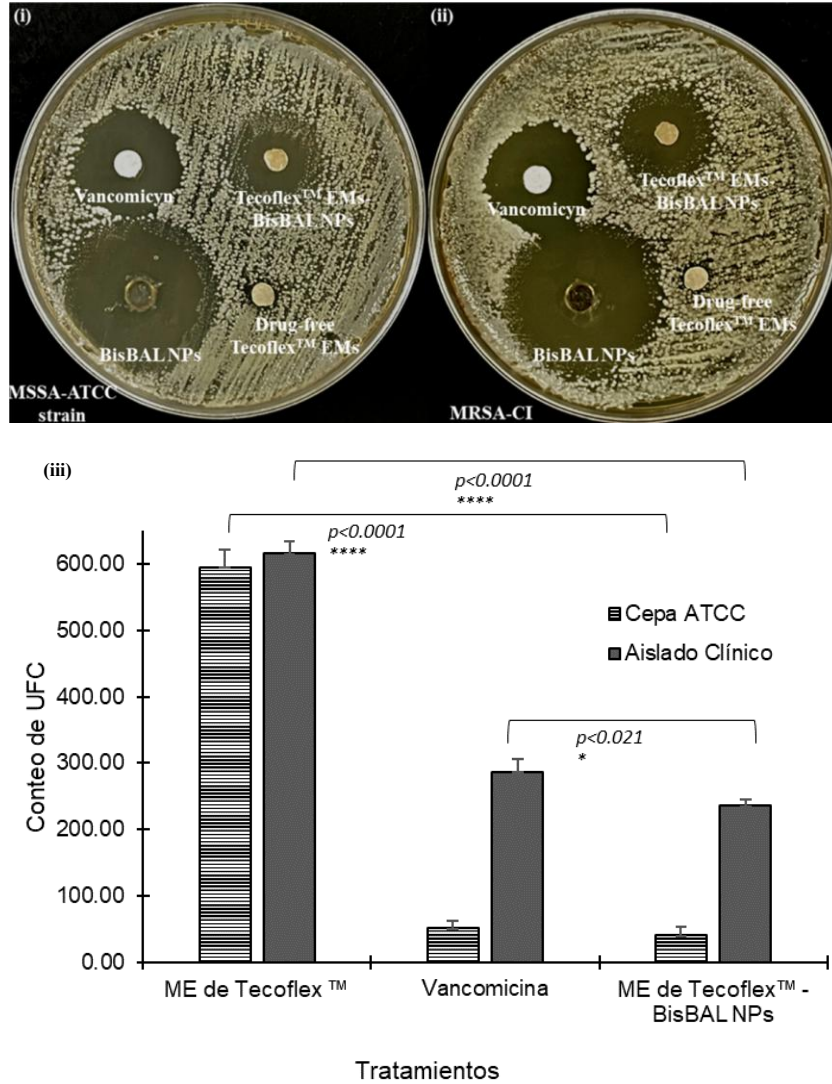


**Figura 7.** Espectro de masas MALDI-TOF de aislado clínico de *MRSA* empleando el software flexAnalysis (Bruker Daltonics).

## 7.6 Potencial antimicrobiano de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs

Mediante difusión en disco (Fig. 6 i, ii) se determinó la capacidad de la membrana electrohilada de Tecoflex™-BisBAL NPs para interferir con el crecimiento de *MSSA*-ATCC y *MRSA* aislado de paciente. Los resultados mostraron una fuerte propiedad antimicrobiana de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs similar a la obtenida con vancomicina, también se demostró que la membrana sin presencia de nanopartículas carece de actividad antimicrobiana, respecto a las BisBAL NPs en solución, presentar el mayor halo de inhibición en el ensayo, esto debido a su liberación inmediata y contacto directo con los microorganismos. Con el objetivo de obtener datos cuantitativos, se realizó un recuento de colonias a partir de la tercera dilución. Los resultados mostraron que, tras 3 horas de exposición, se registró un 93,11 % y 61,70 % de inhibición del crecimiento bacteriano para la cepa *MSSA*-ATCC y *MRSA*-CI respectivamente (Figura 6 iii) con ME de Tecoflex™-BisBAL NPs. Papel filtro impregnado con 10 mM de vancomicina proporcionó 91,32% y 53,41% de reducción de la cepa *MSSA*-ATCC y *MRSA*-CI, respectivamente. ME de Tecoflex™ sin fármacos revelaron un 100 % de crecimiento bacteriano para ambos tipos de cepas de *S. aureus*. En conjunto, estos resultados expresan la fuerte y rápida propiedad antimicrobiana de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs con una eficacia similar a la vancomicina, uno de los mejores antibióticos actuales para tratar las infecciones por *MRSA*.

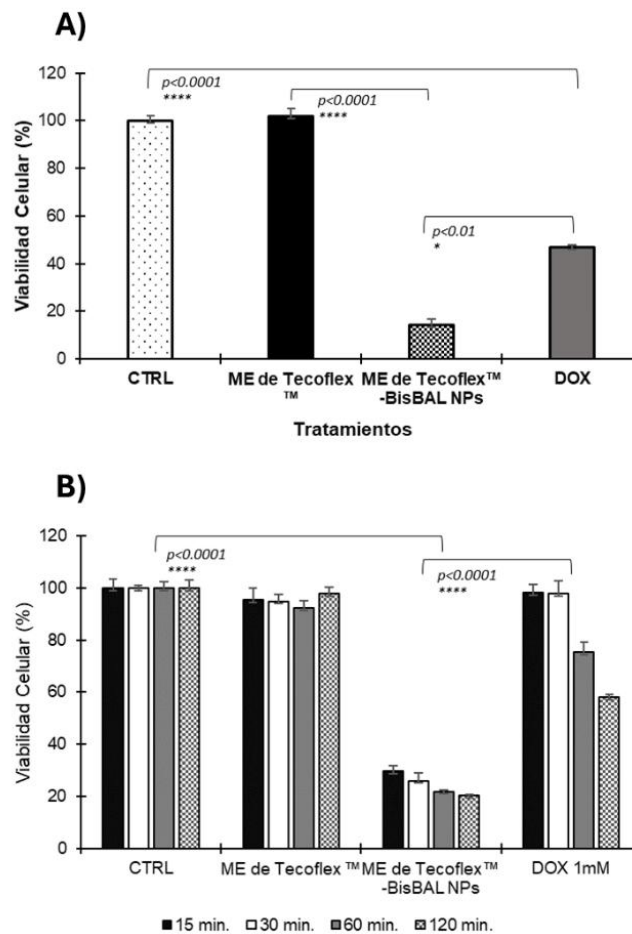
**Actividad antimicrobiana ante *MSSA ATCC 29213* y *MRSA* aislado clínico.**



**Figura 8.** Propiedad antimicrobiana de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs mediante difusión en disco y recuento de colonias. (i) Ensayo de difusión en disco utilizado para medir la posible actividad bacteriana de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en la cepa *MSSA-ATCC* y (ii) *MRSA* aislado de muestras clínicas (*MRSA-CI*) (37°C; 5% de CO<sub>2</sub>, 24h). Se emplearon ME de Tecoflex™ sin fármaco como control negativo y 10 mM de vancomicina como control positivo. Se desarrolló un ensayo de dilución en serie y recuento de colonias para obtener datos cuantitativos de la actividad antimicrobiana de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en ambos tipos de *S. aureus*. Después de 3 h de exposición a ME de Tecoflex™-BisBAL NPs, ME de Tecoflex™ sin fármacos o papel de filtro impregnado con 10 mM de vancomicina, se sembraron bacterias y se midió el UFC después de 24 h de incubación. La actividad antimicrobiana se destacó significativamente con las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs al tener un comportamiento muy similar al de vancomicina (\* $p < 0,0001$ ). Las barras de error indican media  $\pm$  DE (n=4), el asterisco indica diferencias estadísticas ( $\alpha=0,05$ ).

## 7.7 Propiedad antitumoral de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs

Los resultados de actividad antitumoral revelaron que con las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs se redujo el 86 % del crecimiento de las células MCF-7 (Figura 7), doxorubicina (DOX) disminuyó el 53% y ME de Tecoflex™ sin fármacos no interfirieron con la proliferación de células MCF-7 (Fig. 7A). Las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs solo requirieron 15 minutos de exposición para reducir el 70,1 % del crecimiento de células tumorales, resultados contrastantes al 2% 1 mM de doxorubicina (Fig. 7B).

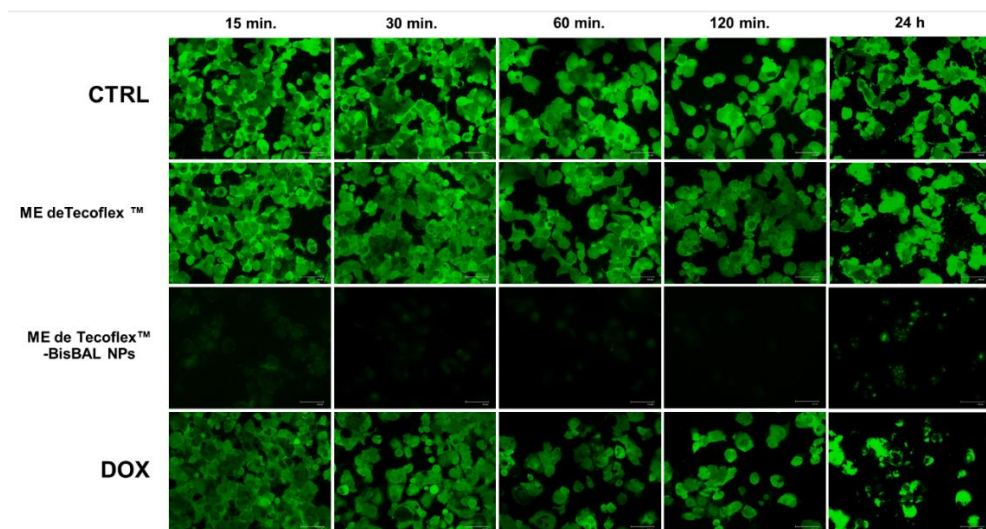


**Figura 9.** Propiedad antitumoral de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en células de cáncer de mama humano. A) Por medio de Presto blue se determinó la capacidad de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs para bloquear la proliferación de células MCF-7. Se utilizaron ME de Tecoflex™ sin fármaco como control negativo y 1 mM de doxorubicina como control positivo. Después de la incubación (37°C; 5 % de CO<sub>2</sub>; 24 h), se midió la viabilidad celular y se expresó como porcentaje. B) Se llevó a cabo el mismo experimento, pero en actividad temprana a cortos tiempos (15, 30, 60 y 120 minutos). La actividad antitumoral se redujo

significativamente con el tratamiento con ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en comparación con todos los grupos (\*p<0,0001). Las barras de error indican media ± DE (n=3), el asterisco indica diferencias estadísticas ( $\alpha=0,05$ ).

### 7.8 Mecanismo de acción de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs

Se evaluó la permeabilidad de la membrana celular mediante fluorescencia con el ensayo de Calceína AM con el fin de dilucidar el mecanismo de acción de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en MCF-7. Entre los resultados obtenidos, ME de Tecoflex™-BisBAL NPs suprimen el crecimiento de las células tumorales y se ha observado un fondo negro con pocos puntos de tinción fluorescente verde restantes desde los 15 min. hasta la última condición experimental estipulada a las 24 h (Figura 8).



**Figura 10.** Evaluación de la permeabilidad de la membrana celular de MCF-7 a 15 min, 30 min, 60 min, 120 min. y 24 h de exposición a ME de Tecoflex™-BisBAL NPs. Las células MCF-7 se expusieron durante 24 horas a ME de Tecoflex™-BisBAL NPs o ME de Tecoflex™ sin fármacos y se midió la intensidad de la fluorescencia de Calceína AM. Las células tumorales que crecieron en medios de cultivo en ausencia de cualquier fármaco se utilizaron como control de crecimiento, mientras que la doxorubicina (DOX) 1 mM sirvió como control de inhibición positiva.

## 8. DISCUSIÓN

El cáncer de mama sigue siendo un gran desafío para la medicina moderna, una recuperación exitosa es principalmente a una detección temprana y abordaje efectivo. A la fecha, se han propuesto diferentes dispositivos de tratamiento local para cicatrización e infecciones, sin embargo, con enfoque en el tratamiento de cáncer de mama, no hay. En este estudio se desarrolló una membrana electrohilada cargada con nanopartículas lipofílicas de bismuto y se evaluaron sus propiedades antitumorales y antimicrobianas. ME de Tecoflex™-BisBAL NPs mostró fibras de 4,74  $\mu\text{m}$  donde las BisBAL NPs se distribuyeron homogéneamente en la superficie de la fibra. Anteriormente, Permyakova et al., 2023 fabricaron nanofibras electrohiladas cargadas Ag NPs y mostraron una deposición uniforme en la superficie de las nanofibras (Permyakova et al. 2023). Las ME de Tecoflex™ sin fármacos mostraron un diámetro más bajo (3,97  $\mu\text{m}$ ) en comparación con ME de Tecoflex™-BisBAL NPs (4,74  $\mu\text{m}$ ), probablemente debido a las condiciones experimentales de fabricación, puntualmente al voltaje, ya que fue el único factor variable entre grupos con 22 kV para Tecoflex™ sin fármacos y 12 kV para Tecoflex™- BisBAL NPs. Cuando se utilizó espectroscopía de rayos X de dispersión de energía, los espectros de la membrana sin fármaco y la que contiene BisBAL NPs fueron muy similares, los picos que presenta el espectro de Tecoflex™-BisBAL NPs son característicos de la presencia del bismuto, corroborados en la espectroscopia de bismuto coloidal de la fig. 1. Este dato es relevante porque todas las propiedades biológicas estudiadas en ME de Tecoflex™-BisBAL NPs estarán asociadas únicamente a la presencia de BisBAL NPs y no a ninguna otra molécula o disolventes residuales. Se encontraron pequeñas diferencias espectrales entre las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs y las ME de Tecoflex™ sin fármacos cuando se realizaron ensayos FTIR. Por ejemplo, ME de Tecoflex™-BisBAL NPs mostraron absorciones ubicadas en 3449 y 3334  $\text{cm}^{-1}$  en la región NH. Por el contrario, Tecoflex™ sin fármacos mostró una absorción de 3326  $\text{cm}^{-1}$  debido al NH libre en los uretanos. Además, se observó un pequeño cambio en la flexión del  $\text{CH}_2$  a 1371  $\text{cm}^{-1}$  junto con un desplazamiento del C-O-C a 1247  $\text{cm}^{-1}$  en ME de Tecoflex™-BisBAL NPs. ME de Tecoflex™-BisBAL NPs mostraron un 94 % de absorción de agua después de 24 horas de exposición. Este comportamiento en las membranas electrohiladas juega un papel importante en la adhesión y la proliferación celular (Jadbabaei et al. 2021), pero también

es importante en las heridas exudativas. Este resultado sugiere la capacidad de hidratación de las ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en un sistema biológico y su capacidad de administración local de fármacos. Cuando se evaluaron las propiedades mecánicas, nuestro resultado muestra que BisBAL NPs confiere un 66 % más de resistencia a Tecoflex™, en comparación con las ME de Tecoflex™ sin fármacos. Anteriormente, se informó que las membranas electrohiladas Tecoflex™ muestran buenas propiedades mecánicas para aplicaciones biomédicas, incluso mejores que las arterias coronarias (Detta et al. 2010), si bien no se describe el mecanismo por el cual la resistencia aumento al tener como componente de su fabricación las BisBAL NPs, el hecho de mejorar aún más su característica resistencia es un dato favorable para el desempeño posterior de la membrana. Nuestros resultados también refuerzan la hipótesis de que las ME de Tecoflex™ libres de fármacos estimulan la proliferación de FGH. Anteriormente, Venegas-Cervera et al., 2021 describieron la proliferación de fibroblastos humanos que crecen en una membrana Tecoflex™ densa, en contraste con FGH sembrados en una membrana electrohilada de Tecoflex™ y una membrana electrohilada con Tecoflex™ y arginina como extensor de cadena (Venegas-Cervera et al. 2021). En nuestros experimentos, cuando los FGH se tiñeron con DAPI y se observaron mediante microscopía fluorescente, se mostró una buena integración de los FGH en ME de Tecoflex™ sin fármacos. Respaldo nuestros resultados, Venegas-Cervera et al., 2021 informaron un mayor alargamiento de los fibroblastos humanos en membranas electrohiladas que en membranas densas (Venegas-Cervera et al. 2021). Lindsay et al., 2015 desarrollan andamios Tecoflex™ electrohilados recubiertos con péptido similar a elastina y se obtuvo una excelente viabilidad, proliferación y expresión genética en fibroblastos de cuerdas vocales humanas. En general, nuestros resultados indican que las ME de Tecoflex™ libres de fármacos no interfieren con la proliferación de FGH, lo que respalda declaraciones anteriores sobre su biocompatibilidad y posible aplicación clínica en medicina (Macossay et al. 2014). La actividad antimicrobiana de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs se analizó en la cepa *MSSA*-ATCC y *MRSA*-CI aislada de un paciente infectado. El resultado muestra una potente actividad antimicrobiano de ME de Tecoflex™-BisBAL NPs en ambos tipos de *Staphylococcus aureus*. Las nanofibras electrohiladas cargadas con NP de Ag 0,01 M redujeron el crecimiento de *S. aureus*

después de 6 h de exposición y la formación de biopelículas ( Permyakova et al. 2023). Kumar et al., 2020 han descrito el efecto inhibitor de una membrana de nanofibras cargada con nanopartículas de óxido de grafeno sobre el crecimiento de *E. coli*. Näf et al., 2024 han informado sobre las propiedades antimicrobianas de un nanocompuesto óseo electrohilado de PGLA/fosfato de calcio amorfo, lo que disminuye la adhesión de aislados clínicos de *S. aureus* y *S. epidermidis*. ME de Tecoflex™-BisBAL NPs redujeron el crecimiento de las células MCF-7 en un 87% (37°C; 5% CO<sub>2</sub>; 24 h), mientras que las ME de Tecoflex™ sin fármacos no afectaron el crecimiento de las células tumorales. Este resultado demuestra en primer lugar la eficacia de las ME de Tecoflex™ como vehículo para la administración de fármacos en el sitio de interés sin alterar la fisiología del tejido local. Además, se corroboró el éxito de la liberación de BisBAL NPs al inhibir el crecimiento de las células MCF-7 después de solo 15 minutos disminuyendo el 70% del crecimiento de las células tumorales. No hay informes previos que empleen membranas electrohiladas de Tecoflex™ cargadas con agentes antitumorales que evalúen la actividad antitumoral. Li et al., 2023 describieron la actividad antitumoral in vivo de una membrana electrohilada de policaprolactona cubierta con paclitaxel biodegradable en un modelo de ratón desnudo con xenoinjerto. ME de Tecoflex™-BisBAL NPs podrían colocarse inmediatamente después de la cirugía durante la extracción del tumor y, según sus propiedades descritas a lo largo de este estudio, pueden evitar tanto la recurrencia del cáncer de mama como infecciones de las heridas. Dada la ausencia de citotoxicidad de las ME de Tecoflex™ sin fármacos descritas en el presente estudio, no es necesaria su eliminación evitando en todo momento el crecimiento de células tumorales y metástasis. Los ensayos de Calceína AM respaldan el mecanismo de acción sobre la perturbación de la permeabilidad celular de las células MCF-7 después de la exposición a ME de Tecoflex™-BisBAL NPs, incluso después de un corto tiempo (15 min). Anteriormente, este mecanismo se describió empleando suspensiones de BisBAL NPs (Hernández-Delgadillo et al. 2018 y García-Cuellar et al. 2023), incluida la alteración del citoesqueleto y la genotoxicidad. Al principio, Dey et al, 2022 informaron sobre el mecanismo de acción de las Ag NPs que promueven la despolarización de la membrana mitocondrial, la generación de especies reactivas de oxígeno y la pérdida general de la homeostasis mitocondrial (Dey et al. 2022). Recientemente, Meher et al., 2024 describieron el efecto

de las nanopartículas de ajo y oro sobre el citoesqueleto, inhibiendo específicamente la red de microtúbulos en células de adenocarcinoma de mama humano (MDA-MB-231). Diferentes publicaciones reportan diferentes mecanismos de acción de las nanopartículas lipofílicas de bismuto, dependientes de concentración, línea celular y método de exposición, de ellos, el mecanismo más constante y que se exploró en la presente investigación fue el efecto a nivel membrana celular.

## 9. CONCLUSIÓN

La membrana electrohilada Tecoflex<sup>TM</sup> funcionalizada con nanopartículas lipofílicas de bismuto (ME de Tecoflex<sup>TM</sup>-BisBAL NPs) inhibe el crecimiento de células tumorales de células de cáncer de mama, así como también inhibe el crecimiento de cepas multirresistentes nosocomiales como *MSSA* y *MRSA* lo que disminuye el riesgo de infecciones posoperatorias de las heridas. Cargadas en un vehículo inerte como el poliuretano por electrohilado, podría emplearse como tratamiento tópico para reducir la recurrencia de CM después de la cirugía de remoción tumoral.

## 10. PERSPECTIVAS

- Este proyecto deja claro el potencial visto en la aplicación local de un principio activo sobre un vehículo como las membranas electrohiladas, para cumplir objetivos terapéuticos variados. La intención sería el aplicarlo en otro tipo de cáncer, por su presentación y por los antecedentes del principio activo (BisBAL NPs) puede ser efectivo en otras líneas cancerígenas.
- Modelo animal murino para ensayos de biocompatibilidad, buscando aproximarse más a ensayos clínicos.
- Analizar sus propiedades como andamio para la regeneración tisular.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Al-Hilli, Z. and A. Wilkerson, Breast Surgery: Management of Postoperative Complications Following Operations for Breast Cancer. *Surg Clin North Am*, 2021. 101(5): p. 845-863.
2. Anjum, F.; Agabalyan, N.A.; Sparks, H.D.; Rosin, N.L.; Kallos, M.S.; Biernaskie, J. Biocomposite Nanofiber Matrices to Support ECM Remodeling by Human Dermal Progenitors and Enhanced Wound Closure. *Sci. Rep.* 2017, 7, 10291.
3. Badireddy AR, Hernandez-Delgadillo R, Sánchez-Nájera RI, Chellam S, Cabral-Romero C. Synthesis and characterization of lipophilic bismuth dimercaptopropanol nanoparticles and their effects on oral microorganisms growth and biofilm formation. *Journal of Nanoparticle Research*. 2014;16(6):2456. doi: 10.1007/s11051-014-2456-5.
4. Badrigilan S, Heydarpanahi F, Choupani J, Jaymand M, Samadian H, Hoseini Ghahfarokhi M, et al. A Review on the Biodistribution, Pharmacokinetics and Toxicity of Bismuth-Based Nanomaterials. *International journal of nanomedicine*. 2020;15:7079-96. doi: 10.2147/ijn.s250001.
5. Ben-David A, Davidson CE. Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of microbiological methods*. 2014;107:214-21.
6. Bolton L. Surgical Site Infection in Cancer Patients. *Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice*. 2021;33(10):260-2.
7. Brum J, Gibb R, Ramsey D, Balan G, Yacyshyn, B. R. Systematic Review and Meta-Analyses Assessment of the Clinical Efficacy of Bismuth Subsalicylate for Prevention and Treatment of Infectious Diarrhea. *Dig Dis Sci*. 2021;66(7):2323–2335.
8. Cabral-Romero C, Solís-Soto J, Sánchez-Pérez Y, Pineda-Aguilar N, Meester I, Pérez-Carrillo E, Nakagoshi-Cepeda S, Sánchez-Nájera R, Nakagoshi-Cepeda M, Hernández-Delgadillo R, Chellam S, García-Cuéllar C. Antitumor activity of a hydrogel loaded with lipophilic bismuth nanoparticles on cervical, prostate, and colon human cancer cells. *Anticancer Drugs*. 2020;31(3):251-259.
9. Cabrera-Galeana P, Soto-Perez-de-Celis E, Reynoso-Noveron N, Villarreal-Garza C, Lara-Medina F, Alvarado-Miranda A, et al. Real-World Outcomes Among Older

- Mexican Women with Breast Cancer Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. *The Oncologist*. 2020;25(12):1023-31.
10. Chernonosova VS, Gostev AA, Gao Y, Chesalov YA, Shutov AV, Pokushalov EA, et al. Mechanical properties and biological behavior of 3D matrices produced by electrospinning from protein-enriched polyurethane. *BioMed research international*. 2018;2018(1):1380606.
  11. Detta N, Errico C, Dinucci D, Puppi D, Clarke DA, Reilly GC, et al. Novel electrospun polyurethane/gelatin composite meshes for vascular grafts. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2010;21:1761-9.
  12. Dey S, Fageria L, Sharma A, Mukherjee S, Pande S, Chowdhury R, et al. Silver nanoparticle-induced alteration of mitochondrial and ER homeostasis affects human breast cancer cell fate. *Toxicology Reports*. 2022;9:1977-84.
  13. Durán-Guerrero JG, Martínez-Rodríguez MA, Garza-Navarro MA, González-González VA, Torres-Castro A, De La Rosa JR. Magnetic nanofibrous materials based on CMC/PVA polymeric blends. *Carbohydr Polym*. 2018.15;200:289-296.
  14. El-Aassar M, Ibrahim O, Al-Oanzi ZH. Biotechnological Applications of Polymeric Nanofiber Platforms Loaded with Diverse Bioactive Materials. *Polymers (Basel)*. 2021;28;13(21):3734.
  15. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International journal of cancer*. 2021;149(4):778-89.
  16. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*. 2010;127(12):2893-917.
  17. Gao Y-x, Ling X, Ye J-m, Wang D-m, Zhao J-x, Zhang L-b, et al. Analysis of risk factors of surgical site infections in breast cancer. *Chinese medical journal*. 2010;123(5):559-62.
  18. Garakani MM, Ahangar P, Watson S, Nisol B, Wertheimer MR, Rosenzweig DH, et al. A novel 3D co-culture platform for integrating tissue interfaces for tumor growth, migration and therapeutic sensitivity:“PP-3D-S”. *Biomaterials Advances*. 2022;134:112566.

19. García-Cuellar CM, Cabral-Romero C, Hernández-Delgadillo R, Solis-Soto JM, Meester I, Sánchez-Pérez Y, et al. Bismuth Lipophilic Nanoparticles (BisBAL NP) Inhibit the Growth of Tumor Cells in a Mouse Melanoma Model. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*. 2022;22(14):2548-57.
20. García-Cuellar CM, Hernández-Delgadillo R, Torres-Betancourt JA, Solis-Soto JM, Meester I, Sánchez-Pérez Y, et al. Cumulative antitumor effect of bismuth lipophilic nanoparticles and cetylpyridinium chloride in inhibiting the growth of lung cancer. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 2023;21:22808000231161177.
21. Gogolewski, S., Selected topics in biomedical polyurethanes. A review. *Colloid and Polymer Science*, 1989. 267(9): p. 757-785.
22. Gomez C, Hallot G, Laurent S, Port M. Medical Applications of Metallic Bismuth Nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2021;26;13(11):1793.
23. Gostev AA, Shundrina IK, Pastukhov VI, Shutov AV, Chernonosova VS, Karpenko AA, Laktionov PP. Correction: Gostev et al. In Vivo Stability of Polyurethane-Based Electrospun Vascular Grafts in Terms of Chemistry and Mechanics. *Polymers* 2020, 12, 845. *Polymers (Basel)*. 2022 1;14(11):2263.
24. Guarino V, Cirillo V, Ambrosio L. Bicomponent electrospun scaffolds to design extracellular matrix tissue analogs. *Expert Review of Medical Devices*. 2016;13(1):83-102.
25. Hernández-Delgadillo R, Espinoza-Villarreal EC, Del Angel-Mosqueda C, Rodríguez-Luis OE, Cabral-Romero C. Antimicrobial and Antibiofilm Activities of a Bismuth Lipophilic Nanoparticles Hydrogel against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm.
26. Hernández-Delgadillo R, García-Cuellar, C, Sánchez-Pérez Y, Pineda-Aguilar N, Martínez-Martínez M, Rangel-Padilla E, Nakagoshi-Cepeda S, Solís-Soto J, Sánchez-Nájera R, Nakagoshi-Cepeda M, Chellam S, Cabral-Romero C. In vitro evaluation of the antitumor effect of bismuth lipophilic nanoparticles (BisBAL NPs) on breast cancer cells. *Int J Nanomedicine*. 2018;5;13:6089-6097.
27. Hernández-Rangel, A.; Martin-Martinez, E.S. Collagen Based Electrospun Materials for Skin Wounds Treatment. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2021, 109, 1751–1764.

28. Hughes LA, Gaston J, McAlindon K, Woodhouse KA, Thibeault SL. Electrospun fiber constructs for vocal fold tissue engineering: Effects of alignment and elastomeric polypeptide coating. *Acta biomaterialia*. 2015;13:111-20.
29. Hussein Y, El-Fakharany EM, Kamoun EA, Loutfy SA, Amin R, Taha TH, Salim SA, Amer M. Electrospun PVA/hyaluronic acid/L-arginine nanofibers for wound healing applications: Nanofibers optimization and in vitro bioevaluation. *Int J Biol Macromol*. 2020. 1;164:667-676.
30. Ibrahim HM, Reda MM, Klingner A. Preparation and characterization of green carboxymethylchitosan (CMCS) - Polyvinyl alcohol (PVA) electrospun nanofibers containing gold nanoparticles (AuNPs) and its potential use as biomaterials. *Int J Biol Macromol*. 2020;15;151:821-829.
31. Irani, M., G. Mir Mohamad Sadeghi, and I. Haririan, Gold coated poly ( $\epsilon$ -caprolactonediol) based polyurethane nanofibers for controlled release of temozolomide. *Biomed Pharmacother*, 2017. 88: p. 667-676.
32. Jadbabaei S, Kolahdoozan M, Naeimi F, Ebadi-Dehaghani H. Preparation and characterization of sodium alginate–PVA polymeric scaffolds by electrospinning method for skin tissue engineering applications. *Rsc Advances*. 2021;11(49):30674-88.
33. Jeevanandam, J.; Barhoum, A.; Chan, Y.S.; Dufresne, A.; Danquah, M.K. Review on Nanoparticles and Nanostructured Materials: History, Sources, Toxicity and Regulations. *Beilstein J. Nanotechnol*. 2018, 9, 1050–1074.
34. Jiang, S.; Schmalz, H.; Agarwal, S.; Greiner, A. Electrospinning of ABS Nanofibers and Their High Filtration Performance. *Adv. Fiber Mater*. 2020, 2, 34–43.
35. Kamoun EA, Loutfy SA, Hussein Y, Kenawy ES. Recent advances in PVA-polysaccharide based hydrogels and electrospun nanofibers in biomedical applications: A review. *Int J Biol Macromol*. 2021. 30;187:755-768.
36. Kanmaz, D.; Toprakci, H.A.K.; Olmez, H.; Toprakci, O. Electrospun Polylactic Acid Based Nanofibers for Biomedical Applications. *Mater. Sci. Res. India* 2018, 15, 224–240.

37. Karahan S, Erden A, Bulut K, Basak M, Aslan T, Cetinkaya A, Avci D. A case of bismuth intoxication with irreversible renal damage. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2013;6:241-243.
38. Khursheed R, Dua K, Vishwas S, Gulati M, Jha NK, Aldhafeeri GM, Alanazi FG, Goh BH, Gupta G, Paudel KR, Hansbro PM, Chellappan DK, Singh SK. Biomedical applications of metallic nanoparticles in cancer: Current status and future perspectives. *Biomed Pharmacother.* 2022;150:112951.
39. Kirk RE, Othmer DF. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 5th ed. Hoboken: John Wiley and Sons Inc; 2004.
40. Kumar V, Abro MI, Bhutto MA, Aftab U, Kumar M, Ahmed M. Fabrication and characterization of graphene oxide nanoparticles incorporated in poly (vinyl alcohol) electro-spun nanofibers and its vapor-phase crosslinking. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2020;33(5).
41. Li L, Li F, Zhao Z, Xie R, Xu D, Ding M, et al. An exploratory research on antitumor effect of drug-eluting slow-releasing electrospinning membranes. *Heliyon.* 2023;9(10).
42. Liang, H.; Guan, Q.; Chen, L.; Zhu, Z.; Zhang, W.; Yu, S. Macroscopic-scale Template Synthesis of Robust Carbonaceous Nanofiber Hydrogels and Aerogels and Their Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, 51, 5101–5105.
43. Liu C-Y, Wu C-Y, Petrossian K, Huang T-T, Tseng L-M, Chen S. Treatment for the endocrine resistant breast cancer: current options and future perspectives. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* 2017;172:166-75.
44. Liu Y. Electrospun nanofibers as a wound dressing for treating diabetic foot ulcer, *Asian J. Pharm. Sci.* 14 (2019) 130–143.
45. Liu, C.Y., et al., Treatment for the endocrine resistant breast cancer: Current options and future perspectives. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2017. 172: p. 166-175.
46. Macossay J, Sheikh FA, Cantu T, Eubanks TM, Salinas ME, Farhangi CS, et al. Imaging, spectroscopic, mechanical and biocompatibility studies of electrospun Tecoflex® EG 80A nanofibers and composites thereof containing multiwalled carbon nanotubes. *Applied surface science.* 2014;321:205-13.

47. Martínez-Pérez F, García-Cuellar C, Hernández-Delgadillo R, Zaragoza-Magaña V, Sánchez-Pérez Y, Meester I, Cabral-Romero C. Comparative Study of Antitumor Activity between Lipophilic Bismuth Nanoparticles (BisBAL NPs) and Chlorhexidine on Human Squamous Cell Carcinoma. *J Nanomater.* 2019;1–8.
48. Meher K, Paithankar H, Hosur RV, Lopus M. Antiproliferative efficacy and mechanism of action of garlic phytochemicals-functionalized gold nanoparticles in triple-negative breast cancer cells. *Biomedical Materials.* 2024;19(3):035039.
49. Memic A, Abudula T, Mohammed HS, Joshi Navare K, Colombani T, Bencherif SA. Latest Progress in Electrospun Nanofibers for Wound Healing Applications. *ACS Appl Bio Mater.* 2019. 18;2(3):952-969.
50. Mohseni Garakani, M., et al., A novel 3D co-culture platform for integrating tissue interfaces for tumor growth, migration and therapeutic sensitivity: "PP-3D-S". *Biomater Adv*, 2022. 134: p. 112566.
51. Morais, A.Í.S.; Vieira, E.G.; Afewerki, S.; Sousa, R.B.; Honorio, L.; Cambrussi, A.N.C.O.; Santos, J.A.; Bezerra, R.D.S.; Furtini, J.A.O.; Silva-Filho, E.C. Fabrication of Polymeric Microparticles by Electrospray: The Impact of Experimental Parameters. *J. Funct. Biomater.* 2020, 11, 4.
52. Näf L, Miescher I, Pfuderer L, Schweizer TA, Brunner D, Dürig J, et al. Pro-angiogenic and antibacterial copper containing nanoparticles in PLGA/amorphous calcium phosphate bone nanocomposites. *Heliyon.* 2024;10(5).
53. Naskar A, Kim K.-S, Recent advances in nanomaterial-based wound-healing therapeutics, *Pharmaceutics* 12 (2020) 499.
54. O'Sullivan CC, Loprinzi CL, Haddad TC. Updates in the evaluation and management of breast cancer. *Mayo Clin Proc.* 2018;93(6):794-807.
55. Pan H, Gray R, Braybrooke J, Davies C, Taylor C, McGale P, et al. 20-year risks of breast-cancer recurrence after stopping endocrine therapy at 5 years. *New England Journal of Medicine.* 2017;377(19):1836-46.
56. Pedersen RN, Esen BÖ, Mellekjær L, Christiansen P, Ejlersen B, Lash TL, et al. The incidence of breast cancer recurrence 10-32 years after primary diagnosis. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute.* 2022;114(3):391-9.

57. Permyakova ES, Manakhov A, Kiryukhantsev-Korneev PV, Konopatsky AS, Makarets YA, Kotyakova KY, et al. Self-sanitizing polycaprolactone electrospun nanofiber membrane with Ag nanoparticles. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023;14(7):336.
58. Qu F-L, Wu S-Y, Li J-J, Shao Z-M. Ipsilateral breast tumor recurrence after breast-conserving surgery: insights into biology and treatment. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2023;202(2):215-20.
59. Rajput, S., P.K. Sharma, and R. Malviya, Biomarkers and Treatment Strategies for Breast Cancer Recurrence. *Curr Drug Targets*, 2023. 24(15): p. 1209-1220.
60. Rasouli R, Barhoum A, Bechelany M, Dufresen A. Nanofibers for biomedical healthcare applications, *Macromol. Biosci*. 19 (2019), 1800256.
61. Rene H-D, Badireddy AR, Juan José M-S, Juan Francisco C-C, Gustavo Israel M-G, Rosa Isela S-N, et al. Cytotoxic effect of lipophilic bismuth dimercaptopropanol nanoparticles on epithelial cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2016;16(1):203-9.
62. Shakiba M, Pourmadadi M, Hosseini SM, Bigham A, Rahmani E, Sheikhi M, et al. A bi-functional nanofibrous composite membrane for wound healing applications. *Archiv der Pharmazie*. 2024:e202400001.
63. Sperling LE, Reis KP, Pranke P, Wendorff JH. Advantages and challenges offered by biofunctional core-shell fiber systems for tissue engineering and drug delivery. *Drug Discovery Today*. 2016;21(8):1243-56.
64. Srikar R, Yarin AL, Megaridis CM, Bazilevsky AV, Kelley E. Desorption-limited mechanism of release from polymer nanofibers. *Langmuir*. 2008. 5;24(3):965-74.
65. Tahri NB, Gravdehaug B, Bahrami N, Reitsma L. A woman in her fifties with a post-operative infection, generalised rash and organ failure. *Tidsskrift for Den norske legeförening*. 2024.
66. Teixeira M.A, Amorim M.T.P, Felgueiras H.P. Poly (vinyl alcohol)-based nanofibrous electrospun scaffolds for tissue engineering applications, *Polymers* 12 (2020) 7.
67. Tian L, Wang P, Zhao Z, Ji J. Antimicrobial activity of electrospun poly (butylenes succinate) fiber mats containing PVP-capped silver nanoparticles. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2013;171:1890-9.

68. Tommalieh M. Gold nanoparticles doped polyvinyl alcohol/chitosan blend via laser ablation for electrical conductivity enhancement, *J. Mol. Struct.* 1221 (2020), 128814.
69. Torres-Betancourt JA, Hernandez-Delgadillo R, Flores-Treviño JJ, Solís-Soto JM, Pineda-Aguilar N, Nakagoshi-Cepeda MAA, et al. Antimicrobial potential of AH Plus supplemented with bismuth lipophilic nanoparticles on *E. faecalis* isolated from clinical isolates. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials.* 2022;20:22808000211069221.
70. Traves KP, Cokenakes SEH. Breast Cancer Treatment. *Am Fam Physician.* 2021 Aug 1;104(2):171-178.
71. Vara-Salazar Edl, Suarez-Lopez L, Angeles-Llerenas A, Torres-Mejia G, Lazcano-Ponce E. Breast cancer mortality trends in Mexico, 1980-2009. *Salud pública de Mexico.* 2011;53(5):385-93.
72. Varol U, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Somali I, Altun Z, Aktas S, Oktay Tarhan M. BRCA genes: BRCA 1 and BRCA 2. *J BUON.* 2018 Jul-Aug;23(4):862-866.
73. Venegas-Cervera GA, Oliva AI, Avila-Ortega A, Cervantes-Uc JM, Carrillo-Cocom LM, Juarez-Moreno JA. Biocompatibility studies of polyurethane electrospun membranes based on arginine as chain extender. *J Mater Sci Mater Med.* 2021 20;32(9):104.
74. Xu M, McCanna DJ, Sivak JG. Use of the viability reagent PrestoBlue in comparison with alamarBlue and MTT to assess the viability of human corneal epithelial cells. *Journal of pharmacological and toxicological methods.* 2015;71:1-7.
75. Zeng J, Aigner A, Czubyko F, Kissel T, Wendorff JH, Greiner A. Poly(vinyl alcohol) nanofibers by electrospinning as a protein delivery system and the retardation of enzyme release by additional polymer coatings. *Biomacromolecules.* 2005;6(3):1484-8.
76. Zhang GC, Liu J, Yu XN, Deng Y, Sun Y, Liu TT, et al. Bismuth-Based Mesoporous Nanoball Carrying Sorafenib for Computed Tomography Imaging and Synergetic Chemoradiotherapy of Hepatocellular Carcinoma. *Advanced healthcare materials.* 2020;9(21):e2000650. doi: 10.1002/adhm.202000650.
77. Zhu X, Radovic-Moreno A, Wu J, Langer R, Shi J. Nanomedicine in the Management of Microbial Infection - Overview and Perspectives. *Nano Today.* 2014;9(4):478-498.

78. Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, Sung H, Jemal A. Cancer statistics, 2025. *CA Cancer J Clin.* 2025 Jan-Feb;75(1):10-45.
79. INEGI (2024). Estadísticas a propósito del día internacional de la lucha contra el cáncer de mama. Recuperado de [https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2024/EAP\\_LuchaCMAma24.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2024/EAP_LuchaCMAma24.pdf)
80. Yang J, Xu L. Electrospun Nanofiber Membranes with Various Structures for Wound Dressing. *Materials (Basel).* 2023 Sep 1;16(17):6021.
81. Nascimento, R. G. do, & Otoni, K. M. (2020). Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know?. *Mastology*, 30, 1–8.
82. Lin Z, Chen H, Xu J, Wang J, Wang H, Huang S, Xu S. A Review of the Release Profiles and Efficacies of Chemotherapy Drug-Loaded Electrospun Membranes. *Polymers (Basel).* 2023 Jan 4;15(2):251.
83. O’Sullivan CC, Loprinzi CL, Haddad TC. Updates in the evaluation and management of breast cancer. *Mayo Clin Proc.* 2018;93(6):794-807.
84. Bailey MH, Tokheim C, Porta-Pardo E, Sengupta S, Bertrand D, Weerasinghe A, Colaprico A, Wendl MC, Kim J, Reardon B, Ng PK, Jeong KJ, Cao S, Wang Z, Gao J, Gao Q, Wang F, Liu EM, Mularoni L, Rubio-Perez C, Nagarajan N, Cortés-Ciriano I, Zhou DC, Liang WW, Hess JM, Yellapantula VD, Tamborero D, Gonzalez-Perez A, Suphavilai C, Ko JY, Khurana E, Park PJ, Van Allen EM, Liang H; MC3 Working Group; Cancer Genome Atlas Research Network; Lawrence MS, Godzik A, Lopez-Bigas N, Stuart J, Wheeler D, Getz G, Chen K, Lazar AJ, Mills GB, Karchin R, Ding L. Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations. *Cell.* 2018 5;173(2):371-385.e18.
85. Hortobagyi GN, Connolly JL, D’Orsi CJ, et al. Breast. In: Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. Springer; 2018:589-636.
86. Maughan KL, Lutterbie MA, Ham PS. Treatment of breast cancer. *Am Fam Physician.* 2010 Jun 1;81(11):1339-46.
87. Nascimento, R. G. do, & Otoni, K. M. (2020). Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know?. *Mastology*, 30, 1–8. Retrieved from <https://revistamastology.emnuvens.com.br/revista/article/view/945>.

88. Schwartz GF, Meltzer AJ, Lucarelli EA, Cantor JP, Curcillo PG 2nd. Breast conservation after neoadjuvant chemotherapy for stage II carcinoma of the breast. *J Am Coll Surg*. 2005 Sep;201(3):327-34.
89. American Cancer Society. (2024, June 10). Treatment of breast cancer stages I–III. American Cancer Society. <https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/treatment/treatment-of-breast-cancer-by-stage/treatment-of-breast-cancer-stages-i-iii.htm>.