



Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica 2024



Memorias: CBMF2024



Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación



CIATEJ

Memorias del Congreso de Biotecnología
Médica y Farmacéutica
2024

Memorias del Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica 2024

Dra. Alba Adriana Vallejo Cardona
Dr. Cristian Alfredo Segura Cerda
Dr. Pavel Hayl Lugo Fabres
Dra. Tanya Amanda Camacho Villegas
(coordinadores)

Memorias del Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica 2024
Primera edición: 2025

Diseño editorial: Enrique Rentería
Diseño de portada: Nayeli Vallarta

© Por la coordinación: Alba Adriana Vallejo Cardona,
Cristian Alfredo Segura Cerda, Pavel Hayl Lugo Fabres
& Tanya Amanda Camacho Villegas (coordinadores).

©Todos los textos son propiedad de sus autores.

D. R. © El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología
y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
Av. Normalistas No. 800
Colonia Colinas de La Normal
Guadalajara, Jalisco, C.P. 44270

ISBN: 978-607-8734-88-7

Impreso y hecho en México

Contenido

Introducción	9
EL CBF2024 en números	13
Memorias	15
Evaluación de perfil proteico de tres líneas celulares de cáncer de páncreas	17
vNAR biespecífico neutralizante de TNF α /TGF β : análisis <i>in silico</i> y expresión recombinante	23
Cribado Computacional de <i>N</i> -Acilamidas Como Moduladores del Sistema LasR Para Atenuar la Virulencia en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
Potencial prooxidante y antitumoral de derivados de plantas en líneas celulares tumorales humanas	37
Desarrollo de un modelo tridimensional <i>in vitro</i> de reparación por daño incisional	45
Caracterización de anticuerpos policlonales anti-veneno de <i>Bothrops asper</i> (Viperidae)	51
Olvanil: una molécula que inhibe la diferenciación de adipocitos y reduce el porcentaje de tejido adiposo en modelos murinos de obesidad	59
Formulación vaginal de liberación controlada a base de melatonina para el tratamiento de cáncer cervicouterino	65
Diferencias en la microbiota intestinal y su impacto nutricional en sujetos con enfermedad inflamatoria intestinal de México y España	71
Caracterización Físicoquímica de la Termoestabilidad de un Nanoanticuerpo vNAR	79
Evaluación de la capacidad de reconocimiento de un vNAR anti TGF- β recombinante (Trx-vNART1)	85
Evaluación <i>in vitro</i> del efecto citotóxico de liposomas cargados con verde de indocianina (ICG) y nanopartículas de oro (AuNPs), en conjunto con Hipertermia en células de glioblastoma U87 y efecto antitumoral preliminar <i>in vivo</i>	91
Impacto del SNP rs2501432 sobre la función del receptor CB2 y su rol en la esquizofrenia	97

Actividad cicatrizante <i>in vitro</i> de extractos individuales y combinados de <i>Tagetes nelsonii</i> Greenm, <i>Agave americana</i> y <i>Aloe vera</i>	101
Las conotoxinas y su potencial uso farmacéutico	107
Impacto de la regulación sanitaria en la disponibilidad y autosuficiencia de medicamentos biotecnológicos en México	115
Concapsulación de Temozolomida y siRNAs en nanopartículas para el tratamiento de glioblastoma	121
Evaluación del polimorfismo L/S 3'UTR VNTR del gen transportador de dopamina (DAT) y el SNP G472A del gen catecol-orto-metiltransferasa (COMT) y su correlación con la salud mental de estudiantes de Medicina	125
Genotipos y análisis filogenético de aislados clínicos de <i>Helicobacter pylori</i>	133
Efectos de la administración de cannabidiol en dos modelos murinos de depresión	139
Modelo farmacocinético del envenenamiento por picadura de escorpión y del tratamiento con anticuerpo	147
Potencial actividad citotóxica de extractos de hoja de <i>Thevetia ahouai</i> (Apocynaceae) sobre carcinoma mamario tipo HER2+	157
Modelado estructural farmacofórico 3D de ER β . Hacia nuevas terapias dirigidas contra el cáncer de mama	165
Jarabe de alta fructosa y dieta alta en grasa: desarrollo de esteatosis hepática en un modelo murino	171
Mesas redondas	177
Resúmenes de trabajos ganadores del CBMF2024	187
Una visión al futuro de la Biotecnología Médica y Farmacéutica: ¡Nos vemos pronto!	201

El CBMF2024: El evento que reunió expertos en Biotecnología Médica y Farmacéutica en Guadalajara

El estado de Jalisco tiene el potencial para convertirse en un Hub Biotecnológico regional para el desarrollo y la producción de medicamentos biotecnológicos que ayuden a la solución de problemas de salud globales. Con la experiencia acumulada durante años de investigación en diferentes áreas de la Biotecnología Médica, se han establecido nuevas fronteras en el tratamiento de enfermedades y mejorando la calidad de vida de millones de personas.

La Biotecnología Médica y Farmacéutica (BMF) es un campo interdisciplinario que combina principios de biología, química, ingeniería, nanotecnología, biotecnología, medicina y farmacología para desarrollar medicamentos, diagnósticos, vacunas, inmunomoduladores, medicina regenerativa y terapias avanzadas, entre otras. Este campo de la ciencia ha revolucionado la investigación y acelerado el descubrimiento y desarrollo de técnicas diagnósticas y la producción de fármacos químicos o biológicos, ya sea para diagnosticar o tratar enfermedades que impactan en la salud pública nacional y mundial, siempre con enfoques innovadores, tanto para salud animal como para salud humana. En México, la biotecnología representa un sector en crecimiento, que ha mostrado un desarrollo significativo en las últimas décadas, comenzando a establecerse como un área estratégica dentro de la industria farmacéutica nacional.

La unión del gobierno, la academia y la industria tiene el potencial de incidir y contribuir significativamente a la solución de problemas de salud y finalmente a la economía del país. En conjunto, este potencial incluye la producción de medicamentos biotecnológicos biosimilares, así como en la investigación de nuevas terapias génicas y celulares, medicina regenerativa, vacunas, inmunomoduladores y diversas estrategias de diagnóstico.

Para comenzar a delinear el Hub Biotecnológico, el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) organizó el **Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica en octubre de 2024 (CBMF2024)**, los días 16, 17 y 18 de octubre. Este espacio fue un evento donde se reunieron

expertos de la Biotecnología Médica, estudiantes de pregrado y posgrado para compartir avances, experiencias y generar oportunidades de colaboración para desarrollar mayores capacidades de investigación en áreas como la salud humana, salud animal, generación de vacunas, uso de herramientas bioinformáticas y sus implicaciones sociales. El Congreso ofreció cursos precongreso, conferencias magistrales con investigadores líderes en sus campos, conferencias plenarias, simposios en paralelo, presentaciones de carteles científicos y mesas redondas, donde se promovió el crecimiento formativo y de actualización de los participantes en el área de biotecnología médica y farmacéutica en salud humana y animal que contribuyeron a la generación de ideas para resolver los retos del sector.

Con el continuo avance de la tecnología y la investigación, la Biotecnología Médica y Farmacéutica seguirá ofreciendo soluciones innovadoras para los desafíos médicos del futuro. En CIATEJ estamos colaborando de manera activa con la formación de talento altamente especializado dentro de sus programas de Maestría y Doctorado en Innovación. El CBMF2024 fue el espacio donde reafirmamos nuestro compromiso con la formación de recursos humanos, el aporte científico a las necesidades nacionales y la difusión del conocimiento en esta área estratégica para el desarrollo nacional.

Comité organizador del CBMF2024

Comité organizador del CBMF2024

Dr. Abel Gutiérrez Ortega
Dra. Alba Adriana Vallejo
Dr. Alejandro Arturo Canales Aguirre
Dra. Ana Laura Marquez Aguirre
Dr. Cristian Alfredo Segura Cerda
Dr. Eduardo Padilla Camberos
Dr. Hugo Esquivel Solis
Dr. Jorge Bravo Madrigal
Dr. Pavel Hayl Lugo Fabres
Dra. Tanya Amanda Camacho Villegas

Difusión y logística

Lic. Carolina Padilla González
Lic. Jesús Fuentes González
Lic. Nayeli Citlalli Vallarta Díaz

Coordinación TIC's

Ing. Héctor Ibarra Gómez

Comités científicos

Organización de comités y sistema de evaluación

Dr. Cristian Alfredo Segura Cerda.

Sistemas Biotecnológicos y sus aplicaciones terapéuticas en salud humana y animal

Dr. Abel Gutiérrez Ortega.
Dra. Alba Adriana Vallejo Cardona.
Dr. Alejandro Arturo Canales Aguirre.
Dra. Ana Laura Márquez Aguirre.
Dr. Eduardo Padilla Camberos.
Dr. José Alberto Salazar González.
Dra. Nathaly Vasquez Martinez.

Ómicas y tecnologías Emergentes

Dra. Alba Adriana Vallejo Cardona.

Dr. Jacobo Rodríguez Campos.

Ingeniería de tejidos y reprogramación celular

Dr. Alejandro Arturo Canales Aguirre

Impacto social y económico de la Biotecnología Médica sobre el desarrollo nacional

Dr. Luis Alberto Olvera Vargas

Biotecnología aplicada en la práctica clínica: neurociencias

Dr. Alejandro Arturo Canales Aguirre

Dra. Ana Laura Márquez Aguirre

Biotecnología aplicada en la práctica clínica: Inmunoterapia

Dra. Ana Laura Márquez Aguirre

Dr. Abel Gutiérrez Ortega

Dra. Tanya Amanda Camacho Villegas

Innovación en métodos de diagnóstico

Dra. Alba Adriana Vallejo Cardona

Dra. Tanya Amanda Camacho Villegas

Innovación en investigación preclínica

Dr. Alejandro Arturo Canales Aguirre

Dra. Ana Laura Márquez Aguirre

Aplicaciones de la Bioinformática en el diseño de nuevas moléculas y diseño inteligente de fármacos

Dra. Alba Adriana Vallejo Cardona.

Dra. Nathaly Vásquez Martínez.

EL CBMF2024 en números

El Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica reunió a profesionales, estudiantes, investigadoras e investigadores de diferentes disciplinas. La Comunidad académica recibió formación, espacio de *networking* y convivencia. Estos son los números del CBMF2024:

Cursos y asistencia

- 4 cursos precongreso
- 41 estudiantes formados en los Cursos Precongreso
- 120 asistentes totales
- 3 ponencias magistrales
- 3 ponencias plenarias
- 2 simposios en simultaneo con 19 participantes
- 1 *showroom*.
- 8 patrocinadores

Trabajos científicos presentados

- 19 universidades y Centros de Investigación
- 33 carteles
- 19 ponencias orales
- Primeros autores: 48% estudiantes de Licenciatura, 52% estudiantes de posgrado y profesionales
- Primeros autores: 70% mujeres, 30% hombres.

Organización

- 14 miembros del comité organizador.
- 30 miembros del *staff*.

Con estos datos se confirma el impacto del CBMF2024 en la Comunidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica regional y nacional.

Agradecimientos

Agradecemos a: la Dra. Eugenia del Carmen Lugo Cervantes y la Dra. Citlalli Haidé Alzaga Sánchez por la iniciativa de invitarnos a organizar el CBMF2024 y asignar presupuesto para el congreso.

Al Dr. Eduardo Padilla Camberos por aportar insumos para el CBMF2024 y a toda la comunidad administrativa y operativa del CIATEJ.

MEMORIAS

Evaluación de perfil proteico de tres líneas celulares de cáncer de páncreas

Abad-Álvarez, Lizeth^{1*}, Padilla- Camberos, Eduardo¹,
Bargas-Mejía, Miguel Ángel¹, Villareal-Amézquita, Ariadna Abigail¹,
Flores-Hernández, Flor Yohana¹, Ríos-Castro, Emmanuel¹,
Velázquez-Fernández, Jesús¹, Vallejo-Cardona, Alba Adriana¹, y
Rodríguez-Campos, Jacobo¹

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar perfil proteico de tres líneas de cáncer de páncreas MIA PACA-2, BXPC3 y PANC1. El primer paso fue cultivar las líneas celulares, utilizando medio DMEM con 10% de Suero fetal bovino + 1% de estreptomycin y 1% de glutamina en incubadora 37 °C y 5% de CO₂, realizando lavados con PBS 1X, después se extrajo la proteína por método SPEED (Sample Preparation by Easy Extraction and Digestion), utilizando TFA (ácido trifluoro acético) relación 1:4, se neutralizo la reacción con TrisBase 2 molar relación 1:10. La proteína obtenida se cuantificó por curvas de Lowry, leyendo a 750 nm en Espectrometría Ultravioleta Visible (UV-Vis) seguida de una digestión con TFA 5% Por último, se caracterizó por espectrometría de masas con Software Waters MassLynx v.4.1 y procesado utilizando el software Progenesis QI for Proteomics (QIP) 2.0. Los datos obtenidos se analizaron mediante base de datos Uniprot.

Palabras clave: Proteína, Cultivo celular, Espectrometría de masas, Espectrometría Ultravioleta Visible, caracterizar.

Introducción

Cuando se habla de proteómica, se refiere al análisis de proteínas expresadas en una célula, tejido o individuo que se basa en espectrometría de masas (MS). Este estudio involucra una amplia gama de procesos como el perfil de expresión de proteínas, modificaciones de proteínas, interacciones proteína-proteína, estructura de proteínas y función de proteínas. Los resultados arrojados se pueden utilizar

¹ Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Sede Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.

* Autor de correspondencia: Abad-Alvarez Lizeth, N19030592@itsch.edu.mx

para descifrar procesos patológicos, con el fin de proporcionar diagnóstico y pronóstico de enfermedades, ayudando en el desarrollo de fármacos, lo cual proporciona la base para el descubrimiento biológicos. Es debido a esto que este enfoque se ha vuelto popular en los estudios sobre el cáncer, permitiendo la identificación de posibles biomarcadores y patrones de expresión de proteínas que se pueden utilizar para evaluar el pronóstico, la predicción y la clasificación de tumores, para identificar posibles respondedores a terapias específicas. Para comprender la biología básica del cáncer, se han utilizado técnicas proteómicas para entender cómo se alteran las vías de señalización en las células tumorales, lo que mejora nuestra comprensión de cómo dirigirse a varias vías para la terapia del cáncer (Kwon et al., 2021).

Cáncer de páncreas

El cáncer de páncreas se refiere a un tipo de cáncer que surge de las células anormales que surgen en el órgano pancreático (Puckett & Garfield, 2022), estas se pueden desarrollar mediante la acumulación de mutaciones, además de lesiones genéticas que conducen a la activación de genes, que pueden provocar un proceso canceroso y la inactivación de genes supresores de tumores (Deer et al., 2010). El cáncer de páncreas es una de las enfermedades metastásica silenciosas más agresivas en los seres humanos. En los últimos 30 años se han probado técnicas y estrategias en contra de esta enfermedad, incluidas quimio y radio terapias, técnicas quirúrgicas, terapias adyacentes, etc., con resultados muy variables (Liu et al., 2010). En 2023 se presentaron 64 050 casos nuevos de cáncer de páncreas de los cuales se estima una supervivencia del 22% (NIH, 2024).

Materiales y Métodos

Cultivo celular, utilizando medio DMEM con 10% de Suero fetal bovino + 1% de estreptomomicina y 1% de glutamina en incubadora 37 °C y 5% de CO₂, realizando lavados con PBS 1X cada tercer día. Una vez alcanzada una confluencia del 80%, se procedió a congelar a -80 °C las células, utilizando DMSO (dimetilsulfóxido). Se extrajo la proteína por método SPEED (Sample Preparation by Easy Extraction and Digestion), tomando un vial del congelador, llevándolo a

centrifugar durante 30 min, 10 000 rpm, 4 °C. Se separó el medio del botón y al botón se le agregó TFA (ácido trifluoroacético) relación 1:4, se neutralizó la reacción con TrisBase 2M relación 1:10, como lo indica el protocolo (Doellinger et al., 2020) which are essential for extraction but strongly interfere with digestion and LC-MS. These multi-step preparations contribute to a lack of reproducibility as they are prone to losses, biases and contaminations, while being time-consuming and labor-intensive. We report a detergent-free method, named Sample Preparation by Easy Extraction and Digestion (SPEED). Se cuantificó la concentración de proteína por curvas de Lowry, leyendo a 750 nm en Espectrometría Ultravioleta Visible (UV-Vis) utilizando Albúmina de Suero Bovino (BSA). Las muestras se sometieron a un proceso de digestión con TFA al 5% para separar los péptidos. Se caracterizó por espectrometría de masas con Software Waters MassLynx v.4.1 y procesado utilizando el software Progenesis QI for Proteomics (QIP) 2.0. Los datos obtenidos se analizaron mediante base de datos Uniprot.

Resultados y Discusión

Los datos obtenidos en espectroscopía de masas fueron separados por línea celular, obteniendo biomarcadores de cada línea y que se comparten entre ellas. Se obtuvo perfil proteico de cada línea celular de cáncer obteniendo 2 690 proteínas totales, de las cuales 2 487 son las proteínas que se comparten de las tres líneas, 65 proteínas que comparten las líneas celulares MIA PACA-2 y PANC1, 69 que comparten PANC1 y BXPC3, 12 proteínas que comparten MIA PACA-2 con BXPC3, 41 proteínas que solo están presentes en PANC1, 1 proteína presente en MIA PACA-2 y 12 proteínas presentes en BXC3. En la Figura 1 se puede apreciar mejor la diferenciación de las mismas. Se han visto en otros estudios donde también evaluaron perfil proteico de 3 líneas de cáncer de páncreas HPDE, BxPC3 y PANC1; se identificaron 1581, 1672 y 1689 grupos de proteínas únicos en las líneas celulares, además encontraron un subconjunto de proteínas que pueden estar asociadas con la resistencia intrínseca a la gemcitabina (Kim et al., 2014). Cabe recalcar que el estudio es muy parecido, aunque aún nos falta identificar funciones de las proteínas. Se cree que los resultados obtenidos de en esta investigación

y los obtenidos en el artículo sean muy similares, por lo cual nos permitirá contribuir en la bibliografía.

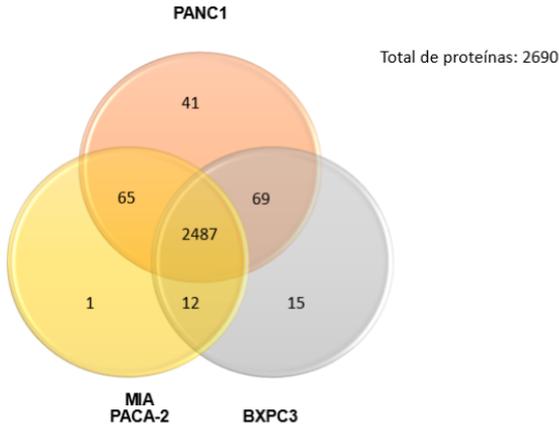


Figura 1. Diagrama de Venn de los números de proteínas identificadas por el análisis proteómico
Fuente: elaboración propia

Conclusiones

Mediante la proteómica, en este estudio nos ayudó a identificar biomarcadores específicos de tres líneas de cáncer de páncreas. Se destaca por ser una herramienta prometedora, específicamente sus aplicaciones y potencial para mejorar drásticamente la detección, el diagnóstico y la respuesta al un posible tratamiento del cáncer de páncreas. Además, la proteómica tiene la capacidad de aumentar la sensibilidad y la especificidad de las metodologías de detección y diagnóstico existentes. De la misma forma, ofrece oportunidades para descubrir nuevos biomarcadores y dianas terapéuticas, así como para fomentar el desarrollo de estrategias de tratamiento personalizadas, basadas en patrones de expresión de proteínas asociados con la respuesta al tratamiento.

Conflicto de intereses

Sin conflicto de interés.

Financiamiento

Este proyecto fue financiado por el CONACYT el cual lleva el número 320792 y el título “Importancia de entendimiento de la correlacion entre las neoplasias, la inflamacion crónica y la remodelacion membranal, como estrategia de tratamiento reconstitutivo”.

Referencias

- Deer, E. L., Gonzalez-Hernandez, J., Coursen, J. D., Shea, J. E., Ngatia, J., Scaife, C. L., Firpo, M. A., & Mulvihill, S. J. (2010). Phenotype and Genotype of Pancreatic Cancer Cell Lines. *Pancreas*, 39(4), 425-435. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3181c15963>
- Doellinger, J., Schneider, A., Hoeller, M., & Lasch, P. (2020). Sample Preparation by Easy Extraction and Digestion (SPEED)—A Universal, Rapid, and Detergent-free Protocol for Proteomics Based on Acid Extraction*. *Molecular & Cellular Proteomics*, 19(1), 209-222. <https://doi.org/10.1074/mcp.TIR119.001616>
- Kim, Y., Han, D., Min, H., Jin, J., Yi, E. C., & Kim, Y. (2014). Comparative Proteomic Profiling of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cell Lines. *Molecules and Cells*, 37(12), 888. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0207>
- Kwon, Y. W., Jo, H.-S., Bae, S., Seo, Y., Song, P., Song, M., & Yoon, J. H. (2021). Application of Proteomics in Cancer: Recent Trends and Approaches for Biomarkers Discovery. *Frontiers in Medicine*, 8, 747333. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.747333>
- Liu, X., Zhang, M., Go, V. L. W., & Hu, S. (2010). Membrane proteomic analysis of pancreatic cancer cells. *Journal of Biomedical Science*, 17(1), 74. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-74>
- National Cancer Institute. (2024). *Pancreatic Cancer—Cancer Stat Facts*. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>
- Puckett, Y., & Garfield, K. (2022). *Cáncer de páncreas—StatPearls—NCBI Bookshelf*. StatPearls Publishing. Recuperado de https://www-ncbi-nlm-nih-gov.translate.goog/books/NBK518996/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es-419&_x_tr_pto=sc

vNAR biespecifico neutralizante de TNF α /TGF β : análisis *in silico* y expresión recombinante

Badillo-Mata, Jessica Andrea¹, Lugo-Fabres, Pavel Hayl², y
Camacho-Villegas, Tanya Amanda^{1*}

Resumen

Los dominios variables de cadena pesada, llamados vNAR son capaces de unirse a su ligando de la misma manera que lo hacen los anticuerpos convencionales. Los vNAR tienen ventajas como peso molecular bajo, alta estabilidad y solubilidad y se han utilizado como inmunodiagnóstico y como inmunoterapia. La producción persistente del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) ocasiona inmunopatologías, mientras que el exceso de factor de crecimiento transformante beta (TGF β) ocasiona fibrosis. Ambas citocinas están implicadas en procesos patológicos asociados a enfermedades autoinmunes. Este trabajo tiene como objetivo el análisis *in silico*, además del análisis de la expresión recombinante y purificación de la proteína biespecífica T43- L-T1, la cual es capaz de reconocer TNF α y TGF β .

Palabras clave: vNAR, citocinas, inmunoterapia.

Introducción

El IgNAR es un anticuerpo homodimérico formado solo por una cadena pesada, es el anticuerpo esencial del sistema inmune adaptativo del tiburón. Los dominios variables de cadena pesada, llamados vNAR, provienen de los IgNAR y son capaces de unirse a su ligando de la misma manera que lo hacen los anticuerpos convencionales. Los vNAR tienen un peso molecular de 12-15 kDa, alta estabilidad y solubilidad, además, contienen solo dos regiones determinantes de la complementariedad (CDR), conocidas como CDR1 y CDR3. La diversidad de los vNAR se logra mediante el CDR3 largo con diversidad adicional en CDR1 (Khalid et al., 2022).

¹ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ).

² CONAHCYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ)

* Autor de correspondencia: Tanya Amanda Camacho-Villegas, tcamacho@ciatej.mx

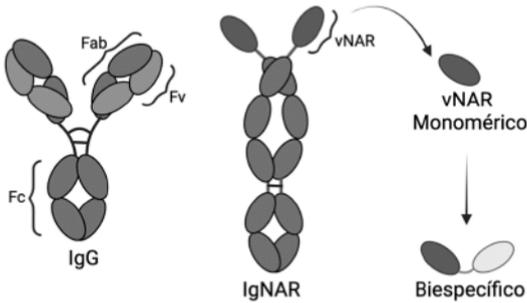


Figura 1. Dominios vNAR. Comparativo entre IgG convencional e IgNAR donde se resalta el vNAR, también se muestra la proteína biespecífica
Fuente: diseño propio generado con Biorender

En los últimos años, se han comprobado diversas aplicaciones de los vNAR, por ejemplo, se han utilizado como inmunodiagnóstico y como inmunoterapia (Juma et al., 2021). De forma relevante, se han aislado vNAR que reconocen al factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), citocina que tiene un papel fundamental en la defensa del huésped, sin embargo, cuando su producción es exacerbada genera inmunopatologías. Adicionalmente, cuando el factor de crecimiento transformante beta (TGF β) se expresa de forma persistente en altas concentraciones induce la remodelación de la matriz extracelular ocasionando fibrosis. Estas dos citocinas están implicadas en procesos patológicos asociados a enfermedades autoinmunes. Se han identificado dos vNAR capaces de reconocer estas citocinas; la clona T43 tiene la capacidad de reconocer y neutralizar rhTNF α *in vitro* (Camacho-Villegas et al., 2013), mientras que la T1 es capaz de reconocer las tres isoformas del TGF β (Burciaga-Flores et al., 2023). Este trabajo tiene como objetivo el análisis *in silico* y el análisis de la expresión recombinante y purificación de la proteína biespecífica T43- L-T1, la cual es capaz de reconocer TNF α y TGF β .

Materiales y Métodos

A partir de las secuencias reportadas del vNAR T43 (anti-TNF α) y del vNAR T1 (anti-TGF β), se obtuvieron las propiedades fisicoquímicas mediante CLC DNA Workbench y el plegamiento de los monómeros se simuló *in silico*. Para la proteína biespecífica se empleó el modelado por homología con Swiss-Model comparando

con proteínas previamente reportadas (PDB ID 5GRX y 6VUP). Se amplificó el gen sintético incluyendo sitios de restricción (NcoI/XhoI) que se clonó en el vector pET28a+. La expresión de proteína se realizó en *E. coli* BL21 con IPTG. La proteína biespecífica se extrajo y purificó bajo condiciones desnaturalizantes. Después, fue replegada y finalmente, se analizó por SDS-PAGE al 12% teñido con azul de Commassie. La cuantificación de proteína se realizó con ácido bicinconínico (BCA).

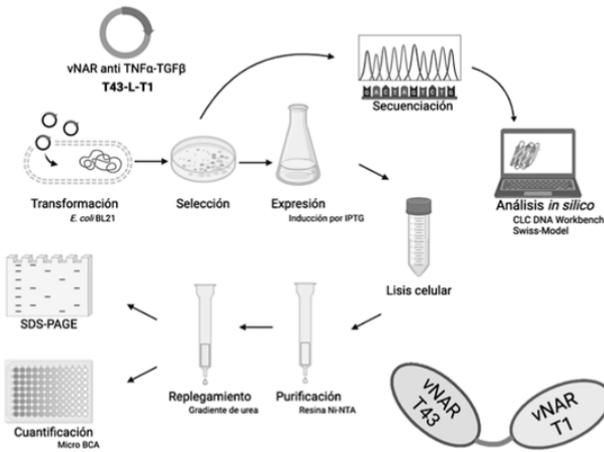


Figura 2. Esquema general de la metodología utilizada
Fuente: diseño propio generado con Biorender

Resultados y Discusión

Utilizando las secuencias reportadas previamente, se realizó el modelo de los vNAR monoméricos. En las Figuras 3a y 3b se muestra el CDR3 con una flecha. Para la proteína biespecífica, se utilizaron las secuencias del T43 y T1 unidos por un linker flexible de glicinas y serinas (T43-L-T1). Después de la simulación, se detectó que los dominios vNAR no interactúan sobre sí mismos (figura 3c), por lo que se puede inferir que mantendrán la especificidad hacia TNF α y TGF β . De igual manera, se indica con una flecha la zona de los CDR3.

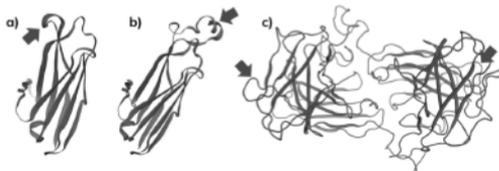


Figura 3. Modelado *in silico*. Simulación del plegamiento de las proteínas
a) vNAR T43, b) vNAR T1, c) Proteína biespecífica T43-L-T1, el CDR3 se indica con una flecha
Fuente: propia

Las propiedades fisicoquímicas de T43-L-T1 se analizaron, obteniendo como resultado un tiempo de vida media en mamíferos de 4.4 h con un índice alifático de 63.527. Destaca el valor del punto isoelectrico de 7.52, cercano al rango de pH fisiológico, debido a la proyección en su uso como inmunoterapéutico.

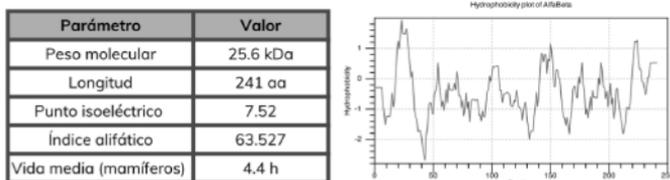


Figura 4. Propiedades fisicoquímicas de la proteína biespecífica
Fuente: propia

Después de la inducción de proteína, el protocolo de extracción en condiciones desnaturizantes y la purificación de la proteína biespecífica T43-L-T1 se observó un peso molecular de ~35 kDa. Sin embargo, existe presencia de bandas accesorias indicando que es necesario optimizar el proceso de purificación. Al final del proceso se obtuvieron 152.424 mg/mL con rendimiento de 2.28 mg/L.

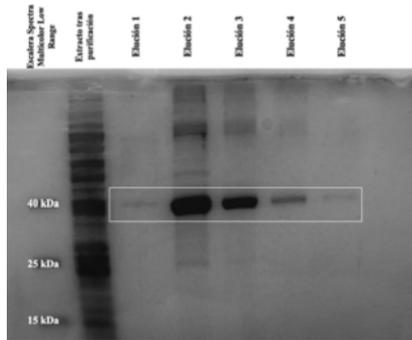


Figura 4. Análisis de la expresión y purificación de la proteína T43-L-T1 empleando SDS-PAGE. La proteína de interés se resalta con un rectángulo.

Fuente: propia

Conclusiones

De acuerdo con el análisis *in silico*, la proteína biespecífica T43-L-T1 presenta propiedades prometedoras para su aplicación en inmunoterapia dirigida por vNAR capaces de neutralizar citocinas humanas. En cuanto a la expresión, es posible hacerlo en *E. coli*, seguido de una extracción desnaturalizante y repliegamiento, resultando en una proteína biespecífica de ~35 kDa.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

La presente investigación se realizó con financiamiento propio de los responsables del proyecto.

Agradecimiento

A CONAHCYT por la beca otorgada a la M. C. Jessica Andrea Badillo Mata (845947).

Referencias

- Burciaga-Flores, M., Márquez-Aguirre, A. L., Dueñas, S., Gasperin-Bulbarela, J., Licea-Navarro, A. F., & Camacho-Villegas, T. A. (2023). First pan-specific vNAR against human TGF- β as a potential therapeutic application: *in silico* modeling assessment. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30623-x>
- Camacho-Villegas, T., Mata-González, T., Paniagua, J., Sánchez, E., & Licea, A. (2013). Human TNF cytokine neutralization with a vNAR from *Heterodontus francisci* shark A potential therapeutic use. *MAbs*, 5(1).
- Juma, S. N., Gong, X., Hu, S., Lv, Z., Shao, J., Liu, L., & Chen, G. (2021). Shark New Antigen Receptor (IgNAR): Structure, Characteristics and Potential Biomedical Applications. *Cells*, 10(5), 1140. <https://doi.org/10.3390/cells10051140>
- Khalid, Z., Chen, Y., Yu, D., Abbas, M., Huan, M., Naz, Z., Mengist, H. M., Cao, M. jie, & Jin, T. (2022). IgNAR antibody: Structural features, diversity and applications. *Fish and Shellfish Immunology*, 121, 467-477. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.01.027>

Cribado Computacional de N-Acilamidas Como Moduladores del Sistema LasR Para Atenuar la Virulencia en *Pseudomonas aeruginosa*

Campos-García, Tonatiu^{1*}, Vázquez-Martínez, Juan², y Campos-García, Huitziméngari³

Resumen

El análisis *in silico* es un método computacional que utiliza simulaciones por computadora para estudiar hipótesis biológicas. Haciendo uso de esta estrategia, encontramos que las moléculas candidatas, N-3,4-dihidroxifenetil dodecanamida (DC12) y N-fenitildodecanamida (PEA12), presentan un buen potencial de unión (9.6 y 9.4 Kcal mol⁻¹) a la diana terapéutica, lo que sugiere una mayor probabilidad de interacción y, por lo tanto, un potencial efecto biológico. Pudimos identificar que el sitio de unión exhibe una arquitectura dual, un bolsillo aromático para la interacción con el núcleo del ligando y una cavidad hidrofóbica donde se acomoda la cadena acilo. Las simulaciones de las dinámicas moleculares mostraron estabilidad de los complejos proteína-ligando, lo cual sugiere una interacción más duradera y un potencial efecto terapéutico, mientras que la farmacocinética predice la similitud con fármacos. Estos resultados pueden contribuir al desarrollo de nuevos tratamientos para reducir la virulencia de bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: quorum sensing, LasR, *Pseudomonas aeruginosa*, amidas, dinámicas moleculares, docking *in silico*.

Introducción

Es bien sabido que las bacterias pueden comunicarse mediante la liberación y detección de señales químicas difusibles (Whiteley et al., 2017; Mukherjee & Bassler, 2019). Estas señales químicas pueden estimular diversos tipos de comportamiento bacteriano, como la bioluminiscencia, la transferencia horizontal de ADN, la formación de

¹ Biotecnología Vegetal, CONAHCYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.

² Tecnológico Nacional de México/ITS Irapuato, 36821 Irapuato, Guanajuato, México.

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Tecamachalco 75460, México.

*Autor de correspondencia: Tonatiu Campos-García, tocampos_pos@ciatej.edu.mx

biopelículas, la producción de factores patógenos, la resistencia a los antibióticos y la biosíntesis de metabolitos secundarios (Mukherjee & Bassler, 2019). Este tipo de comportamiento se conoce como quorum sensing (QS). Desde el descubrimiento del sistema QS 'Lux', se ha encontrado que decenas de especies de bacterias Gram-negativas utilizan las *N*-acil-*L*-homoserina lactonas (AHLs) como señal principal de QS (Geske et al., 2005). Las AHLs son moléculas neutrales similares a los lípidos que constan de un grupo *L*-homoserina lactona conservado y una cola de cadena acilo que puede variar tanto en longitud como en insaturaciones (Eberhard et al., 1981; Eberl et al., 1996). En este contexto, el desarrollo de pequeñas moléculas sintéticas diseñadas para interferir con el QS bacteriano representa un enfoque potencialmente poderoso para modular los fenotipos de virulencia bacteriana en patógenos bacterianos que presentan multi resistencia a antibióticos como *P. aeruginosa*. El objetivo del presente estudio es utilizar herramientas computacionales para identificar nuevas moléculas con potencial para ser desarrolladas como nuevas estrategias para reducir la virulencia de patógenos bacterianos.

Materiales y Métodos

Las *N*-acil amidas fueron diseñadas utilizando ChemDraw Ultra 12.0 y convertidas a estructuras tridimensionales empleando Chem3D Pro 12.0 (PerkinElmer Inc.). Se obtuvo la estructura de la proteína con su correspondiente ligando co-cristalizado desde el portal Protein Data Bank (Berman et al., 2002), LasR-OHN (PDB ID 2UV0) (Bottomley et al., 2007). Se hizo análisis de acoplamiento molecular rígido utilizando PyRx que emplea los algoritmos de acoplamiento AutoDock 4.2 y AutoDock Vina, basados en el algoritmo genético Lamarckiano y en una función de puntuación de energía libre empírica (Morris et al., 2009; Trott & Olson, 2010). Para ejecutar las simulaciones de MD utilizamos el servidor WEBGRO, impulsado por GRACE "High Performance Computing Facility", disponible como servicio público por la Universidad de Ciencias Médicas de Arkansas (UAMS) (<https://simlab.uams.edu>).

Resultados y Discusión

Docking *in silico*

Los resultados del acoplamiento son bastante similares a resultados previos obtenidos por la cristalización experimental de LasR con su auto inductor OHN (Figura 1). Se ha demostrado experimentalmente que OHN forma seis enlaces de hidrógeno intermoleculares con LasR que involucran a Tyr56, Trp60, Arg61, Asp73, Thr75 y Ser129 (Bottomley et al., 2007). En particular, estos residuos están fuertemente conservados en los homólogos de LuxR, lo que refleja un mecanismo de activación compartido por las AHL con grupos homoserina lactona similares (Bottomley et al., 2007). La estructura reacomplada de OHN con la cadena E de LasR predijo enlaces de hidrógeno similares con Tyr56, Trp60, Asp73 y Ser129, lo que demuestra la confiabilidad de las predicciones de acoplamiento.

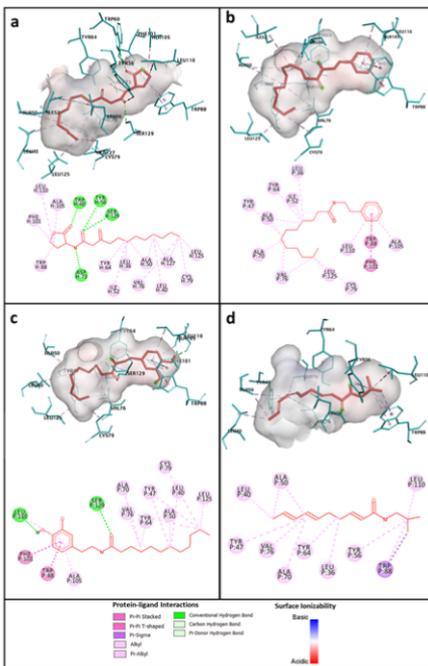


Figura 1. Representación 3D y 2D de las interacciones de los compuestos acoplados a) OHN, b) PEA12, (c) DC12 y d) AFF dentro del regulador transcripcional LasR. En las representaciones 3D, los ligandos están coloreados en rojo, mientras que los residuos que interactúan están coloreados en cian. En los mapas de interacción 2D, los colores en las esferas de residuos representan las interacciones proteína-ligando dentro de un rango de cercanía de 4 Å.

Fuente: elaboración propia

Simulación de dinámicas moleculares (MD-simulations)

Para evaluar la estabilidad de los complejos proteína-ligando, realizamos simulaciones de dinámica molecular. Utilizando el cálculo de RMSF, observamos que la presencia de los ligandos LasR-PEA12, (SD 0.448), LasR-OHN (SD 0.585), LasR-DC12 (SD 0.658) y LasR-AFF (SD 0.755) (Figura 2a) disminuye la flexibilidad de la proteína LasR en comparación con la forma sin ligando Apo-form (SD. 0.799). Esto sugiere que los ligandos estabilizan la estructura de la proteína al formar enlaces que reducen su movimiento. Por otro lado, el análisis de RMSD (fluctuaciones menores a 0.6 Å) es muy similar al de la forma LasR-Apo (2UV0) (Figura 2b), lo que indica que los complejos proteína-ligando mantienen una estructura global similar a lo largo de las simulaciones, sin cambios conformacionales significativos. Estos resultados sugieren que los ligandos se unen a la proteína sin inducir grandes alteraciones en su estructura tridimensional.

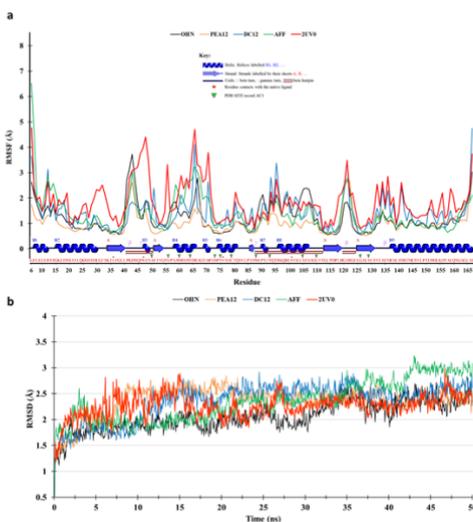


Figura 2. Representación 3D y 2D de las interacciones de los compuestos acoplados **a)** OHN, **b)** PEA12, **c)** DC12 y **d)** AFF dentro del regulador transcripcional LasR. En las representaciones 3D los ligandos están coloreados en rojo, mientras que los residuos que interactúan están coloreados en cian. En los mapas de interacción 2D los colores en las esferas de residuos representan las interacciones proteína-ligando dentro de un rango de cercanía de 4 Å.

Fuente: elaboración propia

Conclusiones

Al parecer, los residuos aromáticos, especialmente el Trp-88, desempeñan un papel crucial en las interacciones, sirviendo como punto de anclaje para los ligandos. Además, la cadena acilo de las N-acilamidas contribuye a la estabilidad del complejo proteína-ligando. La comparación con estudios previos sobre furanonas (Bottomley et al., 2007) indica que, aunque existen similitudes en los patrones de interacción, cada ligando presenta características únicas en su modo de unión a la proteína. Estos resultados aportan una valiosa información sobre los mecanismos moleculares que subyacen a la interacción entre los ligandos y la proteína LasR, y podrían tener implicaciones importantes en el diseño de nuevas moléculas con propiedades biológicas específicas.

Referencias

- Bhowmik, D., Sharma, R. D., Prakash, A., & Kumar, D. (2021). Identification of Nafamostat and VR23 as COVID-19 drug candidates by targeting 3CLpro and PLpro. *Journal of molecular structure*, 1233, 130094. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130094>
- Bottomley, M. J., Muraglia, E., Bazzo, R., & Carfi, A. (2007). Molecular insights into quorum sensing in the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* from the structure of the virulence regulator LasR bound to its autoinducer. *Journal of Biological Chemistry*, 282(18), 13592-13600. <https://doi.org/10.1074/jbc.M700556200>
- Brien, K. T., Noto, J. G., Nichols-O'Neill, L., & Perez, L. J. (2014). Potent Irreversible Inhibitors of LasR Quorum Sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS medicinal chemistry letters*, 6(2), 162–167. <https://doi.org/10.1021/ml500459f>
- Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M. E., Devleeschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D. A., Oliveira, T. C., Struelens, M. J., Suetens, C., Monnet, D. L., & Burden of AMR Collaborative Group (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015:

- a population-level modelling analysis. *The Lancet. Infectious diseases*, 19(1), 56–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
- Chugani, S., & Greenberg, E. P. (2014). An evolving perspective on the *Pseudomonas aeruginosa* orphan quorum sensing regulator QscR. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 152. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00152>
- Driscoll, J.; Brody, S.; Kollef, M. (2007). The Epidemiology, Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Drugs*, 67(3), 351–368–368. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767030-00003>
- Eberhard, A., Burlingame, A. L., Eberhard, C., Kenyon, G. L., Nealson, K. H., & Oppenheimer, N. J. (1981). Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry*, 20(9), 2444–2449. <https://doi.org/10.1021/bi00512a013>
- Eberl, L., Winson, M. K., Sternberg, C., Stewart, G. S., Christiansen, G., Chhabra, S. R., Bycroft, B., Williams, P., Molin, S., & Givskov, M. (1996). Involvement of N-acyl-L-homoserine lactone autoinducers in controlling the multicellular behaviour of *Serratia liquefaciens*. *Molecular microbiology*, 20(1), 127–136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1996.tb02495.x>
- Geske, G. D., Wezeman, R. J., Siegel, A. P., & Blackwell, H. E. (2005). Small molecule inhibitors of bacterial quorum sensing and biofilm formation. *Journal of the American Chemical Society*, 127(37), 12762–12763. <https://doi.org/10.1021/ja0530321>
- Guéniche, N., Huguet, A., Bruyere, A., Habauzit, D., Le Hégarat, L., & Fardel, O. (2021). Comparative *in silico* prediction of P-glycoprotein-mediated transport for 2010–2020 US FDA-approved drugs using six Web-tools. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 42(8), 393–398. <https://doi.org/10.1002/bdd.2299>
- Hernando-Amado, S., Alcalde-Rico, M., Gil-Gil, T., Valverde, J. R., & Martínez, J. L. (2020). Naringenin Inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response Is Based on Its Time-Dependent Competition With N-(3-Oxo-dodecanoyl)-L-homoserine Lactone for LasR Binding. *Frontiers in molecular biosciences*, 7, 25. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00025>
- Hirsch, E. B., & Tam, V. H. (2010). Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert*

- Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*, 10(4), 441–451. <https://doi.org/10.1586/erp.10.490>
- Kato, H. (2020). Computational prediction of cytochrome P450 inhibition and induction. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 35(1), 30–44. <https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2019.11.006>
- Kirchmair, J., Göller, A. H., Lang, D., Kunze, J., Testa, B., Wilson, I. D., ... & Schneider, G. (2015). Predicting drug metabolism: experiment and/or computation? *Nature reviews Drug discovery*, 14(6), 387–404. <https://doi.org/10.1038/nrd4581>
- Latifi, A., Foglino, M., Tanaka, K., Williams, P., & Lazdunski, A. (1996). A hierarchical quorum-sensing cascade in *Pseudomonas aeruginosa* links the transcriptional activators LasR and RhIR (VsmR) to expression of the stationary-phase sigma factor RpoS. *Molecular microbiology*, 21(6), 1137–1146. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.00063.x>
- Leishman, E., & Bradshaw, H. B. (2015). N-acyl amides: Ubiquitous endogenous cannabimimetic lipids that are in the right place at the right time. En V. Di Marzo y J. Wang (eds.), *The Endocannabinoidome* (pp. 33–48). Academic Press.
- Liu, X., Shi, D., Zhou, S., Liu, H., Liu, H., & Yao, X. (2018). Molecular dynamics simulations and novel drug discovery. *Expert opinion on drug discovery*, 13(1), 23–37. <https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1403419>
- Molina-Torres, J., Salazar-Cabrera, C. J., Armenta-Salinas, C., & Ramírez-Chávez, E. (2004). Fungistatic and bacteriostatic activities of alkaloids from *Heliopsis longipes* roots: affinin and reduced amides. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4700–4704. <https://doi.org/10.1021/jf034374y>
- Mukherjee, S., & Bassler, B. L. (2019). Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nature reviews. Microbiology*, 17(6), 371–382. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0186-5>
- Mulholland, E. K., & Adegbola, R. A. (2005). Bacterial infections--a major cause of death among children in Africa. *The New England journal of medicine*, 352(1), 75–77. <https://doi.org/10.1056/NEJMe048306>

- Paczkowski, J. E., Mukherjee, S., Mccready, A. R., Cong, J. P., Aquino, C. J., Kim, H., et al. (2017). Flavonoids suppress *Pseudomonas aeruginosa* virulence through allosteric inhibition of quorum-sensing receptors. *Journal Biological Chemistry*, 292(10), 4064–4076. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.770552>
- Testa, B., & Krämer, S. D. (2007). The biochemistry of drug metabolism—an introduction. *Chemistry & biodiversity*, 4(3), 257–405.
- Vázquez-Martínez, J., Nieto-Álvarez, E., Ramírez-Chávez, E., & Molina-Torres, J. (2018). Enzymatic method for N-acyl homoserine lactones synthesis using immobilized *Candida antarctica* lipase. *Catalysis Letters*, 148, 62–67. <https://doi.org/10.1007/s10562-017-2261-8>
- Wagner, V.E., Li, L.L., Isabella, V.M., & Iglewski, B.H. (2007) Analysis of the hierarchy of quorum-sensing regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 469–479. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0964-6>
- Whiteley, M., Diggle, S. P., & Greenberg, E. P. (2017). Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, 551(7680), 313–320. <https://doi.org/10.1038/nature24624>
- Wysoczynski-Horita, C. L., Boursier, M. E., Hill, R., Hansen, K., Blackwell, H. E., & Churchill, M. E. A. (2018). Mechanism of agonism and antagonism of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulator QscR with non-native ligands. *Molecular microbiology*, 108(3), 240–257. <https://doi.org/10.1111/mmi.13930>

Potencial prooxidante y antitumoral de derivados de plantas en líneas celulares tumorales humanas

Castillo-Cortés, Susana Aylin¹, Ramos Espinosa, Paulina^{1*}, y Luzardo-Ocampo, Iván^{2**}

Resumen

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad global, afectando a 20 millones de personas anualmente. El cáncer está asociado a desequilibrios celulares y cascadas de señales defectuosas. Actualmente, se ha impulsado la investigación de compuestos naturales para apoyar terapias menos agresivas. La quimioprevención ofrece una alternativa para controlar el desarrollo tumoral y mitigar los efectos adversos de tratamientos convencionales. En este estudio, se evaluaron los efectos de compuestos y extractos como el extracto de semilla de uva (10-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y el ácido gálico (10-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) en líneas celulares tumorales humanas (cervicouterino: HeLa, pulmonar: A549 y adenocarcinoma colónico: CaCo-2). Los resultados indican que concentraciones menores al CI_{50} disminuyen la viabilidad celular ($\sim 60\%$), sugiriendo su potencial como coadyuvantes en terapias antitumorales. Los resultados de ABTS sugieren un potencial antioxidante. En investigaciones futuras, se evaluará el efecto en células no cancerosas y combinados con terapias convencionales para optimizar su aplicación clínica.

Palabras clave: fitoquímicos, cáncer, viabilidad celular, citotoxicidad, prooxidante.

Introducción

El cáncer es responsable de 20 millones de nuevos casos y 10 millones de muertes anuales (Bray et al., 2024). Aunque las terapias convencionales han avanzado, su eficacia sigue siendo limitada. Los fitoquímicos, como el extracto de semilla de uva (GSE), han

¹ Tecnológico de Monterrey, Departamento de Bioingeniería, Av. General Ramón Corona No. 2514, Col: Nuevo México, Zapopan, Jal., México, 45201.

² Tecnológico de Monterrey, The Institute for Obesity Research, Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Col: Tecnológico, Monterrey, N. L., México, 64700.

* Autor de correspondencia: Paulina Adriana Ramos Espinosa, paulinare@tec.mx

** Autor de correspondencia: Iván Luzardo Ocampo, ivanluzardo@tec.mx

demostrado propiedades antitumorales y prooxidantes, activando vías dependientes de p53 para inducir apoptosis (Gupta et al., 2020; Radhakrishnan et al., 2011). El ácido gálico (GA), que compone el 30% de GSE, también presenta efectos antitumorales (Sochorova et al., 2020). Esto sugiere que GSE y GA pudieran complementar las terapias convencionales, reduciendo su toxicidad y mejorando su eficacia (Homayoun et al., 2020; Hong et al., 2023). En este estudio, se investigaron los efectos antitumorales y prooxidantes del GSE y el GA en líneas celulares cancerosas humanas (cáncer cervicouterino HeLa, cáncer pulmonar A549 y adenocarcinoma colónico CaCo-2). El objetivo fue evaluar su capacidad para inducir citotoxicidad, lo cual podría proporcionar un enfoque coadyuvante en terapias para mejorar la eficiencia del tratamiento del cáncer y dejar una base para futuras aplicaciones que potencien el uso de tratamientos naturales en células tumorales.

Materiales y Métodos

Preparación de extracto de semilla de uva

Se disolvieron 0.48 g de polvo de extracto de semilla de uva, proporcionados por la compañía Marenostum (Barcelona, España) en 8 mL de medio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Corning, Fisher Scientific, Waltham, MA, Estados Unidos) estéril. La solución se homogenizó mediante vórtex y se filtró (0.2 μ M). Se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Preparación de solución de ácido gálico

Se disolvieron 0.01 g de polvo de ácido gálico (Sigma-Aldrich, San Luis, MO, Estados Unidos) en 10 mL de DMEM estéril y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Cultivo celular

Las líneas celulares HeLa (ATCC CCL-2), A549 (ATCC CCL-185 \hat{O}) y CaCo-2 [Caco2 HTB-37], adquiridas comercialmente de American Type Culture Collection (ATCC), fueron cultivadas en frascos estériles de 25 cm² con medio DMEM alto en glucosa (25 mM) suplementado (10% de suero fetal bovino, 1% antibiótico y 1% L-glutamina). Al alcanzar confluencia, se sembraron 1×10^4 células

por pozo en placas de 96 pozos y se incubaron (37 °C, atmósfera humidificada de 5% CO₂, 24 horas). Se añadieron extracto de semilla de uva (10, 100, 500, 750 y 1000 µg/mL) y ácido gálico (1, 7.5, 10, 15 y 20 µg/mL), disueltos en DMEM libre de suero y antibiótico, y se incubaron otras 24 horas. Luego, se añadieron 10 µL de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) (Sigma-Aldrich) a cada pozo y se incubó (1.5 horas, 37 °C, 5% CO₂). Se retiró el medio y se agregaron 100 µL de DMSO (Sigma-Aldrich). La absorbancia se midió a 595 nm, y los valores de concentración inhibitoria media (CI50) fueron calculados a partir de una línea de tendencia de ajuste de datos.

Efecto citotóxico de extractos contra daño celular inducido por peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

Considerando que la línea celular HeLa obtuvo los mejores resultados generales de efecto citotóxico por ácido gálico, uno de los principales compuestos activos de GSE, se decidió realizar los siguientes ensayos con dicha línea celular. Se sembraron 1.5 x 10⁴ células/pozo en placas de 96 pozos, como fue descrito anteriormente. Tras 24 horas de tratamiento con GSE o GA en las mismas concentraciones del ensayo de citotoxicidad, se adicionó una solución de 10 mM de H₂O₂ (Sigma-Aldrich) en DMEM libre de suero y antibiótico a cada pozo y se incubó la placa (20 minutos, 37 °C, 5% CO₂). Se siguió el mismo protocolo para la adición y lectura de MTT. A partir de estas lecturas, se calculó el porcentaje de inhibición de proliferación utilizando la ecuación [1] (Hernández-Zazueta et al., 2021).

$$x = \left(1 - \left(\frac{\text{valor}}{\text{control negativo}} \right) \cdot 100 \right) \quad [1]$$

Ensayo de capacidad antioxidante con ABTS

Se preparó una solución de ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) (Sigma-Aldrich) disolviendo 0.0192 g en 5 mL de agua destilada, y una solución de persulfato de potasio disolviendo 0.1892 g en 5 mL de dH₂O. Ambas se mezclaron (88 µL de persulfato de potasio y 5 mL de ABTS), y se dejó reposar a

temperatura ambiente durante 12 horas. Posteriormente, se diluyeron 500 μL de ABTS en 20 mL de etanol al 100% y se ajustó la absorbancia a 0.7-1 en un lector de microplacas a 734 nm. Finalmente, 20 μL de los sobrenadantes se mezclaron con 230 μL de ABTS y se midió la absorbancia.

Análisis Estadístico

Los datos se presentan como la media \pm D.E. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), seguida de la prueba post-hoc de Tukey-Kramer tras verificación de normalidad (Prueba de Shapiro-Wilks) e igualdad de varianzas. El software RStudio 2024.09.0 fue utilizado para el análisis, con significancia establecida de $p < 0.05$.

Resultados

Los resultados obtenidos para los valores teóricos de IC_{50} (Tabla 1) muestran que las tres líneas celulares evaluadas tuvieron una respuesta similar al solvente DMSO, que fue utilizado como control positivo de citotoxicidad. En cuanto a la exposición al H_2O_2 , las células CaCo-2 demostraron ser las más sensibles, exhibiendo una menor resistencia a las concentraciones probadas en comparación con HeLa y A549. Por el otro lado, A549 mostró la mayor tolerancia al GSE, presentando el valor de IC_{50} más alto entre las tres líneas. Finalmente, los resultados obtenidos para el GA revelaron una respuesta homogénea en todas las líneas celulares.

Tabla 1. Valores obtenidos de IC_{50} para los diferentes tratamientos en las líneas celulares

Solución	HeLa	A549	CaCo-2
DMSO [%]	5	4.5	5
H_2O_2 [μM]	400	420	100
Extracto de semilla de uva [mg mL^{-1}]	27	120	35
Ácido gálico [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	25	19.4	20

Fuente: elaboración propia

Los resultados obtenidos cuando las células se expusieron a H_2O_2 (Figura 1) muestran que el uso de extractos en concentraciones óptimas ($< \text{IC}_{50}$), reduce significativamente la viabilidad de las células

cancerosas. Esta reducción sugiere que los compuestos presentes en el extracto, en dosis subcitotóxicas, pueden potenciar la eficacia de los tratamientos contra el cáncer, lo cual ha sido demostrado en mezclas entre fitoquímicos y medicamentos (Arango-Varela et al., 2021). Es posible que el GSE contenga otras sustancias que interfieran con su actividad (por ejemplo: flavonoides) o que sufra de algún grado de degradación, lo que disminuye su eficacia en comparación con el GA, explicando la diferencia de concentraciones requerida para alcanzar el CI_{50} .

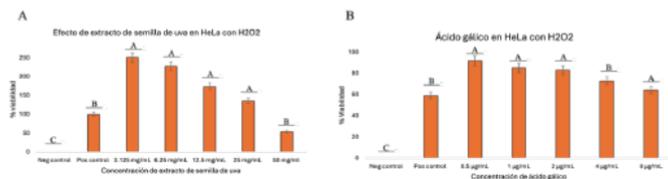


Figura 1. Impacto de A) GSE y B) GA en la viabilidad de HeLa cuando se someten a H_2O_2 . Los resultados han sido presentados como la media \pm D.E. de dos mediciones independientes por duplicado. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer. **Fuente:** elaboración propia

Los resultados de capacidad antioxidante por medio de inhibición del radical de ABTS en células HeLa indican que tras ciertas concentraciones (superiores a 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de GSE y superiores a 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GA) muestran efectos potencialmente prooxidantes al perder capacidad inhibitoria. Esto indica que en futuros tratamientos debería considerarse la dosis de fitoquímicos o extractos que podrían co-adyuvar en tratamientos quimiopreventivos, aunque experimentos adicionales y pruebas *in vitro* e *in vivo* deberían considerarse para demostrar estos efectos (Petroněk et al., 2021).

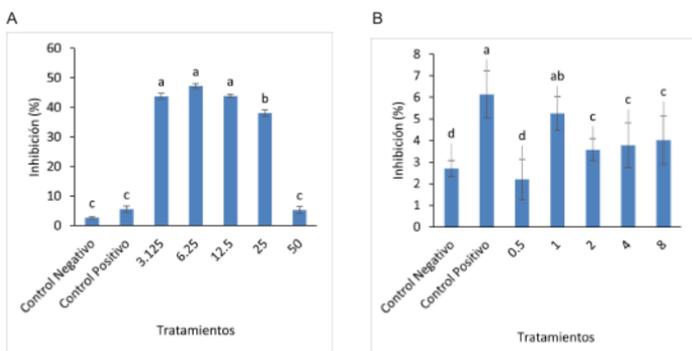


Figura 2. Niveles de inhibición de ABTS cuando células HeLa fueron expuestas a (A) extracto de semilla de uva (GSE) y (B) ácido gálico. Los resultados han sido presentados como la media \pm D.E. de dos mediciones independientes por duplicado. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer

Fuente: elaboración propia

Conclusiones

Los resultados indican que GSE y GA muestran efectos antitumorales en diferentes líneas celulares a ciertas concentraciones. Este efecto se pudiera deber a un mecanismo prooxidante estimulado por los fitoquímicos de GSE, sin embargo, se requieren estudios adicionales para elucidar el mecanismo de acción. Los próximos experimentos evaluarán el efecto de los extractos en células no cancerosas para confirmar su especificidad y se combinarán los extractos con una terapia anticancerígena, como cisplatino, para descartar efectos antagónicos. Estos ensayos permitirán determinar si será más eficaz la administración de los extractos como pretratamiento o junto con la terapia estándar.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el Departamento de Bioingenierías de la Escuela de Ingeniería y Ciencias del Tecnológico de Monterrey-Campus Guadalajara.

Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Bioingeniería de la Escuela de Ingeniería y Ciencias del Tecnológico de Monterrey por el uso de sus instalaciones y prevención de algunos de los materiales para esta investigación. Agradecemos al Dr. Daniel Jacobo Velázquez (Tecnológico de Monterrey) y Dr. Luis Mojica Contreras (Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco) por la donación de algunas de las líneas celulares lo largo de la experimentación. Asimismo, los autores agradecen a la Dra. Janet Gutiérrez Uribe (Tecnológico de Monterrey) por su valioso aporte en materiales para la realización de estos experimentos.

Referencias

- Arango-Varela, S. S., Luzardo-Ocampo, I., & Maldonado-Celis, M. E. (2022). Andean berry (*Vaccinium meridionale* Swartz) juice, in combination with Aspirin, displayed antiproliferative and pro-apoptotic mechanisms *in vitro* while exhibiting protective effects against AOM-induced colorectal cancer *in vivo*. *Food Research International*, 157, 111244. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111244>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Gupta, M., Dey, S., Marbaniang, D., Pal, P., Ray, S., & Mazumder, B. (2020). Grape seed extract: having a potential health benefits. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1205–1215. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04113-w>
- Hernández-Zazueta, M., García-Romo, J. S., Noguera-Artiaga, L., Luzardo-Ocampo, I., Carbonell-Barrachina, A. A., Taboada-Antelo, P., Campos-Vega, R., Rosas-Burgos, E. C., Burboa-Zazueta, M. G., Ezquerria-Brauer, J. M., Martínez-Soto, J. M., Santacruz-Ortega, H. d. C., & Burgos-Hernández, A. (2021). *Octopus vulgaris* ink extracts exhibit antioxidant, antimutagenic, cytoprotective, antiproliferative, and proapoptotic effects in

- selected human cancer cell lines. *Journal of Food Science*, 86(2), 587-601. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15591>
- Homayoun, M., Ghasemnezhad Targhi, R., & Soleimani, M. (2020). Anti-proliferative and anti-apoptotic effects of grape seed extract on chemo-resistant OVCAR-3 ovarian cancer cells. *Research in pharmaceutical sciences*, 15(4), 390-400. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.293517>
- Hong, R., Lim, S. C., Lee, T. B., & Han, S. I. (2023). Anticancer Effect of Gallic Acid on Acidity-Induced Invasion of MCF7 Breast Cancer Cells. *Nutrients*, 15(16), 3596. <https://doi.org/10.3390/nu15163596>
- Petronek, M. S., Stolwijk, J. M., Murray, S. D., Steinbach, E. J., Zakharina, Y., Buettner, G. R., Spitz, D. R., Allen, B. G. (2021). Utilization of redox modulating small molecules that selectively act as pro-oxidants in cancer cells to open a therapeutic window for improving cancer therapy. *Redox Biology*, 42, 101864. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101864>
- Radhakrishnan, S., Reddivari, L., Sclafani, R., Das, U. N., & Vanamala, J. (2011). Resveratrol potentiates grape seed extract induced human colon cancer cell apoptosis. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 3(4), 1509-1523. <https://doi.org/10.2741/e352>
- Sochorova, L., Prusova, B., Jurikova, T., Mlcek, J., Adamkova, A., Baron, M., & Sochor, J. (2020). The study of antioxidant components in grape seeds. *Molecules*, 25(16), 3736. <https://doi.org/10.3390/molecules25163736>

Desarrollo de un modelo tridimensional *in vitro* de reparación por daño incisional

Chopin-Doroteo, Mario¹, Montes de Oca-Delgado, Aldo¹, Salgado, Rosa María¹ y Kröttsch, Edgar^{1*}

Resumen

El trabajo tuvo como objetivo desarrollar un modelo tridimensional de daño incisional que imite características del microambiente de heridas en la piel. Se elaboraron matrices de colágena pobladas con fibroblastos. En estas matrices se realizó una herida por incisión, la cual fue rellenada con fibrina, excepto en los controles. A nivel macroscópico la herida disminuyó de tamaño en todas las matrices. A nivel histológico, se observó que a los 10 días post-herida las matrices con fibrina presentaron una organización de las fibras de colágena semejantes a la zona sin daño. Sin embargo, en los controles la zona de reparación presentó una organización distinta a las zonas sin daño, lo que sugiere que la fibrina favoreció una mejor reparación con algunas características similares a una reparación normal *in vivo*. Por lo cual, el sistema podría ser de utilidad para evaluar *in vitro* estrategias terapéuticas.

Palabras clave: herida, fibroblastos, fibrina, colágena, dermis.

Introducción

Las heridas incisionales o quirúrgicas ocasionan pérdida de la continuidad de la piel, lo cual desencadena un proceso de reparación del tejido dañado. Durante este proceso, y de manera temprana, se forma una matriz provisional rica en fibrina y otros componentes del plasma que posteriormente es remplazada por una matriz extracelular rica en colágena, que se deriva de las células residentes; el resultado, un tejido fibroso con características similares a la piel sin daño (Barker & Engler, 2017). Entre las células residentes se encuentran los fibroblastos, que desempeñan un papel clave en la síntesis, recambio y reorganización de la matriz durante todo el proceso de reparación. Además, los fibroblastos están influenciados

¹ Laboratorio de Tejido Conjuntivo, Centro Nacional de Investigación y Atención de Quemados, Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.

*Autor de correspondencia: kroted@yahoo.com.mx

por los estímulos biofísicos del microambiente, observándose en ellos cambios a nivel morfológico, en la expresión de receptores, así como en la proliferación celular, la actividad migratoria, contráctil y metabólica en general (Chopin-Doroteo et al., 2018).

Los modelos más simples de herida generalmente incluyen la pérdida de la continuidad de una monocapa de células por efecto de una rayadura que se inflige; no obstante, las limitantes de este modelo están relacionadas con la carencia de un microambiente tridimensional. Los ensayos basados en hidrogeles tridimensionales generalmente estudian la repoblación de una zona dañada con células epiteliales, sin considerar la reparación del tejido conjuntivo (Lombardi et al., 2017). Basado en estas limitaciones de los modelos previamente descritos, en el presente trabajo se propuso la generación de un modelo de reparación fundamentado en matrices de colágena pobladas con fibroblastos de piel, a las cuales se les realiza un corte incisional para estudiar la respuesta de los fibroblastos ante daño físico que imite algunas características del microambiente de una herida dérmica.

Materiales y métodos

Se prepararon matrices tridimensionales de libre flotación a base de colágena (2 mg/mL) y fibroblastos de piel (hTERT-BJ1, 100,000 cel/mL) en Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Gibco, Life Technologies, NY, USA) suplementado con 10% suero fetal bovino (Gibco), 2 mM L-glutamine (Gibco), 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina (Gibco). Se colocaron 2 ml de la mezcla fría (en baño de hielo) en placas de 24 pozos. Después de una hora de polimerización a 37 °C y 5%CO₂, las matrices pobladas con fibroblastos fueron liberadas de las paredes de los pozos. Después de tres días de contracción en las condiciones descritas, se realizó un daño incisional con un sistema tipo guillotina (de elaboración propia). Las "heridas" fueron rellenadas con 30 µL del sellador de fibrina (Hemostatic adhesive Tisseel, Baxter, IL, USA), excepto en los controles. Las matrices se incubaron 1, 5 y 10 días post-lesión. En los tiempos establecidos dichas matrices se fijaron con paraformaldehído, se incluyeron en parafina, se generaron cortes de 5µm y fueron teñidos con hematoxilina-eosina y rojo de picrosirio. Cada

condición se realizó por duplicado en al menos dos experimentos independientes.

Resultados y discusión

Las matrices pobladas con fibroblastos se han utilizado para imitar algunas características del microambiente de la dermis (Bell et al., 1979). En este trabajo se realizó un daño incisional en las matrices para evaluar su respuesta en el tiempo. Macroscópicamente, las matrices presentaron una ligera contracción general que favoreció la disminución del tamaño de la herida, tanto en presencia como en ausencia de fibrina (controles). La contracción, de manera general, ayudó a acercar los bordes de herida, donde la composición de las matrices y la reorganización del citoesqueleto desempeñaron un papel fundamental (Chopin-Doroteo et al., 2018). Se ha observado que, durante la remodelación de matriz, inducida por la contracción propia generada por los fibroblastos, las fibras de colágeno tienden a concentrarse en la periferia celular (Pena et al., 2010). A nivel microscópico observamos que después de 1 día de la lesión las matrices control presentaban una herida abierta. Posteriormente, a los días 5 y 10 en estas matrices se observaron los bordes unidos, pero con un arreglo de las fibras de colágeno distinto en orientación y grado de empaquetamiento al de la zona sin daño (Figura 1).

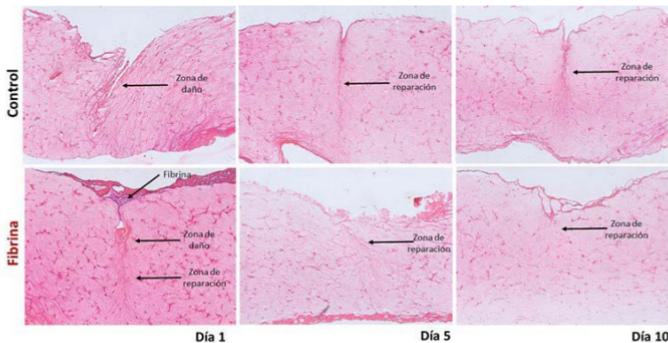


Figura 1: Matrices colagénicas pobladas con fibroblastos a las que se les infligió una herida incisional; los cortes fueron teñidos con hematoxilina y eosina. La imagen muestra la cinética de reparación a los días 1, 5 y 10 post-lesión. En la parte superior se muestra la secuencia de los controles (sin fibrina); en la inferior, a las matrices tratadas con fibrina

Fuente: elaboración propia

Por su parte, en las matrices que se agregó fibrina, al inicio del daño, se pudo apreciar desde el primer día la unión de los bordes, todavía con residuos evidentes de fibrina. A partir del día 5 la matriz de fibrina se dejó de observar en los cortes histológicos, lo que sugiere una degradación de la misma, quizá por efecto de la plasmina (Chopin-Doroteo et al., 2018). En el lugar de la fibrina se encontró un patrón de fibras de colágena similar al de la zona sin daño, efecto que persistió hasta el día 10 post-lesión (Figura 1). Estos resultados sugieren que el efecto de la adición de fibrina contribuye con la interacción temprana de los bordes de la lesión de la matriz original, la cual podría ser remplazada por un matriz colagénica (Gómez-Rosas., 2017), la cual fue reorganizada durante el proceso de reparación. Lombardi et al. observaron que en equivalentes dérmicos cortados por la mitad los fibroblastos pueden migrar a la zona donde se realizó el corte y ahí empezar la síntesis de componentes de matriz (colágena, fibronectina y ácido hialurónico), permitiendo así restaurar la continuidad del tejido (2017). Estos resultados nos hacen pensar que estos modelos tienen gran potencial para estudiar el papel de otros elementos presentes en el proceso de reparación como son células, citocinas y/o agentes terapéuticos para el tratamiento de heridas, en condiciones que imitan algunas características del microambiente del daño.

Conclusiones

El proceso de reparación de matrices tridimensionales de colágena por los fibroblastos, utilizado como modelo de herida dérmica incisional, es semejante por algunas de sus características al proceso fisiológico *in vivo*, como son el recambio de la matriz de fibrina por una matriz de colágena y la reorganización de las fibras de colágena ya presentes. Este modelo puede tener valor para su uso en la evaluación de estrategias terapéuticas y/o el efecto de citocinas presentes los procesos de reparación.

Conflicto de intereses

“Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.”

Referencias

- Barker, T. H., & Engler, A. J. (2017). The provisional matrix: setting the stage for tissue repair outcomes. *Matrix biology*, 60-61, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.04.003>
- Bell, E., Ivarsson, B., & Merrill, C. (1979). Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(3), 1274–1278. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.3.1274>
- Chopin-Doroteo, M., Salgado-Curiel, R. M., Pérez-González, J., Marín-Santibáñez, B. M., & Krötzsch, E. (2018). Fibroblast populated collagen lattices exhibit opposite biophysical conditions by fibrin or hyaluronic acid supplementation. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 82, 310–319. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.03.042>
- Gómez-Rosas, A. L. (2017). *Análisis de la respuesta al daño en un modelo tridimensional de fibroblastos humanos*. [Trabajo de Maestría no publicado, Universidad Nacional Autónoma de México].
- Lombardi, B., Casale, C., Imperato, G., Urciuolo, F., & Netti, P. A. (2017). Spatiotemporal evolution of the wound repairing process in a 3D human dermis equivalent. *Advanced health-care materials*, 6(13), 10.1002/adhm.201601422. <https://doi.org/10.1002/adhm.201601422>
- Pena, A. M., Fagot, D., Olive, C., Michelet, J. F., Galey, J. B., Leroy, F., Beaurepaire, E., Martín, J. L., Colonna, A., & Schanne-Klein, M. C. (2010). Multiphoton microscopy of engineered dermal substitutes: assessment of 3-D collagen matrix remodeling induced by fibroblast contraction. *Journal of biomedical optics*, 15(5), 056018. <https://doi.org/10.1117/1.3503411>

Caracterización de anticuerpos policlonales anti-veneno de *Bothrops asper* (Viperidae)

Cinco-Martínez, Fernando André¹, Lugo-Fabres, Pavel Hayl¹, Camacho-Villegas, Tanya Amanda¹, y Vázquez-López, Hilda^{2*}

Resumen

Este estudio caracterizó y purificó anticuerpos policlonales de conejo contra veneno de *Bothrops asper*, capaces de reconocer venenos de *Bothrops* y *Crotalus*. La purificación se realizó mediante cromatografía de afinidad, seguida de concentración y diálisis en PBS 0.5X. La pureza, verificada mediante SDS-PAGE, fue del 91.5%. Inmunoensayos como ELISA, Western blot y Dot blot evaluaron su efectividad. El rendimiento fue de 0.19 mg de anticuerpos por mL de suero. El ELISA reveló una EC50 de 52.82 ng/mL. El Western blot demostró un reconocimiento del 95% de las proteínas del veneno de *Bothrops asper*. En el Dot blot se determinó que una concentración de 5 µg/mL de anticuerpos reconoce 6.12 ng de veneno. Los resultados sugieren eficacia en el reconocimiento de venenos y potencial para futuros desarrollos de diagnóstico.

Palabras clave: detección, inmunoensayo, purificación, envenenamiento, antiveneno.

Introducción

Los accidentes ofídicos causan aproximadamente 130,000 muertes y 400,000 discapacidades al año mundialmente (Secretaría de Salud, 2024). La especie *Bothrops asper* (Garman, 1884), de la familia Viperidae, está ampliamente distribuida en el sureste de México (iNaturalist Mexico, 2024). Es responsable de más del 40% de las mordeduras en el país (Zúñiga Carrasco & Caro Lozano, 2013). La faboterapia es la intervención más efectiva contra el veneno y puede prevenir muertes y secuelas graves por accidentes ofídicos. Este trabajo busca caracterizar anticuerpos policlonales anti-veneno de *Bothrops asper*,

¹ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.

² Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

* Autor de correspondencia: Hilda Vázquez-López, hilda.vazquez@ibt.unam.mx

obtenidos previamente por Toscano Salazar (2021), que servirán como base para desarrollos dirigidos a vipéridos.

Materiales y Métodos

Los anticuerpos policlonales anti-veneno de *Bothrops asper* se purificaron por cromatografía de afinidad con resina CNBr Activated Sepharose 4B (Sigma Aldrich) acoplada a 10 mg de veneno. Posteriormente, se concentraron 2.61 veces y se dializaron contra PBS 0.5X usando un concentrador de ultrafiltración (Corning Spin-X UF). La pureza se verificó por SDS-PAGE (Laemmli, 1970), analizando las bandas con el software GelAnalyzer 23.1.1.

Para evaluar el reconocimiento del veneno, se realizó un ELISA indirecto, usando anticuerpo secundario anti-conejo (Anti-rabbit IgG HRP, Sigma Aldrich) y revelado con 1-Step Ultra TMB-ELISA (Thermo Scientific), leyendo en un espectrofotómetro Bio-Rad xMark. El Western blot, en membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, 0.2 µm), fue electrotransferido con Bio-Rad Trans-Blot SD y revelado con TMB (Sigma Aldrich). Permitió identificar las proteínas del veneno reconocidas por los anticuerpos policlonales y el porcentaje de proteínas reconocidas al analizar con el software GelAnalyzer 23.1.1. El Dot blot, realizado con membranas de nitrocelulosa en el Bio-Dot SF (Bio-Rad) y revelado con TMB, determinó la concentración mínima de veneno reconocida por los anticuerpos policlonales.

Resultados y Discusión

Se realizaron dos purificaciones del suero inmunizado y una repurificación del suero no pegado. Los resultados de los rendimientos del proceso se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Rendimiento de purificación de anticuerpos policlonales de conejo anti-veneno de *B. asper*

Número de purificación	Volumen (mL)	Absorbancia (280 nm)	Concentración (mg/mL)	Concentración total (mg)
1	5.5	0.57	0.41	2.23
	6	0.18	0.13	0.75
2	12.5	0.19	0.13	1.65
3	13.5	0.16	0.12	1.57

Fuente: propia

El rendimiento de la concentración final fue de 0.19 mg de anticuerpos policlonales por mL de suero de conejo.

A partir de la densitometría de las bandas del SDS-PAGE (Figura 1) se obtuvieron los volúmenes de las cadenas pesadas (53 kDa) y ligeras (25 kDa). Se determinó una pureza promedio de $91.5\% \pm 1.59$.

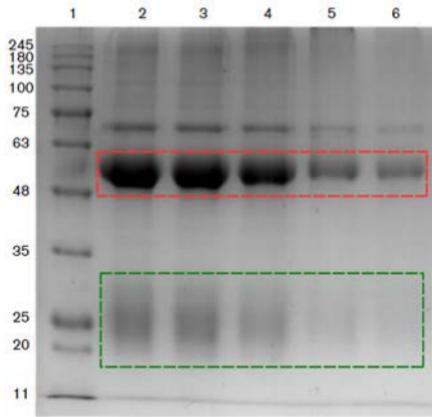


Figura 1. SDS-PAGE escalonado de anticuerpos purificados concentrados de conejo anti-veneno de *Bothrops asper*. **Carril 1:** Marcador de peso molecular. **Carril 2:** 8 μg de anticuerpos. **Carril 3:** 6 μg de anticuerpos. **Carril 4:** 4 μg de anticuerpos. **Carril 5:** 2 μg de anticuerpos. **Carril 6:** 1 μg de anticuerpos. Cadenas pesadas de los anticuerpos señaladas con un rectángulo rojo. Cadenas ligeras de los anticuerpos señaladas con un rectángulo verde.

Fuente: propia.

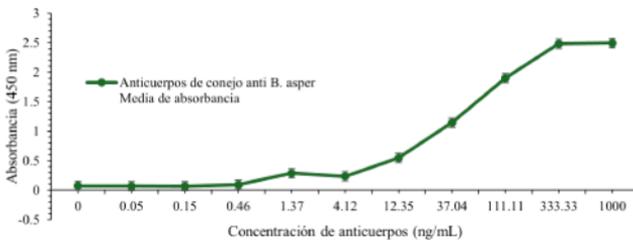


Figura 2. Detección de 0.5 μg veneno de *Bothrops asper* por anticuerpos policlonales de conejo mediante ELISA. La barra representa \pm la desviación estándar. $n=2$.

Fuente: propia.

En la Figura 2 se grafican los valores de absorbancia (450 nm) obtenidos de la curva de detección de la ELISA. Se obtuvo una EC₅₀ de 52.82 ng/mL de anticuerpos.

Con base en la Figura 3, las proteínas reconocidas pueden corresponder a: metaloproteinasas, L-aminoácido oxidasas, serinproteasas, lectinas tipo C y/o fosfolipasas A₂ (Angulo & Lomonte, 2009; Barcenás Arriaga, 2018). Los anticuerpos policlonales reconocen el 95% de las proteínas del veneno de *B. asper* y el 55% de las proteínas del veneno de *C. atrox*, debido a que ambas especies pertenecen a la familia Viperidae, lo que sugiere una similitud en la composición de los venenos (Barcenás Arriaga, 2018; Tasoulis & Isbister, 2017).

Según el Dot blot (Figura 4), los anticuerpos policlonales detectan cantidades bajas de veneno (6.12 ng). La menor concentración de anticuerpos policlonales (1.25 µg/mL) detectó 50 ng de veneno de *B. asper*. Esto es relevante, ya que la concentración mínima clínicamente significativa del veneno de los vipéridos es de hasta 1000 ng/mL, por lo que estos anticuerpos policlonales podrían detectarla (Knudsen et al., 2024).

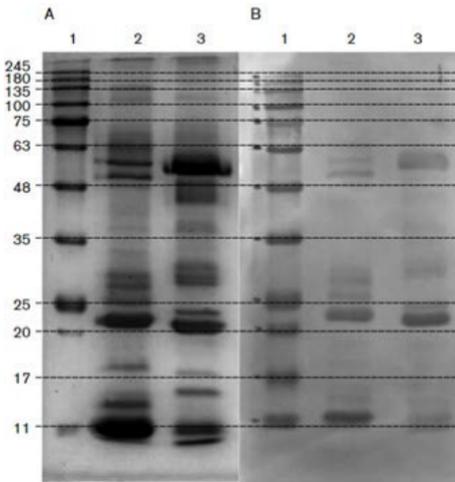


Figura 3. A, SDS-PAGE de muestras de veneno de *Bothrops asper* y *Crotalus atrox*. B, Western blot del reconocimiento de veneno. **Carriles 1:** Marcador de peso molecular. **Carriles 2:** veneno de *B. asper*. **Carriles 3:** veneno de *C. atrox*.

Fuente: propia.

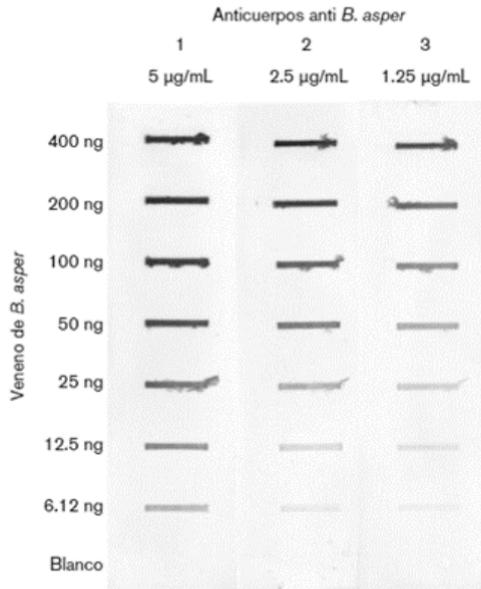


Figura 4. Dot blot de muestras de veneno de *Bothrops asper*. Todas las membranas tienen 400 - 6.12 ng de veneno. Concentración de anticuerpos policlonales: **Membrana 1:** 5 µg/mL. **Membrana 2:** 2.5 µg/mL. **Membrana 3:** 1.25 µg/mL.
Fuente: propia.

Conclusiones

La caracterización de anticuerpos policlonales de conejo anti *B. asper* demostró reconocimiento eficaz del veneno homólogo, y parcial del veneno de *Crotalus atrox*. Estos anticuerpos tienen potencial para futuros desarrollos diagnósticos. Los resultados sugieren su utilidad para enfrentar los accidentes ofídicos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Este proyecto fue apoyado parcialmente por CONAHCYT PRO-NAII 303045.

Agradecimiento

A CONAHCYT, por la beca de maestría FACM CVU/Becario 1332352/401941.

Referencias

- Angulo, Y., & Lomonte, B. (2009). Biochemistry and toxicology of toxins purified from the venom of the snake *Bothrops asper*. *Toxicon*, 54(7), 949–957. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.12.014>
- Barcenas Arriaga, S. (2018). *Caracterización bioquímica y biológica del veneno de Bothrops asper (Garman, 1884) de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- iNaturalist Mexico. (2024). *Terciopelo (Bothrops asper)*. <https://mexico.inaturalist.org/taxa/30798-Bothrops-asper>
- Knudsen, C., Belfakir, S. B., Degnegaard, P., Jørgensen, J. A., Haack, A. M., Friis, R. U. W., Dam, S. H., Laustsen, A. H., & Ross, G. M. S. (2024). Multiplex lateral flow assay development for snake venom detection in biological matrices. *Scientific Reports*, 14(1), 2567. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51971-2>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Secretaría de Salud. (2024). *Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de intoxicación por animales ponzoñosos 2024*. Recuperado de https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/26_Manual_de_Procedimientos_Ponzoza_2024.pdf
- Tasoulis, T., & Isbister, G. K. (2017). A Review and Database of Snake Venom Proteomes. *Toxins*, 9(9), 290. <https://doi.org/10.3390/toxins9090290>
- Toscano Salazar, M. A. (2021). *Desarrollo de un diseño teórico experimental para diagnóstico rápido para la detección de veneno de serpiente (Bothrops asper) en suero mediante tiras de flujo lateral* [tesis de maestría, Universidad de las Américas-Ecuador].

Zúñiga Carrasco, I. R., & Caro Lozano, J. (2013). Aspectos clínicos y epidemiológicos de la mordedura de serpientes en México. *Evidencia Médica e Investigación en Salud*, 6(4), 125–136. https://www.researchgate.net/publication/332446787_Aspectos_clinicos_y_epidemiologicos_de_la_mordedura_de_serpientes_en_Mexico

Olvanil: una molécula que inhibe la diferenciación de adipocitos y reduce el porcentaje de tejido adiposo en modelos murinos de obesidad

Curiel-Pedraza, David Alejandro^{1,2}, Villaseñor- Tapia, Elda Cristina¹, Canales-Aguirre, Alejandro Arturo¹, Rodríguez-González, Jorge Alberto², Martínez-López, Erika³, Mateos-Díaz, Juan-Carlos², y Márquez-Aguirre, Ana Laura¹

Resumen

La obesidad es una enfermedad crónica que se define por la acumulación excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, por lo cual es necesario la búsqueda de nuevos tratamientos. El olvanil es un análogo de capsaicina previamente obtenido en nuestro grupo de trabajo. El objetivo fue evaluar su eficacia en la reducción de la acumulación de grasa *in vitro* e *in vivo*. Nuestros resultados demuestran que olvanil inhibió la adipogénesis en adipocitos en cultivo, mientras que, en los modelos experimentales, el tratamiento con olvanil mejoró significativamente el perfil de lípidos y redujo el porcentaje de tejido adiposo en ratones con HFD en todas las dosis evaluadas. Sin embargo, en los animales con dieta combinada (HFCD/F) estos efectos solo se mantuvieron en la dosis de 25 mg/kg/día.

Palabras clave: dieta alta en grasa, olvanil, obesidad, preadipocitos, tejido graso.

Introducción

La obesidad es uno de los principales problemas de salud en México. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la considera la “epidemia del siglo XXI”, ya que funge como factor de riesgo en padecimientos crónico-degenerativos como son las enfermedades

¹ Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C., Guadalajara, Jalisco, México.

² Unidad de Biotecnología Industrial, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C., Zapopan, Jalisco, México.

³ Departamento de Biología Molecular y Genómica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

cardiovasculares, diabetes, e incluso se le ha asociado a algunos tipos de cáncer (OMS, 2020).

El tratamiento actual de la obesidad en México se divide en dos componentes principales: el tratamiento no farmacológico, conformado por una dieta hipocalórica, ejercicio y modificaciones conductuales, y el tratamiento farmacológico consistente en la administración de fármacos como orlistat y metformina (Secretaría de Salud, 2013).

El olvanil es un capsaicinoide -análogo de la capsaicina- que también es capaz de activar el receptor con potencial transitorio vanilloide tipo 1 (TRPV1). Sin embargo, a diferencia de la capsaicina, el olvanil posee menor pungencia (Chu et al, 2010). Por lo que en el presente estudio se evaluó la eficacia de olvanil en la disminución del tejido adiposo tanto *in vitro* como *in vivo* en dos modelos experimentales.

Metodología

Material y Métodos

Se cultivaron células 3T3-L1 y se realizó tinción de rojo oleoso para determinar la acumulación de lípidos, mientras que los lípidos totales y triglicéridos se determinaron por ensayos bioquímicos. La expresión de PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) y PREF-1 (Preadipocyte Factor 1) se analizó mediante QPCR. Para la evaluación *in vivo* se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL6/J en dos modelos experimentales: obesidad inducida por dieta (DIO) y de enfermedad del hígado graso asociada a la disfunción metabólica (MAFLD). El primero con cuatro grupos (n=4 cada uno): I) dieta estándar (STD), II) dieta alta en grasa (HFD) para la inducción de DIO durante 12 semanas, III) HFD + olvanil (10 mg/kg/día) y IV) HFD + olvanil (25 mg/kg/día) por 4 semanas en los tratamientos. El segundo estudio con cuatro grupos (n=10 cada uno): I) STD, II) dieta alta en grasa y colesterol + fructosa (HFCD/F) para la inducción de MAFLD durante 16 semanas, III) HFCD/F + olvanil (10 mg/kg/día) y IV) HFCD/F + olvanil (25 mg/kg/día) por 8 semanas de tratamiento.

Resultados y Discusión

El olvanil presentó una menor acumulación de lípidos en adipocitos en cultivo, a dosis menores que la capsaicina. Esto es consistente con los resultados de los ensayos bioquímicos donde se observa una disminución en la concentración de lípidos totales y triglicéridos de forma dependiente a concentración. A nivel molecular se encontró que el tratamiento con olvanil reduce la expresión de PPAR γ e incrementa la expresión de PREF-1, lo que confirma la inhibición de la adipogénesis (ensayos previos Curiel-Pedraza 2023).

En los ensayos *in vivo*, se encontró que en el modelo de DIO el tratamiento con olvanil a dosis de 10 mg/kg y 25 mg/kg mg, redujeron de forma estadísticamente significativa el peso corporal final, masa grasa, TG, CT, LDL y VLDL, a comparación del grupo HFD sin tratamiento (Tabla 1, panel A). Por otra parte, el modelo de MAFLD, el tratamiento con olvanil no tuvo un impacto en la reducción del peso corporal final, pero sí una tendencia a reducir la masa grasa y en especial la subcutánea en la dosis de 25 m/kg/día. En cuanto al perfil lipídico, los animales que recibieron olvanil mostraron una tendencia para reducir los niveles de triglicéridos y VLDL también en la dosis de 25 m/kg/día (Tabla 1, panel B).

Tabla 1. Parámetros morfológicos y bioquímicos. La tabla muestra los resultados obtenidos en los modelos experimentales. A) DIO, B) MAFLD. Los resultados se muestran como promedio \pm error estándar. Valor de $p < 0.05$ (* diferencia respecto a grupo STD y t diferencia respecto a los grupos con dietas HFD o HFCD/F)

Parámetro	Estudio A: DIO				Estudio B: MAFLD			
	STD	HFD	HFD + OLV 10	HFD + OLV 25	STD	HFCD + F	HFCD/F + OLV 10	HFCD/F + OLV 25
Peso final (g)	30.2 \pm 0.9	43.1 \pm 0.5*	37.7 \pm 1.8&	37.0 \pm 1.0&	46 \pm 0.1	46.2 \pm 0.3	49.8 \pm 0.6 &	44.5 \pm 0.2 &
Masa Grasa (g)	0.60 \pm 0.1	5.0 \pm 0.1*	3.3 \pm 0.5	2.3 \pm 0.1 &	2.5 \pm 0.7	5.3 \pm 0.9 *	7.3 \pm 1.4	4.0 \pm 0.4
% Grasa total	2.0 \pm 0.4	11.6 \pm 0.4*	9.1 \pm 1.7	5.9 \pm 0.6&	5.3 \pm 1.4	10.9 \pm 1.3 *	13.6 \pm 1.9	8.9 \pm 1.3
% Grasa visceral	1.3 \pm 0.3	3.5 \pm 0.2*	3.8 \pm 0.9 &	3.3 \pm 0.4	2.7 \pm 0.6	5.7 \pm 0.5*	7.4 \pm 1.3	5.2 \pm 0.9
% Grasa subcutánea	0.66 \pm 0.1	8.1 \pm 0.4*	5.3 \pm 2.5	4.3 \pm 0.6 &	1.89 \pm 0.45	5.52 \pm 0.7 *	6.2 \pm 0.7	3.7 \pm 0.6
Triglicéridos (mg/dl)	80 \pm 11	101 \pm 5*	65 \pm 6 &	61.3 \pm 6 &	151.5 \pm 33.1	144.5 \pm 19.9	168.8 \pm 21.5	109 \pm 12.8
Colesterol total (mg/dl)	128 \pm 11	186 \pm 28*	132 \pm 8 &	128.8 \pm 8.4 &	83.7 \pm 5.8	104.3 \pm 10.5	150 \pm 13.0	104 \pm 11.0
HDL (mg/dl)	81 \pm 5	101 \pm 8*	93 \pm 2	98.8 \pm 4.3	54.5 \pm 3.9	72.5 \pm 6.8	93.5 \pm 4.1	72.5 \pm 6.3
LDL (mg/dl)	30 \pm 4	64 \pm 19*	26 \pm 4 &	17.7 \pm 4.4 &	14.7 \pm 2.0	14.80 \pm 3.0	29.5 \pm 7.0	18.5 \pm 4.8
VLDL (mg/dl)	16 \pm 2	20 \pm 1*	13 \pm 1 &	12.3 \pm 1.4 &	14.5 \pm 1.9	15.2 \pm 1.9	27 \pm 3.1	13 \pm 2.1

Conclusiones

En México, de acuerdo con la encuesta ENSANUT 2022, el 75.2% de las personas mayores de 20 años presentan sobrepeso y obesidad, las cuales son la consecuencia de un desequilibrio entre la ingesta calórica (alimentación) y el gasto calórico (actividad física). Por lo que su tratamiento debe ser integral y multidisciplinario. Nuestros resultados demuestran que el olvanil es una molécula que se postula como una fuerte candidata con actividad farmacológica para reducir la acumulación de grasa. En ensayos *in vitro* fue capaz de inhibir la adipogénesis, mientras que *in vivo* mejoró algunos de los parámetros del perfil lipídico y disminuyó la acumulación de tejido graso.

Financiamiento

Los autores agradecen al Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social por el financiamiento otorgado para el desarrollo del proyecto B-S-34029. Así mismo, D. Curiel agradece el financiamiento de beca de doctorado otorgada por el CONAHCyT.

Referencias

- Chu, K. M., Ngan, M. P., Wai, M. K., Yeung, C. K., Andrews, P. L., Percie du Sert, N., & Rudd, J. A. (2010). Olvanil: a non-pungent TRPV1 activator has anti-emetic properties in the ferret. *Neuropharmacology*, 58(2), 383-391. doi:10.1016/j.neuropharm.2009.10.002
- Curiel-Pedraza, D. A., Villaseñor-Tapia, E. C., Márquez-Aguirre, A. L., Morales-Martínez, C. E., Díaz-Vidal, T., Basulto-Padilla, G. C., Mateos-Díaz, J. C., López-Munguía, A., Canales-Aguirre, A. & Rodríguez, J. A. (2023). Olvanil Inhibits Adipocyte Differentiation in 3T3-L1 Cells, Reduces Fat Accumulation and Improves Lipidic Profile on Mice with Diet-Induced Obesity. *Food Chemistry Advances*, 3 (September), 100438. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100438> .
- Díaz-Vidal, T., Armenta-Perez, V.P., Rosales-Rivera, L.C., Mateos-Díaz, J.C., & Rodríguez, J.A. (2019). Cross-linked enzyme aggregates of recombinant Candida antarctica lipase B for the efficient synthesis of olvanil, a nonpungent capsaicin analogue. *Biotechnology progress*, 35(4), 1-11. <https://doi.org/10.1002/btpr.2807>.

- Hardy, O. T., Czech, M. P., & Corvera, S. (2012). What causes the insulin resistance underlying obesity? *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 19(2), 81–87. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3283514e13>doi:10.1097/med.0b013e3283514e13
- Hurley, J. D., Akers, A. T., Friedman, J. R., Nolan, N. A., Brown, K. C., Dasgupta, P. (2016). Non-pungent long chain capsaicin-analogs arvanil and olvanil display better anti-invasive activity than capsaicin in human small cell lung cancers. *Cell Adhesion & Migration*, 11(1), 80–97. <https://doi.org/10.1080/19336918.2016.1187368>.
- Morales, C. (2016). *Evaluación in vitro de dos análogos de capsaicina, olvanil y vamc 8, sobre la inhibición de la adipogénesis* [tesis de maestría, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco]. Repositorio institucional CIATEJ.
- Morales-Martínez, C. E., Márquez-Aguirre, A. L., Díaz-Martínez, E., Rodríguez-González, J. A., Mateos-Díaz, J. C., Esquivel-Solís, H., Álvarez-Moya, C., Canales-Aguirre, A. A. (2016). The Prospective Antiobesity Effect of Capsaicin Synthetic Analogs: A Matter of Weight. *Medicinal chemistry*, 6(5), 365-371. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000371>.
- Organización Mundial de la Salud. (2024). *Obesidad y Sobrepeso*. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Secretaría de Salud. (2013). *Paciente con obesidad. Intervención dietética. México*. Extraído de: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/IMSS-684-INTER_DIETETICA_OBESIDAD/IMSS-684-13-GER-INT_DIETxTICA_OBESIDAD.pdf
- Watanabe, T., Sakurada, N., & Kobata, K. (2001). Capsaicin-, Resiniferatoxin-, and Olvanil-induced Adrenaline Secretions in Rats via the Vanilloid Receptor. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(11), 2443–2447. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2443>.
- Wafer, R., Tandon, P., & Minchin, J. E. N. (2017). The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPARG) in Adipogenesis: Applying Knowledge from the Fish Aquaculture

Industry to Biomedical Research. *Frontiers in Endocrinology*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00102>

Formulación vaginal de liberación controlada a base de melatonina para el tratamiento de cáncer cervicouterino

Delgadillo-Hernández, Regina Julieta¹, García-Carvajal, Zaira Yunuen¹, Carbajal-Arízaga, Gregorio Guadalupe², Cruz-Ramos, José Alfonso³, Hernández-Gutierrez, Rodolfo¹, y Martínez-Velázquez, Moisés^{1*}

Resumen

El objetivo de este trabajo de investigación fue formular un dispositivo intravaginal cargado con melatonina para potenciar los efectos localizados de agentes antineoplásicos. La formulación del dispositivo se desarrolló siguiendo los parámetros establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). La caracterización de estas formulaciones se llevó a cabo mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (XRD) y análisis del tiempo de desintegración. El análisis por FTIR evidenció la presencia de melatonina pura, así como de melatonina combinada con los demás componentes de la formulación. En cuanto a las características físicas, las pruebas realizadas indicaron un tiempo de desintegración de 25 minutos a 37 °C en un fluido vaginal simulado. Con base en los resultados obtenidos, se logró desarrollar una formulación que contiene melatonina y que cumple con los parámetros necesarios para su adecuada aplicación y manejo.

Palabras clave: cáncer cervicouterino, melatonina, formulaciones vaginales

Introducción

Actualmente el cáncer cérvicouterino está considerado como un problema de salud pública por su alta tasa de incidencia y mortalidad en el sexo femenino. El principal factor de riesgo para el desarrollo de la neoplasia es el virus del papiloma humano (VPH). Los patrones de tratamiento actuales para este tipo de cáncer son la quimioterapia, ablación quirúrgica, radioterapia externa y braquiterapia. Dada la

¹ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

² Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías.

³ Instituto Jalisciense de Cancerología

Autor de correspondencia: Moisés Martínez-Velázquez (mmartinez@ciatej.mx)

alta toxicidad y resistencia celular generada por estos tratamientos, se propone el uso de melatonina como agente adyuvante. La melatonina, una hormona con propiedades oncostáticas y antioxidantes, podría mejorar la eficacia de las terapias existentes y reducir sus efectos adversos (Fernandez Gil, 2019), (Lin, Kong & Chen, 2017). Numerosos estudios han demostrado que la administración de medicamentos por vía vaginal es superior a la vía oral, ya que minimiza de manera significativa los efectos secundarios generales y gastrointestinales (Abass, Kamel, & Abdelbary, 2011). Además, la administración a través de las membranas mucosas, como la vaginal y rectal, evita el metabolismo hepatogastrointestinal de primer paso que se asocia con la vía oral. En el presente trabajo de investigación se pretende la formulación de un dispositivo intravaginal cargado con melatonina en un entorno celular de cáncer, para evaluar su potencial efecto adyuvante frente a la radioterapia y quimioterapia (Zetner et al., 2021). Este enfoque innovador busca contribuir al desarrollo de tratamientos menos invasivos y más efectivos para el cáncer cérvicouterino, promoviendo así la salud de las pacientes afectadas.

Materiales y Métodos

Se desarrolló una formulación de tipo óvulo, siguiendo la descripción de la FEUM. Para la preparación de la fórmula final, previamente se estandarizaron los parámetros necesarios, obteniéndose 18 formulaciones de óvulos a base de glicero-gelatina. La fórmula optimizada consta de glicerina, grenetina, PVA, PEG, glicofuro y melatonina.

La caracterización de las formulaciones se llevó a cabo por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (XRD) y tiempo de desintegración.

Resultados y Discusión

A través del análisis por FTIR se verificó la presencia de melatonina pura y de melatonina combinada con los demás componentes de la formulación (Figura 1). El análisis por XRD demostró que la melatonina se segregó, formando cristales a partir de la acumulación de sus moléculas (Figura 2). Las formulaciones iniciales fueron ajustadas y descartadas según los resultados obtenidos en las pruebas realizadas. Algunos de los óvulos estaban bien formados, pero eran

demasiado suaves para su manipulación y no toleraban temperaturas superiores a 30 °C (Figura 3).

La formulación final se logró modificando las concentraciones de los excipientes y se eligió en función del tiempo de desintegración, que fue de 25 minutos a 37 °C en un fluido vaginal simulado (Figura 4).

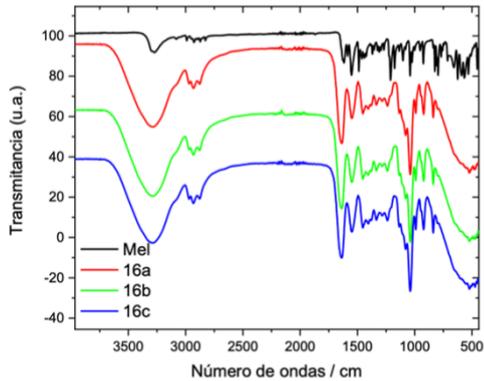


Figura 1. Análisis de la melatonina y componentes por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)
Fuente: propia

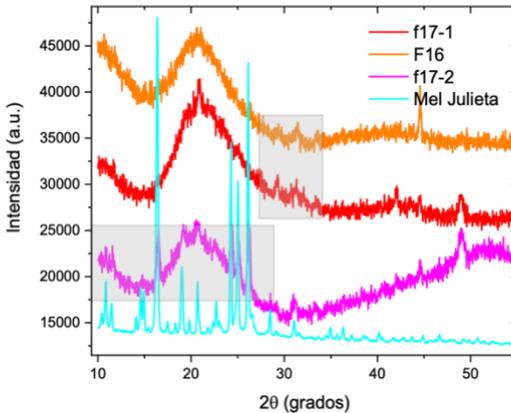


Figura 2. Presencia de melatonina observada por difracción de rayos X (XRD)
Fuente: propia



Figura 3. Primeras formulaciones de óvulos, en donde se puede observar la desintegración solo con la manipulación

Fuente: propia

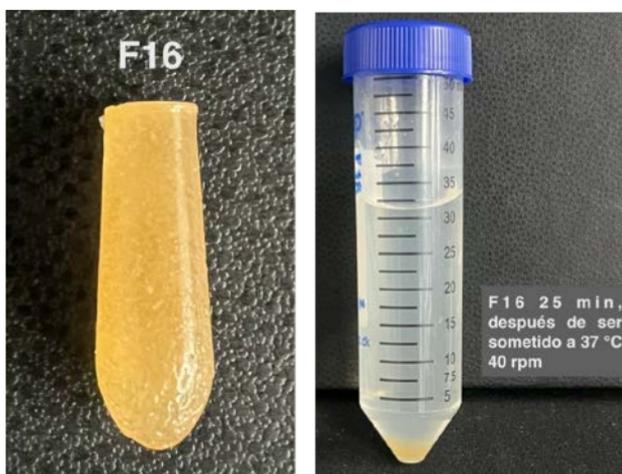


Figura 4. Formulación final y prueba de desintegración en fluido vaginal simulado

Fuente: propia

Conclusiones

Las muestras se mantuvieron estables a temperatura ambiente durante 15 días. Al modificar las concentraciones de los excipientes, se logró desarrollar una formulación que contiene melatonina y cumple con los parámetros necesarios para una aplicación y manejo adecuados.

Conflicto de interés

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un posible conflicto de interés.

Financiamiento

El financiamiento fue otorgado por CONAHCYT-CBF2023-2024-2164 para la realización de esta investigación.

Referencias

- Abass, H., Kamel, R., & Abdelbary, A. (2012). Metronidazole bioadhesive vaginal suppositories: formulation, *in vitro* and *in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 344-353. ISSN- 0975-1491. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/286939217_Metronidazole_bioadhesive_vaginal_suppositories_Formulation_in_vitro_and_in_vivo_evaluation
- Fernández Gil, B. (2019). *La melatonina incrementa la citotoxicidad de la radioterapia y del cisplatino en un modelo de cáncer de cabeza y cuello estimulando la generación de ros mitocondriales, la apoptosis y la autofagia* [tesis de doctorado, Universidad de Granada]. Universidad de granada. Repositorio institucional UGR. <http://hdl.handle.net/10481/55495>[<http://hdl.handle.net/10481/55495>]
- Lin, X., Kong, D., & Chen, Z. S. (2022). Chemo-Radiation-Resistance in Cancer Therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.904063><https://doi.org/10.3389/fphar.2022.904063/FULL>
- Zetner, D., Andersen, L. P. K., Alder, R., Jessen, M. L., Tolstrup, A., & Rosenberg, J. (2021). Pharmacokinetics and Safety of Intravenous, Intravesical, Rectal, Transdermal, and Vaginal Melatonin in Healthy Female Volunteers: A Cross-Over Study. *Pharmacology*, 106(3-4), 169–176. <https://doi.org/10.1159/000510252>

Diferencias en la microbiota intestinal y su impacto nutricional en sujetos con enfermedad inflamatoria intestinal de México y España

García-Gamboa, Ricardo¹, Díaz-Torres, Osiris²,
Gradilla-Hernández, Misael Sebastián², Pérez-Brocal, Vicente³,
Moya, Andrés^{3,4,5}, y González-Ávila, Marisela^{6*}

Resumen

Este estudio analizó la microbiota intestinal en individuos con enfermedad inflamatoria intestinal y en controles sanos de México y España, considerando aspectos nutricionales. Se empleó la secuenciación del gen 16S rRNA para evaluar la microbiota intestinal, además de recopilar datos sobre la ingesta dietética y las medidas antropométricas. Los participantes mexicanos con enfermedad inflamatoria intestinal mostraron un menor porcentaje de masa grasa y un mayor porcentaje de masa magra en comparación con los españoles afectados por la enfermedad. El índice de diversidad alfa fue menor en los grupos con la enfermedad. En cuanto a la abundancia relativa, *Faecalibacterium* presentó una mayor proporción en los grupos con la enfermedad. *Prevotella* se presentó únicamente en los grupos mexicanos y *Akkermansia* en los españoles. Estos hallazgos destacan la importancia de considerar la microbiota intestinal, así como los factores geográficos y nutricionales en la investigación y en las intervenciones terapéuticas relacionadas con la enfermedad.

Palabras clave: enfermedad inflamatoria intestinal, microbiota intestinal, nutrición, gen 16S rRNA, bacterias.

¹ Tecnológico de Monterrey, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Av. General Ramon Corona 2514, Nuevo México, 45138 Zapopan, Jalisco, México.

² Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Laboratorio de Sostenibilidad y Cambio Climático, Av. General Ramon Corona 2514, 45138 Zapopan, Jalisco, México.

³ Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO): Av. Cataluña 21, 46020 Valencia, España.

⁴ Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP): c/ Monforte de Lemos 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid, España.

⁵ Instituto de Biología de Sistemas Integrativa (I2SysBio), Universidad de Valencia y Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC): c/ Catedrático José Beltrán 2, 46980 Paterna, Valencia, España.

⁶ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Av. Normalistas No. 800, col Colinas de la Normal, C.P. 44270, Guadalajara, Jalisco, México.

*Autor de correspondencia: Marisela González-Ávila, mgavila@ciatej.mx

Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII), que abarca la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, es un trastorno gastrointestinal crónico caracterizado por episodios recurrentes de diarrea, fiebre y dolor abdominal (Al-Amrah et al., 2023). La etiología de la EII es compleja y multifactorial, involucrando predisposiciones genéticas, disfunciones del sistema inmunológico, factores ambientales y la microbiota intestinal. En las últimas décadas, la incidencia de la EII ha aumentado, especialmente en países industrializados (Borowitz, 2023). La microbiota intestinal desempeña un papel crucial en la EII; los individuos que padecen esta enfermedad suelen presentar disbiosis intestinal, caracterizada por una disminución de la diversidad microbiana y alteraciones en la composición de la comunidad bacteriana (Alam et al., 2020). El presente estudio tiene como objetivo analizar la composición bacteriana de la microbiota intestinal en individuos con EII de México y España, considerando sus datos nutricionales.

Materiales y Métodos

Este estudio internacional incluyó a 79 participantes de México y España, con la aprobación de los comités de ética en ambos países. Para evaluar la ingesta dietética se emplearon dos cuestionarios: el de frecuencia de consumo de alimentos y el recordatorio de 24 horas (García-Gamboa et al., 2024). La evaluación antropométrica incluyó mediciones de peso, altura y pliegues cutáneos (Marfell-Jones et al., 2012). La extracción de ADN de las muestras fecales se llevó a cabo utilizando el kit QIAamp® DNA Stool Mini Kit. La identificación taxonómica se realizó mediante la secuenciación del gen 16S rRNA, utilizando la plataforma MiSeq (Klindworth et al., 2013). El análisis de secuencias se realizó en el software QIIME 2, donde se llevaron a cabo análisis de diversidad alfa y taxonómico (Caporaso et al., 2010). Para el análisis estadístico se utilizó R (R-Core Team, 2024), aplicando pruebas para identificar diferencias significativas en los datos nutricionales y la composición de la microbiota.

Resultados y Discusión

En este estudio evaluamos la comunidad bacteriana de la microbiota intestinal en participantes mexicanos y españoles con EII y la comparamos con la de sus respectivos controles sanos. La cohorte mexicana con EII fue designada como MX-EII y su grupo control sano como MX-S. La cohorte española con EII se designó como ES-EII y su grupo control sano como ES-S.

La Tabla 1 muestra los resultados del análisis antropométrico, dietético y de diversidad microbiana de los cuatro grupos de estudio. El análisis antropométrico reveló que el grupo MX-EII mostró un menor porcentaje de masa grasa (26.9%) frente al grupo ES-EII (32.6%) y un mayor porcentaje de masa magra (31.3% vs. 24.2%). Esto sugiere que los participantes mexicanos podrían tener una proporción de masa muscular favorable en relación con la grasa, lo cual podría actuar como un factor protector frente a la EII (Aldars-García et al., 2021). Además, la ingesta calórica diaria fue superior en los MX-S (1580.6 ± 319.2 kcal) en comparación con los MX-EII (941.1 ± 135.5 kcal). En contraste, los grupos españoles presentaron ingestas calóricas más similares entre sí (1471.8 ± 548.03 kcal para ES-EII y 1347.7 ± 463.5 kcal para ES-S), lo cual sugiere que la variación calórica puede estar influida por el consumo de macronutrientes, principalmente carbohidratos, y afectar la composición corporal y la microbiota intestinal en individuos de ambas nacionalidades con EII (Jablońska & Mrowiec, 2023). La comunidad bacteriana mostró diferencias significativas en los grupos con EII en comparación con los controles sanos. La diversidad alfa, medida por el índice Chao, fue menor en los grupos con EII, lo que indica una menor riqueza microbiana en comparación con los sanos (Alam et al., 2020).

Tabla 1. Análisis antropométrico, dietético y de diversidad microbiana de los cuatro grupos de estudio: MX-EII y MX-S representan a los individuos mexicanos con enfermedad inflamatoria intestinal y sanos, respectivamente, mientras que ES-EII y ES-S corresponden a los españoles con enfermedad inflamatoria intestinal y sanos.

Características evaluadas	Grupos de participantes				Valor p
	MX-EII	ES-EII	MX-S	ES-S	
n	15	27	20	17	
Género (femenino/masculino)	8/7	10/17	12/8	9/8	
Peso (kg)	69.1 ± 15.2	77.8 ± 17.3	60.6 ± 6.1	69.6 ± 15.9	0.0015 *
Masa grasa %	26.9 ± 5.3	32.6 ± 11.6	24.7 ± 5.6	29.2 ± 4.9	0.0334 *
Masa magra %	31.3 ± 2.9	24.2 ± 1.3	29.7 ± 5.7	23.7 ± 3.4	0.0001 *
Ingesta calórica diaria (Kilocalorías)	941.1 ± 135.5	1471.8 ± 548.03	1580.6 ± 188.8	1347.7 ± 463.5	0.0001 *
Carbohidratos %	44.2 ± 19.0	54.1 ± 6.7	46.4 ± 9.9	53.7 ± 7.9	0.0139 *
Proteínas %	21.6 ± 4.0	19.8 ± 4.3	22.6 ± 4.9	17.6 ± 3.2	0.0359 *
Lípidos %	34.1 ± 7.3	24.3 ± 6.6	30.8 ± 8.1	25.7 ± 6.5	0.0179 *
Carbohidratos simples %	11.3 ± 14.3	4.8 ± 4.7	1 ± 2.0	3.02 ± 3.8	0.0005 *
Carbohidratos complejos %	32.8 ± 6.1	49.2 ± 6.7	45.4 ± 7.7	50.7 ± 8.1	0.0001 *
Productos lácteos %	1.8 ± 0.4	4.8 ± 1.2	4.05 ± 1.7	3.8 ± 1.3	0.0097 *
Cárnicos %	13.6 ± 3.6	8.9 ± 2.6	12.12 ± 3.5	7.1 ± 2.05	0.006 *
Vegetales %	5.2 ± 1.2	6.0 ± 1.01	5.9 ± 1.1	6.7 ± 1.5	0.4855
Índice de diversidad alfa (Chao 1)	71.11 ± 21.2	66.61 ± 20.0	117.09 ± 11.8	76.33 ± 11.25	0.0033 *

Los valores se presentan como media ± desviación estándar. Los valores de p se calcularon mediante ANOVA para evaluar las diferencias generales entre los grupos. Los resultados estadísticamente significativos se indican con p < 0.05. **Fuente:** propia.

La Tabla 2 presenta las abundancias relativas a nivel de género en los cuatro grupos de estudio. *Faecalibacterium* presentó una mayor abundancia relativa en los grupos con EII (7.16% en MX-EII y ES-EII) en comparación con los grupos sanos (4.88% en MX-S y 5.74% en ES-S). Además, *Prevotella* solo se detectó en los grupos mexicanos (14.45% en MX-EII y 9.80% en MX-S) y *Akkermansia* en los españoles (2.09% en ES-EII y 3.09% en ES-S). Los resultados sugieren una relación entre la EII, la composición de la microbiota intestinal y los factores geográficos y dietéticos específicos de cada país (McDowell et al., 2024).

Tabla 2. Abundancia relativa de las bacterianas intestinales a nivel de género en individuos mexicanos y españoles con EII y controles sanos.

Géneros	% Abundancia relativa			
	MX-S	ES-S	MX-EII	ES-EII
<i>Bacteroides</i>	29.00	36.78	27.55	17.58
<i>Prevotella</i>	9.80	-	14.45	-
<i>Alistipes</i>	4.63	6.04	-	3.61
<i>Parabacteroides</i>	2.27	3.97	2.56	-
<i>Agathobacter</i>	2.38	-	-	3.65
<i>Lachnospira</i>	2.91	-	3.38	-
<i>Lachnospiraceae</i> NK4A136	3.28	-	3.66	9.44
<i>Faecalibacterium</i>	4.88	5.74	7.16	7.66
<i>Ruminococcaceae</i> UCG-002	2.50	3.10	-	-
<i>Ruminococcaceae</i> UCG-014	-	2.73	-	-
<i>Ruminococcus</i>	-	4.75	-	-
<i>Phascolarctobacterium</i>	3.26	-	2.50	-
<i>Dialister</i>	2.17	-	2.14	3.84
<i>Barnesiella</i>	-	2.91	-	-
<i>Paraprevotella</i>	-	2.54	-	-
<i>Akkermansia</i>	-	3.09	-	2.09
<i>Sutterella</i>	-	-	3.19	-
<i>Blautia</i>	-	-	-	5.11
<i>Lachnospiraceae</i>	-	-	-	2.14
<i>Escherichia/Shigella</i>	-	-	-	3.24
<i>Bifidobacterium</i>	-	-	-	2.78
<i>Others</i>	32.85	28.28	33.37	38.80

Fuente: propia

Conclusiones

Los hallazgos de este estudio exploratorio resaltan que la composición bacteriana de la microbiota intestinal en la EII podría estar influenciada por el estado nutricional y los factores geográficos. Estos resultados tienen implicaciones importantes para el abordaje terapéutico y las investigaciones futuras sobre la EII.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Laboratorio de digestión ex vivo del CIATEJ.

Referencias

- Alam, M. T., Amos, G. C. A., Murphy, A. R. J., Murch, S., Wellington, E. M. H., & Arasaradnam, R. P. (2020). Microbial imbalance in inflammatory bowel disease patients at different taxonomic levels. *Gut Pathogens*, *12*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0341-6>
- Al-Amrah, H., Saadah, O. I., Mosli, M., Annese, V., Al-Hindi, R., Edris, S., Alshehri, D., Alatawi, H., Alatawy, M., & Bahieldin, A. (2023). Composition of the gut microbiota in patients with inflammatory bowel disease in Saudi Arabia: A pilot study. *Saudi Journal of Gastroenterology*, *29*(2), 102. https://doi.org/10.4103/sjg.sjg_368_22
- Aldars-García, L., Chaparro, M., & Gisbert, J. P. (2021). Systematic Review: The Gut Microbiome and Its Potential Clinical Application in Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms*, *9*(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050977>
- Borowitz, S. M. (2023). The epidemiology of inflammatory bowel disease: Clues to pathogenesis? *Frontiers in Pediatrics*, *10*, 1103713. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1103713>
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Peña, A. G., Goodrich, J. K., Gordon, J. I., Huttley, G. A., Kelley, S. T., Knights, D., Koenig, J. E., Ley, R. E., Lozupone, C. A., McDonald, D., Muegge, B. D., Pirrung, M., ... Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, *7*(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
- García-Gamboa, R., Díaz-Torres, O., Senés-Guerrero, C., Gradi-lla-Hernández, M. S., Moya, A., Pérez-Brocal, V., Garcia-Gonzalez, A., & González-Avila, M. (2024). Associations between

- bacterial and fungal communities in the human gut microbiota and their implications for nutritional status and body weight. *Scientific Reports*, 14(1), 5703. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54782-7>
- Jabłońska, B., & Mrowiec, S. (2023). Nutritional Status and Its Detection in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Nutrients*, 15(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/nu15081991>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., & Glöckner, F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1), e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Marfell-Jones, M. J., Stewart, A. D., & de Ridder, J. H. (2012). *International standards for anthropometric assessment*. International Society for the Advancement of Kinanthropometry. <https://repository.openpolytechnic.ac.nz/handle/11072/1510>
- McDowell, C., Farooq, U., & Haseeb, M. (2024). *Inflammatory Bowel Disease*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470312/>
- R: *The R Project for Statistical Computing*. (2024). R. Recuperado de. <https://www.r-project.org/>

Caracterización Físicoquímica de la Termoestabilidad de un Nanoanticuerpo vNAR

García-García, Omar Elie¹, Camacho-Villegas, Tanya Amanda^{1*} y Lugo-Fabres, Pavel Hayl²

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue determinar la capacidad de reconocimiento, termoestabilidad y estabilidad a pH del anticuerpo vNAR purificado y plegado. Se realizaron experimentos para evaluar la estabilidad de un fragmento de anticuerpo vNAR producido como proteína recombinante expresada en la cepa *E. coli* BL21 (pLysS), a partir de una clona que codifica para este anticuerpo. Se consideraron diversos valores de pH y temperatura, así como su capacidad de reconocimiento molecular a objetivos terapéuticamente relevantes. Las propiedades físicoquímicas o biofísicas demostradas por el dominio vNAR evaluado en el presente trabajo: 1) Especificidad y alta afinidad por el antígeno, 2) Alta estabilidad al ser expuesta a altas temperaturas, dando la ventaja de almacenarlos por periodos prolongados y poder transportarlos hasta lugares donde la refrigeración no es factible. Demuestran el potencial para ser empleados en aplicaciones biotecnológicas de terapia y diagnóstico.

Introducción

El desarrollo de diagnósticos rápidos, precisos y de bajo costo para aplicaciones biomédicas es uno de los principales objetivos de la industria farmacéutica, con la finalidad de reducir los índices de morbilidad y mortalidad causados por diversas enfermedades en nuestro país. Tales pruebas de diagnóstico deben ser fáciles de utilizar y lo suficientemente robustas para sobrevivir a la exposición a condiciones extremas de temperatura y humedad. Los nuevos receptores de antígenos de inmunoglobulina (IgNARs) son una clase de moléculas del sistema inmune de los elasmobranquios que son similares a las inmunoglobulinas IgG de mamíferos. Este tipo de

¹ Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C., Guadalajara, Jalisco, México.

² CONAHCYT-CIATEJ, Avenida Normalistas N° 800, Colinas de la normal, 44270, Guadalajara, Jalisco, México.

*Autor de correspondencia: Tanya Amanda Camacho Villegas, tcamacho@ciatej.mx

inmunoglobulinas IgNAR se unen a los antígenos por sus regiones variables, las cuales consisten en un solo dominio (denominados vNAR), con un tamaño que oscila entre 12 y 15 kDa. Diversos estudios han reportado que, debido a su estructura monomérica, los dominios vNAR están plegados de forma independiente y han demostrado alta estabilidad biofísica, alta solubilidad y capacidad de unión a una variedad de antígenos. Además, tienen la capacidad de recuperar su estructura nativa original fácilmente después de calentarlos a temperaturas de más de 90 °C. Estas propiedades fisicoquímicas y farmacológicas únicas de los fragmentos de anticuerpos de dominio sencillo (sdAb) de tiburón abren la posibilidad de uso para la generación de nuevos productos biotecnológicos que impacten en el tratamiento de enfermedades humanas graves, ofreciendo ventajas sobre las plataformas de anticuerpos clásicos.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó partiendo de una clona de *E. coli* BL21(-DE3) pLysS que contiene el plásmido pACR 2.1 con el fragmento codificante para el anticuerpo de dominio sencillo vNAR, el cual se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología Medica Farmacéutica del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). El desarrollo del trabajo incluyó desde la expresión recombinante del nanoanticuerpo vNAR, extracción y purificación de forma soluble y desnaturalizante, así como la forma renaturalizada. El nano anticuerpo fue sometido a un rango de temperaturas, desde condiciones fisiológicas hasta extremas. Se evaluó la estabilidad en diferentes valores de pH, simulando diversos entornos biológicos. Finalmente, se analizó la capacidad del nanoanticuerpo vNAR para reconocer y unirse a su antígeno específico.

Resultados y discusiones

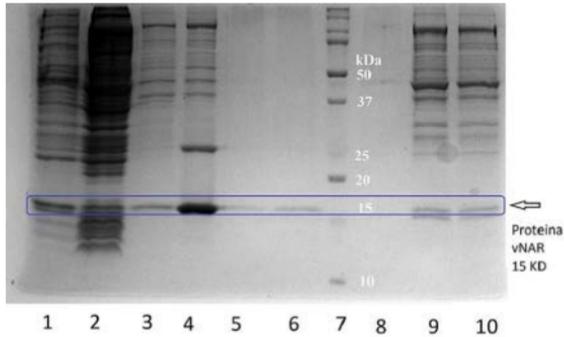


Figura 1. SDS- PAGE Glicina 12% comparativo de purificación de proteína vNAR en su forma nativa (N), desnaturalizada (D) y replegada (P). 1: Extracto No retenido; 2 y 3, lavado de la columna 1 y 2 respectivamente; 5: Proteína nativa purificada; 4: Proteína desnaturalizada; 6: Proteína replegada; 8: Lavado final de la columna, en la cual no se observa pérdida del anticuerpo vNAR; 9 y 10: Eluciones de proteína vNAR desnaturalizada, esta proteína fue empleada como control en este gel

Fuente: propia

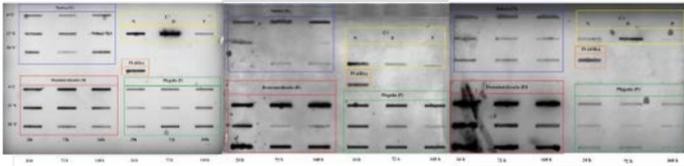


Figura 2. Análisis de la estabilidad de un anticuerpo vNAR después de tres condiciones de purificación (Nativa, Desnaturalizada y Plegada) y en una solución a pH constante de 5.5, 7.4 y 8.5 El anticuerpo fue incubado a diversas temperaturas (4, 37 y 50 °C) y por diferentes tiempos (24, 72 y 168 h). Posteriormente, las muestras fueron inmovilizadas sobre una membrana de nitrocelulosa, se reveló con un anticuerpo anti-His y un segundo anticuerpo acoplado a HRP

Fuente: propia

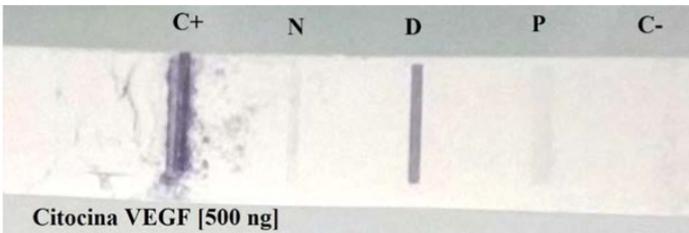


Figura 3. Ensayo de reconocimiento de la citocina VEGF165, con el anticuerpo vNAR purificado. Se observa el efecto de reconocimiento del anticuerpo vNAR cuando se utilizan las tres formas de proteína purificada que fueron denominadas, Nativa (N), Desnaturalizada (D) y Plegada (P). Como Control positivo (C+) del Dot blot se incluyó una proteína irrelevante, pero con etiqueta de 6His y como Control negativo (C-) se utilizó buffer PBS 1X

Fuente: propia

Conclusiones

Nuestro estudio proporciona una base para futuras investigaciones y aplicaciones de nanoanticuerpos vNAR. El nanoanticuerpo vNAR estudiado posee características excepcionales de estabilidad manteniendo la capacidad de reconocimiento molecular al antígeno, independientemente del método de purificación (Nativa, Desnaturalizada y Plegada) a diferentes tiempos de incubación variando las condiciones de temperatura y pH. Los resultados obtenidos demuestran la versatilidad potencial de este dominio de anticuerpo para ser empleado en aplicaciones de terapia y diagnóstico más complejas. Las terapias basadas en estos fragmentos tendrían una larga duración en almacén, abrir oportunidades para nuevas vías de administración y el desarrollo de reactivos o aplicaciones de diagnóstico.

Lo que lo hace altamente prometedor para aplicaciones en diagnóstico, terapia y biotecnología, especialmente en condiciones donde los anticuerpos convencionales podrían degradarse.

Conflictos de interés

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Referencias

- García, J., Santana, Z., Zumalacárregui, L., Quintana, M., González, D., Furrázola, G., & Cruz, O. (2013). Estrategias de obtención de proteínas recombinantes en *Escherichia Coli*. *VacciMonitor*, 22(2),30–39. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v22n2/vac06213.pdf>
- Griffiths, K., Dolezal, O., Parisi, K., Angerosa, J., Dogovski, C., Barraclough, M., Sanalla, A., Casey, J. L., González, I., Perugini, M. A., Nuttall, S., & Foley, M. (2013). Shark Variable New Antigen Receptor (VNAR) Single Domain Antibody Fragments: Stability and Diagnostic Applications. *Antibodies*, 2(1), 66-81. <https://doi.org/10.3390/antib2010066>
- LI, J., & ZHU, Z. (2010). Research and development of next generation of antibody-based therapeutics. *Acta Pharmacologica Sinica*, 31, 1198–1207. <https://doi.org/10.1038/aps.2010.120>

Walsh, G. (2003). Pharmaceutical biotechnology products approved within the European Union. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55(1),3-10. [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(02\)00165-0](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(02)00165-0)

Evaluación de la capacidad de reconocimiento de un vNAR anti TGF- β recombinante (Trx-vNART1)

Ku-Centuri3n, Marco¹, Echavarría-Zepeda, Raquel²,
Lugo-Fabres, Pavel Hayl^{1,3} y Camacho-Villegas, Tanya Amanda*

Resumen

En M3xico existe una alta prevalencia de da1o renal siendo detectado en etapas avanzadas. Las estrategias que permitan detectar los eventos tempranos de da1o renal son limitadas o de dif3cil implementaci3n. Ante la falta de una manera de conocer el grado de avance de fibrosis renal, se propone evaluar la capacidad de reconocimiento de la prote3na Trx-vNART1 con capacidad de reconocimiento de la citocina TGF- β , como una estrategia de detecci3n de marcadores directos de fibrosis en eventos como la enfermedad renal cr3nica. Fue construida una prueba de ELISA empleando el Trx-vNART1. El ensayo ELISA desarrollado demuestra que la prote3na Trx-vNART1 tiene capacidad de reconocimiento de TGF- β y conserva la linealidad.

Palabras clave: Trx-vNART1, TGF- β , ELISA, linealidad, ERC.

Introducci3n

La enfermedad renal cr3nica (ERC) representa un problema de salud importante en M3xico. Esta condici3n es irreversible, pero se considera prevenible. Se asocia con condiciones cr3nico-degenerativas como la diabetes e hipertensi3n arterial no controlada, por lo que existe un gran n3mero de personas que tiene un grado de afectaci3n renal. La enfermedad renal es una condici3n que tiene un avance lento y silencioso, por lo general es detectada cuando el da1o renal mediado por fibrosis est3 establecido y este no es reversible.

¹ Unidad de Biotecnolog3a M3dica Farmac3utica, Centro de Investigaci3n y Asistencia en Tecnolog3a y Dise1o del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara Jalisco, M3xico.

² Investigador por M3xico CONAHCYT-Centro de Investigaci3n Biom3dica de Occidente (CIBO), Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jalisco, M3xico.

³ Investigador por M3xico CONAHCYT- Unidad de Biotecnolog3a M3dica Farmac3utica, Centro de Investigaci3n y Asistencia en Tecnolog3a y Dise1o del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara, Jalisco, M3xico.

* Autor de correspondencia: Tanya Camacho-Villegas, tcamacho@ciatej.mx

Los vNAR's son moléculas biológicas de unos 15 kDa de peso, lo que los hace idóneos para ser producidos de manera recombinante. Entre los vNAR's se encuentran algunos que son capaces de detectar citocinas como el TGF- β . El TGF- β es una citocina clave en procesos fibróticos e incrementa en la enfermedad renal crónica, entonces puede servir como biomarcador de procesos de daño al riñón.

Materiales y Métodos

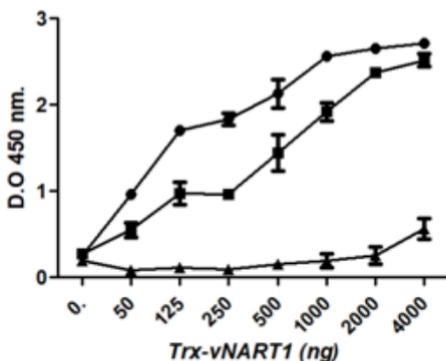
La expresión, purificación y evaluación del vNAR anti TGF- β fueron reportadas por Martínez-Olivares et al. (2014), posteriormente en nuestro equipo de trabajo su secuencia se insertó en la construcción pCOMB3X-T1. Se midió la afinidad del vNART1 por Burciaga Flores et al. (2023) y posteriormente fue subclonado el vNAR en el plásmido pET32a+. Esta construcción fue nombrada Trx-vNART1. Fue construido un esquema de inmunoensayo basado en inmunoadsorción enzimática (ELISA) directa en donde se inmovilizaron las tres isoformas de TGF- β recombinante humano (*rh*TGF- β 1, 2 y 3) en una placa adherente para inmunoensayo, colocando 100 ng totales. Para la evaluación de reconocimiento de las isoformas se agregaron diluciones seriadas (1:2) de la proteína Trx-vNART1 iniciando en 4000 ng hasta 0 ng por pocillo y triplicado. La placa fue incubada durante 1 h a 37°C, seguido de 5 lavados. Posteriormente, se agregaron 50 μ L de anticuerpo anti-histidina conjugado a peroxidasa (HRP) en una dilución 1:1000 en BSA 1%-Tween 20 al 0.05% en PBS 1X. Este sistema fue incubado por 2 h a 37 °C. Se realizaron 5 lavados, seguido de la adición del sustrato de revelado 1-StepUltra TMB-ELISA. La placa fue incubada a 37 °C por 10 min en ausencia de la luz y se detuvo la reacción con una solución de ácido sulfúrico 0.5 M. La lectura fue realizada en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm.

Para las evaluaciones de linealidad se procedió a construir una curva de calibración para evaluar la linealidad de respuesta de Trx-vNART1. La curva fue realizada con *rh*TGF- β considerando: 0, 10, 80, 160, 240, 390 y 500 ng/mL por pozo. La placa fue incubada toda la noche a 4 °C, bloqueada usando BSA al 3% e incubación de 37 °C durante 2 h. Se realizaron 5 lavados empleando PBS 1X Tween 0.05%. Posteriormente, fueron agregados 50 μ L del vNART1 a cada

pocho de la placa, incubado, lavado, revelado y leído siguiendo los pasos anteriormente descritos. Para la determinación de la linealidad los datos de la señal, fueron sometidos al modelo matemático de regresión lineal para obtener el coeficiente de correlación r^2 .

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos corresponden a una curva dependiente de concentración, ya que al modificar la concentración de la proteína Trx-vNART1 existe una respuesta directamente proporcional a la absorbancia obtenida (Gráfica 1). Los resultados muestran que la proteína Trx-vNART1 reconoce preferentemente las isoformas 1 y 2 de la citocina TGF- β . Anteriormente, se había reportado que el dominio vNART1 nativo reconocía de manera similar a las tres isoformas. Por lo tanto, serían necesarios más experimentos para confirmar si la presencia de la proteína chaperona tioredoxina en la proteína Trx-VNART1 afecta el reconocimiento por la isoforma 3.



Gráfica 1. Determinación de la capacidad de detección de TGF- β en sus tres isoformas por Trx-vNART1. La cantidad detectada de citocina es constante, son evaluadas cantidades de crecientes de Trx-vNART1 (0-4000 ng)

Fuente: Imagen tomada de Ku-Centurión et al., 2020

Se corrieron un total de 15 repeticiones en días diferentes. Cada curva de calibración tuvo al menos 6 puntos y cada punto se analizó por duplicado. El coeficiente de correlación r^2 es aceptable ya que siempre se encuentra entre 0.9 (máximo de 0.99 y mínimo de 0.89), lo que representa linealidad adecuada (Imagen 1).

En esta evaluación se determinó el límite mínimo de detección de citocina que la proteína Trx-vNART1 es capaz de detectar, es de 4 ng/mL de rhTGF- β 1. Esto corresponde a una cantidad considerable en contraste a cantidades mucho menores con las que trabajan los kits comerciales empleados en la detección de TGF- β que se encuentran en el rango de picogramos.

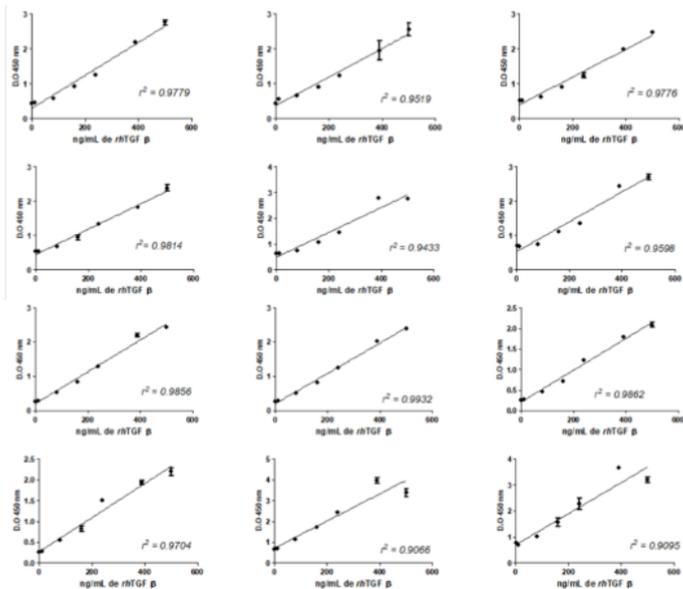


Imagen 1. Evaluación de la capacidad de respuesta lineal de detección por Trx-vNART1 empleando una curva de calibración de concentraciones conocidas de rhTGF- β 1 mediante un formato ELISA. Se evaluaron siete puntos de concentración, 12 repeticiones en días diferentes, se muestra el análisis de regresión lineal con el coeficiente de correlación r^2

Fuente: Imagen tomada de Ku-Centurión et al., 2021

Conclusiones

Fue comprobada la capacidad de reconocimiento de las tres isoformas del TGF- β por Trx-vNART1 a través de una prueba ELISA, siendo la isoforma 1 del TGF- β 1 la principalmente reconocida. La respuesta de reconocimiento del Trx-vNART1 fue proporcional a la concentración de su antígeno obteniéndose un coeficiente de correlación adecuado confirmando la linealidad en su respuesta

estableciendo el límite mínimo de detección en 4 ng de TGF- β en la prueba de ELISA directa.

Conflicto de intereses

Los investigadores declaran que no existe relación comercial o financiera que pueda interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Beca de maestría otorgada por el Consejo Nacional Para la Ciencia y Tecnología para la formación de Marco Ku Centurión con CVU 904734, estudiante del programa de Doctorado en Innovación Biotecnológica.

Proyecto Número B-S-42687, Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social, 2018. Responsable técnico Dra. Raquel Echavarría Zepeda.

Referencias

- Burciaga-Flores, M., Márquez-Aguirre, A. L., Dueñas, S., Gasperin-Bulbarela, J., Licca-Navarro, A. F., & Camacho-Villegas, T. A. (2023). First pan-specific vNAR against human TGF- β as a potential therapeutic application: in silico modeling assessment. *Scientific reports*, *13*(1), 3596. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30623-x>
- Griffiths, K., Dolezal, O., Parisi, K., Angerosa, J., Dogovski, C., Barraclough, M., Sanalla, A., Casey, J. L., González, I., Perugini, M. A., Nuttall, S., & Foley, M. (2013). Shark Variable New Antigen Receptor (VNAR) Single Domain Antibody Fragments: Stability and Diagnostic Applications. *Antibodies*, *2*(1), 66-81. <https://doi.org/10.3390/antib2010066>.
- Ku-Centurion, M. J. (2020). Producción recombinante de una proteína conformada por tiorredoxina y el dominio vNART1 con reconocimiento específico a rhTGF- β . *Academia Journals*, *12*(6), 585–590. https://www.researchgate.net/profile/Marco-Ku-Centurion/publication/344679485_Recombinant_production_of_vNAR_anti_TGF-beta/links/5f8921b092851c14bccc2030/Recombinant-production-of-vNAR-anti-TGF-beta.pdf

- Ku-Centurion, M. J. (2021). *Desarrollo de una prueba elisa basada en dominios VNAR anti-TGF β para la potencial detección de enfermedad renal crónica* [tesis de maestría, Centro de Investigación y Asistencia en tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.]. Repositorio institucional CIATEJ. <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/796>
- Olivares, C. E. M. (2014). *Purificación y evaluación citotóxica de un anticuerpo tipo vNAR neutralizante de TGF-beta, aislado del tiburón Heterodontus francisci* [tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. Repositorio institucional CICESE. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/620>
- Meng, X. M., Chung, A. C., & Lan, H. Y. (2013). Role of the TGF- β /BMP-7/Smad pathways in renal diseases. *Clinical science (London, England : 1979)*, 124(4), 243–254. <https://doi.org/10.1042/CS201202521>
- Topete-Reyes, J. F. (2015). TGF- β y otras moléculas profibróticas en enfermedad renal crónica. *Revista Medica MD*, 5(3), 105–110. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2014/md142d.pdf>

Evaluación *in vitro* del efecto citotóxico de liposomas cargados con verde de indocianina (ICG) y nanopartículas de oro (AuNPs), en conjunto con Hipertermia en células de glioblastoma U87 y efecto antitumoral preliminar *in vivo*

López González, Susana Montserrat¹, Hernández Gutiérrez, Rodolfo², Pineda Medina, Alfredo², Valdivia Aviña, Karla², Ochoa Hugo, Sarah Eliuth², Guzmán Barba, Clara Lucía³, Román Aguirre, Manuel³, Cuando Espitia, Natanael³, y Bernal Martínez, Juan¹³

Resumen

El glioblastoma multiforme (GBM) es una neoplasia del sistema nervioso central de mal pronóstico. La hipertermia (HT), inducida mediante nanopartículas de oro (AuNPs) y verde de indocianina (ICG) irradiadas con luz infrarroja cercana (NIR), induce apoptosis y necrosis tumoral. Los liposomas, al ser biocompatibles, mejoran la administración de fármacos. Se evaluó el efecto citotóxico de liposomas +ICG+AuNPs+NIR *in vitro* e *in vivo*. La actividad citotóxica *in vitro* de liposomas +ICG+AuNPs sobre células tumorales U-87MG-GFP fue del 86% con HT. *In vivo*, el tratamiento redujo significativamente el tamaño tumoral y los tumores no irradiados crecieron constantemente. Los resultados coinciden con estudios previos que muestran la eficacia del uso de ICG y AuNPs (no liposomal) en el tratamiento tumoral. La combinación de ICG más AuNPs cargados en liposomas, más irradiación y HT parece ser una estrategia prometedora para futuros estudios *in vivo* en modelos tumorales fluorescentes.

Palabras clave: Glioblastoma Multiforme, ICG, AuNPS, NIR, liposomas, Hipertermia.

¹ Laboratorio de Investigación Traslacional de Terapias contra el Cáncer (LITTCa), Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Consejo Nacional de Tecnología y Ciencia, Guadalajara, Jalisco, México.

² Centro de Investigación de Materiales Avanzados, Chihuahua, Chihuahua, México.

* Autor de correspondencia: Susana Montserrat López González, sushimontse2001@gmail.com

Introducción

El glioblastoma multiforme (GBM) es una de las neoplasias primarias más agresivas y con peor pronóstico dentro del sistema nervioso central (SNC). Se ubica en el 13vo lugar, y se ha determinado una incidencia aproximada de 3.19 a 4.17 casos por 100 000 personas al año.

La hipertermia (HT) es inducible con nanomateriales como las nanopartículas de oro (AuNPs), que poseen la capacidad de absorber luz a una longitud de onda de 600-800nm en la región del infrarrojo cercano (NIR). Al ser irradiadas, se genera un incremento de temperatura hasta los 43-45 °C e induce muerte celular *in vitro* y necrosis tumoral *in vivo* por apoptosis. La HT también incrementa la susceptibilidad de células tumorales a otras terapias.

Así mismo, los liposomas son reconocidos por su capacidad de bioestabilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad ya que funcionan como un sistema eficaz para la administración de fármacos, optimizando diversas terapias biomédicas y mejorando la biodistribución de estos compuestos hacia sitios específicos *in vivo*.

Los tratamientos o terapias contra el GBM son limitados y poco efectivos. La barrera hematoencefálica provee limitaciones en el uso de terapias que son utilizadas en terapias convencionales para otros tipos de cáncer. Basado en lo anteriormente citado, es importante explorar nuevas posibles terapias para el tratamiento de los tumores cerebrales que permitan dar a los pacientes una alternativa de terapia más efectiva y una mejor calidad de vida. La combinación de liposomas +ICG+AuNPs+NIR y la hipertemia podría abonar a la búsqueda de nuevas terapias que sean más eficaces y/o que coadyuven a las ya existentes.

Objetivo: Evaluar el efecto citotóxico de liposomas cargados con verde de indocianina (ICG) más AuNPs e hipertermia inducida por irradiación con NIR en modelo *in vitro* e *in vivo* en células de glioblastoma multiforme (GBM).

Materiales y Métodos

Su utilizaron células tumorales U-87 MG-GFP, cultivadas en medio DMEM a 37 °C, a 5% de CO₂ para evaluar el efecto de liposomas cargados con ICG+AuNPs 1X y 2X; la citotoxicidad *in vitro* se evaluó por medio del ensayo MTT. Los liposomas fueron administrados por

vía intratumoral, en un modelo de tumor en un murino. Los tumores se generaron por inoculación subcutánea de células y matrigel, dilución 1:1. Ambos modelos fueron a irradiación con NIR a 2W por 10 min hasta alcanzar los 43 °C con sus respectivos grupos control.

Resultados y discusión

La citotoxicidad *in vitro* fue del 86% con ICG + AuNPs + hipertermia y solo 20% en las células sin irradiar Figura 1. En el ensayo *in vivo*, el tumor con tratamiento completo c disminuyó de tamaño a los ocho días, mientras que los tumores no irradiados a y b aumentaron de tamaño a partir del cuarto día (Figura 2) (Figura 3) (Figura 4).

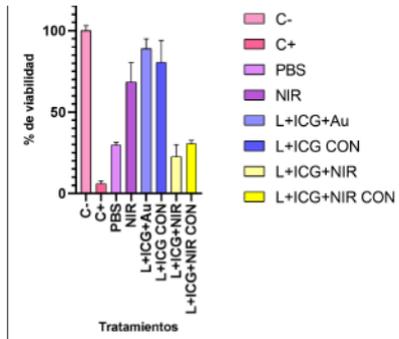


Figura 1. Porcentaje de viabilidad celular (media \pm DE) en células de control no tratadas y tratamientos: L + ICG + Au; L + ICG CON; L + ICG + NIR y L + ICG + NIR CON.
Fuente: Propia.

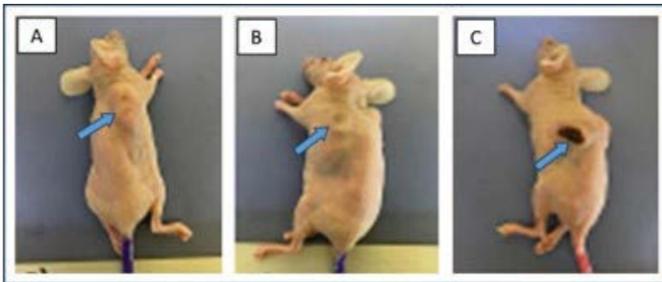


Figura 2. Efecto antitumoral. Tratamientos: tumor A) L + ICG sin irradiar; tumor B) L + ICG + CON sin irradiar; y tumor C) L + ICG CON + AuNPs + radiación (hipertermia).
Fuente: Propia.

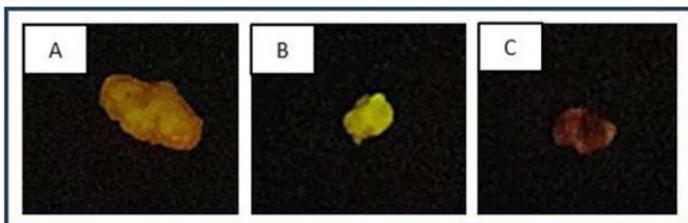
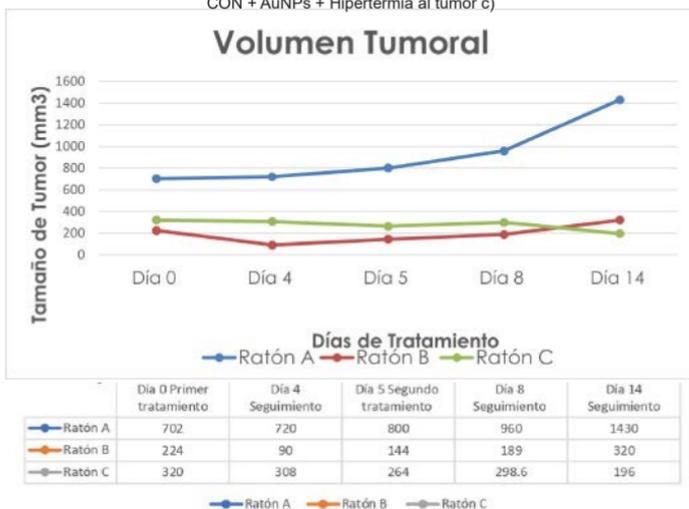


Figura 3. Efecto antitumoral. Tumores extirpados Tratamientos: tumor A) L + ICG sin irradiar; tumor B) L + ICG + CON sin irradiar; y tumor C) L + ICG CON + AuNPs + Hipertermia.
Fuente: Propia.

Tabla 1. Gráfico efecto antitumoral. Tumor (mm3), en la aplicación del tratamiento L + ICG + CON + AuNPs + Hipertermia al tumor c)



La reducción del tamaño tumoral observado *in vivo* coincide con reportes previos en los cuales se ha demostrado que el uso de ICG, así como las AuNPs, se acumulan eficientemente en los tumores, mostrando efectos antitumorales importantes con NIR, así como el ICG liposomal.

Conclusiones

Los resultados obtenidos con la combinación de liposomas con ICG + AuNPs + irradiación + hipertermia nos permiten concluir que es una

estrategia útil para la realización de estudios con hipertermia citotóxica y antitumoral. Estos resultados preliminares del efecto antitumoral *in vivo* son prometedores y permiten deducir que será interesante realizar posteriores estudios completos *in vivo* sobre tumores fluorescentes ectópicos y/o Orthotópicos generados con células de U87 MG GFP.

Conflicto de intereses

Declaro que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Los resultados fueron obtenidos gracias al financiamiento de los proyectos: FORDECYT-PRONACES/568483/2020 y FORDECYT-PRONACES/102963/2020 de este último se pagó una beca para tesis de licenciatura a la pasante de biología Susana M. López González.

Agradecimientos

Agradezco al Doctor Rodolfo Hernández Gutiérrez por haber contribuido con la realización de este trabajo y por siempre proporcionarme su apoyo y atención en todo momento.

Finalmente, agradezco a CIATEJ, al LITTCa y al fondo FORDECYT-PRONACES/102963/2020 por contribuir a la realización de esta investigación al permitirme utilizar el equipo y las instalaciones que se requirieron durante cada proceso.

Referencias

- De Matteis, V., & Rinaldi, R. (2022). Toxicity assessment in the nanoparticle era. *Cancers*, *14*(10), 2412. <https://doi.org/10.3390/cancers14102412>
- Manzoor, A. A., Lindner, J. R., & Mukherjee, A. (2021). Theranostic applications of nanoparticles in cancer: Emerging strategies for imaging and therapy. *Advances in Nano Research*, *3*(1), 1-16. doi:10.1016/j.mtsust.2021.100078
- Moreno-García, C., & García-González, J. (2024). Glioblastoma multiforme: Una revisión epidemiológica, fisiopatológica y

- terapéutica. *Revista Portales Médicos*, 19(15), 540. Recuperado de <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/glioblastoma-multiforme-una-revision-epidemiologica-fisiopatologica-y-terapeutica/>
- Parada Peralta, J. A., & Chapa González, C. (2021). Inhibición de Crecimiento de Tumores de Cáncer de Próstata en Hipertermia Magnética mediada por Nanopartículas en Estudios Preclínicos: una Revisión de Alcance: Prostate Cancer Tumor Growth Inhibition in Nanoparticle mediated Magnetic Hyperthermia on Preclinical trials: a Scoping Review. *Memorias Del Congreso Nacional De Ingeniería Biomédica*, 8(1), 164–167. Recuperado de <https://memoriascnib.mx/index.php/memorias/article/view/921>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2022). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(3), 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tamai, K., Mizushima, T., Wu, X., Inoue, A., Ota, M., Yokoyama, Y., Miyoshi, N., Haraguchi, N., Takahashi, H., Nishimura, J., Hata, T., Matsuda, C., Doki, Y., Mori, M., Yamamoto, H. (2018). Photodynamic therapy using indocyanine green-loaded nanoparticles: An *in vitro* and *in vivo* study. *Molecular Cancer Therapeutics*, 17(7), 1613-1621. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0788>

Impacto del SNP rs2501432 sobre la función del receptor CB2 y su rol en la esquizofrenia

Macías Gámez, Ana Karen¹, Moreno Rocha, José Claudio¹, Robles Sierra, Elda Josefina¹, y González Hernández, Brenda^{*}

Resumen

El presente trabajo presenta el SNP rs2501432 (Q63R) en el receptor CB2, parte del sistema endocannabinoide, y su vínculo con la esquizofrenia. Mediante programas de predicción, se observó que las variantes mutadas aumentan la interacción con la proteína beta-arrestina 2 y afectan proteínas de fosforilación, lo que podría secuestrar al receptor CB2 en la membrana. Estos resultados sugieren un posible rol de este SNP en la señalización celular asociada con la esquizofrenia, destacando la necesidad de más estudios para profundizar en su impacto molecular.

Palabras clave: esquizofrenia, snp rs2501432, receptor CB2, neuroinflamación, beta-arrestina 2.

Introducción

La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico con etiología multifactorial que abarca factores genéticos, ambientales y neurobiológicos. Dentro de los factores genéticos está la presencia de SNPs, (variaciones comunes en la secuencia de ADN) y están vinculados a susceptibilidad a patologías y respuesta a fármacos. Uno de estos SNPs es rs2501432, el cual sustituye el aminoácido glutamina (Q) por arginina (R) en el receptor cannabinoide CB2, el cual es miembro del sistema endocannabinoide, regulando actividades en el sistema nervioso central y juega un papel en la neuroprotección y la neuroinflamación. Diversos autores han sugerido que los cambios en el receptor CB2, causadas por SNPs, pueden influir en la liberación de dopamina y reducir la actividad neuroinflamatoria, factores que son importantes en el desarrollo y severidad de la esquizofrenia. Este SNP ha sido investigado en poblaciones caucásicas y afroamericanas;

¹ Laboratorio de Ciencias Genómicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

^{*}Autor de correspondencia: Brenda González Hernández, brenda.gonzalezhn@uanl.edu.mx

sin embargo, los estudios sobre su prevalencia y efectos en poblaciones latinoamericanas son nulos (Vanegas, 2020). Este trabajo se enfoca en analizar la prevalencia de los SNPs rs2501432 en población latinoamericana, el impacto sobre la estructura y función del receptor CB2, así como una posible asociación con la esquizofrenia.

Materiales y Métodos

Este estudio es de tipo descriptivo y diseño transversal. Se enfoca en el análisis estructural y funcional del SNP rs2501432 del receptor CB2, y su posible asociación a la esquizofrenia. Se realizaron modelos con programas bioinformáticos para evaluar las diferencias estructurales y funcionales en las variantes de CB2 (variante nativa y mutada). No se aplicó un muestreo directo, ya que se usaron datos secundarios de estudios previos en diferentes poblaciones latinas. No se establecieron criterios de inclusión ni exclusión.

Análisis del SNP: Se realizó una revisión detallada en las bases de datos del NCBI y ENSEMBL para documentar la prevalencia en poblaciones latinas y características de rs2501432.

Modelado de Estructuras 3D: Para investigar el efecto estructural, se realizó el modelado por homología con SWISS-MODEL, creando modelos de la variante nativa y mutadas (Q63R y Q63P) de CB2 e identificar cómo los cambios en el aminoácido afectan las propiedades fisicoquímicas y por ende la estructura de la región intracelular del receptor.

Predicción de Impacto: Se realizaron ensayos con PolyPhen-2 y Dyna-Mut para predecir el impacto del SNP en la estabilidad y dinámica del receptor CB2. Aunque PolyPhen-2 clasificó la mutación como “benigna”, Dyna-Mut arrojó información sobre los cambios en la energía libre ($\Delta\Delta G$) que podrían afectar la estabilidad del receptor.

Interacciones Proteína-Proteína: Se usó UCSF Chimera para modelar la interacción entre las variantes de CB2 con proteínas GRK y beta-arrestina 2 para observar cómo el SNP afecta las interacciones proteicas.

Resultados y Discusión

La variante Q63R se presenta mayoritariamente en poblaciones de ascendencia latinoamericana, mientras que la variante Q63P fue

prácticamente ausente, el modelado tridimensional mostró que la sustitución de glutamina por arginina en la posición 63 de la secuencia del receptor impacta el bucle intracelular (ICL1), mismo que conecta los dominios transmembranales TM1 y TM2 (Imagen 1). La presencia de arginina añade una carga positiva que puede modificar las interacciones moleculares, impactando la unión con proteínas de señalización intracelular, como beta-arrestina 2, y posiblemente afectando la activación del receptor.

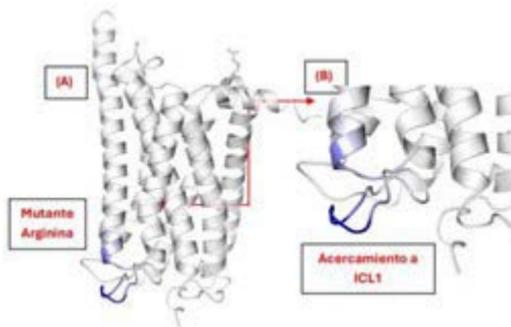


Imagen 1. Los aminoácidos se colorean según el cambio de entropía vibratoria tras la mutación, donde el color AZUL representa una rigidez de la estructura y el ROJO una ganancia de flexibilidad. (A) Se representa al receptor completo. (B) Acercamiento a ICL1

Fuente: propia

Los modelos de interacción con Chimera indicaron que la variante Q63R tiene una mayor afinidad de interacción con la proteína beta-arrestina 2, en comparación con la variante nativa (imagen 2). Este aumento en la interacción indicaría una tendencia del receptor mutado a ser secuestrado en la membrana, lo cual podría reducir su capacidad de activar la vía de señalización a través de la proteína G y así disminuir la regulación de la dopamina, así como para controlar la neuroinflamación: dos factores clave en el desarrollo de la esquizofrenia.

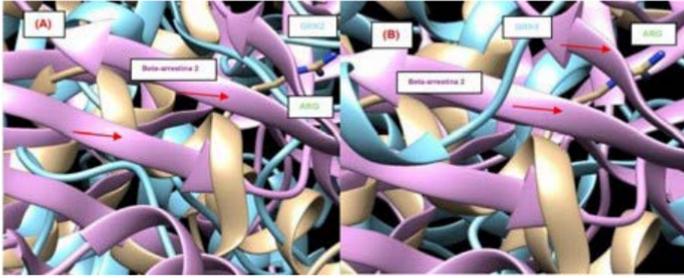


Imagen 2. Modelo de interacciones entre el modelo mutado/GRK2 asociado a beta-arrestina 2. Se observan al menos el aumento de dos interacciones (señalados en flechas rojas) además de cambios en los reordenamientos con beta-arrestina 2 y GRK2. (B) El modelo CB2 mutado interaccionando con GRK5 y beta-arrestina 2 muestra una estructura similar

Fuente: propia

La heterogeneidad de la esquizofrenia implica que múltiples vías moleculares y factores genéticos pueden contribuir a su complejidad. Estos hallazgos destacan la importancia de realizar ensayos en laboratorio y simulaciones de dinámica molecular para validar el papel de rs2501432 en la señalización del receptor CB2 y en el desarrollo de la esquizofrenia. Un mayor entendimiento de SNP-CB2 podría aportar nuevas perspectivas para el tratamiento y diagnóstico de la esquizofrenia, especialmente en poblaciones que presentan una alta frecuencia de esta variante.

Conclusión

El SNP rs2501432 altera las interacciones de CB2, lo que podría tener implicaciones importantes para la esquizofrenia y otros trastornos neuropsiquiátricos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Este trabajo de investigación no recibió financiamiento específico de agencias públicas, comerciales o sin fines de lucro

Referencias

Actividad cicatrizante in vitro de extractos individuales y combinados de *Tagetes nelsonii* Greenm, *Agave americana* y *Aloe vera*

Olán-Jiménez, Karen¹, Cruz-Rodríguez, Rosa^{1*}, Couder-García, Beatriz², y Jacobo-Herrera, Nadia³

Resumen

El objetivo del trabajo fue la actividad cicatrizante de *Tagetes nelsonii* Greenm, *Agave americana* (L.) y *Aloe vera* (L.) Burm. f. y el posible efecto sinérgico al combinarlas. Se determinó el contenido de fitoquímicos de las tres especies vegetales, su efecto citotóxico en células fibroblásticas (3T3) y queratinocitos (HaCaT) y la actividad cicatrizante. El extracto de *T. nelsonii* presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y de otros grupos de metabolitos secundarios. De acuerdo con las LC50 obtenidas en la prueba de citotoxicidad, los extractos no son tóxicos en células 3T3 ni en HaCaT. Finalmente, la combinación del extracto de *A. americana* y el gel de *A. vera* permitieron el 97% de cierre herida en menor tiempo.

Palabras clave: *Tagetes nelsonii*, *Agave americana*, *Aloe vera*, extractos combinados, cicatrización de heridas.

Introducción

Actualmente, las heridas en la piel son provocadas por diversos agentes físicos y mecánicos poniendo en riesgo la integridad del proceso de cicatrización (Singh et al., 2017; Chen et al., 2020). De manera reciente, las plantas se han utilizado en diversas industrias como la farmacéutica, cosmética y medicinal debido a sus compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas. Gracias a esto, son una opción prometedora para el tratamiento y la cicatrización

¹ Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico Nacional de México/IT Tuxtla Gutiérrez, Carretera Panamericana Km 1080, Tuxtla Gutiérrez 29050, México.

² CONAHCYT—Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Subsele Sureste, Parque Científico Tecnológico de Yucatán, Tablaje Catastral 31264, Mérida 97302, México.

³ Unidad de Bioquímica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Av. Vasco de Quiroga 15, Col. Belisario Domínguez Sección XVI, Tlalpan, Ciudad de México 14080, México.

* Autor de correspondencia: Cruz-Rodríguez Rosa, vikrose1@gmail.com

de heridas (Albahri et al., 2023). Las plantas medicinales pueden exhibir actividades biológicas individuales; sin embargo, es posible que sus propiedades terapéuticas puedan mejorarse en un contexto sinérgico combinándolas. Previos estudios han demostrado que una combinación de extractos de plantas mejora significativamente la cicatrización de heridas a través de la proliferación y migración celular en comparación con el uso de extractos individuales.

Tagetes nelsonii Greenm es una planta utilizada empíricamente para tratar trastornos gastrointestinales; sin embargo, no hay estudios sobre su uso como cicatrizante. Por otro lado, se ha reportado que *Agave americana* (L.) tiene propiedades cicatrizantes y antibacterianas que contribuyen a la cicatrización de heridas y, además, el gel de *Aloe vera* (L.) Burm. f. tiene potencial antiinflamatorio y cicatrizante debido a su capacidad de promover la reparación de tejidos en heridas tanto en estudios *in vitro* e *in vivo* (Tanaka et al., 2015; Bermúdez-Bazán et al., 2021).

Materiales y Métodos

Las hojas de *T. nelsonii* y *A. americana* fueron secadas y maceradas en metanol (1:10) durante 48 h. Luego, se filtraron y se concentraron a presión reducida usando un evaporador rotativo. El gel de *A. vera* fue extraído de las hojas para su homogeneización. Los extractos obtenidos se congelaron para su liofilización y posterior almacenamiento. Se determinó el contenido de fitoquímicos de los tres extractos por espectrofotometría UV-Vis, su efecto citotóxico en células fibroblásticas (3T3) y queratinocitos (HaCaT) utilizando el ensayo de sulforodamina B y, finalmente se utilizó el ensayo scratch para conocer la actividad cicatrizante utilizando células 3T3 y HaCaT (Nicolaus et al., 2017).

Resultados y Discusión

El mayor contenido de fenoles y flavonoides se determinó en el extracto de *T. nelsonii* (Tabla 1). En cuanto al gel de *A. vera* y el extracto de *A. americana*, estos destacaron por su contenido en saponinas y taninos. De acuerdo con los valores de LC50 para cada uno de los extractos y la revisión de la literatura en la prueba de citotoxicidad, los extractos no son tóxicos en células 3T3 ni en HaCaT (Tabla 2).

Tabla 1. Cuantificación fitoquímica en los extractos metanólicos de *Tagetes nelsonii*, *Agave americana* y el gel de *Aloe vera*

Metabolitos secundarios	<i>T. nelsonii</i>	<i>A. americana</i>	<i>A. vera</i>
Fenoles totales	2.220 ± 0.014	0.102 ± 0.005	0.138 ± 0.007
Flavonoides	1.313 ± 0.006	0.026 ± 0.002	0.019 ± 0.001
Saponinas	0.406 ± 0.018	1.009 ± 0.002	0.188 ± 0.014
Taninos	0.871 ± 0.011	0.518 ± 0.003	0.014 ± 0.002
Cumarinas	0.103 ± 0.007	0.030 ± 0.001	0.020 ± 0.001

Fuente: propia

Tabla 2. CL50 de los extractos metanólicos contra cultivos de células 3T3 y HaCaT

Extracto	Línea celular	
	3T3	HaCaT
	CL50 de los extractos (µg/mL)	
<i>T. nelsonii</i>	346.19±2.47	148.40±1.60
<i>A. americana</i>	40.22±2.43	31.19±1.99
<i>A. vera</i>	64.71±2.99	53.38±4.17

Fuente: propia

Por otro lado, el análisis estadístico reveló que los extractos individuales de *T. nelsonii* y *A. americana* demostraron una mayor migración y proliferación celular a partir de las 6 h, en las líneas HaCaT y 3T3, respectivamente (Fig. 1). Así mismo, el análisis estadístico reveló que el mejor tratamiento en la línea celular 3T3 fue la combinación de extracto de *A. americana* y gel de *A. vera*, con un cierre del $96.66 \pm 0.86\%$ a las 48 h (Fig. 2). La presencia de diversos compuestos bioactivos en los extractos de plantas analizados puede contribuir al cierre de la herida a través de dos mecanismos: (1) Actividad antioxidante: la presencia de grupos hidroxilo en estos compuestos bioactivos les permite donar electrones para estabilizar los radicales libres producidos al haber una herida (Olszowy, 2019); (2) Actividad antiinflamatoria: debido a la inhibición de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2) por los compuestos fenólicos (Ribeiro et al., 2015).

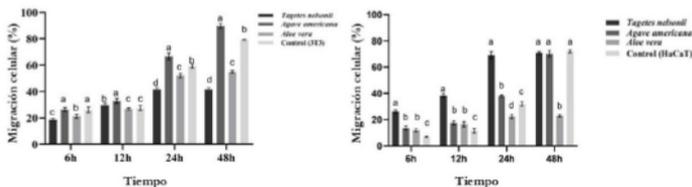


Figura 1. Efecto de los extractos sobre el cierre de la herida expresado como porcentaje de migración celular
Fuente: propia

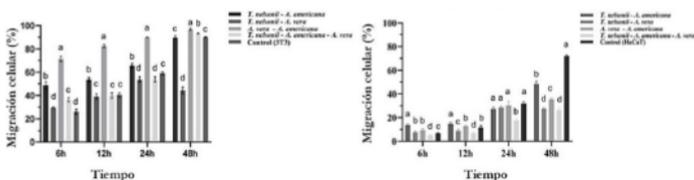


Figura 2. Efecto de los extractos combinados en el cierre de heridas
Fuente: propia

Conclusiones

Se demostró que los extractos de *T. nelsonii*, *A. americana* y el gel de *A. vera* no son tóxicos en las líneas celulares 3T3 y HaCaT, lo que indica que son seguros para su uso. Por otro lado, la cicatrización de heridas ocurrió más rápidamente cuando el extracto de *A. americana* se utilizó en células 3T3 y el extracto de *T. nelsonii* en células HaCaT. La combinación de *A. americana* y gel de *A. vera* promovió la proliferación y migración de células 3T3 en un 97%. Así mismo, se sugiere una dosificación continua del extracto a intervalos específicos para aumentar la migración de queratinocitos y mejorar la cicatrización en la epidermis.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por CONAHCyT, becario número 849433.

Referencias

- Albahri, G., Badran, A., Hijazi, A., Daou, A., Baydoun, E., Nasser, M., Merah, O. (2023). The Therapeutic Wound Healing Bioactivities of Various Medicinal Plants. *Life*, *13*, 317. <https://doi.org/10.3390/life13020317>
- Bermúdez-Bazán, M., Castillo-Herrera, G.A., Urias-Silvas, J.E., Escobedo-Reyes, A., Estarrón-Espinosa, M. (2021). Hunting Bioactive Molecules from the Agave Genus: An Update on Extraction and Biological Potential. *Molecules*, *26*, 6789. <https://doi.org/10.3390/molecules26226789>
- Chen, K., Wang, F., Liu, S., Wu, X., Xu, L., Zhang, D. (2020). In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property. *International Journal of Biological Macromolecules*, *148*, 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.156>
- Nicolaus, C., Junghanns, S., Hartmann, A., Murillo, R., Ganzera, M., & Merfort, I. (2017). *In vitro* studies to evaluate the wound healing properties of *Calendula officinalis* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, *196*, 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.006>
- Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, *144*, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.039>
- Ribeiro, D., Freitas, M., Tomé, S.M., Silva, A.M., Laufer, S.; Lima, J.L., Fernandes, E. (2015). Flavonoids inhibit COX-1 and COX-2 enzymes and cytokine/chemokine production in human whole blood. *Inflammation*, *38*, 858–870. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-99>
- Singh, S., Young, A., McNaught, C. (2017). The physiology of wound healing. *Surgery*, *35*, 473–477. <https://doi.org/10.1016/j.mp-sur.2017.06.004>
- Tanaka, M., Misawa, E., Yamauchi, K., Abe, F., Ishizaki, C. (2015). Effects of plant sterols derived from *Aloe vera* gel on human dermal fibroblasts *in vitro* and on skin condition in Japanese women. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, *8*, 95–104. <https://doi.org/10.2147/CCID.S75441>

Las conotoxinas y su potencial uso farmacéutico

Pacheco-Ojeda Jesús Octavio^{1*} y Lugo-Fabres Pavel Hayl²

Resumen

Las conotoxinas son una familia de péptidos tóxicos producidos por los conos marinos, un grupo de moluscos marinos del género *Conus*. Se han identificado más de 1 000 especies pertenecientes al Género *Conus*, cada una de ellas es capaz de producir más de 800 péptidos, con una estructura y un mecanismo de acción específico. Su principal efecto es bloquear o modular diferentes canales iónicos en las células nerviosas, como los canales de sodio, calcio o potasio. Desde el punto de vista científico y farmacológico, las conotoxinas han despertado un gran interés debido a su potencial para desarrollar medicamentos analgésicos y otros tratamientos.

Palabras clave: *Conus*, conopéptido, conotoxina, caracol cono

Introducción

Las conotoxinas, también llamadas conopéptidos, son toxinas secretadas por caracoles del género *Conus*. Los caracoles de este género son animales depredadores de movimiento lento que habitan principalmente en los océanos Índico y Pacífico, se alimentan de otros organismos como peces, gusanos marinos o moluscos. Las potentes conotoxinas pueden paralizar casi instantáneamente a la presa del caracol cono y están formadas por cadenas peptídicas con longitudes variadas desde 10 hasta 45 residuos. Son generadas por células epiteliales del ducto del veneno del caracol. Las conotoxinas son inyectadas mediante un arpón que es una modificación de la rádula, este arpón es hueco y barbado, su forma y tamaño dependerá de la especie de caracol y el tipo de presa que cace.

Las conotoxinas se clasifican de acuerdo a su péptido maduro, pueden no poseer ningún enlace disulfuro o poseer desde uno

¹ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

² Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías.

Autor de correspondencia: Pacheco-Ojeda Jesús Octavio, Jepacheco_al@ciatej.edu.mx

hasta cinco enlaces y estos pueden estar organizados con un patrón definido.

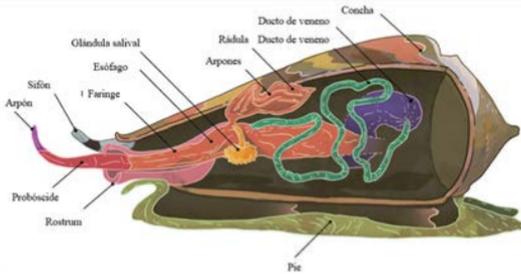


Figura 1. Anatomía de un caracol del género *Conus*
Fuente: Tomado de Brewer, R. & Zych, Ariel, 2018

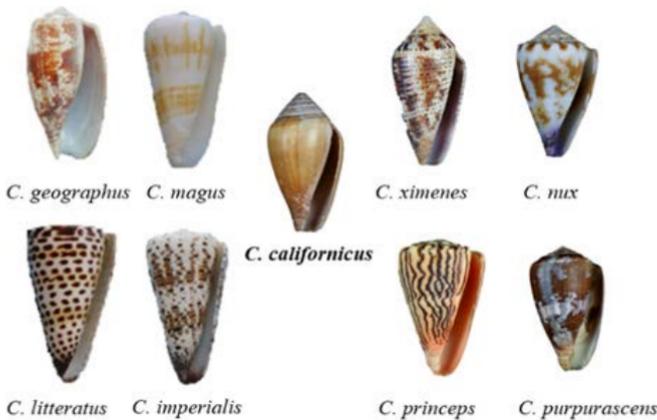


Figura 2. Del lado izquierdo algunas de las especies más estudiadas a nivel mundial, en el centro la especie más estudiada en México y a la derecha algunas de las especies de México
Fuente: Propia

Materiales y métodos

Para este trabajo se hizo una recopilación de la literatura disponible desde el año 2005 hasta 2024, se utilizaron distintas bases de datos como Google Scholar, PubMed y NCBI. Para la búsqueda de las publicaciones se utilizaron palabras clave como “conotoxina”, “conopéptidos”, “caracol cono”, “aplicaciones de las conotoxinas”. Se hizo una recopilación de artículos y se seleccionaron los que

contenían información más relevante acerca de las conotoxinas y sus aplicaciones.

Resultados y discusión

Para el año 2023 se han identificado más de 1 000 especies pertenecientes al Genero *Conus*, cada una de ellas es capaz de producir más de 800 péptidos; sin embargo, menos del 0.1% han sido caracterizados. Las investigaciones de las conotoxinas han demostrado su capacidad para regular selectivamente canales iónicos como los de sodio, potasio, calcio, así como también canales activados por ligandos como los nAChRs, receptor de serotonina, receptor NMDA, receptor GABA, GPCRs, otros receptores como los de vasopresina, neurotensina y transportadores de neurotransmisores.

Algunos de estos canales están involucrados en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Se ha observado que canales como nAChR ($\alpha 4\beta 2$ y $\alpha 7$) y algunos canales de calcio y potasio (BK) juegan un papel importante en el desarrollo y progreso de la enfermedad.

Por otra parte, en la enfermedad de Parkinson algunos subtipos de nAChR ($\alpha 4\beta 2$ y $\alpha 6\beta 2$), canales de calcio tipo T y canales de potasio (Kv1.2, Kv1.3, y Kv1.6) tienen un rol de suma importancia en el progreso de la enfermedad.

En la esclerosis múltiple también se han encontrado canales que están involucrados en el desarrollo de la enfermedad como lo son canales de sodio (Nav1.2 y Nav1.6), canales de calcio tipo L (Cav1.3) y canales de potasio (Kv1.3).

La nomenclatura general para nombrar una conotoxina α -RgIA, la primera letra griega hace referencia al blanco farmacológico de la conotoxina, seguido de una o dos letras que provienen del nombre de la especie del caracol cono que se encontró, posteriormente, con números romanos nos indica el arreglo de cisteínas que posee esta conotoxina y finalmente con una letra mayúscula el orden que fue descubierto.

Conclusiones

A pesar de que el estudio de las conotoxinas es relativamente nuevo, ya que comenzó a explorarse hacer aproximadamente 30 años, y solo se han estudiado algunas conotoxinas debido a la gran variedad que existe y la selectividad que poseen, por su blanco abre las puertas para explorar el campo del desarrollo de nuevos fármacos que se basen en estas moléculas para el tratamiento de canalopatías, enfermedades crónico-degenerativas, neurodegenerativas o incluso como analgésicos, como lo fue el caso del ziconotide aprobado por la FDA en 2004.

Conflicto de interés

“Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Beca CONAHCYT otorgada a Bioing. Jesús Octavio Pacheco Ojeda (1292152).

Referencias

- Abraham, N., & Lewis, R. J. (2018). Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Modulators from Cone Snails. *Marine drugs*, 16(6), 208. <https://doi.org/10.3390/md16060208>
- Akondi, K. B., Muttenthaler, M., Dutertre, S., Kaas, Q., Craik, D. J., Lewis, R. J., & Alewood, P. F. (2014). Discovery, synthesis, and structure-activity relationships of conotoxins. *Chemical reviews*, 114(11), 5815–5847. <https://doi.org/10.1021/cr400401e>
- Biggs, J. S., Watkins, M., Puillandre, N., Ownby, J. P., Lopez-Vera, E., Christensen, S., ... & Olivera, B. M. (2010). Evolution of Conus peptide toxins: analysis of Conus californicus Reeve, 1844. *Molecular phylogenetics and evolution*, 56(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.029>
- Brewer, R., & Zych, A. (2018). How do ‘killer snails’ kill their victims? *Science Friday*. <https://www.sciencefriday.com/educational-resources/how-do-killer-snails-kill-their-victims/>

- Dhiman, V., Pant, D., Dhewa, T., & Padam, A. (2021). A Review on the Antidiabetic and Anticancer Activities of Conus Venom Peptides. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 11(5–6), 413–441. <https://doi.org/10.1080/22311866.2021.1944316>
- Essack, M., Bajic, V. B., & Archer, J. A. C. (2012). Conotoxins that confer therapeutic possibilities. *Marine drugs*, 10(6), 1244–1265. <https://doi.org/10.3390/md10061244>
- Fu, Y., Li, C., Dong, S., Wu, Y., Zhangsun, D., & Luo, S. (2018). Discovery Methodology of Novel Conotoxins from Conus Species. *Marine Drugs*, 16(11), 417. <https://doi.org/10.3390/md16110417>
- Gao, B., Peng, C., Yang, J., Yi, Y., Zhang, J., & Shi, Q. (2017). Cone Snails: A Big Store of Conotoxins for Novel Drug Discovery. *Toxins*, 9(12), 397. <https://doi.org/10.3390/toxins9120397>
- Halai, R., & Craik, D. J. (2009). Conotoxins: natural product drug leads. *Natural product reports*, 26(4), 526–536. <https://doi.org/10.1039/b819311h>
- Jin, A. H., Muttenthaler, M., Dutertre, S., Himaya, S. W. A., Kaas, Q., Craik, D. J., Lewis, R. J., & Alewood, P. F. (2019). Conotoxins: Chemistry and Biology. *Chemical reviews*, 119(21), 11510–11549. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00207>
- Layer, R. T., & McIntosh, J. M. (2006). Conotoxins: Therapeutic Potential and Application. *Marine Drugs*, 4(3), 119–142. <https://doi.org/10.3390/md403119>
- Lugo-Fabres, P. H., Otero-Sastre, L. M., Bernáldez-Sarabia, J., Camacho-Villegas, T. A., Sánchez-Campos, N., Serrano-Bello, J., Medina, L. A., Muñoz-Hernández, S., de la Cruz, L., Arenas, I., Barajas-Martínez, A., García, D. E., Nuñez-García, L., González-Canudas, J., & Licea-Navarro, A. F. (2021). Potential Therapeutic Applications of Synthetic Conotoxin s-cal14.2b, Derived from *Californiconus californicus*, for Treating Type 2 Diabetes. *Biomedicines*, 9(8), 936. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9080936>
- Mansbach, R. A., Travers, T., McMahon, B. H., Fair, J. M., & Gnanaakaran, S. (2019). Snails In Silico: A Review of Computational Studies on the Conopeptides. *Marine drugs*, 17(3), 145. <https://doi.org/10.3390/md17030145>

- Martínez Hernández, L., López Vera, E. & Aguilar Ramírez, M. (2014). El veneno de los caracoles marinos y su paradójico uso médico. *Revista Digital Universitaria*, 15(11). Recuperado de <https://www.revista.unam.mx/vol.15/num11/art87/>
- Morales Duque, H., Campos Dias, S., & Franco, O. L. (2019). Structural and Functional Analyses of Cone Snail Toxins. *Marine drugs*, 17(6), 370. <https://doi.org/10.3390/md17060370>
- Robinson, S. D., & Norton, R. S. (2014). Conotoxin gene superfamilies. *Marine drugs*, 12(12), 6058–6101. <https://doi.org/10.3390/md12126058>

Impacto de la regulación sanitaria en la disponibilidad y autosuficiencia de medicamentos biotecnológicos en México

Padierna-Mota, Cecilia^{1,2}, Záyago-Lau, Edgar³ y Bañuelos, Cecilia^{1*}

Resumen

En este trabajo se analizó el impacto de la regulación sanitaria en la disponibilidad y autosuficiencia de medicamentos biotecnológicos en México. La regulación sanitaria de medicamentos biotecnológicos en México puede dividirse en cuatro periodos: pre-paradigmático, de internacionalización, específica y derivado de la COVID-19 y el T-MEC. El análisis longitudinal por series de tiempo interrumpidas (STI) permitió asociar los efectos de cada periodo regulatorio con el número de medicamentos aprobados, encontrando que la regulación sanitaria es un factor determinante del número de productos disponibles en México. La autosuficiencia se evaluó con el número de productos biosimilares aprobados por la autoridad con actividades productivas locales en cada periodo de regulación sanitaria, evidenciándose que la política sanitaria no ha considerado consistentemente la congruencia con otras políticas que favorezca actividades de desarrollo y producción local de medicamentos biotecnológicos.

Palabras clave: autosuficiencia sanitaria, medicamentos biotecnológicos, regulación sanitaria.

Introducción

El desarrollo del sector biofarmacéutico estadounidense ha sido explicado mediante la intervención del gobierno de dicho país en tres puntos: 1) la generación del conocimiento, 2) el acceso a la salud y 3) el establecimiento de la regulación sanitaria (Mazzucato & Dosi, 2006; Smith Hugues, 2011). Algunas de estas intervenciones han sido instaladas en México sin rigor o acriticamente, como lo han

¹ Departamento de Investigación y Estudios Multidisciplinarios del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

² Desarrollo de Negocios, Laboratorios de Especialidades Inmunológicas S.A. de C.V.

³ Unidad Académica en Estudios del Desarrollo, Universidad Autónoma de Zacatecas

*Autor de correspondencia: Cecilia Bañuelos, cebanuelos@cinvestav.mx

discutido Cuevas-Mercado (2023) y Valderrama-Blanco (2021) para la generación de conocimiento, Ampudia-Mello (2012) y Uribe de la Mora (2005) para la propiedad industrial.

En la pandemia de la COVID-19 los países latinoamericanos tuvieron acceso retrasado a vacunas, evidenciando su dependencia en insumos para la salud. México solicitó a la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) un plan encaminado a la autosuficiencia regional sanitaria (CEPAL, 2021).

La relación entre la autosuficiencia, la autonomía y la necesidad de desarrollo científico y tecnológico ha sido discutida por Bayer (2011). La importancia de la congruencia entre las políticas de ciencia y tecnología explícitas e implícitas -donde las primeras refieren a la gestión de las actividades científicas y tecnológicas y las segundas definen el papel que juegan la ciencia y la tecnología en la sociedad- fueron discutidas por Herrera (1995).

En el caso mexicano, no se ha abordado la influencia de la regulación sanitaria como política científica implícita en el sector biofarmacéutico mexicano. El objetivo de este trabajo fue analizar el impacto de la regulación sanitaria en la disponibilidad y autosuficiencia de medicamentos biotecnológicos en México mediante el análisis longitudinal de los registros sanitarios otorgados de 1990 a 2022.

Materiales y métodos

Para conocer la influencia de la regulación sanitaria en la disponibilidad de biomedicamentos se realizó un análisis longitudinal (1990-2022) por series de tiempo interrumpidas (STI) que permitió probar dos efectos por periodo: 1) el inmediato y 2) las tendencias; conforme a Bernal et al. (2017); Fusi & Lecy (2020); Um et al. (2022). Los registros sanitarios de medicamentos biotecnológicos fueron recuperados de los repositorios de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (Cofepris). Se documentaron los cambios en la normatividad sanitaria local identificando los puntos de intervención y se realizó el análisis estadístico en R por mínimos cuadrados -ANOVA con alfa 0.05- cumpliendo los criterios de validez.

Para abordar la autosuficiencia biotecnológica, se calculó el porcentaje de producción local por producto y por año de los me-

dicamentos biosimilares, asignando los valores de 100, 67, 33 y 0 por ciento cuando la producción local se realizaba: desde la expresión del gen de interés; cuando solo la formulación y el envasado eran locales; cuando solo el acondicionamiento era local; y cuando no había operaciones productivas locales, respectivamente. El porcentaje se promedió cuando en un mismo año se registró más de un producto con la misma sustancia activa. Se realizaron comparaciones entre periodos regulatorios mediante análisis estadísticos.

Resultados y discusión

Se recuperaron 229 registros sanitarios de medicamentos biotecnológicos: 110 registros sanitarios de medicamentos biotecnológicos innovadores, 88 que no se pudieron clasificar con la información disponible y 31 de medicamentos biosimilares.

Se encontró que de 1990-2003 no se contaba con instrumentos regulatorios específicos para medicamentos biotecnológicos. En este periodo se dio un crecimiento orgánico en el registro de productos biotecnológicos y la autosuficiencia de medicamentos biosimilares fue del 100%; en Argentina ocurrió algo equiparable (Gutman & Lavarello, 2014). En 2004 se vincula la propiedad industrial con la regulación sanitaria y se estandariza la revisión de la información científica de registros sanitarios conforme a tendencias internacionales, provocando disminución significativa tanto en el número de productos totales registrados, como en la producción local de biosimilares. En 2012 se sistematizan las evaluaciones específicas para medicamentos biotecnológicos, aumentando significativamente el registro de estos productos, y se derivan instrumentos que solicitan actividades de desarrollo local de medicamentos biosimilares, incrementando significativamente la manufactura local, como en experiencias en la región (Arraña et al., 2022). Desde 2020, en el contexto de la interrupción de la cadena de suministros y del T-MEC, se aceptan registros sanitarios otorgados por países con autoridades sanitarias referentes, haciendo la intervención significativa tanto por el aumento de los productos registrados, como por la disminución de la contribución de los productores locales (Tabla 1 y Figura 1).

Tabla 1. Periodos de regulación sanitaria y sus efectos

Periodo	Enfoque	Efecto	
		Número total de productos registrados	% Producción local de productos biosimilares
1990-2003	Pre-paradigmático: no hay instrumentos de los que se deriven procesos regulatorios específicos de biomedicamentos	Crecimiento orgánico	100
2004-2011	Internacionalización: cumplimiento con requisitos técnicos según el estado del arte, incorporación en la regulación sanitaria de elementos de propiedad industrial	Aumento inmediato y disminución en la tendencia del periodo	0
2012-2019	Regulación específica: instrumentación técnica de regulación sanitaria para medicamentos biotecnológicos innovadores y biosimilares que promueve actividades de desarrollo preclínico y clínico locales	Aumento inmediato y aceleración en la tendencia del periodo	17
2020-2022	Pandemia de la COVID-19 y al T-MEC	*	7

*Sale del análisis de STI porque no cumple criterios para su análisis estadístico

Fuente: propia

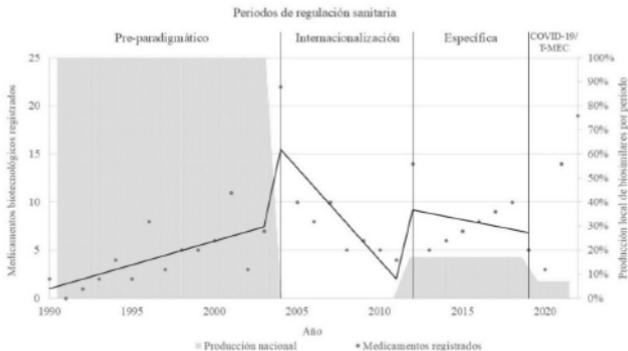


Figura 1. Efectos de la regulación sanitaria en los medicamentos biotecnológicos registrados y en la autosuficiencia de productos biosimilares

Fuente: propia

Conclusiones

La regulación sanitaria es un factor determinante en la disponibilidad de medicamentos biotecnológicos en México; de igual manera, potencia o limita las actividades de desarrollo y producción local de

biomedicamentos, por lo que debe ser integrada estratégicamente en los planes nacionales de desarrollo, por cuanto a la autosuficiencia sanitaria y la soberanía tecnológica.

Conflicto de intereses

Cecilia Padierna Mota tiene participación en los Laboratorios de Especialidades Inmunológicas S.A. de C.V.

Financiamiento

Beca de estudios de doctorado CVU 304609 del CONAHCyT y beca Universidad LEI de los Laboratorios de Especialidades Inmunológicas S.A. de C.V.

Referencias

- Ampudia-Mello, S. (2012). Innovación, industria farmacéutica y mercado: el caso de México. En A. Oropeza García & V. M. Guízar (coord.), *Los retos de la industria farmacéutica en el siglo XXI* (1a ed., pp. 455–485). UNAM
- Arraña, I., Bertinat, P., Chemes, J., Di Ruscio, N., & Garrido, S. (2022). Políticas públicas implícitas y explícitas para la transición energética en la Argentina. El caso del Programa de Desarrollo de la Industria Solar Térmica (PRODIST). *Prácticas de oficio. Investigación y reflexión en ciencias sociales*, 1(29), 39–53. <https://www.researchgate.net/publication/366673542>
- Bayer, G. F. (2011). Autonomía nacional y política científica y tecnológica. En J. A. Sábato (Ed.), *El pensamiento latinoamericano en la problemática ciencia-tecnología-desarrollo-dependencia* (1a ed., pp. 133–150). Ediciones Biblioteca Nacional.
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe. (2021). *Lineamientos y propuestas para un plan de autosuficiencia sanitaria para América Latina y el Caribe*. <https://www.cepal.org/es/publicaciones/47252-lineamientos-propuestas-un-plan-autosuficiencia-sanitaria-america-latina-caribe>
- Cuevas-Mercado, N. (2023). Trayectoria de la investigación y producción de vacunas biotecnológicas en México: de la autosuficiencia a la dependencia científico-tecnológica. En M. Amaro

- Rosales (ed.), *Aspectos sociales de la biotecnología en México* (1a ed., pp. 257-292). UNAM - IIS
- Gutman, G., & Lavarello, P. (2014). *Política industrial en el sector biofarmacéutico en la Argentina durante los años 2000*. https://www.cepal.org/sites/default/files/courses/files/bio_y_politicas_industriales.pdf
- Herrera, A. (1995). Los determinantes sociales de la política científica en América Latina. Política científica explícita y política científica implícita. *Redes. Revista de estudios sociales de la ciencia y la tecnología*, 5, 117–131. Recuperado de <https://ridaa.unq.edu.ar/bitstream/handle/20.500.11807/438/07R1995v2n5.pdf>
- Mazzucato, M., & Dosi, G. (2006). *Knowledge accumulation and industry evolution. The case of pharma-biotech* (M. Mazzucato & G. Dosi, Eds.). Cambridge University Press.
- Smith Hugues, S. (2011). *Genentech. The beginnings of biotech*. The University of Chicago Press.
- Uribe de la Mora, J. (2005). Las reformas de las leyes de patentes en la industria farmacéutica de México. En A. Guzmán & G. Viniegra (Eds.), *Industria farmacéutica y propiedad intelectual: los países en desarrollo* (1a ed., pp. 323–349). UAM, MA Porrúa.
- Valderrama-Blanco, B. (2021). *360 grados. Una visión panorámica de la política científica en México 1985-2019* (1a ed.). Miguel Ángel Porrúa.

Concapsulación de Temozolomida y siRNAS en nanopartículas para el tratamiento de glioblastoma

Paredes-Michua, Dasael^{1,2}, Maturano-Fernández, María Natalia¹, Llaguno-Munive, Monserrat¹, Ibáñez-Hernández, Miguel Ángel Antonio³, y García-López, Patricia^{1*}

Resumen

El objetivo del proyecto fue desarrollar micelas poliméricas catiónicas para encapsular temozolomida, con el fin de mejorar su disponibilidad en el tejido tumoral y optimizar la respuesta al tratamiento del glioblastoma, el cáncer cerebral más agresivo. Para sintetizar las micelas poliméricas se empleó el método de hidratación de capa fina y se caracterizó su tamaño, potencial ζ , índice de polidispersión, hematocompatibilidad e internalización en líneas celulares de glioblastoma. Las micelas desarrolladas, vacías y con temozolomida presentaron tamaños de 26.6 ± 4.1 nm y 34.0 ± 2.2 nm, respectivamente, y un índice de polidispersión menor a 0.2, indicando una población homogénea. Los ensayos en células de glioblastoma mostraron una eficaz internalización de las micelas a las 6 horas. Se concluye que las micelas desarrolladas poseen propiedades fisicoquímicas adecuadas para posteriores pruebas *in vitro* e *in vivo*.

Palabras clave: Temozolomida, siRNAs, micelas poliméricas, glioblastoma.

Introducción

El Glioblastoma es la neoplasia más agresiva del sistema nervioso central, su tratamiento estándar es la cirugía, radioterapia y quimioterapia a base de Temozolomida; sin embargo, los pacientes desarrollan una resistencia al tratamiento dando como resultado una rápida progresión

¹ Laboratorio de Fármaco-Oncología y nanomedicina, Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México.

² Posgrado en Ciencias en Biomedicina y Biotecnología Molecular, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México.

³ Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

*Autor de correspondencia: Patricia García-López, pgarcia_lopez@yahoo.com.mx

y recaída tumoral. Lamentablemente, la supervivencia de los pacientes es menor a 12 meses. Su tratamiento ha sido un reto debido a la heterogeneidad que presentan las células tumorales y a la presencia de la barrera hematoencefálica ya que solo un 30% de la dosis administrada de temozolomida atraviesa esta barrera. Por lo que es necesario generar sistemas que permitan un incremento en la disponibilidad del fármaco en el tejido tumoral y así mejorar la respuesta al tratamiento. Durante los últimos años la nanomedicina se ha convertido en una herramienta innovadora para el desarrollo de nuevos tratamientos contra el Glioblastoma. Por lo que en el presente proyecto se desarrollaron micelas poliméricas capaces de encapsular temozolomida, con el objetivo de mejorar la disposición del fármaco en el tejido tumoral.

Materiales y Métodos

Las micelas poliméricas catiónicas (cMP) se desarrollaron a partir del método de hidratación de capa fina y se caracterizó su tamaño, potencial ζ , índice de polidispersión por dispersión dinámica de la luz; también se evaluó su hematocompatibilidad y se realizó el ensayo de internalización en células C6, una línea celular de glioblastoma.

Resultados y Discusión

Las micelas blanco y cargadas con temozolomida tuvieron un tamaño de partícula de 26.6 ± 4.1 nm y 34.0 ± 2.2 nm respectivamente. El índice de polidispersión de los dos sistemas fue menor de 0.2, lo que nos indica una población homogénea. En cuanto a su potencial ζ , las micelas blanco y con temozolomida fue de 3.01 ± 2.12 mVolts y 8.60 ± 1.31 respectivamente (ver figura 1). Además, se realizaron ensayos de internalización en la línea celular de glioblastoma (C6), una línea celular de glioblastoma, observando que las micelas ingresan eficazmente en las células de glioblastoma.

- Büscher, S., Jäger, W., Poschner, S., Mayr, L., Al Jalali, V., Gojo, J., Azizi, A. A., Ullah, S., Bilal, M., El Tabei, L., Fuhr, U., & Peyrl, A. (2022). Pharmacokinetics of metronomic temozolomide in cerebrospinal fluid of children with malignant central nervous system tumors. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *89*(5), 617-627. <https://doi.org/10.1007/s00280-022-04424-4>
- Conte, A., Valente, V., Paladino, S., & Pierantoni, G. M. (2023). HIPK2 in cancer biology and therapy: Recent findings and future perspectives. *Cellular Signalling*, *101*, 110491. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2022.110491>
- Fresnais, M., Turcan, S., Theile, D., Ungermann, J., Zeed, Y. A., Lindner, J. R., Breitkopf, M., Burhenne, J., Haefeli, W. E., & Longuespée, R. (2022). Approaching sites of action of temozolomide for pharmacological and clinical studies in Glioblastoma. *Biomedicines*, *10*(1), 1. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010001>

Evaluación del polimorfismo L/S 3'UTR VNTR del gen transportador de dopamina (DAT) y el SNP G472A del gen catecol-orto-metiltransferasa (COMT) y su correlación con la salud mental de estudiantes de Medicina

Ríos-Ibarra, Clara Patricia¹, Suárez-Valencia, Víctor de Jesús², Gómez-Quiroga, Zaid Antonio², Márquez-Esparza, Andrés Alejandro², y Salinas-Santander, Mauricio Andrés^{2*}

Resumen

Introducción. La ansiedad, la depresión y el estrés tienen una frecuencia alta entre estudiantes universitarios, lo que genera un impacto importante en su calidad de vida y rendimiento académico. La dopamina (DA) tiene un papel crucial en la modulación de la función neurocognitiva y la actividad sináptica, regulada por el transportador de dopamina (DAT) y la catecol-orto-metiltransferasa (COMT). Los genes DAT y COMT han sido previamente asociados con trastornos mentales. **Objetivo.** Analizar el polimorfismo L/S 3'UTR VNTR del gen transportador de dopamina (DAT) y el SNP G472A del gen catecol-orto-metiltransferasa (COMT) y su correlación con la salud mental en estudiantes de Medicina. **Materiales y métodos.** Se evaluaron 181 estudiantes de Medicina con escalas psicométricas para diagnosticar: ansiedad, depresión, burnout y estrés. Las alteraciones de salud mental fueron correlacionadas con los genotipos de L/S 3'UTR VNTR DAT y SNP G472A COMT. Los resultados fueron analizados mediante la prueba χ^2 (chi-cuadrada), con un valor de $P \leq 0.05$ (SPSS v21). **Resultados.** Al comparar ansiedad vs el genotipo DAT se obtuvieron los siguientes resultados: L/L (OR= 2.30, $\chi^2= 5.65$, $P= 0.013$); L/S (OR= 4.37, $\chi^2= 4.25$, $P= 0.028$); S/S (NS). Por otra parte, al contrastar ansiedad vs el genotipo COMT se observaron los siguientes valores: G/G (OR= 0.504, $\chi^2= 4.78$, $P= 0.021$); G/A (OR= 1.88, $\chi^2= 4.10$, $P= 0.031$); A/A (NS). Las variables de depresión, burnout y estrés no mostraron asociación

¹ BioRI4-Consultoría en Investigación Biomédica: <https://www.biori.com.mx/quienes-somos/>

² Departamento de Investigación de la Facultad de Medicina, Unidad Saltillo de la Universidad Autónoma de Coahuila, México.

*Autor de correspondencia: Santander Mauricio Andrés, msalinsa@yahoo.com

estadísticamente significativa con los genotipos de DAT y COMT.

Conclusiones. Nuestros resultados muestran que todos los parámetros de salud mental afectados se prestaron con mayor frecuencia en mujeres. Adicionalmente, los genotipos L/L del gen DAT y G/A+AA del gen representan un factor de riesgo para el desarrollo de ansiedad en los sujetos de estudio.

Palabras clave: L/S 3'UTR VNTR gen DAT, SNP G472A gen COMT, alteraciones de la salud mental, estudiantes de Medicina.

Introducción

Las alteraciones en la salud mental tienen una frecuencia alta entre estudiantes universitarios, generando un impacto importante en su calidad de vida y rendimiento académico (January et al., 2018). Si no son tratados oportunamente, pueden optar por deserción escolar, por lo que su detección y tratamiento son cruciales para lograr una mejor educación, adaptación social y evitar el abandono de sus estudios (Auerbach et al., 2016). La depresión y el estrés en estudiantes de Medicina se vinculan a la aparición del síndrome de burnout, caracterizado por el agotamiento físico y mental, el cual afecta la capacidad cognitiva y motivación emocional intrínseca (Figura 1) (Almutairi et al., 2022; Neufeld & Malin, 2021). La dopamina (DA) tiene un papel crucial en la modulación de la función neurocognitiva y la actividad sináptica, regulada por el transportador de dopamina (DAT) y la catecol-orto-metiltransferasa (COMT) (Bielíński et al., 2017). Los genes DAT y COMT desarrollan papeles importantes dentro del eje hipófisis-hipotálamo-adrenal, encargado de controlar las reacciones frente al estrés (Azadmarzabadi et al., 2021). En el exón 15 del gen DAT se localiza un 3'UTR-VNTR que alberga de 6 a 11 repeticiones de ~ 40 nucleótidos (Gontijo et al., 2023) y en el gen COMT puede encontrarse el SNP G472A (Šanjug et al., 2023); ambos polimorfismos en DAT y COMT conducen a cambios en la neurotransmisión dopaminérgica (Tunbridge et al., 2019).



Figura 1. Las alteraciones mentales son frecuentes entre estudiantes de Medicina (~ 50%), atribuido a una alta competitividad y cargas de trabajo excesivas, lo que genera un impacto importante en su calidad de vida y rendimiento académico.

Fuente: elaboración propia

Objetivo

Analizar el polimorfismo L/S 3'UTR VNTR del gen transportador de dopamina (DAT) y el SNP G472A del gen catecol-orto-metil-transferasa (COMT) y su correlación con la salud mental en estudiantes de Medicina.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional, transversal y descriptivo. Se reclutaron 181 estudiantes de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila (116 mujeres y 65 hombres / 16 a 32 años / 1º a 7º año); fueron evaluados con las escalas psicométricas: GAD-7 (ansiedad), PHQ-9 (depresión), EUBE (burnout) y PSS-14 (estrés) (Nwachukwu et al., 2020); Domínguez-González et al., 2017). La genotipificación del L/S 3'UTR VNTR DAT y el SNP G472A COMT se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de la variación en el número de repeticiones en tándem (VNTR) o identificación de fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs) PCR-RFLP, respectivamente (Felten et al., 2011; Bieliński et al., 2017). Los resultados fueron analizados mediante la prueba χ^2 (chi-cuadrada) para determinar la relación entre las variables, considerando un valor de $P \leq 0.05$ como significativo, con el paquete estadístico SPSS 21.0

Resultados

En nuestro grupo de estudio, la depresión, ansiedad, estrés y *burnout* se presentaron con mayor frecuencia en mujeres (Figura 2) ($P < 0.05$). Al comparar ansiedad vs el genotipo DAT, se obtuvieron

los siguientes resultados: L/L (OR= 2.30, $x^2= 5.65$, $P = 0.013$); L/S (OR= 0.437, $x^2= 4.25$, $P = 0.028$); S/S (NS). Con respecto a la ansiedad vs el genotipo COMT, se observaron los siguientes valores: G/G (OR= 0.504, $x^2= 4.78$, $P = 0.021$); G/A (OR= 1.88, $x^2= 4.10$, $P = 0.031$); A/A (NS). Las variables de depresión, burnout y estrés no mostraron asociación estadísticamente significativa con los genotipos de DAT y COMT.

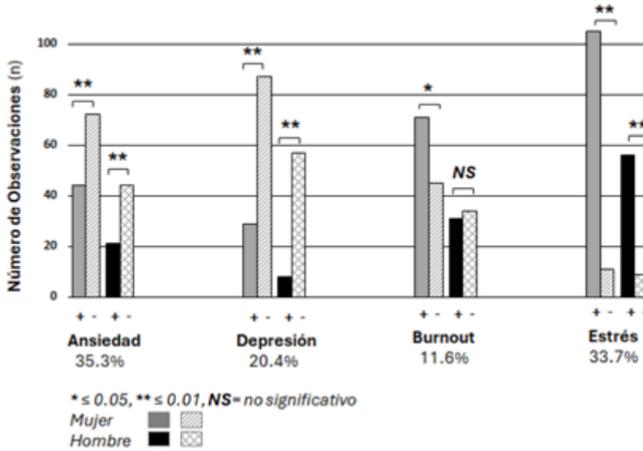


Figura 2. Clasificación por sexo de las alteraciones de la salud mental en estudiantes de Medicina, a partir de evaluaciones basadas en las escalas: GAD-7, PHQ-9, EUBE y PSS-14. Fuente: elaboración propia

Discusión y conclusiones

En nuestra evaluación, las alteraciones de salud mental se detectaron con mayor frecuencia en mujeres. Adicionalmente, nuestros resultados muestran que la presencia de los genotipos L/L del gen DAT y G/A+AA del gen COMT representan un factor de riesgo para incrementar la ansiedad: 2.30 y 1.973 veces, con respecto a los controles negativos. A diferencia de los siguientes genotipos, que actúan como factores protectores, disminuyendo la ansiedad: L/S de DAT (~ 56%) y G/G de COMT (~ 49%), con respecto a los sujetos no portadores. Las variables de depresión, burnout y estrés no mostraron asociación estadísticamente significativa con

los genotipos de DAT y COMT. Con base a lo anterior, mediante la detección e intervención oportuna de problemas de salud mental a nivel genotípico y clínico pudieran optimizarse a través de programas de apoyo y prevención para reducir las variables de riesgo asociadas a alteraciones en la salud mental entre estudiantes de Medicina.

Conflicto de intereses

Sin conflicto de intereses entre los autores.

Referencias

- Almutairi, H., Alsubaieci, A., Abduljawad, S., Alshatti, A., Fekih-Romdhane, F., Husni, M., & Jahrami, H. (2022). Prevalence of burnout in medical students: A systematic review and meta-analysis. *The International journal of social psychiatry*, *68*(6), 1157-1170. <https://doi.org/10.1177/00207640221106691>
- Auerbach, R. P., Alonso, J., Axinn, W. G., Cuijpers, P., Ebert, D. D., Green, J. G., . . . Bruffaerts, R. (2016). Mental disorders among college students in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Psychological Medicine*, *46*(14), 2955-2970. <https://doi.org/10.1017/S0033291716001665>
- Azadmarzabadi, E., & Haghightafard, A. (2021). Detection of six novel de novo mutations in individuals with low resilience to psychological stress. *PLoS ONE*, *16*(9), e0256285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256285>
- Bieliński, M., Jaracz, M., Lesiewska, N., Tomaszewska, M., Sikora, M., Junik, R., Kamińska, A., Tretyn, A., & Borkowska, A. (2017). Association between COMT Val158Met and DAT1 polymorphisms and depressive symptoms in the obese population. *Neuropsychiatric disease and treatment*, *13*, 2221–2229. <https://doi.org/10.2147/NDT.S138565>
- GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators (2020). Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)*, *396*(10258), 1204–1222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9)
- Domínguez-González, Alejandro Daniel, Velasco-Jiménez, María Teresa, Meneses-Ruiz, Dulce María, Guzmán Valdivia-Gó-

- mez, Gilberto, & Castro-Martínez, María Guadalupe. (2017). Síndrome de burnout en aspirantes a la carrera de medicina. *Investigación en educación médica*, 6(24), 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.riem.2016.11.007>
- Felten, A., Montag, C., Markett, S., Walter, N. T., & Reuter, M. (2011). Genetically determined dopamine availability predicts disposition for depression. *Brain and behavior*, 1(2), 109–118. <https://doi.org/10.1002/brb3.20>
- Gontijo, B. R., Possatti, I., Fratelli, C. F., Pereira, A. S. R., Bonasser, L. S. S., De Souza Silva, C. M., & Da Silva, I. C. R. (2023). The 3'UTR VNTR SLC6A3 Genetic Variant and Major Depressive Disorder: A Systematic Review. *Biomedicines*, 11(8), 2270. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11082270>
- January, J., Madhombiro, M., Chipamaunga, S., Ray, S., Chingono, A., & Abas, M. (2018). Prevalence of depression and anxiety among undergraduate university students in low- and middle-income countries: a systematic review protocol. *Systematic reviews*, 7(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s13643-018-0723-8>
- Mao, Y., Zhang, N., Liu, J., Zhu, B., He, R., & Wang, X. (2019). A systematic review of depression and anxiety in medical students in China. *BMC medical education*, 19(1), 327. <https://doi.org/10.1186/s12909-019-1744-2>
- Mirza, A. A., Baig, M., Beyari, G. M., Halawani, M. A., & Mirza, A. A. (2021). Depression and Anxiety Among Medical Students: A Brief Overview. *Advances in Medical Education and Practice*, 12, 393-398. <https://doi.org/10.2147/AMEPS302897>
- Neufeld, A., & Malin, G. (2021). How medical students cope with stress: a cross-sectional look at strategies and their sociodemographic antecedents. *BMC Medical Education*, 21(1), 299. <https://doi.org/10.1186/s12909-021-02734-4>
- Nwachukwu, I., Nkire, N., Shalaby, R., Hrabok, M., Vuong, W., Gusnowski, A., Surood, S., Urichuk, L., Greenshaw, A. J., & Agyapong, V. I. O. (2020). COVID-19 Pandemic: Age-Related Differences in Measures of Stress, Anxiety and Depression in Canada. *International journal of environmental research and public health*, 17(17), 6366. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176366>

- Šanjug, J., Kuna, K., Goldštajn, M. Š., Dunkić, L. F., Carek, A., & Vranić, D. N. (2023). Relationship between COMT Gene Polymorphism, Anxiety, and Pain Perception during Labour. *Journal of Clinical Medicine*, 12(19), 6298. <https://doi.org/10.3390/jcm12196298>
- Tunbridge, E. M., Narajos, M., Harrison, C. H., Beresford, C., Cipriani, A., & Harrison, P. J. (2019). Which Dopamine Polymorphisms Are Functional? Systematic Review and Meta-analysis of COMT, DAT, DBH, DDC, DRD1–5, MAOA, MAOB, TH, VMAT1, and VMAT2. *Biological Psychiatry*, 86(8), 608–620. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.05.014>

Genotipos y análisis filogenético de aislados clínicos de *Helicobacter pylori*

Ríos-Sandoval, Marcela^{1,2}, Quiñones-Aguilar, Evangelina Esmeralda^{1*}, Solís-Sánchez, Guillermo Alejandro¹, Bravo-Madrigal, Jorge², Velázquez-Guadarrama, Norma³, y Rincón-Enríquez, Gabriel^{1*}

Resumen

Helicobacter pylori es una bacteria patógena humana asociada con gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico. El objetivo fue aislar y caracterizar aislados clínicos de *H. pylori*. Los aislamientos se identificaron mediante amplificación del gen *ureC*, se caracterizaron de acuerdo con morfología colonial y microscópica, se realizó genotipificación molecular para determinar virulencia con los genes *cagA* y *vacA*, análisis filogenético con el gen ARNr 16S y análisis de tipificación de secuencias multilocus. Se obtuvieron tres aislados (HCGDL-MR01, HCGDL-MR13 y HCGDL-MR17), identificados como *H. pylori* mediante morfología, PCR y tinción Gram. Todos los aislamientos mostraron el genotipo *vacA* s2/m2, indicando ausencia de la citotoxina VacA. HCGDL-MR01 resultó portadora del gen *cagA*, asociado al desarrollo de cáncer gástrico.

Palabras clave: cáncer gástrico, filogenia, virulencia

Introducción

Helicobacter pylori es una bacteria patógena humana asociada con gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico (Marshall y Warren, 1984), se encuentra ampliamente distribuida en el mundo. Fue clasificada como carcinógeno clase 1 en 1994 por la Organización Mundial de la Salud y el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (Zou y Wei, 2013). Puede caracterizarse mediante los genes de virulencia *cagA* y *vacA*. El objetivo del presente trabajo fue aislar

¹ Laboratorio de Fitopatología, Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Zapopan 45019, Jalisco, México.

² Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Guadalajara 44270, Jalisco, México.

³ Laboratorio de Investigación en Microbiología y Resistencia Antimicrobiana, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Ciudad de México 06720, México.

Autores de correspondencia: Evangelina E. Quiñones-Aguilar, equinones@ciatej.mx; Gabriel Rincón-Enríquez, grincon@ciatej.mx

cultivos clínicos de *H. pylori* a partir de biopsias gástricas, caracterizar y genotipificar para identificar factores de virulencia asociados con cáncer y úlcera péptica.

Materiales y métodos

Aislamiento de *Helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas

Se tomaron biopsias de la mucosa gástrica de 22 pacientes de manera aleatoria, fueron disgregadas y homogeneizadas con 100-200 μ L de PBS y sembradas en medio de aislamiento, se dejaron absorber unos minutos y se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ durante 3-5 días (modificado de Mendoza-Elizalde et al., 2015). Después del periodo de incubación, se tomaron colonias con la morfología característica de *H. pylori* y fueron resembradas en medio de aislamiento para su purificación, se incubaron nuevamente.

Identificación de aislados clínicos

Fue realizada tinción Gram y observación en microscopio óptico, empleando la cepa ATCC 43504 de *H. pylori* como control. Además, los aislamientos se identificaron mediante PCR del gen *ureC* a partir de ADN genómico, con oligonucleótidos específicos para *H. pylori*.

Genotipificación de cepas aisladas

Se realizó extracción de ADN con kit Wizard® Genomic DNA Purification A1125 (Promega), seguido de la identificación de los genes de virulencia *cagA* y *vacA*, así como amplificación de los genes ARNr 16S, *ureA* y *tonB*, mediante PCR de punto final. La cepa ATCC 43504 se utilizó como control.

Análisis filogenético con el gen ARNr 16S

Las reacciones de PCR para amplificar el gen ARNr 16S se realizaron empleando los oligonucleótidos fD1/rD1 (Weisburg et al., 1991). Los amplicones se purificaron mediante el kit Wizard® PCR Preps DNA Purification System A7211 (Promega). Cada amplicón se secuenció siguiendo el método Sanger, utilizando los oligonucleótidos 800R, 1100R y rD1. El ensamblaje se realizó en SnapGene® 5.0.8.

Para el análisis filogenético se realizó alineamiento con la secuencia del gen 16S rRNA de las cepas aisladas en MUSCLE, seguido de construcción del árbol filogenético con MEGA v.10.0.5 (método de máxima verosimilitud, 1000 réplicas de bootstrap, distribución gamma de 5, kimura 2-parámetros).

Análisis de tipificación de secuencias multilocus

Para el análisis de tipificación de secuencias multilocus (MLST) se realizó PCR para los genes constitutivos *atpA*, *efp*, *mutY*, *ppa*, *trpC*, *ureI* y *yphC*, de acuerdo con Achtman et al. (1999). Los productos de PCR se secuenciaron mediante el método Sanger. Se realizó alineamiento con ClustalW. Los siete genes se concatenaron en MEGA v.10.0.5 y se realizó construcción de árbol filogenético (método de máxima verosimilitud, 1000 réplicas de Bootstrap, distribución gamma de 5, kimura 2-parametros). Se incluyeron los tres aislamientos de este estudio, 198 ST de la base de datos PubMLST (<https://pubmlst.org/>) y el control ATCC 43504.

Resultados y discusión

Se realizaron tres aislados, identificados como *H. pylori* (HCGDL-MR01, HCGDL-MR13 y HCGDL-MR17) mediante morfología colonial, amplificación del gen *ureC* y tinción Gram (Figura 1). Todos los aislamientos mostraron el genotipo *vacA* s2/m2, indicando una ausencia de la citotoxina VacA, ya que el genotipo *vacA* s1/m1 ha sido reportado con actividad citotóxica y relación con úlcera péptica, mientras que el genotipo s2/m2 carece de actividad citotóxica (Atherton et al., 1995).

Por otro lado, diferentes estudios han demostrado la relación entre el genotipo *cagA*⁺ con el desarrollo de cáncer gástrico y úlcera péptica (Parsonnet et al., 1997; Saber et al., 2015; Nomura et al., 2002). Para el caso de este gen, solo la cepa HCGDL-MR01 resultó portadora. Con base en esto, se puede determinar que una persona infectada con la cepa HCGDL-MR01 tiene más posibilidades de desarrollar cáncer gástrico y úlcera péptica (Cuadro 1).

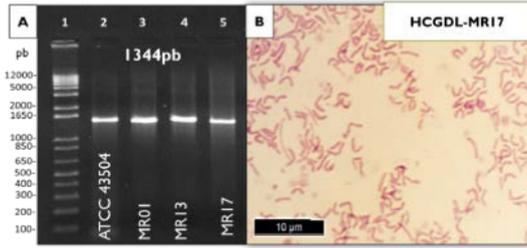


Figura 1. Resultado de la identificación de las cepas aisladas. (A) PCR para el gen *ureC*. (B) morfología bacteriana de la cepa HCGDL-MR17 observada mediante tinción Gram y microscopía
Fuente: Rios-Saldoval et al., 2024

Cuadro 1. Genotipo de las cepas aisladas

Cepa	Genotipo
ATCC 43504	<i>ureC</i> (+), <i>cagA</i> (+), 16s(+), <i>tonB</i> (+), <i>ureA</i> (+), <i>vacA</i> m1s1
HCGDL-MR01	<i>ureC</i> (+), <i>cagA</i> (+), 16s(+), <i>tonB</i> (+), <i>ureA</i> (+), <i>vacA</i> m2s2
HCGDL-MR13	<i>ureC</i> (+), <i>cagA</i> (-), 16s(+), <i>tonB</i> (+), <i>ureA</i> (+), <i>vacA</i> m2s2
HCGDL-MR17	<i>ureC</i> (+), <i>cagA</i> (-), 16s(+), <i>tonB</i> (+), <i>ureA</i> (+), <i>vacA</i> m2s2

El análisis filogenético con el gen ARNr 16s confirmó la identificación previa, situando a los aislados clínicos dentro de la especie *H. pylori*. Complementario a esto, el análisis multilocus colocó a todas las cepas en la estructura poblacional hpEurope (Figura 2). Cabe mencionar que se observa una relación mas estrecha entre las cepas HCGDL-MR01 y HCGDL-MR13, mientras que la cepa HCGDL-MR17 se encuentra filogenéticamente más distante de estas dos.

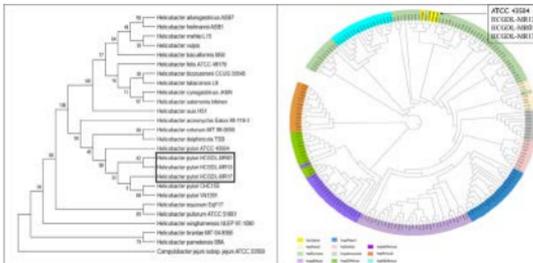


Figura 2. Análisis filogenético con el gen ARNr 16s (A) y análisis multilocus con los genes constitutivos *atpA*, *efp*, *mutY*, *ppa*, *trpC*, *ureI*, *yphC* (B). Parámetros para ambos análisis: método de máxima verosimilitud, 1000 réplicas de Bootstrap, distribución gamma de 5, método de kimura 2-parametros.
Fuente: Rios-Saldoval et al., 2024 (mayores detalles en el artículo)

Conclusiones

Se obtuvieron distintos genotipos para cada cepa de *H. pylori*, siendo la cepa HCGDL-MR01 portadora del gen *cagA*, relacionado con el desarrollo de cáncer gástrico. Todas las cepas mostraron relación con la estructura poblacional hpEurope.

Conflicto de interés

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por proyectos internos del Laboratorio de Fitopatología y de Biotecnología Médica y Farmacéutica del CIATEJ.

Referencias

- Achtman, M., Azuma, T., Berg, D. E., Ito, Y., Morelli, G., Pan, Z. J., Suerbaum, S., Thompson, S. A., van der Ende, A., & van Doorn, L. J. (1999). Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Molecular microbiology*, 32(3), 459–470. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01382.x>
- Atherton, J.C., Cao, P., Peek, R.M., Tummuru, M.K.R., Blaser, M.J., Cover, T.L. (1995). Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *Journal of Biological Chemistry*, 270(30), 17771–17777. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.30.17771>
- Marshall, B. J., & Warren, J. R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet (London, England)*, 1(8390), 1311–1315. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(84\)91816-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(84)91816-6)
- Mendoza-Elizalde, S., Cortés-Márquez, A. C., Giono-Cerezo, S., Zuñiga, G., Consuelo-Sánchez, A., Valencia-Mayoral, P., Viguera-Galindo, J. C., Escalona-Venegas, G., Arellano-Galindo, J., & Velázquez-Guadarrama, N. (2015). Analysis of the genotypic diversity of strains of *Helicobacter pylori* isolated from pediatric patients in Mexico. *Infection, genetics and evolution : journal of mo-*

- lecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 29, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.11.002>
- Nomura, A. M., Pérez-Pérez, G. I., Lee, J., Stemmermann, G., & Blaser, M. J. (2002). Relation between *Helicobacter pylori* *cagA* status and risk of peptic ulcer disease. *American journal of epidemiology*, 155(11), 1054–1059. <https://doi.org/10.1093/aje/155.11.1054>
- Parsonnet, J., Friedman, G.D., Orentreich, N., Vogelman, H. (1997). Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 40(3), 297–301. <https://doi.org/10.1136/gut.40.3.297>
- Ríos-Sandoval M., Quiñones-Aguilar, E.E., Solís-Sánchez, G.A., Bravo-Madrigal, J., Velázquez-Guadarrama, N., Rincón-Enríquez, G. (2024). Genotypes and phylogenetic analysis of *Helicobacter pylori* clinical bacterial isolates. *Microbiology Research*, 15(3), 1845-1858; <https://doi.org/10.3390/microbiolres15030123>
- Saber, T., Ghonaim, M. M., Yousef, A. R., Khalifa, A., Al Qurashi, H., Shaqhan, M., & Samaha, M. (2015). Association of *Helicobacter pylori* *cagA* gene with gastric cancer and peptic ulcer in Saudi Patients. *Journal of microbiology and biotechnology*, 25(7), 1146–1153. <https://doi.org/10.4014/jmb.1501.01099>
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology*, 173(2), 697–703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
- Zou, Q.H., Wei, W. (2013) Phage therapy: promising for *H.pylori* infection. *Clin Microbial*, 2, 112. 10.4172/2327-5073.1000112.

Efectos de la administración de cannabidiol en dos modelos murinos de depresión

Robles-Sierra, Elda¹, González-Horta, Azucena¹, Montiel-Condado, Dvorak¹, Bermúdez-De León, Mario², y González-Hernández, Brenda*

Resumen

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto antidepresivo del cannabidiol (CBD) en dos modelos de depresión. Se utilizaron ratas Wistar macho y hembra, sometidas a un protocolo de Estrés Agudo o Crónico Impredecible, con los siguientes tratamientos: Solución Salina, CBD-10mg/kg, Imipramina-30mg/kg. y se evaluó con la Prueba de Nado Forzado. El análisis fue basado en tres conductas: inmovilidad, nado y escalamiento. Se realizó un ANOVA seguida de la prueba de Tukey donde se encontró que el cannabidiol disminuyó el tiempo de inmovilidad en ambos sexos y modelos. Para la conducta de nado se pudo observar que las ratas hembra tratadas con imipramina tuvieron un mayor tiempo de nado, mientras que en machos fueron los tratados con cannabidiol. Se concluyó que el cannabidiol mostró tener un efecto antidepresivo similar a la imipramina y que se muestra una respuesta diferencial a los tratamientos entre machos y hembras.

Palabras clave: depresión, cannabidiol, CUS, nado forzado.

Introducción

El Trastorno Depresivo Mayor (TDM) se caracteriza por una tristeza persistente, además de cambios neurovegetativos y de conducta, su etiología es desconocida, pero se considera una combinación de factores genéticos y ambientales (Liu L. et al., 2023). El TDM involucra alteraciones en los sistemas de neurotransmisión, neuroendocrino e inmunológico, lo que puede explicar la variedad de síntomas observables (Silva, 2002). El abordaje terapéutico de la depresión sigue siendo un reto para los clínicos porque los antidepresivos solo

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma De Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

² Centro de Investigación Biomédica del Noreste, Instituto Mexicano del Seguro Social, Monterrey, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: Brenda González Hernández, brenda.gonzalezhn@uanl.edu.mx

logran una mejora clínica en el 65-70% de los pacientes (Saíz-Ruiz et al., 2002), el resto son considerados fármacos resistentes cuando no observan mejoría después de intentar con al menos dos anti-depresivos (NMHI, 2021), por lo cual, se están buscando nuevas alternativas. Dentro de los nuevos blancos moleculares que están siendo explorados está el sistema endocannabionide, un sistema neuromodulador que juega un papel importante en la regulación del estado de ánimo, la cognición y las respuestas emocionales, y su disfunción se ha relacionado con la depresión (Yu et al., 2012) (Bright & Akirav, 2022). El cannabidiol, un fitocannabinoide no psicoactivo derivado de la planta *Cannabis sativa*, interactúa con el SEC y se ha sugerido que tiene posibles efectos terapéuticos para la depresión (Yarar, 2020) (Chadwick et al., 2019). Es por ello que el objetivo del presente trabajo es evaluar el posible mecanismo antidepressivo cannabidiol en dos modelos animales de depresión basados en el estrés.

Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”. En todo el protocolo se tuvo acceso a agua y comida (a menos que se indique lo contrario). Las instalaciones estuvieron bajo condiciones de luz – oscuridad de 12 h y una temperatura ambiente de 23-25° C. Se utilizaron ratas macho y hembras jóvenes de la cepa Wistar, de 200 – 250 gr de peso proporcionadas por los bioterios del Centro de Investigación Biomédica del Noroeste del Instituto del Mexicano del Seguro Social, las cuales se mantuvieron en cajas de plástico estándar.

Diseño experimental

Los animales fueron sometidos a dos condiciones de depresión: aguda y crónica. Con los siguientes tratamientos: 1) control, 2) cannabidiol (CBD) a una dosis de 10mg/kg (intraperitoneal (ip)), 3) imipramina (IMI) a una dosis de 30mg/kg (ip). En la condición aguda, los animales se inyectaron con una dosis única de vehículo, CBD e IMI 40 minutos previas a la prueba conductual. En la condición

crónica, las mismas dosis se administraron diariamente a las 12:00 pm. durante los últimos 7 días.

Protocolo de estrés agudo

Las ratas fueron sometidas a dos sesiones de la prueba de nado forzado (PNF). En la primera fueron puestas a nadar individualmente en un cilindro de acrílico de 35 x 32 cm de diámetro con 30 cm con agua a 25 °C por 15 minutos (pre-sesión). Pasadas 24 horas, fueron sometidas de nuevo a la PNF solo durante 5 minutos, inmediatamente después fueron sacrificadas.

Protocolo de estrés crónico impredecible

Las ratas fueron sometidas a estresores diarios de forma aleatoria durante 28 días (Tabla 1). Terminado el protocolo, fueron sometidas a la PNF por 7 minutos (2 minutos de adaptación y 5 minutos de prueba). Pasado el tiempo, inmediatamente fueron sacrificadas.

Tabla 1. Estrés Crónico Impredecible

No.	Estresor	Descripción
1	Restricción de comida	Se retiró la comida por 16 h.
2	Restricción de agua	Se retiraron los bebederos por 16 h.
3	Cama húmeda	En una caja individual se puso una capa de aserrín y se colocó agua, el animal permaneció por 24 h con acceso libre a alimento y agua.
4	Caja inclinada	Se colocó en una caja individual en un ángulo 45° por 1 hora con libre acceso a alimento y agua.
5	Restricción de movimiento	Se introdujo al animal en una bolsa cónica (manga pastelera) por 30 minutos dejando un orificio para respirar.
6	Pellizco en cola	Se colocó una pinza de metal a 1 cm después del nacimiento de la cola por 20 minutos.
7	Hacinamiento	Se colocaron cinco ratas en una caja individual de 35x28x16cm por 12 h con acceso libre a alimento y agua.

Análisis de la prueba de nado forzado

Se utilizó el método de cuentas. Para ello cada sesión fue grabada para analizar cada 5 segundos la presencia de alguna de las siguientes conductas:

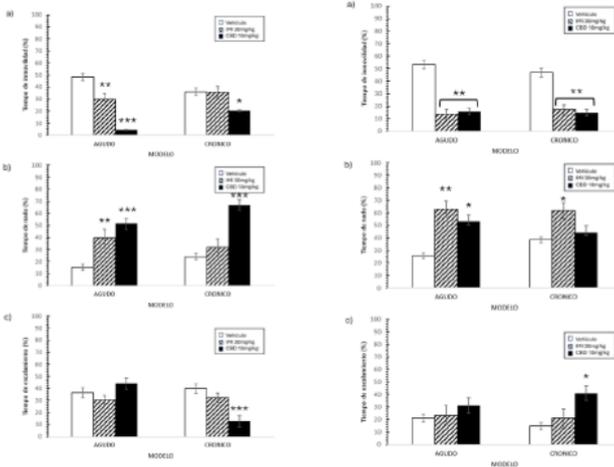
1. Nado: la rata realiza movimientos activos y suaves los cuales le permiten desplazarse dentro del cilindro y alrededor de este.
2. Escalamiento: la rata hace movimientos activos con sus patas delanteras dentro y fuera del agua, por lo general dirigida contra la pared del cilindro.
3. Inmovilidad: la rata permanece flotando realiza solo movimientos necesarios que le permiten mantener la nariz fuera del agua y respirar (depresión).

Análisis estadístico: ANOVA de una vía seguida de la prueba de Tukey.

Resultados y Discusión

Al comparar las PNF en las dos condiciones (estrés agudo y estrés crónico impredecible), se encontró que en machos (Gráfica 1), para la conducta de nado, diferencias significativas con CBD, $p < 0.001$ para Estrés Agudo y $p < 0.05$ en CUS. La imipramina mostró diferencia en Estrés Agudo ($p < 0.01$). Para el nado el cannabidiol se observó diferencia significativa en ambos grupos ($p < 0.001$) y la imipramina presentó diferencia en Estrés Agudo ($p < 0.01$). En el escalamiento el CBD en modelo crónico mostró diferencia ($p < 0.001$) y la imipramina no mostró diferencia. Lo que indica que la CBD tiene un efecto antidepressivo, en ambas condiciones, pero teniendo un patrón diferencial. En estrés agudo aumenta el nado y escalamiento, mientras que en crónico solamente el nado.

En las hembras (Gráfica 2), para la inmovilidad ambos tratamientos mostraron diferencia respecto al control en ambos modelos ($p < 0.01$). En el nado la imipramina mostró diferencia en los dos modelos, con un valor de $p < 0.001$ en Estrés Agudo y $p < 0.01$ en Estrés Crónico Impredecible. El cannabidiol tuvo diferencia en Estrés Agudo ($*p < 0.01$). En escalamiento, el cannabidiol mostró diferencia en Estrés Crónico Impredecible ($p < 0.01$) y al igual que en machos la imipramina no diferencia en el escalamiento. Estos resultados también nos indican que el CBD tiene un efecto antidepressivo.



Gráfica 1. Efecto de la administración de cannabidiol (CBD 10mg/kg), imipramina (IMI 30mg/kg) en el tiempo de: a) Inmovilidad, b) Nado y c) Escalamiento en ratas macho sometidas a estrés agudo y estrés crónico versus control (Vehículo) en la prueba de nado forzado. Analizado con la prueba ANOVA seguido de la prueba de Tukey. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. **Fuente:** elaboración propia

Gráfica 2. Efecto de la administración de cannabidiol (CBD 10mg/kg), imipramina (IMI 30mg/kg) en el tiempo de: a) Inmovilidad, b) Nado y c) Escalamiento en ratas hembra sometidas a estrés agudo y estrés crónico versus control (Vehículo) en la prueba de nado forzado. Analizado con la prueba ANOVA seguido de la prueba de Tukey. *p<0.01, **p<0.001. **Fuente:** elaboración propia

En la Tabla 2 se resume los resultados obtenidos en ambas condiciones experimentales.

Tabla 2. Número de cuentas de los grupos de estrés crónico impredecible y Estrés Agudo en la Prueba de Nado Forzado

	Inmovilidad				Nado				Escalamiento			
	Machos		Hembras		Machos		Hembras		Machos		Hembras	
	EA	CUS	EA	CUS	EA	CUS	EA	CUS	EA	CUS	EA	CUS
Vehículo	29 (2.3)	21.6 (1.8)	32 (2.1)	28.1 (1.7)	9.2 (1.6)	14.5 (2.6)	15.4 (1.0)	23.1 (1.3)	21.8 (2.4)	23.9 (1.7)	12.6 (1.8)	8.8 (2.4)
IMI 30mg/kg	18 (2.8)**	21.5 (1.2)	8.1 (2.4)**	10.3 (1.8)**	23.7 (4.4)**	19.1 (1.7)	37.8 (3.8)**	37.1 (3.7)*	18.3 (2.6)	19.4 (2.3)	14.1 (4.5)	12.6 (3.6)
CBD 10mg/kg	2.7 (.4)***	12.2 (2.9)**	9.4 (1.5)**	8.8 (1.0)**	30.8 (2.7)***	40.2 (3.2)***	31.9 (3.3)*	26.6 (1.2)	26.5 (2.8)	7.6 (1.5)***	18.7 (3.7)	24.6 (.9)*

(Media ± EEM) (*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, versus control)

Fuente: elaboración propia

Conclusiones

1. El CBD mostró tener un efecto antidepresivo similar a la Imipramina.
2. Se muestra una respuesta diferencial a los tratamientos entre machos y hembras.

Conflicto de intereses

“Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.”

Financiamiento

El proyecto no cuenta con ningún tipo de financiamiento.

Agradecimientos

La autora Elda Josefina Robles Sierra agradece al CONAHCYT por la beca de posgrado otorgada.

Referencias

- Erhan, Yarar. (2020). Role and Function of Endocannabinoid System in Major Depressive Disease. *Medical Cannabis and Cannabinoids*, 4(1), 1-12. <http://doi.org/10.1159/000511979>
- Liu, L., Wang, H., Chen, X., Zhang, Y., Zhang, H., & Xie, P. (2023). Gut microbiota and its metabolites in depression: From pathogenesis to treatment. *eBioMedicine*, 90, 104527. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104527>
- NIMH (2021). Depresión. Maryland, EEUU: Instituto Nacional de la Salud Mental División de Redacción Científica, Prensa, y Difusión.
- Sáiz-Ruiz, J., Ibáñez, A., Díaz-Marsá, M., Arias, F., Padín, J., Martín-Carrasco, M., Montes, J. M., Ferrando, L., Carrasco, J. L., Martín-Ballesteros, E., Jordá, L. & Chamorro, L. (2002). Efficacy of venlafaxine in major depression resistant to selective serotonin reuptake inhibitors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 26(6), 1129-1134. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(02\)00247-6](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(02)00247-6)

- Silva, H. (2002). Nuevas perspectivas en la biología de la depresión. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 40(Suppl. 1), 9-20. <http://doi.org/10.4067/S0717-92272002000500002>
- Uri, B., & Irit, A. (2022). Modulation of Endocannabinoid System Components in Depression: Pre-Clinical and Clinical Evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5526. <http://doi.org/10.3390/ijms23105526>
- Verity, Chadwick., Cathrin, Rohleder., Dagmar, Koethe., F, M., Leweke. (2019). Cannabinoids and the endocannabinoid system in anxiety, depression, and dysregulation of emotion in humans. *Current Opinion in Psychiatry*, 33(1), 20-42. <http://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000562>
- Yu, H. L., Zhang, F., & Quan, Z. S. (2012). Endogenous cannabinoid system and depression. *Sheng li ke xue jin Zhan [Progress in Physiology]*, 43(4), 257-262.

Modelo farmacocinético del envenenamiento por picadura de escorpión y del tratamiento con anticuerpo

Rodríguez Escamilla, Katia Noemi¹, Vázquez López, Hilda²,
y Olivares Hernández, Roberto^{3*}

Resumen

Este artículo aborda un problema de salud pública como lo es la picadura por alacrán. En México, se destaca la diversidad de especies de escorpiones y la complejidad de sus venenos incentivando las investigaciones sobre especies de importancia médica. En particular, el envenenamiento por picadura del alacrán *Centruroide noxius* es un problema de salud en estados como Morelos, Guerrero y Jalisco, entre otros. En este trabajo, por medio de la solución de un modelo matemático, se simula el envenenamiento por la toxina Cn2 y su tratamiento con el anticuerpo de cadena sencilla scFv LR. La solución del modelo permite describir la cinética del veneno y su inhibición por medio del anticuerpo scFv LR, con estas soluciones se pueden dirigir estrategias para la administración del antiveneno.

Palabras clave: Envenenamiento, escorpiones, antivenenos, farmacocinética, anticuerpos.

Introducción

El envenenamiento por picaduras de escorpión es un problema de salud pública significativo en México. Entre 2018 y 2022 varios municipios del país registraron tasas de incidencia superiores a 13 000 por cada 100 000 habitantes (Secretaría de Salud, 2024). Se estima que cada año alrededor de 1.2 millones de personas en América Latina sufren envenenamientos por picaduras de escorpión, lo que resulta en aproximadamente 3 250 muertes, muchas de ellas en ni-

¹ Licenciatura en Ingeniería Biológica, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa.

² Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología-Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Chamilpa 2001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos 62210, México.

³ Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, Cuajimalpa de Morelos, Ciudad de México, 05348, México

*Roberto Olivares Hernández rolivares@cua.uam.mx

ños y personas con acceso limitado a atención médica (Viruez-Soto et al., s. f.). Esta situación pone de relieve la necesidad urgente de investigar tratamientos eficaces para neutralizar los efectos tóxicos de estos venenos, que pueden provocar complicaciones respiratorias y cardiovasculares severas (O'Malley & O'Malley, 2022).

La literatura existente ha identificado al escorpión *Centruroides noxius* como una de las especies más tóxica en el país (Santibáñez-López et al., 2015), cuyas picaduras pueden resultar mortales debido a la potencia de su veneno. Este veneno contiene neurotóxicas, incluyendo la Cn2, que afectan el sistema nervioso y se ha demostrado que tienen una letalidad significativa, especialmente en poblaciones vulnerables (Santibáñez-López et al., 2015). En este contexto, la producción de antivenenos ha evolucionado, y ha surgido un interés creciente en el desarrollo de anticuerpos de cadena única variable scFv como soluciones prometedoras para el tratamiento de estos envenenamientos.

El presente estudio tiene como objetivo modelar computacionalmente la farmacocinética del anticuerpo scFv LR, un anticuerpo diseñado para reconocer y neutralizar la toxina Cn2. Este anticuerpo se compone de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, unidas por un péptido de enlace, lo que le confiere un tamaño reducido y una alta especificidad para su antígeno objetivo (Riño-Umbarila et al., 2017). Gracias a su estructura monovalente, el scFv LR presenta una mayor capacidad para penetrar en los tejidos y un perfil farmacocinético favorable, lo que lo convierte en un candidato ideal para el desarrollo de antivenenos específicos (Riño-Umbarila et al., 2017).

La accesibilidad a los antivenenos para el tratamiento de pacientes que sufren los síntomas del envenenamiento por picadura de escorpión es un problema de disponibilidad. La frecuencia de picaduras en México señala la necesidad de desarrollar tratamientos efectivos ya que el veneno del escorpión *Centruroides noxius* tiene efectos neurotóxicos graves. Este veneno afecta el sistema nervioso, provocando síntomas como dolor intenso, espasmos musculares, náuseas, vómitos y, en casos graves, dificultad para respirar (Montoya, s.f.). La administración de la cantidad de antiveneno en pacientes con síntomas de envenenamiento se deja a consideración del médico

tratante, de esta manera, se desconoce si la cantidad de antiveneno administrado permite al paciente recuperarse.

Las toxinas y los antivenenos son moléculas que varían en peso molecular y, por lo tanto, esto impacta tanto en su absorción, distribución y subsecuente eliminación del sistema, por lo que su farmacocinética es distinta para cada uno. Para poder explorar estas diferencias se pueden ocupar modelos computacionales para conocer si la farmacocinética de un antiveneno permite la neutralización del veneno (Morris et al., 2022). En este trabajo se prone utilizar un modelo basado en compartimentos para poder simular el envenenamiento por la toxina Cn2 y el rescate con scFv LR.

Materiales y Métodos

Un modelo compartimental divide un sistema biológico en compartimentos que representan áreas donde una sustancia (fármaco, toxina) se distribuye y procesa. El paso de las moléculas a través de estos compartimentos se modela por medio de balances de materia modelar el modelo farmacocinético, en este caso, de la toxica Cn2 y el anticuerpo scFv LR. El modelo está basado en los balances de materia tanto del veneno como del antiveneno y considera la absorción, distribución y eliminación de sustancias en el cuerpo.

En este caso, se ha desarrollado un modelo de tres compartimentos para estudiar la toxina Cn2 del veneno de escorpión y su interacción con un anticuerpo obteniendo tres conjuntos de ecuaciones diferenciales que contemplan los balances de materia de la siguiente manera:

Conjunto 1: Se utiliza para modelar la distribución del anticuerpo.

Conjunto 2: Se utiliza modelar la distribución del veneno

Conjunto 3: Se utiliza para modelar tanto al veneno como el anticuerpo al mismo tiempo, así como la toxina eliminada del plasma.

En la Figura 1 se presenta un esquema de los compartimentos, esto son: sitio de picadura o inoculación, el compartimento plasmático y el extravascular. El modelo simula la absorción y distribución de la toxina Cn2 del veneno de escorpión, desde el sitio de la pi-

cadura hasta el plasma, y su eliminación o transferencia al espacio extravascular. Con base en datos experimentales se logró ajustar los parámetros cinéticos del conjunto 1 de ecuaciones.

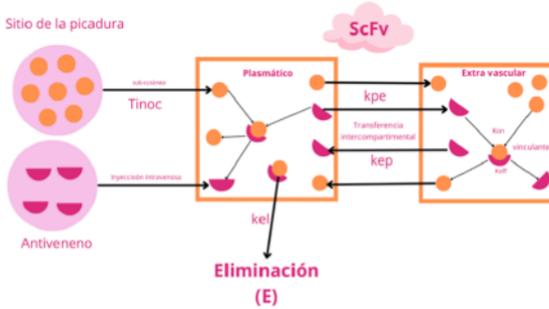


Figura 1. Modelo compartimental de la distribución de venenos y antivenenos. Compartimento plasmático (p), extravascular (ev) y de inoculación (ino)
Fuente: elaboración propia

En este modelo se incorporó un conjunto de ecuaciones propuestas por Morris et al. (2022). Se definió un conjunto de ecuaciones para describir la dinámica del antiveneno suministrado en el compartimento plasmático, esto para rastrear el intercambio de masa a lo largo del tiempo entre compartimentos (Ecuaciones 1a-1b).

Balance de masa de anticuerpo (conjunto 1)

$$\frac{dA_p}{dt} = -k_{pe}A * A_p - k_{el}A - A_p * A_{ev} \quad (1a)$$

$$\frac{dA_{ev}}{dt} = k_{pe}A * A_p - k_{ep}A * A_{ev} \quad (1b)$$

Balance en la toxina (conjunto 2)

$$\frac{dT_{inoc}}{dt} = -k_a T * T_{inoc} \quad (2a)$$

$$\frac{dT_p}{dt} = k_a T * T_{inoc} - k_{pe}T * T_p + k_{ep}T * T_{ev} - k_{el} T \quad (2b)$$

$$\frac{dT_{ev}}{dt} = k_{pe}T * T_p - k_{ep}T * T_{ev} \quad (2c)$$

$$\frac{dE}{dt} = k_{el}T * T_p \quad (2d)$$

El envenenamiento por escorpión sin tratamiento con anticuerpo se describió mediante un conjunto de ecuaciones que permiten seguir las concentraciones de las toxinas denominadas T (Ecuaciones 2a-2c), y las toxinas eliminadas E (Ecuación 2d), administrando 30 g /mL del anticuerpo y 10 g /mL de la toxina.

Se combinó un modelo de toxina y anticuerpo intravenoso para simular su interacción, representada como N. Se mantuvieron los parámetros del conjunto 2 y se modeló el envenenamiento intramuscular con las ecuaciones 2a-2d. A las 2 horas se administró el anticuerpo, generando tres conjuntos de ecuaciones. Los primeros dos conjuntos ajustaron los parámetros cinéticos del veneno y antiveneno (Riaño-Umbarila et al., 2017, Olivares-Hernández et al. 2024) y los faltantes se tomaron de la literatura para el conjunto 3 (Morris et al., 2022).

$$\frac{dT_T}{dt} = \frac{k_a T + T_{inoc} + (k_{pe} T + T_{ev} + V_p)}{V_c} - k_{el} T + T_p - k_{ep} T + T_p + k_{off} * N_p - k_{on} * A_p + T_p \quad (3a)$$

$$\frac{dT_{ev}}{dt} = \frac{k_{pe} T * T_p * V_c}{V_p} - k_{ep} T * T_{ev} - k_{on} * A_{ev} * T_{ev} + k_{off} * N_{ev} \quad (3b)$$

$$\frac{dA_p}{dt} = \frac{k_{pe} A * A_{ev} + V_p}{V_c} - k_{el} A * A_p - k_{ep} A * A_p - k_{on} * T_p * A_p - k_{off} * N_{ev} \quad (3c)$$

$$\frac{dA_{ev}}{dt} = \frac{k_{pe} A * A_p * V_c}{V_p} - k_{ep} A * A_{ev} - k_{on} * T_{ev} * A_{ev} - k_{off} * N_{ev} \quad (3d)$$

$$\frac{dN_p}{dt} = \frac{k_{ep} A * N_{ev} * V_p}{V_c} - k_{el} A * N_p - k_{ep} A * N_p + k_{on} * T_p * A_p - k_{off} * N_p \quad (3e)$$

$$\frac{dN_{ev}}{dt} = \frac{k_{pe} A * N_p * V_c}{V_p} - k_{ep} A * N_{ev} - k_{off} * N_{ev} * + k_{on} * T_{ev} * A_{ev} \quad (3f)$$

$$\frac{dE_p}{dt} = k_{el} T * T_p + k_{el} T * N_p \quad (3g)$$

Los parámetros cinéticos representan a la cinética entre compartimento, los subíndices que se ocupan son: a, para el sitio de la picadura; pe, para el plasmático y extravascular; el, para la eliminación; ev, para el compartimento extravascular; ep, para la transferencia entre extravascular y plasmático; p, para el compartimento plasmático; on y off para la formación de complejos.

Resultados y Discusión

Una vez realizada la metodología descrita, los resultados arrojaron que la concentración de la toxina (Cn2) comienza alta (cerca de 8 ng/mL) y disminuye rápidamente durante las primeras dos horas. En contraste, la concentración del anticuerpo (scFv LR) se suministran 30 g /mL en la segunda hora y luego disminuye gradualmente. Estos resultados indican que el anticuerpo es eficaz en la neutralización de la toxina tras la administración, manteniendo una presencia significativa en el plasma durante un periodo prolongado, lo cual es favorable para el tratamiento de envenenamientos (Figura 4). En la Figura 5 se tiene un comportamiento similar en el compartimento extravascular.



Figura 4. Comportamiento de la toxina y el antiveneno en plasma
Fuente: elaboración propia



Figura 5. Comportamiento de la toxina y el antiveneno en compartimento extra vascular
Fuente: elaboración propia

En la Figura 6 se observa que la toxina Cn2 decae en el sitio de inoculación (Tinoc), mientras esta se transporta al plasma incrementando su concentración (Tp). Al mismo tiempo se ve una acumulación en el compartimento extravascular (Tev).



Figura 6. Perfiles de concentración de la toxina en cada compartimento
Fuente: elaboración propia

En la Figura 7 se describe el comportamiento de la concentración del anticuerpo en plasma (Ap) y extravascular (Aev) al inicio. Mientras la concentración del anticuerpo disminuye en plasma, esta se incrementa en el compartimento extravascular (Aev). Conforme transcurre el tiempo, las concentraciones se igualan y el anticuerpo se va eliminando del sistema.



Figura 7. Perfiles de concentración del anti-veneno en cada compartimento en donde se encuentra
Fuente: elaboración propia

Finalmente, en la Figura 8 los complejos que se forman de veneno-antiveneno en cada compartimento (N_p y N_{ev}) indican la unión rápida de anticuerpos a las toxinas, neutralizándolas y bloqueando su efecto tóxico tanto en el compartimiento plasmático y extravascular. En las primeras 2 horas se observa una rápida formación de estos complejos, lo que sugiere una acción inmediata del anticuerpo. E_p es la concentración de toxina eliminada y se puede observar que se va incrementando en el tiempo.



Figura 8. Comportamiento de complejos y cuantificación de toxina eliminada
Fuente: elaboración propia

A partir de las simulaciones, el modelo matemático para el envenenamiento y tratamiento sistemático de borregos permite predecir las fluctuaciones en las concentraciones de sustancias tóxicas, anticuerpos y sustancias neutralizadas en dos secciones a lo largo del tiempo y mostrar la extensión, velocidad y duración de la neutralización.

Conclusiones

Se llevaron a cabo las simulaciones con un modelo farmacocinético de tres compartimentos para simular cómo las toxinas del veneno de escorpión interactúan con los anticuerpos y cómo estos los neutralizan. El modelo se describe cualitativamente la dinámica del envenenamiento por la toxina Cn2 y el antiveneno scFv LR y sugiere que los anticuerpos scFv LR podrían ofrecer un tratamiento más seguro y efectivo para las picaduras de escorpión. Sin embargo, se requieren más investigaciones para superar sus limitaciones y mejorar la precisión de las predicciones

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Al CONAHCyT, PRONACE 303045. Universidad Autónoma Metropolitana.

Referencias

- Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías. (s.f.). *Farmacocinética de antivenenos de formato de cadena sencilla (scFv) en modelos de animales*. Conahcyt. Consultado el 15 de octubre de 2024. <https://conahcyt.mx/pronaces/pronaces-salud/venenos-y-antivenenos/proyectos/farmacocinetica-de-antivenenos-de-formato-de-cadena-sencilla-scfv-en-modelos-de-animales>
- Montoya, M. A. (2024). Alacranismo. *Gaceta Médica de México*, 132(6), 645-648. Recuperado de https://www.anmm.org.mx/bgmm/1864_2007/1996-132-6-645-648.pdf
- Morris, N. M., Blee, J. A., & Hauert, S. (2022). Developing a computational pharmacokinetic model of systemic snakebite envenomation and antivenom treatment. *Toxicon*, 215, 77-90. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.06.006>
- O'Malley, G. F., & O'Malley, R. (2022, 13 junio). Generalidades del envenenamiento. *Manual MSD Versión Para Profesionales*. https://www.msmanuals.com/es-mx/profesional/lesiones-y-envenenamientos/intoxicaci%C3%B3n/generalidades-del-envenenamiento#Signos-y-s%C3%ADntomas_v1118032_es
- Olivares-Hernández, R., Riaño-Umbarila, L., Becerril, B., Alagón, A., & Vázquez-López, H. (2024). Pharmacokinetic evaluation of a single chain antibody fragment against scorpion toxins in sheep. *Toxicon*, 242, 107691. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.107691>
- Riaño, L. R. (2019). *Estudio del efecto de la orientación de los dominios VL y VH sobre las propiedades del scFv LR* [tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio institucional BUAP. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/4648> ,

- Riaño-Umbarila, L., Rodríguez-Rodríguez, E. R., Santibáñez-López, C. E., Güereca, L., Uribe-Romero, S. J., Gómez-Ramírez, I. V., Cárcamo-Noriega, E. N., Possani, L. D., & Becerril, B. (2017). Updating knowledge on new medically important scorpion species in Mexico. *Toxicon*, 138, 130-137. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.08.022>
- Santibáñez-López, C. E., Francke, O. F., Ureta, C., & Possani, L. D. (2015). Scorpions from Mexico: From species diversity to venom complexity. *Toxins*, 8(1), 2. <https://doi.org/10.3390/toxins8010002>
- Secretaria de Salud. (2024). *Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de intoxicación por animales ponzoñosos*. https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/26_Manual_de_Procedimientos_Ponzona_2024.pdf
- Viruez-Soto, A., Auza-Santiváñez, J. C., Condori-Villca, N., Segales-Camacho, A., Gutiérrez-Beltrán, J., & Prieto-Jemio, J. L. (2023). Picadura de escorpión, revisión de la literatura y actualización. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 27(3), . Epub 01 de mayo de 2023. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942023000300028&lng=es&tlng=es.

Potencial actividad citotóxica de extractos de hoja de *Thevetia ahouai* (Apocynaceae) sobre carcinoma mamario tipo HER2+

Vázquez-Tec, William Fernando^{1*}, Reyes-Vaquero, Lorena², Camacho-Villegas, Tanya Amanda³, Domínguez-May, Ángel Virgilio⁴, y Cano-Sosa, Julia^{1*}

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad citotóxica de los extractos de hojas de *Thevetia ahouai* sobre células de carcinoma mamario HER2 positivo. Se obtuvieron extractos etanólicos utilizando dos métodos de extracción: maceración y sonicación. La citotoxicidad de los extractos se evaluó mediante el ensayo AlamarBlue, utilizando diferentes concentraciones de extracto en células SKBR-3. Los resultados mostraron que ambos extractos presentaron una actividad citotóxica dependiente de la dosis, alcanzando los mayores porcentajes de mortalidad celular con la concentración de 500 µg/mL. El extracto obtenido por sonicación mostró un mayor efecto citotóxico, con una IC₅₀ de 199.3 µg/mL, comparado con 1140.95 µg/mL del extracto por maceración. Estos resultados son comparables a los obtenidos con fármacos comerciales como la vincristina. Se concluye que los extractos de *Thevetia ahouai*, particularmente el obtenido por sonicación, presentan un potencial como agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer de mama HER2+.

Palabras clave: *Thevetia ahouai*, extractos vegetales, carcinoma mamario, SKBR-3, HER2+.

¹ Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Tablaje Catastral 31264 Km 5.5 Carr. Sierra Papacal-Chuburná Puerto, Parque Científico Tecnológico de Yucatán, CP. 97302 Mérida, Yucatán, México.

² Biotecnología Vegetal, CONAHCyT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Tablaje Catastral 31264 Km 5.5 Carr. Sierra Papacal-Chuburná Puerto, Parque Científico Tecnológico de Yucatán, CP. 97302 Mérida, Yucatán, México.

³ Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Av. Normalistas 800, Colinas de la normal, CP. 44270, Guadalajara, Jalisco, México.

⁴ TecNM-Instituto Tecnológico Superior del Sur del Estado de Yucatán (ITSSY). Carretera Muna-Felipe Carrillo Puerto, tramo Oxkutzcab-Akil Km 41+400, CP. 97880, Oxkutzcab, Yucatán, México.

*Autor de correspondencia: Julia Cano Sosa jcano@ciatej.mx y William Fernando Vázquez Tec, wivarguez_al@ciatej.edu.mx

Introducción

Según lo establece la Sociedad Americana del Cáncer, el cáncer es un grupo de enfermedades caracterizado por el crecimiento descontrolado y la propagación de células anormales y que representa la segunda mayor causa de muerte a nivel mundial (Barrios & Garau, 2017). En 2022 se contabilizaron aproximadamente 2.3 millones de casos activos de cáncer de mama en el mundo, con una incidencia de 1.38 millones de nuevos casos y medio millón de defunciones al año debidas a esta patología, siendo el cáncer más común en mujeres (Palmero, Lassard, Juárez & Medina, 2021). Uno de los tipos más agresivos de cáncer de mama es el clasificado HER2+ (positivo para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano), caracterizado por presentar una sobreexpresión de la proteína HER2 en la superficie de las células, que promueve el crecimiento acelerado de las mismas (García-Redondo, Pareja-López, López-Ruiz & Rodríguez-Alonso, 2023). La rápida multiplicación de este tipo de células resulta de gran importancia para el estudio y desarrollo de nuevos tratamientos dirigidos que bloqueen el efecto estimulante del receptor HER2 y puedan ralentizar o detener el crecimiento tumoral, como es el caso de la línea celular SKBR-3, utilizada en el análisis del potencial anticanceroso de diversos productos naturales con propiedades terapéuticas (Ullah et al., 2023; Cruz-Martins, 2023).

La familia Apocynaceae es una de las familias de plantas con especies ricas en metabolitos secundarios con propiedades anticancerígenas (Hazafa, Rehman, Jahan & Jabeen, 2020). Entre estas especies se encuentra *Thevetia ahouai*, que ha sido usada tradicionalmente por las comunidades indígenas del estado de Yucatán para tratar inflamaciones musculares, hiperglucemia, hipotiroidismo y tumores cutáneos, entre otros males (Villa-de la Torre, 2014). Investigaciones recientes muestran que los extractos de distintos tejidos de *T. ahouai* presentan potencial citotóxico sobre líneas celulares leucemia, cáncer pulmonar, cáncer de colon, linfoma primario del sistema nervioso central, melanoma, cáncer ovárico y cáncer renal (Decosterd, Gustafson, Cardellina, Cragg & Boyd, 1994; Campos-Paniagua, 2009), aunque hasta el momento no se han evaluado los efectos de esta planta sobre cáncer de mama.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial citotóxico sobre la línea celular SKBR-3 de los extractos etanólicos por maceración y sonicación obtenidos de las hojas de *T. abouai* con el ensayo AlamarBlue.

Materiales y Métodos

Los extractos de hoja de *T. abouai* se obtuvieron por los métodos de maceración y sonicación. Se utilizó una proporción de 1:10 (p/v) material vegetal seco y etanol al 85% para ambos métodos (De la Rosa-Torres, Márquez-Vizcaíno, Mendoza-Mendoza, Prieto-Galvis & Anillo-Anillo, 2005). La maceración se realizó durante 72 horas y la sonicación durante 20 minutos. Los extractos se llevaron a sequedad en rotaevaporador. Los ensayos de citotoxicidad se realizaron en placas de 96 pozos. Se agregaron 250 μL de los extractos etanólicos de hoja de *T. abouai* disueltos en medio de cultivo celular RPMI 1640 a concentraciones de 50, 100, 250 y 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sobre un volumen aprox. de 5×10^3 células de carcinoma mamario (SKBR-3). Las placas se incubaron en estufa de incubación (Thermo Scientific™ NAPCO Series 8000) durante 24 horas a 37 °C, 5% de CO₂ y 80% de humedad relativa. Posteriormente, se retiraron los estímulos de las células y se aplicó 200 μL de tinte AlamarBlue con rezasurina [1 $\mu\text{g}/\text{mL}$]. Las placas se incubaron nuevamente durante 4 horas en las mismas condiciones. Las placas se analizaron en un espectrofotómetro (BIO-RAD™ xMark Microplate Spectrophotometer) a 570 y 600 nm (Sharma, Arya, Kumari, Gupta & Nimesh, 2019). Se calculó el porcentaje de muerte celular por el método de extinción molar. Se calculó la IC₅₀ de cada extracto utilizando la calculadora en línea AAT BIOQUEST Quest Graph™. Se utilizaron células tratadas con vincristina [4 nm] como control positivo. Como control negativo se utilizaron células con medio RPMI 1640 sin extracto de hoja de *T. abouai*.

Resultados y Discusión

Los extractos etanólicos de hoja de *T. abouai* mostraron una respuesta dosis-dependiente. Con la concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extracto se obtuvieron los mayores porcentajes de mortalidad (71% por maceración y 77% por sonicación), estos resultados son comparables

al obtenido por el control con vincristina (76%) (ver Figura 1). Esto sugiere que los extractos crudos de hoja de *T. ahouai* por maceración y por sonicación a concentraciones $>500 \mu\text{g/mL}$ poseen una actividad anti-proliferativa sobre la línea celular SKBR-3 similar a la mostrada por fármacos comerciales, como la vincristina, utilizados actualmente en el tratamiento de cáncer de mama tipo HER2+.

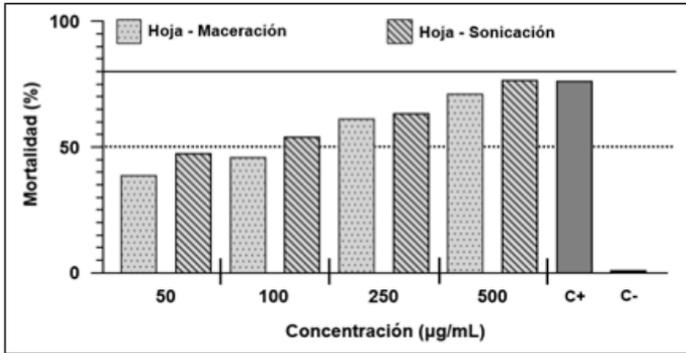


Figura 1. Porcentaje de muerte celular sobre SKBR-3 por aplicación de extractos de *T. ahouai* obtenidos por maceración y sonicación
Fuente: propia

Las IC₅₀ obtenidas fueron de $1140.95 \mu\text{g/mL}$ para maceración y $199.3 \mu\text{g/mL}$ para sonicación. Al comparar las IC₅₀ obtenidas con las reportadas en otros trabajos donde se evaluó la actividad citotóxica de otras especies de apocináceas sobre la línea celular SKBR-3, como el realizado por Ullah et al., (2023) con la planta *Rhazya stricta* (IC₅₀: $148.4 \mu\text{g/mL}$), se observa que la IC₅₀ del extracto de hoja de *T. ahouai* obtenido por sonicación es la más cercana a la mostrada por *R. stricta*, lo que sugiere que el empleo de ondas ultrasónicas durante la extracción aumenta la obtención de compuestos con actividad citotóxica, mejorando así el potencial de eliminación de células HER2+ de este extracto.

Conclusiones

A partir del presente estudio se pueden obtener las siguientes conclusiones: 1) Los extractos de hoja de *T. ahouai* por maceración y sonicación tienen potencial como agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer de mama HER2+. 2) El método de sonicación

resultó ser más eficiente que la maceración en términos de citotoxicidad. 3) El extracto de hoja de *T. abouai* obtenido por sonicación, a una concentración de 500 µg/mL, mostró un potencial citotóxico superior al control farmacéutico (vincristina) sobre células de carcinoma mamario tipo HER2+. Estos resultados abren la posibilidad de que compuestos derivados de *T. abouai* puedan ser utilizados en el desarrollo de nuevos tratamientos contra este tipo de cáncer. Estos hallazgos respaldan la relevancia de la investigación adicional para identificar y aislar los compuestos bioactivos responsables de esta propiedad citotóxica.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Agradecimientos

A CONAHCYT por la beca de posgrado 2023-000002-01NACF-00578. Al proyecto 320786 titulado “estudio para obtención de base de datos de plantas del sureste de México con actividades medicinales y/o potenciales usos vinculados a sus metabolitos secundarios y como propagarlas”, convocatoria “Ciencia Básica y/o Ciencia de Frontera. Modalidad: Paradigmas y Controversias de la Ciencia 2022”, auspiciada por el CONAHCYT. A la beca para estancia corta que se obtuvo de “Convocatoria para la generación de proyectos internos de investigación CIATEJ (PIICs 2023)”. Al CIATEJ sede Normalistas y subsele Sureste.

Referencias

- Barrios, E., & Garau, M. (2017). Cáncer: magnitud del problema en el mundo y en Uruguay, aspectos epidemiológicos. *Anales De La Facultad De Medicina*, 4(1), 9-46. Recuperado a partir de <https://revistas.udelar.edu.uy/OJS/index.php/anfamed/article/view/218>
- Campos-Paniagua, J. A. (2009). *Determinación de la actividad anticancerígena in vitro de los glicósidos cardiotónicos de los frutos de Thevetia abouia (cojón de costa de hojas largas) y Thevetia peruviana (cbilca)*,

- familia Apocynaceae* [tesis de licenciatura, Universidad de El Salvador]. Repositorio institucional UES. <https://hdl.handle.net/20.500.14492/1062>
- Cruz-Martins, N. (2023). Advances in plants-derived bioactives for cancer treatment. *Cells*, 12, 1112. <https://doi.org/10.3390/cells12081112>
- De la Rosa-Torres, C., Márquez-Vizcaíno, R. L., Mendoza-Mendoza, D., Prieto-Galvis, E., & Anillo-Anillo, G. (2005). Actividad antiinflamatoria y antifúngica de *Thevetia ahouai*. *Actual Biología*, 27(Supl. 1), 31-34. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.331520>
- Decosterd, L., Gustafson, K. R., Cardellina, J. H. II, Cragg, G. M., & Boyd, M. R. (1994). The differential cytotoxicity of cardenolides from *Thevetia ahouai*. *Phytotherapy Research*, 8, 74-77. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650080204>
- García-Redondo, M., Pareja-López, Á., López-Ruiz, N., & Rodríguez-Alonso, J. M. (2023). Cáncer de mama: nueva clasificación molecular. *Revista de Senología y Patología Mamaria*, 36, 100352. <https://doi.org/10.1016/j.senol.2021.04.002>
- Hazafa, A., Rehman, K.-U., Jahan, N., & Jabeen, Z. (2020). The role of polyphenol (flavonoids) compounds in the treatment of cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 72(1), 386-397. <https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1637006>
- Palmero, P. J., Lassard, R. J., Juárez, A. L. A., & Medina, N. C. A. (2021). Cáncer de mama: una visión general. *Acta Med Grupo Angeles*, 19(3), 354-360. <https://doi.org/10.35366/101727>
- Sharma, N., Arya, G., Kumari, R. M., Gupta, N., & Nimesh, S. (2019). Evaluation of anticancer activity of silver nanoparticles on the A549 human lung carcinoma cell lines through Alamar Blue Assay. *Bio-protocol*, 9(1). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3131>
- Ullah, M. F., Ahmad, A., Bhat, S. H., Abuduhier, F. M., Ajmal, M. R., & Mustafa, S. K. (2023). Cytotoxic and anti-metastatic action mediates the anti-proliferative activity of *Rhazya stricta* Decne inducing apoptotic cell death in human cancer cells: Implication in chemopreventive mechanism. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 35(8), 683-692. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2023.v35.i8.3132>

Villa-de la Torre, F. E. (2014). *Actividad antiinflamatoria de Critonia aromatisans, Thevetia abouai y Montanoa grandiflora* [tesis de doctorado, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C]. Repositorio institucional CICY.

Modelado estructural farmacofórico 3D de ER β . Hacia nuevas terapias dirigidas contra el cáncer de mama

Vazquez-Mendoza, Luis Heriberto¹, Sosa-Rojas, Diana Evelyn¹,
García-Vázquez, Juan Benjamín¹, Mendoza-Figueroa, Humberto Lubriel¹,
y Jacobo Herrera, Nadia Judith²

Resumen

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una estrategia *in silico* basada en múltiples complejos ligando-proteína para el modelado de mapas farmacofóricos dirigidos a ER β , útiles en la exploración masiva de bibliotecas de fármacos de DrugBank y FDA. Los fármacos promisorios se evaluaron en líneas celulares de cáncer de mama, mediante ensayos de citotoxicidad, proliferación, apoptosis y migración. GC-1, AH-515 y PR1 demostraron una disminución de la proliferación y la viabilidad celular, con valores de IC50 de 206, 146 y 36 μ M respectivamente, en células MDAMB-231 y de 170, 127 y 21 μ M en células MCF-7, respectivamente. Así como la inducción de apoptosis. Estos hallazgos generan una alternativa factible bajo el enfoque de reposicionamiento de fármacos, con las ventajas que representa, incrementando la tasa de éxito y reduciendo el costo y tiempo para el establecimiento de una nueva indicación terapéutica contra el cáncer de mama.

Palabras clave: Farmacofórico, reposicionamiento, cáncer, ER β

Introducción

El receptor estrogénico beta (ER β), un supresor tumoral en el cáncer, ha ganado un interés creciente como diana farmacológica en la terapia dirigida. Niveles incrementados de ER β han resultado en buen pronóstico y supervivencia de pacientes con cáncer de mama

¹ Laboratorio de Diseño y Desarrollo de Nuevos Fármacos e Innovación Biotecnológica, Posgrado en Farmacología de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, Plan de San Luis y Salvador Díaz Mirón s/n, Casco de Santo Tomás, Ciudad de México, 11340, México.

² Unidad de Bioquímica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Tlalpan, Ciudad de México, 14080, México.

*Autor de correspondencia: Juan Benjamín García-Vázquez, benjagv_5202@hotmail.com

triple negativo. Por lo tanto, la activación de este receptor mediante ligandos selectivos representa una importante estrategia terapéutica en el cáncer de mama.

ER β en Cáncer

Los enfoques terapéuticos destacan la importancia de comprender el papel fisiológico de ER α y ER β en los tejidos y su funcionalidad mecánica *in vivo* para identificar tratamientos efectivos y minimizar efectos secundarios. La unión de E2 a ER α aumenta la proliferación celular; en contraste, se han realizado estudios donde se ha observado un agonista selectivo de ER β -DPN que inhibe la proliferación de células de cáncer de mama, con una disminución en la expresión de ciclina D1 y un aumento de la apoptosis.

Materiales y Métodos

Modelado farmacofórico ER β . Se realizó un modelado basado en 19 estructuras cristalinas de complejos de ER β con ligandos agonistas, obtenidas de la base de datos de proteínas PDB. Para cada cristal seleccionado se generó un farmacóforo utilizando la herramienta de generación de farmacóforos del software avanzado LigandScout 4.4.4. Posteriormente, todos los farmacóforos fueron alineados y fusionados simultáneamente en función de sus características tridimensionales y los aminoácidos presentes en el sitio de unión como puntos de referencia.

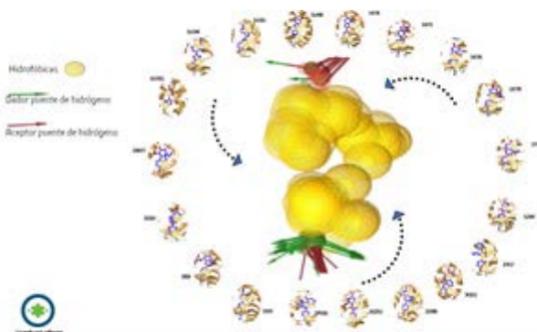


Figura 1. Mapa farmacofórico multicomplejo de ER β
Fuente: elaboración propia

Screening virtual. Se realizaron filtros de cribado virtual utilizando la herramienta “filtro de cribado virtual” de LigandScout 4.4.4/ADV, en Drugbank y FDA. Este proceso permitió la identificación de medicamentos conocidos que cumplieran estructuralmente con el arreglo geométrico y espacial de las interacciones moleculares identificadas.

Evaluación biológica. Se cultivaron células MCF-7 y MDA-MB-231, con sus correspondientes medios para su mantenimiento y crecimiento. El medio para la línea celular MCF-7 se suplementó con un 7% de suero fetal bovino (SFB, Gibco Lab); el medio para MDA-MB-231, con un 10% de SFB a 37 °C en una atmósfera humidificada de 5% CO₂ y 95% aire. Después del tiempo de incubación, las células fueron tratadas con concentraciones crecientes del compuesto de referencia y fármacos prometedores durante 48 h. Luego se realizó el ensayo MTT para obtener el % de viabilidad celular. También se realizó la determinación de apoptosis por citometría de flujo y se realizó el ensayo de migración celular correspondiente mediante el ensayo de cerrado de la herida.

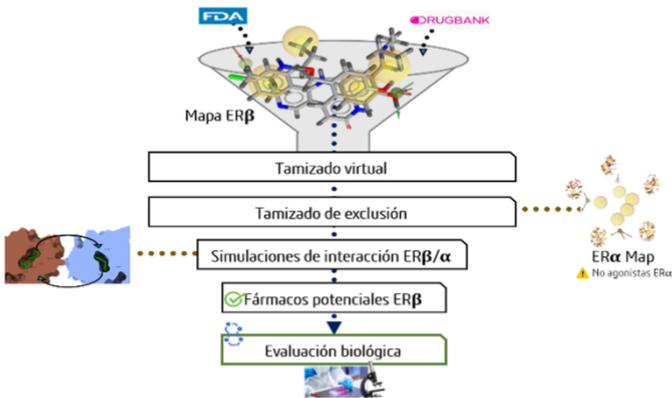


Figura 2. Flujo de trabajo para la identificación de potenciales candidatos agonistas a ERβ, a partir de un mapa farmacofórico y virtual screening de bases de datos de fármacos

Fuente: elaboración propia

Resultados y Discusión

Los fármacos GC-1, AH-515 y PR1 demostraron una disminución de la proliferación y la viabilidad celular, con valores de IC₅₀ de

206, 146 y 36 μ M respectivamente, en células MDAMB-231 y de 170, 127 y 21 μ M en células MCF-7, respectivamente. Así como la inducción de apoptosis.

El fármaco AH-515 tiene impacto sobre la capacidad de migración en MDA-MB-231 al inhibir el 40% del cerrado de la herida en comparación con el control, reflejando un potencial significativo para la inhibición de la invasión celular *in vivo*, lo cual se relaciona con los efectos agonistas del receptor ER β como la inhibición de la viabilidad y proliferación celular. Se están realizando ensayos complementarios que permitan determinar si estos efectos están relacionados con la activación e incremento de la expresión de ER β .

Conclusiones

La aplicación de una novedosa metodología de modelado farmacofórico basado en multicomplejos del ER β permitió la identificación de fármacos con las características mínimas requeridas para la activación del receptor ER β y actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7 y MDA-MB-231). Este trabajo contribuye con una alternativa viable para el posible reposicionamiento de PR-1, GC-1 y AH-515, para su uso en la terapia contra el cáncer de mama luminal y el agresivo triple negativo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Referencias

- Barron, T., Sharp, L., & Visvanathan, K. (2012). Beta-adrenergic blocking drugs in breast cancer: A perspective review. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 4(3), 113–125. <https://doi.org/10.1177/1758834012439738>
- Chavez, K. J., Garimella, S. V., & Lipkowitz, S. (2010). Triple negative breast cancer cell lines: One tool in the search for better treatment of triple negative breast cancer. *Breast Disease*, 32(1-2), 35-48. <https://doi.org/10.3233/BD-2010-0307>

- Helguero, L. A., Faulds, M. H., Gustafsson, J. A., & Haldosén, L. A. (2005). Estrogen receptors alpha (ER α) and beta (ER β) differentially regulate proliferation and apoptosis of the normal murine mammary epithelial cell line HC11. *Oncogene*, 24(44), 6605-6616. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208807>
- International Agency for Research on Cancer. (2020). *GLOBOCAN 2020: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2020*. [Database]. https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/1_Breast_fact_sheet.pdf
- Leitman, D. C., Paruthiyil, S., Vivar, O. I., Saunier, E. F., Herber, C. B., Cohen, I., Tagliaferri, M., & Speed, T. P. (2010). Regulation of specific target genes and biological responses by estrogen receptor subtype agonists. *Current Opinion in Pharmacology*, 10(6), 629-636. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.09.009>
- Spini, A., Roberto, G., Gini, R., Bartolini, C., Bazzani, L., Donnini, S., Crispino, S., & Ziche, M. (2019). Evidence of β -blockers drug repurposing for the treatment of triple negative breast cancer: A systematic review. *Neoplasma*, 66(6), 963–970. https://doi.org/10.4149/neo_2019_190110n34

Jarabe de alta fructosa y dieta alta en grasa: desarrollo de esteatosis hepática en un modelo murino

Villaseñor-Tapia, Elda Cristina¹, Curiel-Pedraza, David Alejandro^{1,2}, Canales-Aguirre, Alejandro Arturo², Rodríguez-González, Jorge Alberto², Morales-Hernández, Norma³, Mendieta-Condado, Edgar⁴, y Márquez Aguirre, Ana Laura²

Resumen

La obesidad asociada a una dieta rica en grasas (HFD) es común en pacientes con enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD). El modelo de ratón DIO (obesidad inducida por dieta en ratones C57BL/6) ha sido utilizado para respaldar estudios sobre el síndrome metabólico. La obesidad inducida por HFD (60% de kcal derivadas de grasa) provoca hiperinsulinemia, resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa. Sin embargo, a nivel hepático el grado de esteatosis es moderado. Así mismo, la ingesta crónica de fructosa ha contribuido a múltiples consecuencias para la salud, como resistencia a la insulina, obesidad, trastornos hepáticos y diabetes. Se ha documentado que el consumo de jarabe de alta fructosa aumenta el riesgo de padecer NAFLD acompañado de criterios cardiometabólicos (esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica, MASLD). Por lo que este trabajo se centró en desarrollar un modelo de MASLD mediante una HFD y jarabe de alta fructosa.

Palabras clave: dieta alta en grasa, esteatosis hepática, jarabe del alta fructosa.

Introducción

El consumo de dietas altas en grasa, específicamente de grasas saturadas y trans, ha ido en aumento en los últimos años, junto con alimentos adicionados con Jarabe de Maíz de Alta Fructosa (JMAF),

¹ Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica

² Unidad de Biotecnología Industrial

³ Unidad de Tecnología Alimentaria, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.

⁴ Laboratorio Estatal de Salud Pública, Secretaría de Salud Estado Jalisco

ya que son más agradables sensorialmente e incrementa la aceptación del consumidor (Lv et al., 2024). El JMAF es un edulcorante que se encuentra presente en los refrescos no dietéticos, productos horneados y condimentos. El consumo frecuente de este tipo de alimentos, acompañado de un estilo de vida sedentario, promueve la aparición de enfermedades metabólicas como la obesidad, la diabetes o la esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), caracterizada por la acumulación de triglicéridos dentro de los hepatocitos (Mašek et al., 2020; Tappy & Le, 2010).

La NAFLD, actualmente denominada como enfermedad del hígado graso asociada a la disfunción metabólica “MAFLD”, afecta al 25% de la población mundial y se estima que en México tiene una prevalencia del 41.3 % (Bernal-Reyes et al., 2019). Los factores etiológicos involucran el consumo de alimentos con alto contenido en grasas, colesterol y carbohidratos simples, que a su vez son las principales causas para el establecimiento de otras enfermedades metabólicas de alta prevalencia en la población (Vaamonde & Álvarez-Món, 2020). El objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo de esteatosis hepática inducido por el consumo de dieta alta en grasa y JMAF.

Material y Métodos

Se utilizaron 20 ratones macho de la cepa C57BL6/J, los cuales fueron divididos en dos grupos y alimentados con una dieta estándar (STD, n=10) de 3.1 kcal/g o una dieta alta en grasa y colesterol (HFCD+F, n=10) de 5.7 kcal/g. A la semana siete de alimentación los animales recibieron JMAF, diluido en agua, en una concentración final de 30 % (1.18 kcal/ml) vía oral *ad libitum*, hasta llegar a las 24 semanas. Durante este periodo se realizó monitoreo de peso semanal y mediciones de glucosa pre-pandrial mensualmente. Al término del estudio se determinó el perfil hepático y perfil lipídico en suero, el porcentaje de grasa corporal: visceral, subcutánea y epididímal. Finalmente, se realizó la tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E) en cortes de tejido hepático para un análisis histopatológico de la deposición de grasa.

Resultados

Los animales que recibieron dieta alta en grasa y jarabe de fructosa (HFCD+F) presentaron un incremento significativo del 10.92 % de tejido adiposo, siendo de 1.55 % grasa visceral, 5.26% subcutánea y 4.1% epididimal. Mientras que en el grupo control (STD) presentó un porcentaje de grasa del 5.35%, siendo 0.74% grasa visceral, 1.89% subcutánea y 2.03% epididimal. Lo que muestra un aumento de al menos dos veces en el grupo HFCD+F en comparación con el STD (Figura 1).

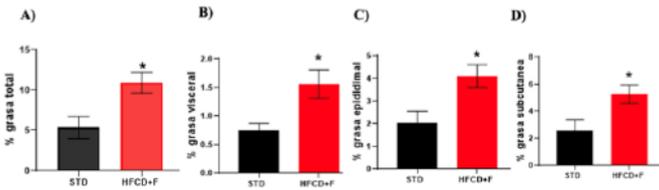


Figura 1. Composición de grasa corporal. A) Porcentaje de grasa total, B) Porcentaje de grasa visceral, C) Porcentaje de grasa epididimal, D) Porcentaje de grasa subcutánea. Muestra diferencias en la composición de grasa en el grupo HFCD+F vs STD. Los resultados se muestran como promedio \pm error estándar. Valor de $p < 0.05$ (*)

Fuente: elaboración propia

De manera interesante, se observó un incremento gradual de glucosa, alcanzando un pico máximo en la semana 16 (209 mg/dl) en el grupo HFCD+F. Sin embargo, después de esta semana, los animales presentaron decremento gradual en los niveles de glucosa, disminuyendo a 156 mg/dl en la semana 20 y de 102 mg/dl al término del estudio. Mientras que los animales STD mantuvieron los niveles de glucosa en 170 mg/dl.

En la curva de tolerancia oral a la glucosa en la semana 24, se pudo observar una tendencia a una mejor absorción de glucosa en el grupo STD, mientras que el HFCD+F se mantuvo por mayor tiempo con hiperglucemia y posteriormente se observó una caída drástica en los niveles de glucosa (Figura 2).

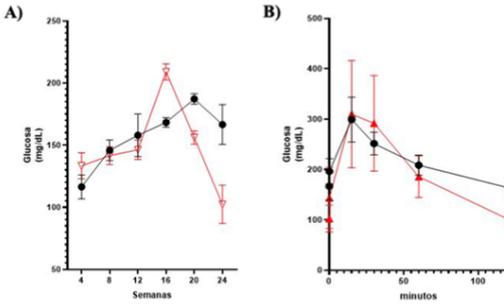


Figura 2. Concentración de glucosa preprandial y curva de tolerancia. A) Concentración de glucosa preprandial, B) Curva de tolerancia a la glucosa. Se observan alteraciones en la absorción de la glucosa en el grupo HFCD+F. Los resultados se muestran como promedio \pm error estándar. Valor de $p < 0.05$ (*)

Fuente: elaboración propia

Por otra parte, se incrementaron los niveles de enzimas hepáticas en el grupo HFCD+F. Los niveles de Transaminasa Oxalacética fueron de 475.6 U/L, en comparación con los niveles de 252.25 U/L en el grupo STD. Para el caso de Transaminasa Pirúvica, los niveles en el grupo HFCD+F fueron de 90.4 U/L y de 42 U/L para el STD. Por último, la concentración de Fosfatasa alcalina en el grupo HFCD+F fue de 95.8 U/L y de 54.5 U/L en el grupo STD, mostrando daño hepático en el grupo HFCD+F (Figura 3).

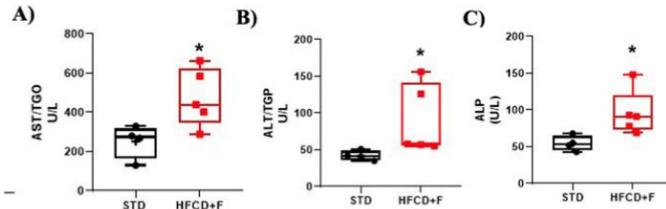


Figura 3. Función hepática. A) Concentración de transaminasa oxalacética, C) Concentración de transaminasa pirúvica, D) Concentración de fosfatasa alcalina. Elevación de enzimas hepáticas en el grupo HFCD+F vs STD. Los resultados se muestran como promedio \pm error estándar. Valor de $p < 0.05$ (*)

Fuente: elaboración propia

Finalmente, con la tinción de H&E se observa la acumulación de grasa en los hepatocitos, considerándose en su mayoría como esteatosis macrovesicular, además de alteraciones en el parénquima como balonamiento de hepatocitos y focos inflamatorios en

el grupo HFCD+F. Estos hallazgos, aunados a las características macroscópicas, como aumento del tamaño y coloración, indican el establecimiento de esteatosis hepática (Figura 4).

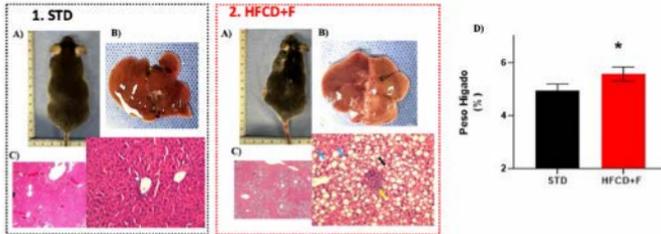


Figura 4. Fotografías representativas de tejido hepático en los grupos de estudio. A) Fotografía representativa de los animales. B) Imagen macroscópica de hígado. Se observa agrandamiento y cambio de coloración en el hígado del grupo HFCD+F. C) Imagen microscópica de hígado 4x y 10x. Esteatosis macrovesicular (flecha negra), balonamiento de hepatocitos (flecha azul), y focos inflamatorios (flecha amarilla). D) Porcentaje de peso del hígado/peso corporal, muestra un aumento del porcentaje de peso del hígado en el grupo HFCD+F. Valor de $p < 0.05$ (*)

Fuente: elaboración propia

Conclusiones

Actualmente no se cuenta con una terapia farmacológica aprobada para la MAFLD, por lo que el establecimiento de un modelo experimental permitirá conocer los mecanismos de progresión de la enfermedad, así como evaluar posibles tratamientos que ayuden a disminuir la prevalencia y las patologías relacionadas a esta enfermedad.

Este estudio confirma que el consumo de una dieta con alto contenido en grasa, junto con bebidas altamente fructosadas, promueve el desarrollo de esteatosis hepática.

Referencias

- Bernal-Reyes, R., Castro-Narro, G., Malé-Velázquez, R., Carmona-Sánchez, R., González-Huezo, M. S., García-Juárez, I., Chávez-Tapia, N., Aguilar-Salinas, C., Aiza-Haddad, I., Ballesteros-Amozurrutia, M. A., Bosques-Padilla, F., Castillo-Barradas, M., Chávez-Barrera, J. A., Cisneros-Garza, L., Flores-Calderón, J., García-Compeán, D., Gutiérrez-Grobe, Y., Higuera de la Tijera, M. F., Kersheno-bich-Stalnikowitz, D., ... Velarde- Ruíz Valazco, J. A. (2019). The Mexican consensus on nonalcoholic fatty liver disease. *Revista de Gastroenterología de México*, 84(1), 69–99. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2018.11.007>

- Li, J. L., Wei, Y. F., Sun, J. N., Shi, Y. C., Liu, F. H., Sun, M. H., Chang, Q., Wu, Q. J., & Zhao, Y. H. (2024). Ultra-processed food consumption and metabolic disease risk: an umbrella review of systematic reviews with meta-analyses of observational studies. *Frontiers in Nutrition, 11*, 1306310. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2024.1306310/BIBTEX>
- Mašek, T., Barišić, J., Micek, V., & Starčević, K. (2020). Cafeteria diet and high-fructose rodent models of nafld differ in the metabolism of important pufa and palmitoleic acid without additional influence of sex. *Nutrients, 12*(11), 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu12113339>
- Tappy, L., & Le, K. A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews, 90*(1), 23–46. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00019.2009>
- Vaamonde, J. G., & Álvarez-Món, M. A. (2020). Obesidad y sobre peso. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 13*(14), 767–776. <https://doi.org/10.1016/J.MED.2020.07.010>

MESAS REDONDAS

Transferencia de Tecnología en el Desarrollo de Dispositivos Médicos

Coordinadores: Mtra. Alejandra Navarro Hurtado / Mtro. Evaristo Javier Urzua Esteva

Formato: Mesa Redonda

Fecha: 17 de octubre 2024

Duración: 1 hora

Participantes:

Mtra. Larisa Cruz Ornelas, Directora General de Ciencia y Desarrollo Tecnológico

Dra. Inés Jiménez Palomar, Fundadora y Directora General de inMateriis S.A de C.V.

Mtro. Teófilo Tijerina, Director Ejecutivo de Hera Diagnostics Corporation.

Mtro. Evaristo Javier Urzúa Esteva (moderador), Responsable de la Oficina de Vinculación de CIATEJ.

Objetivo

Conocer de primera mano las experiencias en la transferencia tecnológica de dispositivos médicos desde la perspectiva de quien ha participado en la academia, gobierno y emprendimiento.

Introducción y alcances

El desarrollo de dispositivos médicos representa una industria estratégica tanto en México como a nivel global, impulsada por avances científicos, colaboraciones académicas y dinámicas empresariales innovadoras. Este sector ha experimentado un crecimiento notable en los últimos años. Según Fortune Business Insights, el mercado de dispositivos en 2023 tuvo un valor de USD 518,46 mil millones en 2023 y se proyecta que crezca a USD 886,80 mil millones para 2032, exhibiendo una tasa de crecimiento anual compuesto (TCAC) del 6,3%. Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), las exportaciones mexicanas de dispositivos médicos en 2022 fueron 10,668 MDD con un crecimiento anual de 8.6% en el periodo 2003-2020. Se espera que el aumento en el número de

procedimientos quirúrgicos, incluidos los ortopédicos, cardíacos, neurológicos y otros a nivel mundial, contribuya al crecimiento del tamaño del mercado de dispositivos médicos.

Desde el punto de vista científico, la investigación en tecnologías médicas fomenta el desarrollo de soluciones disruptivas que mejoran el diagnóstico, tratamiento y monitoreo de enfermedades, contribuyendo significativamente a la calidad de vida. En el ámbito académico, universidades e institutos de investigación han jugado un papel clave en la generación de conocimiento y en la formación de profesionales especializados, permitiendo la creación de startups y colaboraciones público-privadas. Para el sector empresarial, el desarrollo de dispositivos médicos ofrece oportunidades de mercado en segmentos emergentes, como la telemedicina y la inteligencia artificial, además de que, según datos del National Institute of Health (NIH), el tiempo en llegar a mercado es entre 3 a 7 años comparado con los 10 a 15 años de un medicamento.

La dinámica que se llevó a cabo en el marco del Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica de CIATEJ, se trató con tres panelistas, que representan alguno de los actores involucrados, para hacer posible una Transferencia de Tecnología en el Desarrollo de Dispositivos Médicos

Dinámica:

La mesa trató el tema basado en cuatro preguntas a responder por cada uno de los panelistas:

- ¿Cuál ha sido su experiencia relacionada con la protección de la Propiedad Intelectual (PI) y su transferencia de tecnología?
- Desde su perspectiva ¿cómo perciben el desarrollo de dispositivos médicos en México?
- ¿Cuáles elementos del ecosistema en Jalisco son los adecuados para fomentar esta transferencia y cuáles necesitan desarrollo?
- ¿Cómo creen que se puede lograr que los beneficios de estas invenciones lleguen a un mayor número de personas?

Durante la participación de cada uno de ellos podemos destacar los siguientes comentarios:

Dra. Inés Jiménez (empresaria-científica):

- La figura de patente ayuda a documentar y poner orden en los desarrollos para empezar a verlo de manera más estratégica.
- El cambio de política pública favoreció la protección de las invenciones en Jalisco
- Conocer la industria a la que vas a dirigir tu negocio desde abajo es más importante que llevar el mejor desarrollo sin conocer la industria.

Mtro. Teofilo Tijerina (empresario):

- La figura de patente es esencial, pues expande las posibilidades para la empresa, desde su licenciamiento como para la obtención de capital.
- A pesar de que su experiencia en propiedad intelectual era desde la universidad, la clave fue aprender a utilizar la propiedad intelectual para negociar, pues otorga una ventaja competitiva y atractiva para los inversionistas.
- El desarrollo y comercialización de dispositivos médicos todavía tiene muchos temas de mejora principalmente en temas de regulación.
- Como empresa, para lograr un impacto en comunidades más desfavorecidas primero es necesario lograr estabilidad.

Mtra. Larisa Cruz (gobierno):

- El tema de PI y transferencia en México es complicado, aunque ha cambiado en los últimos 10 años. Hay que entender que se trata de una herramienta que agrega valor al proyecto que se está realizando.
- Habló sobre la importancia de generar el ecosistema de innovación y las políticas públicas necesarias a desarrollar por parte del gobierno para favorecer el ecosistema.
- En Jalisco se ha trabajado mucho en empujar desde las políticas de propiedad intelectual, hasta la maduración y generación de empresas de base tecnológica, con desarrollo científico. Se ha

impulsado la innovación en empresas, pero también desde las instituciones de educación superior y centros de investigación.

- Se ha trabajado en la generación de cultura y habilitado con programas y apoyo económico para que se puedan concretar los planes.
- Es necesario que exista continuidad en los programas y se dé un paso más.

Conclusiones

Propiedad intelectual: El papel de la PI se destaca como un eje central en el desarrollo de dispositivos médicos, no solo para proteger innovaciones, sino también para añadir valor estratégico a proyectos. En los tres ejes principales, academia, empresas y gobierno, se reconoce que la protección y manejo adecuado de la PI son esenciales para la transferencia tecnológica y la atracción de inversiones.

Ecosistema en Jalisco: El estado ha avanzado significativamente en políticas públicas y programas que promueven la innovación tecnológica. Esto incluye el apoyo a empresas de base tecnológica, la formación de talento desde universidades y centros de investigación, y la implementación de programas económicos que respaldan proyectos en etapas críticas.

Áreas de mejora: A pesar de los avances, persisten retos en aspectos regulatorios que afectan el desarrollo y comercialización de dispositivos médicos. Además, es necesario fomentar la continuidad de programas y políticas para evitar retrocesos y consolidar una cultura de innovación.

Impacto social: La necesidad de que los beneficios de los dispositivos médicos lleguen a comunidades desfavorecidas fue un punto recurrente. Para lograrlo, el ecosistema debe trabajar en conjunto para garantizar la permanencia de las empresas, mejorar la accesibilidad y considerar enfoques sostenibles.

Colaboración interdisciplinaria: La mesa redonda evidenció cómo la sinergia entre científicos, empresarios y autoridades gubernamentales es clave para superar barreras y potenciar el crecimiento de esta industria en México. Esto subraya la importancia de una visión integral que combine conocimientos técnicos, empresariales y políticos.

Enlazando objetivos y visiones entre salud ambiental, animal y humana

Coordinador: Dra. Ana Laura Márquez

Participantes: Dra. Maribel Contreras, Dr. Abel Gutiérrez, Dr. Pavel Hayl Lugo Fabres, M. en C. Alejandro Bustamante

El objetivo de la mesa redonda fue presentar un espacio de comunicación e intercambio entre distintos profesionales de la salud humana, animal y del medioambiente.

¿Qué es el enfoque una sola salud?

El concepto Una sola Salud se formuló a comienzos de la década de 2000 y se concretó a partir del 2010 gracias al trabajo de tres organizaciones internacionales: la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). En 2018, estos tres organismos firmaron un protocolo de acuerdo para intensificar su colaboración y en 2022 la Organización de las Naciones Unidas (ONU) se sumó a esta alianza a través del Programa para el Medio Ambiente para poner en práctica el enfoque Una sola Salud.

El enfoque se centra en el hecho de que la salud humana y la sanidad animal son interdependientes y están vinculadas a los ecosistemas en los cuales coexisten. El objetivo primordial es impulsar y promover un enfoque integral entre los diferentes campos para establecer nuevos métodos de vigilancia y control de enfermedades.

La destrucción o alteración de los ecosistemas, la contaminación ambiental, el cambio climático, el movimiento a nivel global —no solo de personas, sino también de plantas y animales, cada uno con agentes infecciosos que los acompañan—, las prácticas de ganadería intensiva, el abuso de pesticidas, fertilizantes y antibióticos son factores con un efecto catalizador en la aparición o distribución geográfica de agentes infecciosos que aumentan el riesgo de nuevas infecciones.

La sanidad animal, un punto clave para el control de enfermedades

Según datos de la OMSA, un 60 % de las enfermedades infecciosas humanas conocidas y un 75 % de las enfermedades humanas emergentes son de origen animal. La mayoría son zoonosis, es decir, enfermedades que se transmiten de manera natural de los animales al ser humano o viceversa. Otras son transmitidas al ser humano por vectores animales, desde roedores, pulgas y garrapatas hasta moscas y mosquitos. Controlar muchas de estas enfermedades en humanos requiere antes controlarlas en los animales, por lo que los veterinarios tienen un rol importante en la salud pública.

El clima, uno de los factores que condiciona la salud global

Distintos factores, entre los que intervienen los propios patógenos y el ambiente externo, condicionan su evolución desde su origen en animales hasta su adaptación al ser humano.

Por una parte, pequeños cambios de humedad y temperatura pueden modificar la distribución geográfica de muchos vectores, como garrapatas y mosquitos, que transmiten enfermedades infecciosas. Esa es la razón por la que algunas enfermedades llamadas tropicales dejan de serlo y emergen en otras latitudes; como es el caso del dengue.

Además del clima, las transformaciones ecológicas promovidas por el ser humano pueden alterar las migraciones de animales como las aves, modificar la densidad de población de los roedores, favorecer el contacto del ser humano con animales silvestres o salvaje, lo que contribuye a la aparición o extensión de nuevos patógenos.

Así, los cambios en los patrones de migración de las aves y en la población de aves acuáticas pueden modificar el ciclo de transmisión del virus de la gripe y su supervivencia y persistencia fuera del hospedador. Esto, a su vez, puede influir en el riesgo de exposición al virus de la gripe en aves domésticas y en humanos.

Conclusiones

La estrategia pretende poner a trabajar, de manera conjunta, a los profesionales de la salud humana, animal y del medioambiente,

porque todo está conectado. Para ello, es necesario impulsar y promover espacios de comunicación e intercambio entre los distintos profesionales por encima de los intereses gremiales.

La experiencia nos está demostrando que, para el control de nuevas enfermedades infecciosas, de futuras pandemias, tenemos que considerar a la población humana y al planeta como una unidad, ya que los problemas y los retos de salud son una cuestión global.

Referencias

- Agencia Francesa para el Desarrollo. (2023). *Frente a las pandemias, One Health: un enfoque integrador de la salud humana, animal y ambiental*. Recuperado de <https://www.afd.fr/es/actualites/frente-las-pandemias-one-health-un-enfoque-integrador-de-la-salud-humana-animal-y-ambiental>
- Bertram, M., Costi, M., Thoré, E., Sabo-Attwood, T. & Brooks, B. (2024). One Health. *Current Biology*, 34, R513–R527. <https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/1-s2.0-S0960982224004652/first-page-pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (s.f.). *Una sola salud*. Consultado el 09 de octubre de 2024. <https://www.fao.org/one-health/es>.
- Organización Mundial de la Salud. (2023). *Una sola salud*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/one-health>
- Organización Mundial de la Sanidad Animal. (s.f.). *Una sola salud*. Consultado el 09 de octubre de 2024. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/una-sola-salud/>
- Pitt, S.J. & Gunn, A. (2024, 14 febrero) The One Health Concept. *British Journal of Biomedical Science*, 81, 12366. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2024.12366>
- López-Goñi, I. (s.f.). *One Health: salud humana, animal y ambiental*. Universidad de Navarra. Consultado el 09 de octubre de 2024. <https://www.unav.edu/web/instituto-de-biodiversidad-y-medio-ambiente/actualidad/blog-21/-/blogs/one-health-salud-humana-animal-y-ambiental-1>.

Resúmenes de trabajos ganadores
del CBMF2024

Categoría Presentación oral

Primer lugar

Título: Diseño racional *in silico* de N-acilamidas como potenciales inhibidores del quorum sensing en pseudomonas aeruginosa.

Primer autor: Campos-García, Tonatiu.

Coautores: Vázquez-Martínez, Juan; Campos-García, Huitziméngari.

Introducción

Pseudomonas aeruginosa (PAO) destaca como uno de los patógenos oportunistas más comunes en humanos. Ante esta problemática, el desarrollo de nuevas moléculas como alternativa a los antibióticos tradicionales se ha convertido en una prioridad en el ámbito médico. Las bacterias emplean un sistema de comunicación conocido como quorum sensing (QS) para coordinar diversas actividades, entre ellas la formación de biopelículas, la producción de toxinas y la resistencia a antibióticos. Al interferir en este proceso, se podría atenuar la virulencia de patógenos como PAO. En particular, el receptor LasR ha sido identificado como un objetivo prometedor para el desarrollo de nuevos fármacos. La similitud estructural entre las moléculas señalizadoras naturales del QS, las N-acil-L-homoserina lactonas (AHLs) y las N-acilamidas (NAA) sugiere que estas últimas podrían actuar como inhibidores del QS.

Objetivo

El objetivo fue identificar posibles compuestos capaces de bloquear la actividad de LasR y, por consiguiente, reducir la virulencia de PAO.

Materiales y Métodos

En este estudio exploramos la interacción entre 16 NAAs con la proteína LasR mediante simulaciones computacionales de “Docking *In Silico*” y simulaciones de dinámicas moleculares (MD Simulations).

Resultados y discusión

El cribado virtual mediante docking *in silico* dio como resultado que las fenilamidas N-(3,4-dihidroxifenetil) dodecanamida (DC12) y la N-fenetildodecanamida (PEA12) son los candidatos más prometedores

debido a su baja energía de unión, $-9.6 \text{ Kcal mol}^{-1}$ y $-9.4 \text{ Kcal mol}^{-1}$ respectivamente. Los resultados revelan que la interacción entre LasR y OHN, PEA12 y DC12 está mediada por una combinación de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, siendo los residuos Tyr56, Trp60, Asp73 y Ser129 los principales responsables de esta unión. Además, el plegamiento de la cadena acilo de las tres moléculas en la cavidad hidrofóbica proporciona una explicación estructural para la especificidad y estabilidad de este complejo molecular. Para evaluar la estabilidad a largo plazo y la dinámica del ensamblado, realizamos simulaciones de dinámica molecular de 50 ns.

Conclusión

Los resultados mostraron que las NAAs sintéticas mantienen contacto con residuos involucrados en interacciones estructuralmente importantes y están empaquetadas contra Trp- 88, un elemento conservado en el “binding pocket” de la proteína R.

Segundo lugar

Título: Impacto de la regulación sanitaria en la disponibilidad y autosuficiencia de medicamentos biotecnológicos.

Primera autora: Padierna-Mota, Cecilia.

Cuaotores: Bañuelos, Cecilia; Záyago-Lau, Edgar.

Introducción

Durante la pandemia de la COVID-19 se evidenció carencia y falta de autosuficiencia en insumos para la salud de origen biotecnológico en México, de lo que se infiere incongruencia entre las políticas que inciden en el sector biofarmacéutico, donde una de las más relevantes es la regulación sanitaria.

Objetivo

Conocer el impacto de la regulación sanitaria en la disponibilidad local de biomedicamentos y en la autosuficiencia de 1990-2022.

Métodos

Se determinaron los periodos de estudio con una búsqueda bibliográfica. Se realizaron análisis longitudinales (1990-2022) de los biomedicamentos con registro sanitario para conocer la influencia de la normatividad en: 1) El número de productos biotecnológicos disponibles, utilizando series de tiempo interrumpidas y análisis por mínimos cuadrados en R y 2) En la autosuficiencia en medicamentos biocomparables, según valores de producción local y grados de complejidad de desarrollo y producción conforme a una encuesta realizada entre especialistas en producción de biomedicamentos. Se calculó el porcentaje de producción local por año, por periodo de regulación sanitaria, por molécula y por complejidad.

Resultados

Se identificaron cuatro periodos de regulación sanitaria: 1) 1990-2003 (pre- paradigmático), 2) 2004-2011 (internacionalización), 3) 2012-2019 (específico) y 4) 2020-2022 (COVID-19 y T-MEC). Se encontró significancia estadística con la entrada en vigor de la regulación sanitaria y en la autosuficiencia de medicamentos biotecnológicos.

Se evidenció que, a mayor complejidad en los procesos de desarrollo y producción, hay menor autosuficiencia en biomedicamentos.

Discusión

En el periodo pre-paradigmático se consolidó un núcleo que impulsó la autonomía biotecnológica, pero la adopción de estándares internacionales tuvo efectos negativos en la aprobación de moléculas y en la autosuficiencia de dichos medicamentos, especialmente por las consideraciones de propiedad intelectual.

Posteriormente, la regulación sanitaria específica favoreció tanto la aprobación de moléculas innovadoras, como la producción local de medicamentos biocomparables. Finalmente, el enfoque al comercio internacional de la normatividad durante la emergencia sanitaria/T-MEC impulsó el registro de productos, pero disminuyó la producción local.

Conclusiones

La regulación sanitaria es determinante en la disponibilidad de medicamentos biotecnológicos y su producción local, por lo que debe ser considerada en los planes de autosuficiencia sanitaria, que se favorece cuando hay congruencia entre políticas.

Tercer lugar

Título: Actividad cicatrizante *in vitro* de extractos individuales y combinados de *Tagetes nelsonii* Greenm, *Agave americana* y *Aloe vera*.

Primera autora: Olán-Jiménez, Karen Alejandra.

Coautores: Cruz-Rodríguez, Rosa Isela; Couder-García, Beatriz del Carmen; Jacobo-Herrera, Nadia.

Introducción

Actualmente, las heridas en la piel provocadas por diversos agentes físicos y mecánicos pueden ser tratadas con medicina tradicional usando extractos de plantas. *Tagetes nelsonii* Greenm es una planta utilizada empíricamente para tratar trastornos gastrointestinales; sin embargo, no hay estudios sobre su uso como cicatrizante. Por otro lado, se ha reportado para *Agave americana* (L.) y *Aloe vera* (L.) Burm. f. su potencial antiinflamatorio y cicatrizante respectivamente en estudios *in vitro* e *in vivo*.

Objetivo

Se estudió la actividad cicatrizante de cada una de estas plantas y el posible efecto sinérgico al combinarlas.

Materiales y métodos

Se determinó el contenido de fitoquímicos de las tres especies vegetales por espectrofotometría UV-Vis, y su efecto citotóxico en células fibroblásticas (3T3) y queratinocitos (HaCaT) utilizando el ensayo de sulforodamina B. Mediante la prueba scratch se determinó la actividad cicatrizante.

Resultados

El extracto de *T. nelsonii* presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y de otros grupos de metabolitos secundarios. De acuerdo con las LC50 obtenidas en la prueba de citotoxicidad, los extractos no son tóxicos en células 3T3 ni en HaCaT. Finalmente, los extractos individuales de *T. nelsonii* y *A. americana* demostraron una mayor migración y proliferación celular a partir de las 12 h. La combinación del extracto de *A. americana* y el gel de *A. vera* permitieron el 90% de cierre herida en menor tiempo.

Discusión

El efecto cicatrizante de los extractos se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos, esteroides y terpenos que poseen, así como la sinergia de los mismos que, de acuerdo con las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias previamente reportadas, contribuyen a reducir el periodo de cicatrización.

Conclusiones

Los extractos de *T. nelsonii*, *A. americana* y el gel de *A. vera* son seguros para su uso. Además, la cicatrización de heridas se produce en menor tiempo en presencia del extracto de *A. americana* en células 3T3 y el extracto de *T. nelsonii* en células HaCaT. Sin embargo, se necesitan más estudios con concentraciones más altas que las utilizadas en este estudio para un análisis más profundo de las capacidades cicatrizantes de los extractos.

Categoría Cartel

Primer lugar

Título: Formulación vaginal de liberación controlada a base de melatonina para el tratamiento de cáncer cervicouterino

Primera autora: Delgadillo-Hernández, Regina Julieta

Coautores: García-Carvajal, Zaira Yunuen; Carbajal- Arízaga, Gregorio Guadalupe; Cruz-Ramos, José Alfonso; Hernández-Gutiérrez, Rodolfo; Martínez-Velázquez, Moisés.

Introducción

Actualmente el cáncer cervicouterino está considerado como un problema de salud pública por su alta tasa de incidencia y mortalidad en el sexo femenino. El principal factor de riesgo para el desarrollo de la neoplasia es el VPH. Los patrones de tratamiento actuales para este tipo de cáncer son la quimioterapia, ablación quirúrgica, radioterapia externa y braquiterapia. Estas aplicaciones clínicas suelen tener una alta toxicidad y graves efectos secundarios. En el presente trabajo de investigación se pretende la formulación de un dispositivo intravaginal cargado con melatonina para potenciar los efectos localizados de agentes antineoplásicos.

Objetivo

Desarrollar una formulación vaginal que contenga melatonina para potenciar los efectos tóxicos de un agente antineoplásico en un modelo de cultivo 2D de células HeLa.

Materiales y métodos

Se desarrolló una formulación de tipo óvulo, siguiendo la descripción de la FEUM. Para la preparación de la fórmula final, previamente se estandarizaron los parámetros necesarios, obteniéndose 18 formulaciones de óvulos a base de glicero-gelatina. La fórmula optimizada consta de glicerina, grenetina, PVA, PEG, glicofurol y melatonina. La caracterización de las formulaciones se llevó a cabo por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (XRD) y tiempo de desintegración.

Resultados

A través del análisis por FTIR se comprobó la presencia de la melatonina pura y de la melatonina junto con los demás componentes de la formulación. En relación al análisis por XRD, se demostró que hubo una segregación de la melatonina y sus moléculas se acumularon formando cristales. Por último, el tiempo de desintegración fue de 25 minutos a 37 °C, sometiendo las formulaciones a un fluido vaginal simulado.

Discusión de resultados y conclusión

Las formulaciones preparadas fueron descartándose y ajustándose según los resultados de las pruebas realizadas. Algunos de los óvulos estaban bien formados, pero eran demasiado suaves para su manipulación y no toleraban temperaturas superiores a 30 °C. Al modificar las concentraciones de los excipientes, se logró desarrollar una formulación que contiene melatonina y que cumple con los parámetros necesarios para una aplicación y manejo adecuados.

Segundo lugar

Título: Genotipos y análisis filogenético de aislados clínicos de *Helicobacter pylori*

Primera autora: Ríos-Sandoval, Marcela

Coautores: Evangelina Esmeralda Quinones-Aguilar; Guillermo Alejandro Solís-Sánchez; Jorge Bravo-Madrigal, Norma Velázquez Guadarrama, Gabriel Rincón-Enríquez.

Introducción

Helicobacter pylori es una bacteria patógena humana asociada con gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico. Puede caracterizarse a través de los genes de virulencia *cagA* y *vacA*.

Objetivo

Aislar y caracterizar cultivos clínicos de *H. pylori* a partir de biopsias gástricas, genotipificar molecularmente para identificar factores de virulencia asociados con cáncer y úlcera péptica.

Materiales y métodos

Se aislaron e identificaron cultivos clínicos de *H. pylori* a partir de biopsias gástricas humanas. Los aislamientos se identificaron mediante PCR del gen *ureC*, se caracterizaron de acuerdo con morfología colonial y microscópica, se realizó genotipificación molecular para determinar virulencia bacteriana con los genes *cagA* y *vacA*, así como amplificación de los genes ARNr 16S, *ureA* y *tonB*. Además, se realizó análisis filogenético con el gen ARNr 16S y análisis de tipificación de secuencias multilocus para determinar la naturaleza filogeográfica de las cepas aisladas.

Resultados

Se realizaron tres aislados, identificados como *H. pylori* (HCGDL-MR01, HCGDL-MR13 y HCGDL-MR17) mediante morfología colonial, prueba de ureasa, catalasa y oxidasa, amplificación del gen *ureC* y tinción Gram. El análisis filogenético confirmó la identificación previa. Todos los aislamientos mostraron el genotipo *vacA* s2/m2, indicando una ausencia de la citotoxina VacA. Solo HCGDL-MR01 resultó portadora del gen *cagA* con un mayor riesgo

de desarrollar cáncer gástrico y úlcera péptica. El análisis multilocus colocó a todas las cepas en la estructura poblacional hpEurope.

Discusión

El genotipo *vacA* s1/m1 ha sido reportado con gran actividad citotóxica y una relación con úlcera péptica, mientras que el genotipo s2/m2 carece de actividad citotóxica. En el presente estudio, los aislados mostraron el genotipo s2/m2, sugiriendo una ausencia de la citotoxina VacA. Diferentes estudios han demostrado la relación entre el genotipo *cagA*+ con el desarrollo de cáncer gástrico y úlcera péptica. Con base en esto, podemos determinar que una persona infectada con la cepa HCGDL-MR01 tiene más posibilidades de desarrollar cáncer.

Conclusiones

Se obtuvieron distintos genotipos para cada cepa de *H. pylori*. La cepa HCGDL-MR01 fue portadora del gen *cagA*. Todas las cepas mostraron relación con la estructura poblacional hpEurope.

Tercer lugar

Título: Desarrollo de un nutracéutico para el tratamiento de altos niveles de colesterol y triglicéridos

Primera autora: Escobedo-Valdez, Marisol

Coautores: Ochoa-Ruiz, Andrea Gabriela; Ochoa-Ruiz, Beatriz Eugenia; Padilla-Camberos, Eduardo; Torres-González, Omar Ricardo; Abad-Alvarez, Lizeth; Padilla-de la Rosa, José Daniel; Suárez- Jacobo, Ángela; Vallejo-Cardona, Alba Adriana

Introducción

La dislipidemia es una de las enfermedades metabólicas más comunes en México, causada por un desbalance entre dieta, estrés y envejecimiento, contribuyendo al desarrollo de aterosclerosis. Los nutracéuticos, subcategoría de los suplementos alimenticios, ofrecen beneficios respaldados científicamente para prevenir o tratar enfermedades. El laboratorio cuenta con una patente de nanoliposomas que permite la entrega dosificada de moléculas activas, como vitaminas y fármacos. Esta tecnología se ha adaptado a una formulación nutracéutica diseñada para reducir el colesterol y los triglicéridos. Aunque los tratamientos convencionales para la dislipidemia (como las estatinas) son eficaces, esta formulación busca competir ofreciendo beneficios derivados de compuestos naturales, mejorando así su aprovechamiento metabólico.

Objetivo

Desarrollar un nutracéutico con propiedades para disminuir colesterol y triglicéridos.

Materiales y métodos

Se prepararon liposomas a partir de lecitina de girasol, hidratada durante toda la noche en una solución de NaCl y CaCl₂. A estos liposomas se les añadieron vitaminas A, C, D y E, y se homogenizaron mediante un microfluidizador, verificando el tamaño de partícula de los liposomas. Por último, se adicionó un porcentaje de fructanos y agitó en plancha a temperatura ambiente. Se realizó la formulación agregando la solución liposomal a una solución emulsificada sabor jugo de manzana, saborizante de manzana y chocolate/vainilla. Se

caracterizaron por tamaño de partícula y estabilidad por dispersión de luz y rompimiento de emulsión por desplazamiento de agua. Todo realizado bajo esterilidad. Se indujo hipocolerolemia con tyloxapol (un detergente no iónico que provoca una marcada elevación de los niveles séricos de colesterol y triglicéridos) vía intraperitoneal a todos los animales del estudio (7 grupos de 5 ratones hembra cada uno). Posteriormente, se administró la formulación a los animales. Tras 24 horas, se tomaron muestras sanguíneas para cuantificar el colesterol.

Resultados y discusión

Los niveles de colesterol descendieron a 310 mg/dL para la formulación con saborizante de manzana; a 390 mg/dL para la formulación con jugo de manzana y a 233mg/dL para la formulación chocolate/vainilla.

Conclusiones

La formulación con liposomas y vitaminas, saborizada con chocolate/vainilla, demostró ser la más prometedora para reducir colesterol, logrando la mayor disminución en comparación con las otras opciones.

Una visión al futuro de la Biotecnología Médica y Farmacéutica: ¡Nos vemos pronto!

El Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica (CBMF2024) fue un espacio que nos permitió reflexionar sobre el presente y el futuro de la Biotecnología Médica y Farmacéutica (BMF). En el presente somos una comunidad dinámica, alimentada por las olas crecientes de interés en los campos de la inmunología, nanomateriales, desarrollos de fármacos, entre otros, abordados desde la investigación básica y aplicada. Las investigaciones muestran las diferentes etapas de desarrollo y nivel de prueba como la de concepto, la preclínica o clínica. La proyección de la comunidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica en México y América latina experimenta un momento de crecimiento importante que emula la sinergia de crecimiento en la que se encuentran otros países desarrollados. Los foros, discusiones, presentaciones de posters y las nuevas colaboraciones que promovió el CBMF2024 son muestra del dinamismo de una comunidad ávida en conocimientos científicos, tecnológico y de innovación. El éxito del CBMF2024 evidenció la existencia de una comunidad que atiende los principales problemas nacionales en el área de salud y de otros grupos diversos que colaboraran para fortalecer el área de salud, pero que su participación no se refleja de manera directa. Es por ello por lo que foros como el CBMF se lleven a cabo y resalten la importancia de la participación de la sinergia que existe con otros grupos que no se consideran del área de BMF.

El CBMF2024 deja lecciones importantes a considerar:

- Existe la comunidad de BMF en México y en América Latina que tiene un nivel internacionalmente reconocido.
- La conexión entre la comunidad es la clave para generar soluciones a los problemas nacionales e internacionales que requieren atención urgente.

Es importante que un foro como CBMF2024 se lleve a cabo en el futuro para continuar siguiendo los pasos de crecimiento de ciencia en México y América Latina.

¡Nos vemos pronto!

Dr. Cristian Alfredo Segura Cerda

Esta memoria reúne los artículos científicos y resúmenes de mesas redondas presentados en el Congreso de Biotecnología Médica y Farmacéutica **(CBMF2024)**, celebrado del 16 al 18 de octubre en Guadalajara, Jalisco. El evento reunió a 120 asistentes e incluyó cuatro cursos precongreso con 41 estudiantes, tres ponencias magistrales, tres plenarias, dos simposios simultáneos con 19 participantes, y un showroom con el apoyo de ocho patrocinadores.

Además de las contribuciones académicas, esta memoria documenta las discusiones y propuestas surgidas en las mesas redondas interdisciplinarias, enfocadas en temas como salud humana y animal, bioinformática, diagnóstico avanzado e innovación terapéutica.

El **CBMF2024** ofreció un espacio de formación, diálogo y colaboración en temas como salud humana y animal, innovación diagnóstica, bioinformática y terapias avanzadas. Con ello, se reafirma el papel estratégico de la biotecnología médica para el desarrollo nacional y la proyección de Jalisco como un Hub biotecnológico en México.

