



Avance y Perspectiva

25 AÑOS DE BIOMEDICINA MOLECULAR: UN LEGADO DE INNOVACIÓN Y CONEXIÓN TRASLACIONAL



Prólogo:

1999 fue el año en que lograron concretarse diversas iniciativas emprendidas por colegas del área biológica del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Dichas iniciativas tenían por finalidad la creación de un programa académico multidisciplinario enfocado al estudio, de lo que más adelante se conocería como medicina traslacional. El término “medicina traslacional” es un anglicismo que busca definir la conexión que debería existir entre la “investigación básica” (de la mesa del laboratorio) a la “investigación clínica” (a la cama del paciente). A lo largo de los años, los investigadores del área biológica del Cinvestav han hecho contribuciones muy significativas al conocimiento, pero, por la naturaleza del centro, dichos trabajos han tenido una pobre vinculación con el sector salud. Mientras que los trabajos del Cinvestav se publican en las mejores revistas científicas, el impacto que tienen estas investigaciones en el cuidado y atención de los pacientes ha sido escaso. Por esta razón, se pensó en la creación de un programa académico que conjuntara los esfuerzos de investigadores interesados en acercar su investigación hacia aspectos clínicos, con la formación de estudiantes del área de la salud (médicos, químicos biólogos, etc.). El programa buscaba que tanto investigadores, como estudiantes, desplegaran un genuino interés en desarrollar investigaciones orientadas a entender, y, de ser posible, a resolver problemas de salud humana y veterinaria en sus diferentes aspectos. Así, el programa multidisciplinario de Biomedicina Molecular nace con un programa académico “ad hoc”, en septiembre de 1994. Este programa estaba formado con una planta académica de profesores adscritos a los diversos departamentos del área biológica del Cinvestav, así como profesores de instituciones de salud del área metropolitana y del interior de la república. Estos investigadores establecieron convenios de colaboración, y, a través de la dirección conjunta de proyectos de investigación, que serían desarrollados por los estudiantes del programa, se buscó que los colaboradores fungieran como cotutores de tesis de maestría y de doctorado. En 1996, a solo dos años de la creación del programa, el Cinvestav decidió contratar a investigadores para trabajar de forma exclusiva para el programa, con la idea de crear un departamento, con presupuesto y edificio propios. Esto se consiguió en 1999, con la creación de un nuevo departamento académico en que podían cristalizarse todas las ideas antes expuestas.

Desde su creación, y hasta el día de hoy, el departamento de Biomedicina Molecular incluye a 12 laboratorios, con sendos investigadores que trabajan en una variedad de disciplinas (cáncer, virología, inmunología, microbiología, parasitología, biología celular, biología molecular, epidemiología molecular y enfermedades crónico-degenerativas). El departamento de Biomedicina Molecular cuenta con un programa integral, multidisciplinario, de las ciencias básicas y aplicadas de la medicina, el cual reúne criterios de calidad, cubriendo las necesidades de formación de sus estudiantes. Asimismo, el departamento de Biomedicina Molecular ha implementado una amplia gama de colaboraciones y convenios nacionales e internacionales. A nivel nacional se ha establecido un esquema de codirecciones en los proyectos de investigación, vinculados con instituciones de salud como el IMSS, el ISSSTE, los Institutos Nacionales de Salud, etc. A nivel internacional también cuenta con colaboraciones que han permitido la movilidad activa de los estudiantes hacia los Estados Unidos de América, Canadá y diversos países de Europa.

El grupo de doce profesores, que constituyen el núcleo académico básico de departamento de Biomedicina Molecular, ha mostrado, a lo largo de estos 25 años, una trayectoria científica sólida, que se refleja en los altos estándares de productividad;

consecuentemente, todos, sin excepción, pertenecen al Sistema Nacional de Investigadores (SNI), en los niveles 2, 3 y emérito. La solidez del núcleo básico de la planta académica, así como de los colaboradores internos y externos, ha repercutido en diferentes aspectos del programa de posgrado, tanto en los planes de estudio, los requisitos de ingreso, el apego y la permanencia al programa, y en la graduación en tiempo y forma de los estudiantes. En conjunto, todos estos aspectos han apuntalado su excelencia académica. Al mismo tiempo, se ha mantenido el continuo planteamiento de objetivos y acciones como una preocupación permanente por mantener actualizado el currículo ante las demandas existentes. Todo esto ha llevado a que el programa tenga un alto nivel de madurez y consolidación, y se haya convertido en un referente nacional que ha sido replicado en varias universidades del país.

El presente volumen quiere dar una muestra de lo que ha sido el departamento de Biomedicina Molecular en estos 25 años, desde su creación (o 30, si incluimos los años previos que funcionó como programa multidisciplinario). En este compilado de artículos publicados en la **Revista Avance y Perspectiva**, órgano de difusión y divulgación del Cinvestav, se muestra el trabajo de estudiantes, exestudiantes, colaboradores e investigadores del departamento que a través de sus investigaciones, han contribuido no solo a la formación de investigadores del más alto nivel en el área, sino también, refieren como los productos de dichas investigaciones han impactado diversos aspectos de la salud, no solo en el diagnóstico sino también en el de un mejor entendimiento de las patologías estudiadas. Como se podrá atestiguar de la lectura de estos artículos, algunas de las investigaciones tienen la madurez suficiente para proponer su evaluación en el tratamiento de algunas enfermedades. Las investigaciones de algunos colegas podrían derivar en estudios clínicos, que podrían transformarse en tratamientos para aliviar enfermedades tan graves como el cáncer, o el desarrollo de nuevos inmunógenos para el tratamiento preventivo de algunas enfermedades infecciosas, o en la búsqueda de nuevos biomarcadores para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, crónico degenerativas y cáncer.

Aun cuando el énfasis en las investigaciones del Cinvestav está en dos rubros principales: la producción de investigación original y la formación de recursos humanos de alto nivel, aspectos en los que el departamento de Biomedicina Molecular ha contribuido con creces; los resultados de dichas investigaciones han impactado y seguirán impactando al sector salud, mientras se mantenga el espíritu con el que este programa, pionero en México y América Latina, fue creado. Así, esperamos que este sea apenas el primer volumen de una serie que seguirá creciendo y profundizando sus raíces en el entendimiento de las enfermedades humanas y veterinarias.

Antes de cerrar esta breve introducción, permítanme agradecer al Maestro Alberto Faustino Zurita Gómez, Coordinador General de Servicios Bibliográficos, a la Dra. Liliana Quintanar Vera, Editora actual de la Revista Avance y Perspectiva y a sus equipos de colaboradores del Cinvestav por habernos brindado los archivos que constituyen esta colección. Asimismo, agradezco de manera especial el trabajo cuidadoso de la Q.B.P. Diana Helena Cortez Hernández en la edición y formato de esta colección. Ojalá su contenido sea del interés y de utilidad para estudiantes y profesionistas del área de la salud y que con su retroalimentación podamos seguir mejorando.

Dr. Leopoldo Santos Argumedo
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
del Instituto Politécnico Nacional
Departamento de Biomedicina Molecular
Correo: lesantos@cinvestav.mx

Prólogo	ii
1. Meza, I. (1997). Una nueva generación de investigadores. <i>Avance y Perspectiva</i> , 16(Sept-Oct), 317-319	1
2. Villegas-Sepúlveda, N. (2008). Descubridor del origen infeccioso del carcinoma del cérvix. <i>Avance y Perspectiva</i> , 1(2), 134-137.	4
3. Cedillo, L., García, J., & García, J. (2009). La enfermedad del dengue: un problema de salud en el olvido. <i>Avance y Perspectiva</i> , 2(3), 39-43.	8
4. Flores, G., & Villegas, N. (2009). Influenza A/H1N1: ¿La pandemia que viene? <i>Avance y Perspectiva</i> , 2(3), 23-29.	11
5. Meraz-Ríos, M. A. (2009). Jesús Calderón: macrófagos, el receptor de interferón gamma y la inmunología. <i>Avance y Perspectiva</i> , 2(1), 22-25.	16
6. Navarro-García, E. F., & Santos-Argumedo, L. (2009). Los macrófagos y el procesamiento de antígenos: inicio de la carrera científica de Jesús Calderón. <i>Avance y Perspectiva</i> , 2(1), 11-15.	20
7. Schnoor, M. (2018). Cortactina controla la integridad de las barreras tisulares. <i>Avance y Perspectiva</i> , 3(4).	25
8. Cedillo-Barrón, L., García-Cordero, J., Valenzuela-León, P., & Gutiérrez-Castañeda, B. (2019). El virus dengue y los mecanismos de inmunidad en la piel. <i>Avance y Perspectiva</i> , 5(2).	28
9. Estrada-García, T., Ramírez-Velasco, D. H., Elizalde-Barrera, C. I., López-Saucedo, C., & Rubio-Guerra, A. F. (2019). La importancia de llamarse insulina... en la diabetes tipo 2. <i>Avance y Perspectiva</i> , 5(2).	33

10. Hernández-Rivas, R., Herrera-Solorio, A. M., Vembar, S. S., & Lozano-Amado, D. (2019). La histona H3 procesada se integra en los nucleosomas de los genes de replicación en el parásito de la malaria humana *Plasmodium falciparum*. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 38
11. Manning-Cela, R. G., Noris-Sarabia, G., Martínez-Calvillo, S., & Rubio-Ortiz, M. (2019). Chagas, una enfermedad olvidada: descubrimiento único en la medicina tropical y un problema actual de salud global. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 42
12. Meraz-Ríos, M. A., Padilla-Cristerna, M. L., Rochín-Hernández, L. J., & Santos-Mandujano, R. A. (2019). La enfermedad de Alzheimer familiar en México. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 48
13. Meza, I. (2019). De la motilidad celular a la biomedicina. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 56
14. Ortiz-Navarrete, V., González-Orozco, M., & Barbosa-Cobos, R. E. (2019). Participación de neutrófilos productores de IL-17A en la inflamación crónica de artritis reumatoide. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 63
15. Santos-Argumedo, L., Sánchez-Salguero, E., & Guzmán-Aquino, H. (2019). Nuevas evidencias experimentales sobre los beneficios de la lactancia: estudio de los subtipos de la IgA en el calostro. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 67
16. Vargas-Mejía, M. A., Briseño-Díaz, P., Casique-Aguirre, D., Cruz-Nova, P., Carrión Estrada, D. A., & Thompson-Bonilla, R. (2019). Nuevo blanco farmacológico para el tratamiento del cáncer pancreático y colorrectal. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 72
17. Velázquez-Avila, M., Balandrán, J. C., Pelayo, R., & Schnoor, M. (2019). Cortactina es un nuevo biomarcador en leucemia linfoblástica aguda infantil para identificar pacientes con recaída a médula ósea. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 77
18. Villegas-Sepúlveda, N., Bonilla-Moreno, R., Vaisman, C., García-Aguilar, I., Bautista Gaytán, N. I., & Conde-Campos, R. (2019). Splicing en *Papillomavirus* tipo 16 y su participación en cáncer cervicouterino. *Avance y Perspectiva*, 5(2). 81
19. Cedillo-Barrón, L., López-Perrusquilla, V., García-Cordero, J., & Visoso-Carvajal, G. (2020). COVID-19, la enfermedad viral que se diseminó en el mundo. *Avance y Perspectiva*, 5(4). 85
20. Santos-Argumedo, L. (2021). Las vacunas y la pandemia por la COVID-19. *Avance y Perspectiva*, 7(4). 91

21. Ávila-López, P. A., Salmerón-Bárceñas, E. G., Quintana-Mora, I., Herrera-Goepfer, R., Vargas-Mejía, M. A., Rencillas-Targa, F., & Hernández-Rivas, R. (2022). La sobreexpresión de H2A-Z suprime la senescencia y la quimiorresistencia en adenocarcinoma ductal pancreático. *Avance y Perspectiva*, 8(1). 99
22. Carrión-Estrada, D. A., Aguilar-Rojas, A., Hernández-Rivas, R., & Vargas-Mejía, M. A. (2022). Kras: un importante biomarcador en cáncer de mama. *Avance y Perspectiva*, 8(1). 107
23. Cedillo-Barrón, L., García-Cordero, J., & Mendoza-Ramírez, N. J. (2022). La proteína de nucleocápside, un nuevo blanco para el diseño de vacunación contra COVID-19. *Avance y Perspectiva*, 8(1). 115
24. Maravillas-Montero, J. L., Gómez-Martín, D., & Sosa-Hernández, V. A. (2022). Células B atípicas con biomarcadores de complicación renal en pacientes con lupus. *Avance y Perspectiva*, 8(2). 119
25. Vargas-Robles, H., Montoya-García, A., Vadillo, E., & Schnoor, M. (2022). La inhibición de 3 Adam17 previene el daño pulmonar en un modelo de COVID-19. *Avance y Perspectiva*, 7(4). 122
26. Cabrera-Reyes, E. A., & Meraz-Ríos, M. A. (2023). Estrategias para prevenir y retrasar la enfermedad de Alzheimer. *Avance y Perspectiva*, 9(2). 126
27. Fernández-Muñoz, K. V., & Meraz-Ríos, M. A. (2023). Compuestos naturales contra el cáncer colorrectal. *Avance y Perspectiva*, 9(2). 133
28. Jiménez-Acosta, M. A., & Meraz-Ríos, M. A. (2023). Células madre mesenquimatosas: una futura terapia para tratar las enfermedades neurodegenerativas. *Avance y Perspectiva*, 9(2). 138
29. Martínez-Vargas, I. U., Santos-Argumedo, L., & Tálamas-Rohana, P. (2023). La proteína Myo1f tiene un papel esencial en la adhesión y migración de los linfocitos intraepiteliales T gamma delta. *Avance y Perspectiva*, 9(3). 143
30. Meraz-Ríos, M. A., & Rochín-Hernández, L. J. (2023). Los RNAs circulares: todo un nuevo mundo. *Avance y Perspectiva*, 9(1). 147
31. Meza-Gómez Palacio, I., & García-Morales, L. (2023). El CBD: un nuevo aliado en el tratamiento del cáncer de mama. *Avance y Perspectiva*, 9(3). 152
32. Rochín-Hernández, L. J., & Meraz-Ríos, M. A. (2023). La proteostasis y el origami de la vida. *Avance y Perspectiva*, 9(1), 157. 156

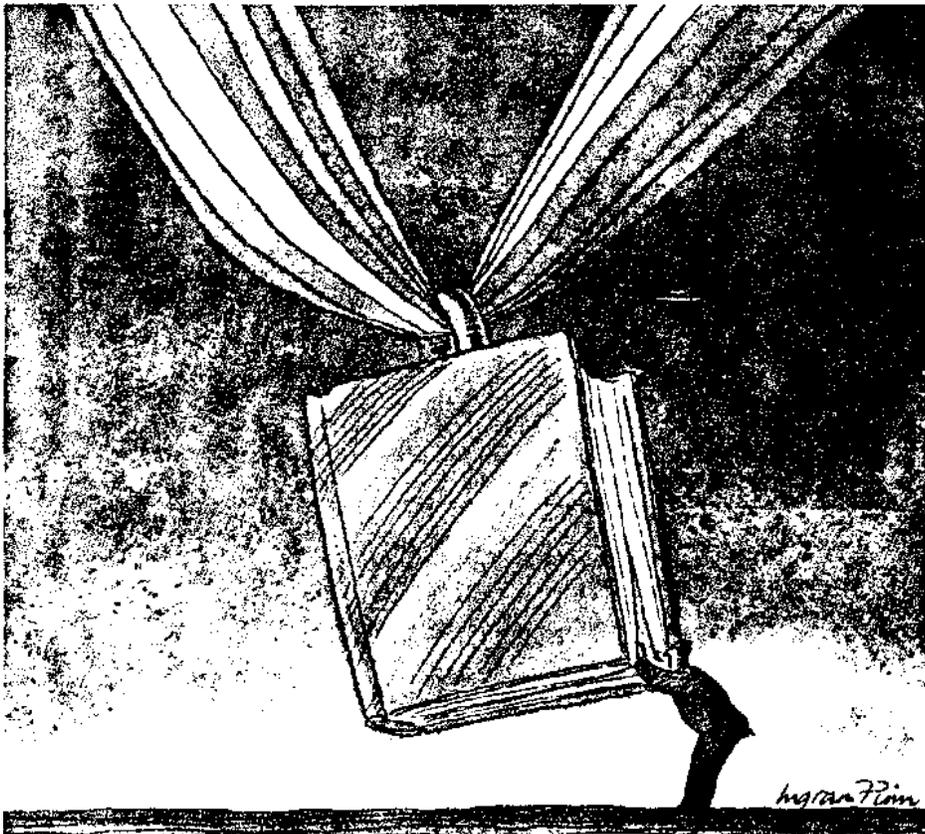
33. Santos-Argumedo, L. (2023). Obituario: Robert Michael Evans Parkhouse (1935-2023). *Avance y Perspectiva*, 9(3), 163., 9(3). 163. 162
34. Contreras Ortiz, J. M. E., Hernández Mendoza, D., Márquez-Dueñas, C., Manning-Cela, R., & Santillan, M. (2024). Descubriendo los secretos de la enfermedad de Chagas. *Avance y Perspectiva*, 10(3). 165
35. Flores-Castelán, M., & Santos-Argumedo, L. (2024). Caracterización de las células asesinas naturales (NK) en un ratón deficiente en una proteína motora. *Avance y Perspectiva*, 10(3), 188. 170
36. García Ríos, N. R., & Meraz Ríos, M. A. (2024). La microglía: dos caras de la moneda. *Avance y Perspectiva*, 10(3). 179
37. Meraz-Ríos, M. A. (2024). Simnotrelvir para tratar COVID-19. *Avance y Perspectiva*, 10(2), 172. 186
38. Salmeron-Barcenas, E., & Hernández-Rivas, R. (2024). Identificación de miRNAs como potenciales biomarcadores para el adenocarcinoma ductal pancreático en pacientes mexicanos. *Avance y Perspectiva*, 11(1), 52. 195
39. Sánchez-Barbosa, T., & Meraz-Ríos, M. A. (2024). Cúrcuma: alimento contra el olvido. *Avance y Perspectiva*, 10(1), 166. 203
40. Vázquez-Martínez, G. R., & Meraz Ríos, M. A. (2024). Nanofármacos emergentes como tratamiento para la enfermedad de Alzheimer. *Avance y Perspectiva*, 10(3). 209

Una nueva generación de investigadores

Isaura Meza

Celebramos hoy la entrega de los premios de investigación que anualmente otorga la Academia Mexicana de Ciencias. Este es el trigésimo quinto año consecutivo y se entregan a cinco jóvenes investigadores, seleccionados de un grupo numeroso, por la calidad y originalidad de sus trabajos científicos. En esta ocasión, además de hacer votos por el éxito de estos colegas que representan a la nueva generación de investigadores mexicanos, podemos celebrar que a pesar de varios años de dificultades económicas, la comunidad científica de nuestro país sigue cumpliendo con metas trazadas. Tenemos hoy dos investigadoras premiadas. La Academia Mexicana de Ciencias otorgó el primer premio de investigación a una mujer en 1964. Pasaron 14 años antes de que una segunda mujer lo recibiera y otros 14 años más, para que dos mujeres fueran premiadas conjuntamente, en las llamadas ciencias duras, en las que las científicas mexicanas desde hace tiempo habían abierto brechas y trabajado duro sin obtener mucho reconocimiento. Vemos con entusiasmo que se rompen las barreras y que la capacidad de las científicas en nuestro país se reconoce ya en todas las áreas de las ciencias, que, además, se ha formado una escuela y tenemos figuras modelo para imitar. Sueños de igual oportunidad para participar y establecer el destino de nuestro país son ya realidades que se comparten entre los géneros. Otra razón más para celebrar, es que los esfuerzos por sacar la investigación científica de los grandes centros en donde hasta ahora se había concentrado, empiezan a cristalizar. No sólo hay nuevos grupos y centros de investigación en

La Dra. Isaura Meza, investigadora titular del Departamento de Biología Celular y directora del Programa Multidisciplinario en Biomedicina Molecular del Cinvestav, es tesorera del Consejo Directivo de la Academia Mexicana de Ciencias (AMC). Este texto fue leído en la entrega de los Premios de Investigación 1996 de la AMC, residencia oficial de Los Pinos, 30 de junio de 1997.



diferentes entidades del país, sino que como hoy vemos, en ellos se hace trabajo de calidad. Son también entonces una realidad. los grupos de gente joven llena de entusiasmo, fuerza y buena preparación, trabajando en ciencia fuera del Distrito Federal. Hacia estos dos logros podemos volver los ojos y renovar nuestra fe de que en nuestro país se pueden hacer muchas cosas si se planea y se procede inteligentemente. Los investigadores que hoy reciben los premios de nuestra Academia llenan estas expectativas. Tienen un gran reto por delante pero tienen el espíritu y las armas para ganar batallas.

La Dra. Estela Lizano Soberón, merecedora del premio de ciencias exactas y que labora en el Instituto de Astronomía de la UNAM situado en Morelia, Michoacán, destaca por su investigación sobre la formación estelar, en particular las estrellas masivas y sus efectos sobre las nubes moleculares. El Dr. Gerardo Torres del Castillo, cogeador del premio en ciencias exactas, labora en la Universidad Autónoma de Puebla en la Facultad de Ciencias Fisico-Matemáticas. El Dr. Torres, con sus estudios sobre relatividad compleja, ha contribuido a corregir y extender resultados sobre las

perturbaciones de agujeros negros y soluciones a las ecuaciones de Einstein. La Dra. Esperanza Martínez Romero, quien comparte con el Dr. Martín Aluja Shüneman el premio de ciencias naturales, es investigadora en el Centro de Fijación de Nitrógeno de la UNAM en Cuemavaca, y ha contribuido de manera importante en la generación de plantas leguminosas que ayudan a mantener el nitrógeno del suelo y mejorar zonas de cultivo. El Dr. Aluja, del Instituto de Ecología en Xalapa, ha hecho estudios sobre el comportamiento y distintos aspectos de la ecología de las moscas de la fruta, que constituyen una plaga dañina y difícil de controlar y que afecta a los árboles frutales y a la economía de exportación. El Dr. Luis Alfonso Ramírez Carrillo, a quien se otorga el premio en ciencias sociales, y es investigador en el Centro de Investigaciones Regionales Hideyo Noguchi de la Universidad Autónoma de Yucatán en Mérida, ha publicado extensamente sobre problemas y cambios sociales en Yucatán.

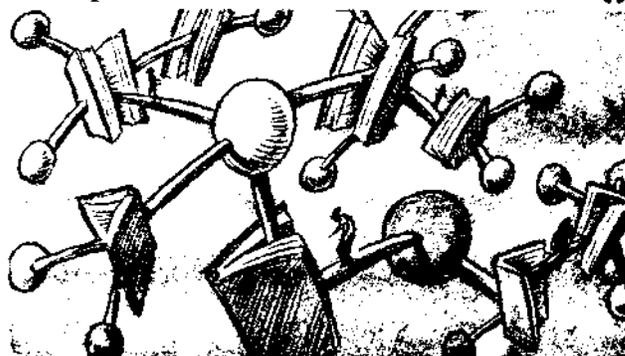
¡A todos ellos, felicidades!

Señor Presidente, México tiene una comunidad científica y tecnológica pequeña, pero que ha hecho

un esfuerzo sostenido. Ha respondido a convocatorias, se ha sujetado a minuciosas evaluaciones y aceptado nuevos retos. Ha emprendido acciones a diversos niveles para ayudar a mejorar la educación científica, la difusión del conocimiento y los vínculos con otros sectores de la sociedad. Hemos demostrado que podemos enfrentar el desafío que representa seguir compitiendo con naciones con mayor tradición científica y muchos más recursos económicos, y mantenemos en la vanguardia del conocimiento.

A este respecto, señor Presidente, deseo agradecer en nombre propio y de mis colegas, los esfuerzos que ha llevado a cabo su administración para proporcionar un financiamiento más o menos estable a la comunidad científica en tiempos tan difíciles, y a pesar de los graves problemas que aquejan al país y de las dificultades para implementar soluciones adecuadas. Por esto mismo, somos conscientes también de lo que no hemos logrado y para lo cual tanto nosotros como nuestros gobernantes y el resto de la sociedad, tendremos que esforzarnos. Vivimos la problemática de un país en desarrollo y necesitamos soluciones que garanticen un futuro acorde a las necesidades de un siglo nuevo. Para ello, la comprensión por parte de toda la sociedad sobre lo que puede proporcionar el pensamiento y el desarrollo científico es fundamental. Aunque el apoyo a la ciencia desde luego necesita incrementarse, pues de otra forma no se podrán lograr objetivos, necesitamos urgentemente algo que no re-

presenta gastos extraordinarios. Me refiero a soluciones para optimizar los recursos concedidos. Necesitamos trámites administrativos ágiles para obtener a tiempo implementos e insumos de trabajo y no más candados burocráticos que entorpecen y retrasan cualquier proyecto. Necesitamos su confianza y su credibilidad sobre nuestras acciones y posibles contribuciones. Creo que hay pruebas como las de hoy, del compromiso de los investigadores y de la Academia Mexicana de Ciencias para apoyar el progreso de México: ¡Haciendo bien lo que sabemos hacer! Le proponemos entonces, señor Presidente, trabajar en conjunto, con su administración y con otros sectores para analizar en forma interdisciplinaria cuál sería el mejor camino. Esto no solamente facilitará nuestro trabajo, sino que podrá abrir otras puertas y obtener financiamiento de otros sectores. Creemos que sólo con un esfuerzo conjunto se podrá llegar a implementar un desarrollo científico y tecnológico propio con soluciones que sienten bases sólidas para un futuro.



Descubridor del origen infeccioso del carcinoma de cérvix

Nicolás Villegas Sepúlveda

El Premio Nobel en Fisiología y Medicina 2008 fue otorgado de manera compartida a un ciudadano alemán, el Dr. Harald zur Hausen, por descubrir que el *Papillomavirus* humano (HPV, por sus siglas en inglés) es el agente causante del cáncer cérvico-uterino; y a dos ciudadanos franceses, el Dr. Luc Montanier y la Dra. Françoise Barre Sinoussi, por el descubrimiento del HIV, agente etiológico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Los 10 millones de coronas suecas que se otorgan a cada premio Nobel en el 2008 equivalen a un millón 400 mil USD y es el monto que otorga la fundación Nobel a sus laureados desde 2001. El premio será compartido: la mitad para el Dr. Zur Hausen y la otra mitad se dividirá entre los dos investigadores franceses.

Harald zur Hausen nació en 1936 en la ciudad alemana de Gelsenkirchen, estudió medicina en las universidades de Bonn, Hamburgo, y finalmente fue en la de Düsseldorf donde recibió su grado de doctor en 1960. Actualmente es profesor emérito en el Departamento de Virología del *German Cancer Research Centre (Deutsches Krebsforschungszentrum)*, mejor conocido como DKFZ, en Heilderberg, del cual fue jefe y director científico. Es autor de más de 327 artículos de investigación científica.

Con más de siete décadas de vida, Harald zur Hausen es un hombre esbelto que irradia seguridad en sí mismo, de apariencia pulcra y elegante, siempre impecablemente vestido, la mayoría de las veces con un traje formal; es de estatura mediana, que podría considerarse baja; su mirada es inteligente y locuaz, y casi siempre puede vérselo esbozando una

sonrisa amable. En los diversos eventos científicos a los que selectivamente acude, se sabe observado por los concurrentes al evento y parece disfrutarlo. Sin embargo, le gusta convivir con estudiantes y personajes del medio científico poco conocidos, en lugar de ocupar un espacio de honor entre los grandes investigadores del medio. Gusta de asistir a los congresos de investigación básica, mejor que a otros de corte clínico, como el que es organizado anualmente por el grupo de investigación *DN Tumor Virus*, que se lleva al cabo un año en Madison (Universidad de Wisconsin, EUA) y el siguiente en alguna ciudad europea. Cuando asiste a este congreso es usual verlo acompañado de su inseparable colega y esposa, la Dra. Ethel-Michele de Villiers, fiel compañera también en el estudio de los *Papillomavirus*, ya que ella es experta en tipos, variantes y la clasificación de HPV. Además, ella participó en la clonación y secuenciación de los primeros especímenes, aislando HPV6 y HPV11; posteriormente, usando estos virus como sonda molecular, se aislaron los tipos 16 y 18, y sus genomas fueron publicados por dos de sus estudiantes: Mattias Dürst y Michael Boshart en 1983 y en 1984, respectivamente.

En contra de dogmas científicos

El Premio Nobel fue otorgado al Dr. Harald zur Hausen por haber postulado, a principio de los años 70, que el *Papillomavirus* humano podría ser el agente etiológico del cáncer de cérvix. Originalmente postuló sus ideas en una reunión cien-

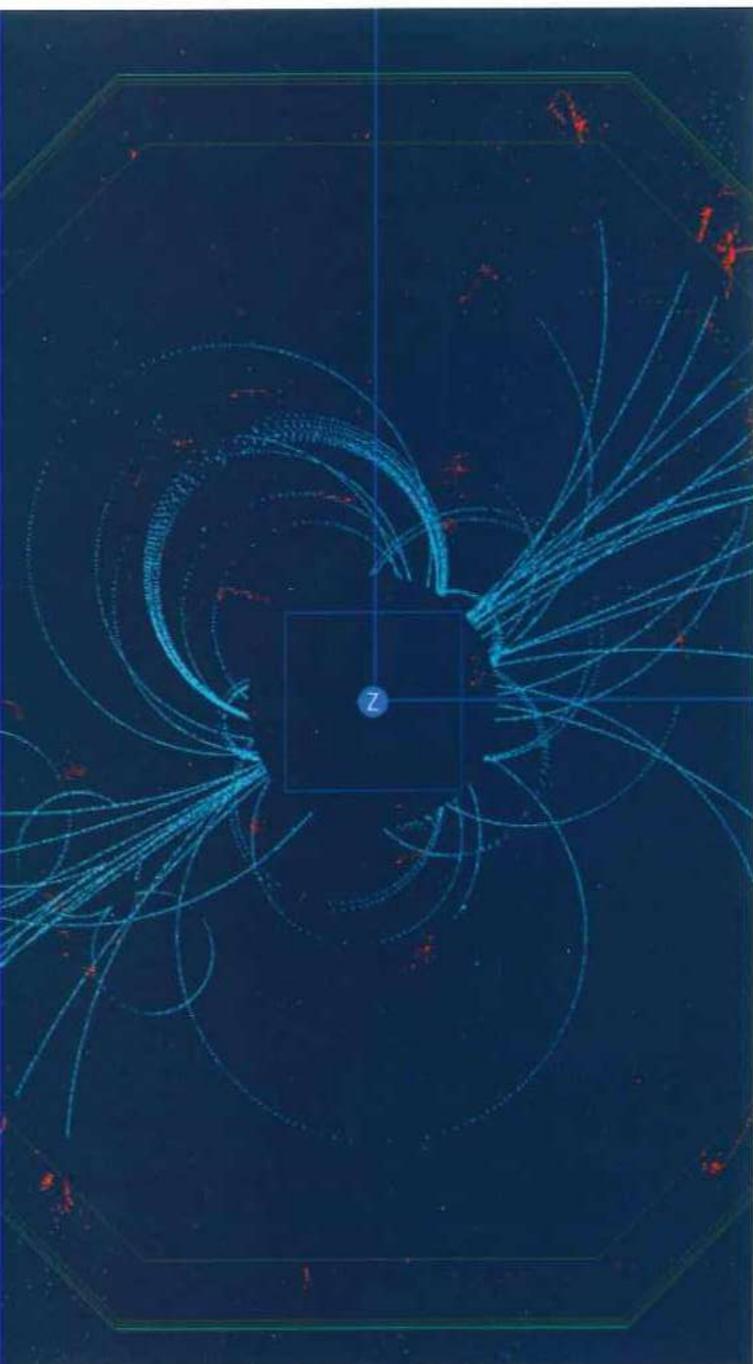
El Dr. Nicolás Villegas Sepúlveda es investigador titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav.
Correo electrónico: nvillega@cinvestav.mx

tífica que tuvo lugar en 1974 en Key Biscayne, en la Florida. La reunión en cuestión era acerca del papel del *Herpes simplex* tipo 2 en cáncer cérvico-uterino pero, en su participación, Zur Hausen mencionó que su grupo no detectaba el virus *Herpes* en este tipo de cáncer y señaló que mejor se deberían buscar *Papillomavirus* humanos. Comentó, además, sobre la existencia de reportes múltiples en la literatura acerca de la presencia de HPV en verrugas genitales, que hasta entonces eran considerados como información anecdótica, aunque existían publicaciones que señalaban que las personas con cáncer de cérvix frecuentemente tuvieron lesiones verrugosas. Por supuesto, sus ideas no fueron bien recibidas por la comunidad científica. En esa época, aunque se sospechaba de un origen infeccioso para este tipo de cáncer, se pensaba que el agente responsable tendría que ser, necesariamente, un agente infeccioso transmitido por la vía sexual. Algunos investigadores pensaban que el agente infeccioso responsable podría ser un virus y la mayoría de los grupos de investigación se inclinaban por el virus *Herpes*, ya que se trataba de la enfermedad viral de transmisión sexual mejor conocida en esa época. Zur Hausen se planteó, desde ese tiempo, que si el agente responsable del cáncer de cérvix fuese un virus oncogénico, entonces los tumores deberían de contener ADN viral. Desde 1983, el grupo de Zur Hausen demostró y publicó en revistas de prestigio, como *EMBO*, *PNAS* y *J. Virology*, artículos en los que registra la detección de fragmentos de secuencia del genoma de HPV en muestras de tejidos aislados de tumores de mujeres con cáncer cérvico-uterino; estos datos sugieren al HPV como el agente respon-

sable de este tipo de cáncer. Dichos resultados iban en contra del dogma científico vigente en ese tiempo al postular que un virus, que entonces se sabía que producía verrugas en humanos, era un virus oncogénico y podría ser causante del cáncer de la cérvix. Harald zur Hausen y su grupo de investigación estaban solos en esa época y caminaban contra la corriente. Aunque sus ideas no fueron bien aceptadas entonces, Zur Hausen continuó apostando por el HPV como el agente responsable del cáncer cervical y, en 1985, logró aislar secuencias de los tipos 16 y 18 de muestras de tumores de la cérvix, resultados que se publicaron en la revista *Nature*. Además, él y su grupo de investigadores demostraron que los genes tempranos de HPV 16 y 18 se transcribían en los tumores y, en los años subsecuentes describieron los transcritos de los oncogenes E6 y E7 producidos por las células tumorales; concluyeron que eran procesados por *splicing*. Años más tarde, y con el trabajo de un gran número de grupos de investigación, se consolida el hecho de que ambos genes tempranos son oncogenes y actúan principalmente sobre dos proteínas claves en la regulación de la proliferación celular y la muerte celular programada: las proteínas Rb y p53, respectivamente.

Opciones de vacunas

Actualmente se conocen cerca de doscientos tipos de *Papillomavirus* y se han secuenciado los genomas completos de 150 tipos. Estos virus infectan epitelios y mucosas, a los que ingresan por lesiones mecánicas microscópicas; su blanco



son las células basales, que dan origen a los queratinocitos (éstos se diferencian para dar origen a las células de la piel), y su ciclo viral está ligado a la diferenciación de los queratinocitos, ya que sólo se producen partículas virales en los queratinocitos terminalmente diferenciados. Únicamente cerca de cuarenta tipos virales producen riesgo oncogénico y se clasifican como virus del alto o bajo riesgo oncogénico; el resto producen las verrugas comunes. Aunque se puede detectar al HPV en 99% de los tumores cervicales, sólo los tipos de HPV 16 y 18, originalmente descubiertos en los tumores de cérvix por Zur Hausen y su grupo, son los responsables de 80% del riesgo oncogénico, y el HPV-16 es detectado en más de 50% de los tumores de la cérvix. Cada año se diagnostica 500 mil mujeres con cáncer cervical en el mundo, la mayoría en los países subdesarrollados. Las investigaciones subsiguientes a los descubrimientos de Zur Hausen han permitido establecer claramente el origen infeccioso del cáncer del cérvix; también se reconoce el papel oncogénico de los genes tempranos E6, E7 y, probablemente, E4. Los oncogenes son expresados de manera preferencial en las células tumorales, ya que frecuentemente el virus se integra durante el proceso oncogénico, por lo que el resto de sus genes no son expresados y no se forman las partículas virales en los tumores. Aunque se conoce a profundidad el efecto que los oncogenes E6 y E7 ejercen sobre las proteínas p53 y pRb encargadas del control de la integridad del genoma y la división celular respectivamente, ambos actúan alterando los mecanismos normales de degradación de estas proteínas claves para el control de la integridad celular, y el resultado es que sus niveles disminuyen considerablemente en la célula tumoral. Sin embargo, se está lejos de conocer a fondo cómo actúan estas dos proteínas oncogénicas, ya que ambas afectan el funcionamiento de otra veintena o más de proteínas celulares: ciclinas, ubiquitilinas, fosfatasa PP2A, caspasa 8, receptor de TNF, TRAIL, proteínas de la unión estrecha, sólo por mencionar algunas. En conjunto, las proteínas afectadas alteran los mecanismos

de control de la apoptosis, el crecimiento celular y de la inhibición por contacto, todos indispensables para mantener la homeostasis celular, por lo que las células infectadas con HPV se transforman y, posteriormente, se malignizan dando origen al cáncer.

Los descubrimientos obtenidos desde las primeras aportaciones de Zur Hausen han permitido que actualmente se cuente con varias opciones de vacuna contra los tipos virales más frecuentes de HPV; en ellas se fincan amplias esperanzas sobre su funcionamiento, que se concretará probablemente en una generación. Esto aumenta su relevancia, debido a que hoy día se reconoce al HPV como responsable de todos los cánceres anogenitales, cérvix, pene, próstata y ano, además de cáncer oral, posiblemente algunos tipos de cáncer de mama y otros.

Descubridores de virus HIV

El Premio Nobel se otorga a investigadores que hacen un descubrimiento importante y no por una trayectoria o por las investigaciones subsecuentes. Sin duda, en el caso de la investigación sobre el papel oncogénico del HPV, un gran número de investigadores hicieron contribuciones científicas muy importantes; tal vez incluso de mayor relevancia que el descubrimiento del virus en un número específico de tumores. Sin embargo, como ya se mencionó, el premio se otorga al investigador que hizo el descubrimiento inicial y no a los que desarrollaron una idea. El mismo caso se aplica a los descubridores del virus HIV como el agente responsable de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Indiscutiblemente, cada año que se nombra a uno o varios ganadores de esta distinción; algunos investigadores consideran que otro colega era merecedor del galardón. A lo largo de los años hemos conocido los diferentes casos de investigadores que se sienten relegados, e incluso dan lugar a notas en revistas importantes

como *Nature* y *Science*, donde fijan su posición o manifiestan las injusticias cometidas por el comité de selección de la Fundación Nobel. Sin embargo, este tipo de manifestaciones públicas sólo muestra que se desconoce por qué se otorga una distinción como ésta. Otro punto que es importante mencionar es que existe un límite de galardonados y sólo se puede premiar a tres investigadores simultáneamente. Todo ello hace más difícil que los involucrados en un descubrimiento puedan ser galardonados. Seguramente, esta regla ayuda a aumentar los sentimientos de injusticia, sobre todo cuando un premio es compartido por varios grupos con descubrimientos diferentes.

Aunque Harald zur Hausen nos puede parecer un personaje muy ajeno a Cinvestav, debo mencionar que egresados del Departamento de Genética y Biología Molecular, como Adriana Aguilar Lemarroy, quién hizo una estancia en su laboratorio y probablemente continuó como estudiante posdoctoral; Alejandro García Carranca, quien trabajó con un investigador de su grupo en una estancia posdoctoral (Dr. Gissmann), sin mencionar otros estudiantes que han trabajado en su grupo recientemente en el laboratorio de la Dra. de Villiers. En la actualidad, por lo menos un par de profesores del área biológica continúa colaborando con el Dr. Zur Hausen o con algún otro integrante de su grupo.

REFERENCIAS

1. L. Gissmann, H. Pfister, H. zur Hausen, *Virology* 76, 569 (1977).
2. M. Dürst, L. Gissmann, H. Ikenberg, H. Zur Hausen, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA.* 80, 3812 (1983).
3. E. Schwarz, U. K. Freese, L. Gissmann, W. Mayer, B. Roggenbuck, A. Stremlau, H. Zur Hausen, *Nature* 314, 111 (1985).
4. Entrevista con Harald zur Hausen por Adam Smith, editor responsable de *Nobelprize.org*, publicada por la Organización Nobel en Internet: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2008/hausen-telephone.html

La enfermedad del dengue, un problema de salud en el olvido

Leticia Cedillo, Julio García y Jazmín García

El dengue es una enfermedad infecciosa reemergente causada por el virus del mismo nombre y transmitida principalmente por el mosquito hembra del género *Aedes aegypti*. Esta enfermedad está diseminada en climas tropicales y subtropicales, su morbilidad está definida por la presencia del vector. La Organización Mundial de la Salud reporta que aproximadamente son infectados de 50 a 100 millones de individuos cada año, de los cuales entre 200 y 500,000 contraen dengue hemorrágico (FHD), que tiene una tasa de mortalidad del 5%, siendo los niños y jóvenes la población que sucumbe ante las formas graves de la enfermedad. México no es la excepción, el dengue está reemergiendo de una manera acelerada (Figura 1), han sido reportados 4370 casos confirmados de dengue hasta la semana 23 del presente año (13.5 % más de los casos reportados en la semana equivalente en el año 2008) con un total de 9001 casos de dengue hemorrágico.¹ La situación es preocupante si son considerados los brotes epidémicos presentados en Argentina (20,000), Bolivia (12,000), Brasil y Paraguay recientemente.

Son varios los factores que han propiciado el aumento del número de casos de dengue, dentro de los que se encuentran: la urbanización no planeada, los problemas de abasto de agua, las migraciones de individuos y los cambios en el clima que podrían contribuir en la facilitación y ampliación del hábitat del vector.²

La enfermedad del dengue presenta un amplio espectro de signos y síntomas, es clasificada en dos formas clínicas: la fiebre por dengue (FD) y el dengue hemorrágico o síndrome



La Dra. Leticia Cedillo Barrón es investigadora titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav, lcedillo@cinvestav.mx

Jazmín García es estudiante del doctorado del mismo departamento. Julio García es estudiante del doctorado en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.



Estado	Serotipos circulantes				Total
	1	2	3	4	
Baja California Sur					0
Campeche					0
Coahuila					0
Colima *	39				39
Chiapas					0
Durango					0
Guanajuato					0
Guerrero		20			20
Hidalgo *	6				6
Jalisco *	6				6
México					0
Michoacán *	25				25
Morelos *	7				7
Nayarit *	3				3
Nuevo León					0
Oaxaca					0
Puebla					0
Quintana Roo					0
San Luis Potosí *	3				3
Sinaloa	2	1			3
Sonora *	1				1
Tabasco *	6	6			12
Tamaulipas *	3				3
Veracruz *	9	1			10
Yucatán					0
Total	110	28			138

* Aislamientos reportados por INDRÉ hasta la semana 23

Figura 1. Incidencia* y serotipos aislados de casos confirmados de dengue por entidad federativa. México, 2009

de choque por dengue (FHD/SSD), en esta clasificación existen múltiples formas intermedias. Afortunadamente alrededor del 80 % de las personas infectadas no muestran sintomatología y aquellos que presentan dengue clásico sólo sufren un cuadro febril benigno que dura aproximadamente de 2 a 7 días. Dentro de las manifestaciones clínicas a considerar están: cefalea, mialgias, artralgias, dolor retro-ocular, náuseas y vómitos.³

En aquellos individuos que sufren las formas severas del dengue, las manifestaciones son muy variadas, desde la presencia de signos hemorrágicos como: petequias, hematomas, epistaxis y gingivorragia, hasta manifestaciones de extravasación del plasma que pueden conducir a la muerte del individuo.³ La OMS ha establecido una clasificación que está en función de la gravedad de la enfermedad y consiste en: Grado I: fiebre y prueba de torniquete positivo. Grado II: hemorragia espontánea. Grado III: signos de falla circulatoria. Grado IV: choque o presión arterial y pulso imperceptibles.

El virus del dengue posee un RNA de cadena sencilla y polaridad positiva de aproximadamente 11 kb, con una cápside icosaédrica, envuelto por una membrana lipídica. El genoma de este virus codifica para una poliproteína la cual es procesada para dar lugar a 3 proteínas estructurales (C, PrE_M y E) y 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5).⁴

Respuesta inmune contra el virus dengue

Estudios previos han demostrado que el virus del dengue infecta y replica en células dendríticas mieloides (DC) inmaduras propiciando su maduración y activación, en respuesta a la infección.⁵ La respuesta inmune innata contra dengue la establecen los interferones (IFNs) de tipo I, complemento y células NK entre otros. Los IFN α/β son secretados por las células infectadas por el virus dengue, tienen efectos directos contra el virus y a su vez promueven la expresión de más de 200 proteínas con actividad antiviral.⁶

Una vez que los antígenos virales son procesados por macrófagos o células dendríticas y son presentados en el contexto de moléculas MHC II a linfocitos T CD4+, estos producen IL-4, la cual estimula la proliferación y diferenciación de lin-

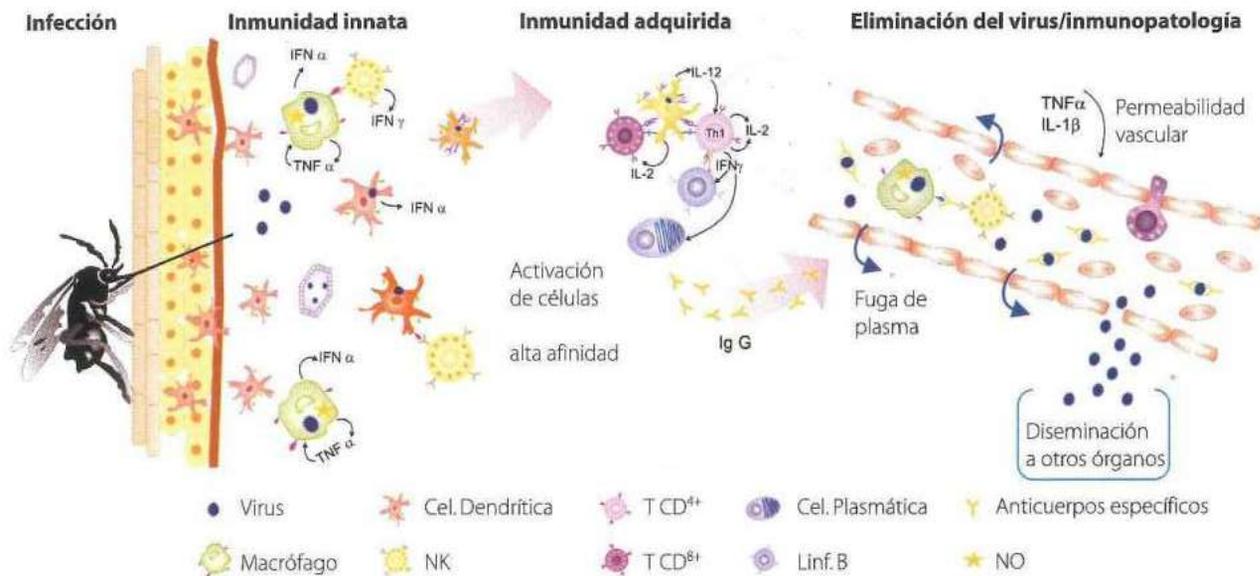


Figura 2. Respuesta inmune contra el virus dengue desde su llegada, donde participa la inmunidad innata, hasta el establecimiento de la enfermedad donde se inicia la respuesta inmune adaptativa.

focitos B a células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos. De la misma manera las células T CD8+ al mismo tiempo que se activan y proliferan también ejercen su actividad citotóxica sobre células infectadas. Los linfocitos T CD8+ reconocen epítomos de las proteínas NS3 y NS1 y NS2A.⁷

La respuesta protectora contra el dengue está mediada por la presencia de anticuerpos neutralizantes, los cuales reconocen epítomos localizados en la glicoproteína de envoltura principalmente. Estos anticuerpos tienen la capacidad de inhibir la entrada del virus a la célula blanco. Durante la infección por el virus dengue también se induce la producción de anticuerpos contra algunas proteínas no estructurales del virus⁸ (Figura 2).

La respuesta inmune humoral de pacientes durante la infección primaria por el virus dengue, se caracteriza por un aumento en el nivel de anticuerpos de clase IgM, entre los días 3 y 5 posteriores a la aparición de los síntomas y con un pico máximo dos semanas después; para luego declinar a niveles no detectables durante los siguientes 2 a 3 meses.⁹

En una infección secundaria, durante la fase aguda los niveles de anticuerpos IgG específicos contra el virus dengue, son mayores que los niveles de IgM y muestran un pico máximo a la

semana con la posibilidad de persistir por varios años. Los anticuerpos IgM aparecen tardíamente, por lo que los niveles máximos de IgM son inferiores a los observados durante una infección primaria. Los niveles de anticuerpos de clase IgA, aparecen en el día 6 posterior al inicio de los síntomas como ocurre con la IgM por lo que la IgA es considerada como un marcador de infección temprana. La diferencia en el patrón de respuesta de anticuerpos de clase IgM e IgG es la base para distinguir entre una infección primaria y secundaria.¹⁰

Patología de la enfermedad

La patogénesis de las formas severas del dengue DHF/SSD (Dengue hemorrágico y del síndrome de choque por dengue) hasta la fecha no está del todo clara. Sin embargo esta forma clínica es el resultado de la coincidencia de factores, tanto del virus como del hospedero. En el caso particular del huésped los factores involucrados son: los anticuerpos facilitadores,¹¹ la patogénesis mediada por células,¹² el fenómeno conocido como tormenta de citocinas¹³ y el fondo genético del huésped.¹⁴ Los

Influenza A/H1N1 ¿la pandemia que viene?

Gilda Flores y Nicolás Villegas

El principio del mal

Durante los primeros días de abril del 2009, en nuestro país fueron registrados brotes pequeños de una enfermedad que causó alarma en nuestros sistemas de salud, lo anterior debido a que fueron detectadas varias muertes por neumonía atípica fuera de la temporada invernal. La enfermedad iniciaba como una gripe normal que cursaba en ocasiones con fiebre y desembocaba en daño pulmonar masivo.¹ Algunas veces la enfermedad cursaba sin fiebre, con diarrea y vómito, desembocando igualmente en muerte por neumonía.

En nuestro país, la influenza estacional ataca regularmente al año entre 10 y 15 millones de individuos y llega a producir de 10,000 a 15,000 muertes por neumonía. Sin embargo, el problema se estaba presentando a finales de marzo y principios de abril, lo que resultaba a todas luces atípico; debido a ello la Secretaría de Salud envió 23 muestras virales de estos pacientes para su secuenciación a laboratorios en Canadá y al Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, EUA (CDC, por sus siglas en inglés). El día 23 de abril el CDC dio la alerta, a nuestras autoridades de salud de la presencia de una cepa viral nueva en los enfermos de nuestro país, se trataba de un virus de influenza humana tipo A/H1N1, mismo que inicialmente fue denominado de la influenza porcina, por contener secuencias de virus porcino.² El día 24 de abril la Secretaría de Salud lanzó una alerta sanitaria basada en prácticas clínicas robustas, que han mostrado su eficacia en brotes y epidemias anteriores, la cual se basa en aplicar reglas de distanciamiento



La Dra. Gilda Flores realiza estancia sabática en el Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav, gildar@servidor.unam.mx

El Dr. Nicolás Villegas es investigador titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav, nvillega@cinvestav.mx

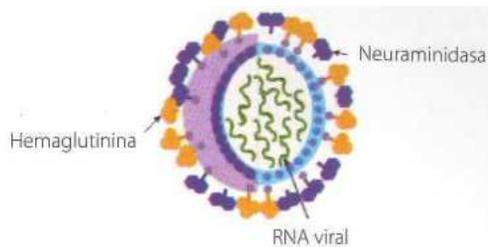


Figura 1. Representación esquemática del virus de influenza A.

social y principios básicos de higiene como el uso de cubrebocas y lavarse las manos frecuentemente. Estas prácticas simples en conjunto con la cuarentena han mostrado ser eficaces en otras epidemias de muy alta mortalidad causadas por los virus del SARS, Hendra o Nipah.

Al detectar la epidemia en México y EUA, se manifestó el temor inicial de los expertos en todo el mundo al percatarse que era causada por una variante de H1N1, igual que el involucrado en la pandemia mortal de 1918. Sin embargo, a la distancia sabemos que no se trata de la misma variante viral.

Los virus de la influenza

Los virus de la influenza son clasificados en tres tipos: A, B y C. Los tipos A y B causan enfermedades gripales del tipo que producen pandemias, mientras que los tipos C producen la enfermedad en forma benigna y muy leve. Estos virus tienen cubierta, contienen un genoma de Ácido Ribonucleico (ARN) de cadena positiva (codificante) y poseen genomas segmentados, es decir están formados por 8 segmentos de ARN de tamaño variable. Cada segmento codifica para un gen viral. Los segmentos 4 y 6 codifican para los genes de la Hemaglutinina (Ha) y la Neuraminidasa (Na), estos genes son utilizados para clasificarlos (Figura 1). Son conocidos 16 tipos de genes de Hemaglutinina, denominándolos desde H1 hasta H16 y seis tipos de Neuroaminidasa llamados desde N1 hasta N6. El virus de influenza A/H1N1 contiene las variantes 1 de ambos genes. La influenza estacional de los dos últimos años, fue causada por las variantes H2N2 y H3N2 y las variantes de los tres últimos ciclos, son usadas anualmente para preparar las vacunas disponibles. Actualmente, hay más de una vacuna disponible para la variante A/H1N1, estas vacunas en general son de aplica-

ción nasal y de una sola dosis. Los estudios indican que son protectoras, sin embargo esto podría cambiar, porque el virus muta rápidamente, por lo que deberán de prepararse vacunas nuevas cada año.

Pandemias mortales

Los expertos consideran que cada siglo la humanidad es víctima de 3 ó 4 pandemias de influenza. Aunque pueden ocurrir brotes o incluso epidemias esporádicas en los periodos intermedios.³ Las epidemias se presentan en un país o varios países del mismo continente, mientras que las pandemias se presentan en países de varios continentes. Las últimas pandemias fueron todas con virus de influenza A y ocurrieron en 1889 (H3N2), 1918 (H1N1), 1957 (H2N2), 1968 (H1N1), 1977 (H3N2) y la actual en 2009 (H1N1).⁴ Las más severas fueron las de 1918 (H1N1) y la de 1957 (H2N2). Sin embargo, el fantasma de la epidemia de 1918 aún ronda en la mente de los epidemiólogos, debido a que ésta cobró más víctimas que la Primera Guerra Mundial. Algunos expertos estiman conservadoramente que esta pandemia cobró la vida de entre 20 y 50 millones de individuos, los más pesimistas piensan que pudo haber hasta 100 millones de muertos, considerando que en países muy pobres las víctimas no son reportadas, ni diagnosticadas.

Inicialmente el problema surgió en la primavera de 1918 como una influenza altamente infecciosa, que causaba muy pocas víctimas, prevaleció así durante el verano, sin embargo, a finales de agosto el virus cambió y la enfermedad se convirtió en un proceso de alta mortalidad (mortalidad de 2%) cobrando hasta 10,000 muertes por semana. La pandemia se expandió durante 9 meses y el virus recorrió todo el mundo durante 2 años. Sólo en los Estados Unidos fueron reportadas 675,000 muertes.

Fue denominada fiebre española, porque los diarios españoles le dieron una mayor difusión al problema, ya que España no participó en la Primera Guerra Mundial y la información no era censurada, como ocurrió en otros países. El rasgo característico de esta pandemia fue que las víctimas eran gente joven, y la tasa de muerte más alta se produjo en individuos sanos con edades entre los 15 y los 34 años. Quizá en estos momentos a los mexicanos esta historia nos parezca algo conocida.

Resucitando al virus de 1918

Actualmente conocemos la secuencia de ribonucleótidos del virus de 1918, el cual fue reconstruido y secuenciado usando técnicas modernas de biología molecular y “resucitado” usando técnicas de genética reversa.⁵ Es decir, el virus resucitado fue producido en el laboratorio, utilizando cada uno de los segmentos del Ácido Desoxirribonucleico complementario (cADN) preparados con técnicas de biología molecular, subsecuentemente clonados por separado en vectores de expresión (plásmidos). Estos fragmentos de ADN fueron introducidos en las células de túbulo renal caninas (MDCK) de un cultivo *in vitro*. En estas células, fueron introducidos uno a uno los segmentos del genoma viral complementados con segmentos virales de la cepa estacional; fue construido el virus completo (los 8 segmentos) y 3 quimeras con 1, 2 ó 5 segmentos de ARN del virus de la fiebre española respectivamente y suplementados con 7, 6 ó 3 segmentos de la cepa estacional. Subsecuentemente, estos virus fueron amplificados en huevos de gallina que contenían embriones de 10 días de edad y los virus obtenidos fueron usados para inocular ratones de laboratorio (cepa BALBC) para estudiar los segmentos de ARN responsables de la virulencia y la letalidad de la cepa de fiebre española de 1918. Los estudios realizados con estas quimeras virales permitieron concluir qué mutaciones de un solo nucleótido en el gene HA (polimorfismo genético) son responsables de la restricción en la especie del huésped al alterar la especificidad de unión del virus con su receptor en las células pulmonares, mientras que el polimorfismo en tres genes (PB1, HA y NA) es responsable de la virulencia.

Para obtener los segmentos virales y conocer su secuencia nucleotídica, el virus fue reconstruido con técnicas de ingeniería genética a partir de muestras de pulmón fijadas en parafina y obtenidas de víctimas de la pandemia de 1918. También fueron usadas muestras de tejido pulmonar congelado obtenidas de la fosa común de una aldea *Inuit* de la región de Fairbanks, en Alaska. En 1919, en esta aldea llamada Misión de *Breving*, (*Breving Mission*) murieron 72 de los 80 habitantes que la poblaban. Con la autorización de los pobladores *Inuit* actuales, un equipo de investigadores abrió la fosa común en la que fueron enterradas las víctimas de la epidemia de hace casi un siglo, con la esperanza de encontrar restos humanos completos congelados en el *permafrost* (hielo glaciar). El equi-

po de científicos abrigaba pocas esperanzas de obtener fragmentos íntegros del material genético del virus, debido a que las temperaturas del *permafrost* oscilan entre los -10° y los 4°C, normalmente las muestras biológicas son almacenadas en los laboratorios a -70°C, para mantener el ARN íntegro; sorpresivamente estas muestras aportaron segmentos de ARN de tamaño suficiente para obtener completa la secuencia del virus. El equipo que desarrolló esta gran labor científica, estuvo constituido por varios científicos y sus grupos de investigación: Peter Palese, Adolfo García-Sastre, Ian Wilson, Christopher Basler, Michael Katze y Jeffrey Taubenberger, lo que sin duda resultó en una exitosa, aunque larga y difícil labor.^{6,7}

Similitudes de los virus N1H1 actual y de 1918

Los virus de influenza tienen alta tasa de mutación (difieren alrededor de 6% al año), al igual que otros virus de ARN, éstos pueden cambiar por mutación simple. Pero al tener genomas segmentados, además pueden cambiar por pseudo-recombinación y por recombinación. La pseudo-recombinación ocurre cuando se mezclan segmentos de más de un virus de influenza y se generan nuevas variantes, puede ocurrir cuando 2 cepas diferentes infectan simultáneamente al mismo individuo o cuando la infección ocurre en individuos recién vacunados; el resultado en estos enfermos es la producción de virus con segmentos virales de más de una cepa.

El virus de la influenza española y algunas de las cepas epidémicas detectadas en años recientes fueron formados por segmentos de ARN de virus provenientes de ave, cerdo y de humano y son denominados pseudo-recombinantes triples (en inglés *triple reassortant*). El virus de influenza A de este año, también es un triple pseudo-recombinante que contiene 5 segmentos de ARN de virus de cerdo (HA, NB, NA, M y NS), 1 de virus humano estacional (PB1) y 2 de ave (PB2 y PA). Se estima que los virus más letales para el humano tienen origen en aves, sobre todo el segmento 1 (PB1).

La recombinación es un evento más raro y también ocurre cuando un individuo es infectado simultáneamente con más de una cepa viral, durante su replicación se forman cadenas quiméricas que contienen porciones de las 2 cepas virales, pero en un mismo segmento de ARN, solo se asemejan en un cierto porcentaje a cada uno de los ARN parentales.

Tabla 1. Distribución de casos de Influenza A/H1N1 en Norteamérica.

	Inicio del reporte 24/04/09	Semana 1 1/05/09	Semana 3 15/05/09	Semana 5 29/05/09	Semana 7 12/06/09	Semana 8 19/06/09	Semana 9 26/06/09
Norteamérica	113	586	8,185	15,871	30,180	41,901	45,950
Canadá	19	51	496	1,336	2,978	5,710	6,732
EUA	0	138	4,714	8,975	17,855	21,448	21,448*
México	94	397	2,895	4,974	6,241	7,264	8,279

Los datos son reportados por semana; después del primer reporte de casos, el número de semanas de ninguna manera representa las semanas de inicio del brote(s) epidemiológico(s). Son reportados casos confirmados por laboratorio, y no el inicio de síntomas. Los datos fueron tomados de las páginas Web de la Organización Mundial de la Salud (WHO por sus siglas en inglés)⁸ y de la Organización Panamericana de Salud (PAHO por sus siglas en inglés).⁹

La influenza de tipo H1N1, se distingue de la estacional en que súbitamente aparecen signos y síntomas con duración de 2 a 4 días, tales como: fiebre mayor de 39 ó 40°C, dolor muscular severo, dolor de cabeza intenso, tos seca, rinorrea y complicaciones respiratorias agudas graves. El proceso agudo se resuelve de 5 a 7 días, pero puede ser más largo en niños pequeños, pacientes inmuno-comprometidos o enfermos muy graves, hay posibilidad de complicaciones pulmonares (neumonía severa) que desembocan en la muerte. Se piensa que en algunos individuos las lesiones pulmonares severas ocurren por una hipersensibilización del sistema inmune (tormenta citocínica). Los pacientes con mayor riesgo de complicaciones son individuos con hipertensión, obesidad, diabetes y los fumadores. La gripe o influenza común tarda en establecerse más de 3 días, la temperatura se eleva entre 37.5 y 38.5°C, la fiebre y la rinorrea permanecen de 1 a 2 días y el proceso agudo se resuelve en 3 días, en ocasiones con aparición tardía de tos productiva y comúnmente con sinusitis, otitis y bronquitis como complicaciones.

Desarrollo de la epidemia de influenza A en Norteamérica

El primer caso atípico y detectado sólo por sus síntomas se presentó el día 11 de marzo, el segundo el día 15 de marzo, para el día 23 ya eran 12 casos detectados. Ese mismo día son recibidos los datos de secuencia que confirman la presencia de un virus de influenza nuevo y es declarada la alerta epidemiológica en México. Para el día 29 de mayo, son confirmados los primeros 94 casos diagnosticados por laboratorio. Los detalles de la evolución de la epidemia en México, Estados Unidos y Canadá son mostrados en la Tabla 1.

Respecto a la evolución mundial de la pandemia. Al día 29 de mayo eran reportados 18, 280 casos en 52 países, cuatro semanas después, el día 27 de junio eran reportados 59,814 casos en 78 países con 263 muertes. El reporte al día 2 de julio es de 80,000 casos en 121 países. Sólo en Norteamérica a la fecha han sido reportados 45,950 casos con 258 muertes. Se considera que el periodo de expansión de una epidemia de influenza es de 10 a 12 semanas y como muestran los datos de la tabla, actualmente nos encontramos en ese periodo.

N1H1 un problema para los sistemas de salud mundiales

Independientemente de la mortalidad que puede ocasionar una epidemia de gripe, uno de los problemas más graves para los países que la sufren son los costosos gastos de hospitalización y tratamiento cubiertos por sus sistemas de salud pública. En nuestro país cada año son víctimas de gripe estacional entre 10 y 15 millones de individuos. Sin duda, en otoño e invierno, uno de los problemas más graves para el sistema nacional de salud será el costo del diagnóstico, para definir si un enfermo llega con una gripe estacional o influenza A/N1H1. Tan sólo en reactivos de laboratorio, el costo del diagnóstico es de alrededor de 50 dólares estadounidenses por paciente, lo que puede representar un costo entre 500 y 750 millones de dólares. En los días de la emergencia epidemiológica, sólo alrededor del 30% de los pacientes sospechosos fue diagnosticado con influenza A/H1N1, sin embargo acudieron a los sistemas de salud alrededor de 100,000 individuos. Considerando que el brote no ocurrió en la época de alta incidencia, podemos imaginar lo que podría suceder en los meses de otoño e invierno. El número de pacientes internados podría crecer 100

veces o más, es decir el personal de los sistemas de salud podría ser rebasado, tanto en términos de atención ambulatoria como de hospitalización. Aun cuando se considere que el número de enfermos por influenza A/H1N1 fuese tan bajo como sólo el 5% de los pacientes de gripe, por señalar un escenario.

Otro problema para los sistemas de salud es el costo y, más importante, la disponibilidad de los medicamentos antivirales (inhibidores de neuraminidasa). Con un costo de aproximadamente 30 a 40 dólares por paciente, cada millón de tratamientos causaría 30 ó 40 millones de dólares de gastos a los sistemas nacionales de salud. Considerando que el tratamiento es otorgado a todos los pacientes sospechosos, ya que en ocasiones no es posible esperar el resultado del diagnóstico molecular, y pensando de forma conservadora, consumiríamos un número cercano a los 5 millones de tratamientos antivirales (oseltamivir, nombre comercial Tamiflu, de la compañía Hoffmann-La Roche o zanamivir, nombre comercial Relenza, de la compañía GlaxoSmithKline). Lo anterior se traduciría en un gran problema económico para los sistemas de salud.

Desde el punto de vista económico el problema es similar para los países ricos; sin embargo, es poco probable que sus sistemas de salud se colapsen por las reservas de tratamiento antiviral que ellos poseen. EUA cuenta con reservas de antiviral para 25% de su población (70 a 80 millones de dosis o tratamientos) mientras que Inglaterra y Francia cuentan con dosis suficientes para el 50% de su población. En EUA cada año 35 millones de individuos enferman de gripe estacional, aunque en apariencia el problema es más grave que el nuestro, ellos tienen reservas para el doble de los enfermos esperados en una temporada invernal, o bien para una epidemia que dure dos años, periodo calculado en que puede circular un virus con capacidad de producir una pandemia. Lo anterior explica, en parte, porqué los países ricos toman pocas medidas de distanciamiento social y sólo en casos aislados, la cuarentena. En cambio los países más pobres con pocas reservas del antiviral deben tomar medidas más robustas de distanciamiento social e incluso de cuarentena severas; entre más pobre es el país más severas serán las medidas tomadas.

En términos de costos para nuestro país, sería más barato dar el tratamiento antiviral a todos los enfermos de influenza A/H1N1 y estacional, que atender entre 10,000 y 15,000 pacientes graves, si consideramos que el costo mínimo de hospitalización de un enfermo grave en terapia intensiva puede oscilar

entre los 2,000 y 3,000 dólares por día y los enfermos graves durante el brote de abril permanecieron hospitalizados entre 9 y 10 días en promedio. Si no se hubiese actuado con las medidas tomadas el mes de abril y los primeros días de mayo, el estimado según los expertos pudo ser de 85,000 pacientes hospitalizados y cerca de 8,000 muertes, sólo para ese periodo de abril-mayo. Podemos imaginar los costos económicos de un problema de tales dimensiones, serían realmente catastróficos, además de la lamentable pérdida de vidas humanas. Sin embargo, aun cuando un país cuente con los recursos económicos suficientes para comprar grandes cantidades del antiviral, las industrias farmacéuticas no poseen la capacidad para producir el antiviral demandado en momentos en que nos amenaza una pandemia, por lo que sólo nos queda respaldar la aplicación robusta de las medidas de distanciamiento social, higiene personal y de ser necesario la cuarentena.

REFERENCIAS

1. F.S. Dawood, S. Jain, L. Finelli, M.W. Shaw, S. Lindstrom, R.J. Garten, L.V. Gubareva, X. Xu, C.B. Bridges, T.M. Uyeki, *N. Engl. J. Med.*, **360**, (25), 2605 (2009).
2. M.S. Klempner, D.S. Shapiro, *N. Engl. J. Med.*, **350**, (12), 1171 (2004).
3. R.B. Belshe, *N. Engl. J. Med.*, **360**, (25), 2667 (2009).
4. R.B. Belshe, *N. Engl. J. Med.*, **353**, (21), 2209 (2005).
5. T.M. Tumpey, C.F. Basler, P.V. Aguilar, H. Zeng, A. Solórzano, D.E. Swayne, N.J. Cox, J.M. Katz, J.K. Taubenberger, P. Palese, A. García-Sastre, *Science*, **310**, (5745), 77 (2005).
6. A.H. Reid, T.G. Fanning, J.V. Hultin, J.K. Taubenberger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **96**, (4), 1651 (1999).
7. J.K. Taubenberger, A.H. Reid, A.E. Krafft, K.E. Bijwaard, T.G. Fanning, *Science*, **275**, (5307), 1793 (1997).
8. OMS, disponible en http://www.who.int/csr/don/2009_06_26/en/index.html
9. PAHO, disponible en <http://ais.paho.org/flu/sm/atlas.html>

Jesús Calderón: macrófagos, el receptor del Interferón gamma y la inmunología

Marco Antonio Meraz Ríos

En el mismo laboratorio que mi maestro

A finales de 1990, poco tiempo después de terminar mi Doctorado en el laboratorio de la Dra. Isaura Meza Gómez-Palacio, me encontraba listo para continuar con mi vida académica. Había asistido a varios congresos internacionales y escrito a varios investigadores, cuyas líneas de investigación estaban asociadas con la biología molecular de protozoarios parásitos. Así había conseguido que se interesaran en mí varios destacados profesores del campo, quienes me ofrecieron una posición posdoctoral en sus laboratorios. Prácticamente tenía resuelto irme a Melbourne, Australia, con el Dr. David Kemp, cuando encontré en el pasillo del Departamento de Biología Celular al Dr. Jesús Calderón Tinoco, quien con su singular alegría y optimismo, me preguntó sobre mi futuro inmediato. Le comenté mis deseos de continuar en el campo de la parasitología molecular y que estaba decidido irme a Australia. Él, como siempre, me dio sus entusiastas consejos, mostrando su apoyo y solidaridad incondicional. Al final de la plática me dijo: ¡Ah!, por cierto, el Dr. Robert D. Schreiber anda buscando un biólogo molecular y le he dicho que conozco a uno muy bueno, refiriéndose a mí. Esa frase captó mi atención y le pregunté más sobre el Dr. Schreiber. Me dijo que era un gran amigo suyo, con quien había realizado su último periodo sabático y que trabajaba con el receptor del Interferón gamma. Terminamos nuestra plática y nos despedimos.

Pasaron varios días antes de encontrarnos de nuevo. Al hacerlo le pregunté donde trabajaba el Dr. Schreiber, su respues-

ta fue: La Escuela de Medicina de la Universidad de Washington en St. Louis Missouri. Seguí preguntándole más cosas y entonces me dijo: no te preocupes, todo lo que quieras saber podrás preguntárselo personalmente. Le pregunté, ¿va a venir?, y me contestó, no, le pedí que te mande un boleto de avión para que puedas ir a visitarlo. Efectivamente, un mes más tarde, me encontraba volando a la ciudad de St. Louis. Era el mes de septiembre y mi llegada a la ciudad fue en las mejores condiciones que podía imaginar: un clima estupendo, la ciudad viva y la gente en el laboratorio, trabajando al máximo nivel.

Me entrevisté con el Dr. Schreiber y con doce profesores más. Finalmente, lo hice con el jefe del Departamento de Patología, el Dr. Emilio Unanue. En ese entonces no sabía que era cubano nacionalizado norteamericano. La entrevista con el Dr. Unanue resultó muy reveladora, ya que era otro gran amigo del Dr. Jesús Calderón. Terminando las entrevistas, Robert Schreiber (Bob), me invitó a cenar y así recibí inmediatamente la propuesta de una posición posdoctoral en su laboratorio, comenzando en noviembre; dos meses después.

Durante la cena, me percaté que cada vez que alguien se refería al Dr. Calderón, lo hacía con mucho respeto y un gran cariño. De hecho, se dirigían a él por su nombre de pila, Jesús. Bob me contó que en una ocasión a su esposa le dio mucha risa que él le anunciara la llegada de Jesús, ya que lo hizo con una reverencia divina y con la expresión: *Jesus is coming*,

El Dr. Marco Antonio Meraz Ríos es investigador titular del Departamento de Biomedicina Molecular y Secretario de Planeación del Cinvestav, mmeraz@cinvestav.mx



claro, entendiendo que ellos son judíos. Ya instalado en el laboratorio, empecé a reconocer el gran desafío que representaba estar en el mismo laboratorio de mi maestro. Es decir de un gran maestro. Todo lo que escuchaba eran las grandes proezas de su trabajo y la dedicación que este hombre puso en sus proyectos. Fue en este laboratorio donde se identificó y aisló al receptor del Interferón gamma y donde se hicieron los primeros estudios sobre los mecanismos de procesamiento y señalización, los que ahora constituyen las bases de la transducción de señal del sistema inmunológico. No tardé en descubrir que no sólo en el laboratorio de Bob, sino en todo el Departamento de Patología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Washington, contaban las proezas de Jesús: noches interminables de trabajo y los experimentos ingeniosos y bien logrados que el Dr. Calderón construyó en torno al aislamiento y purificación de esta molécula receptora.

Procesos muy artesanales

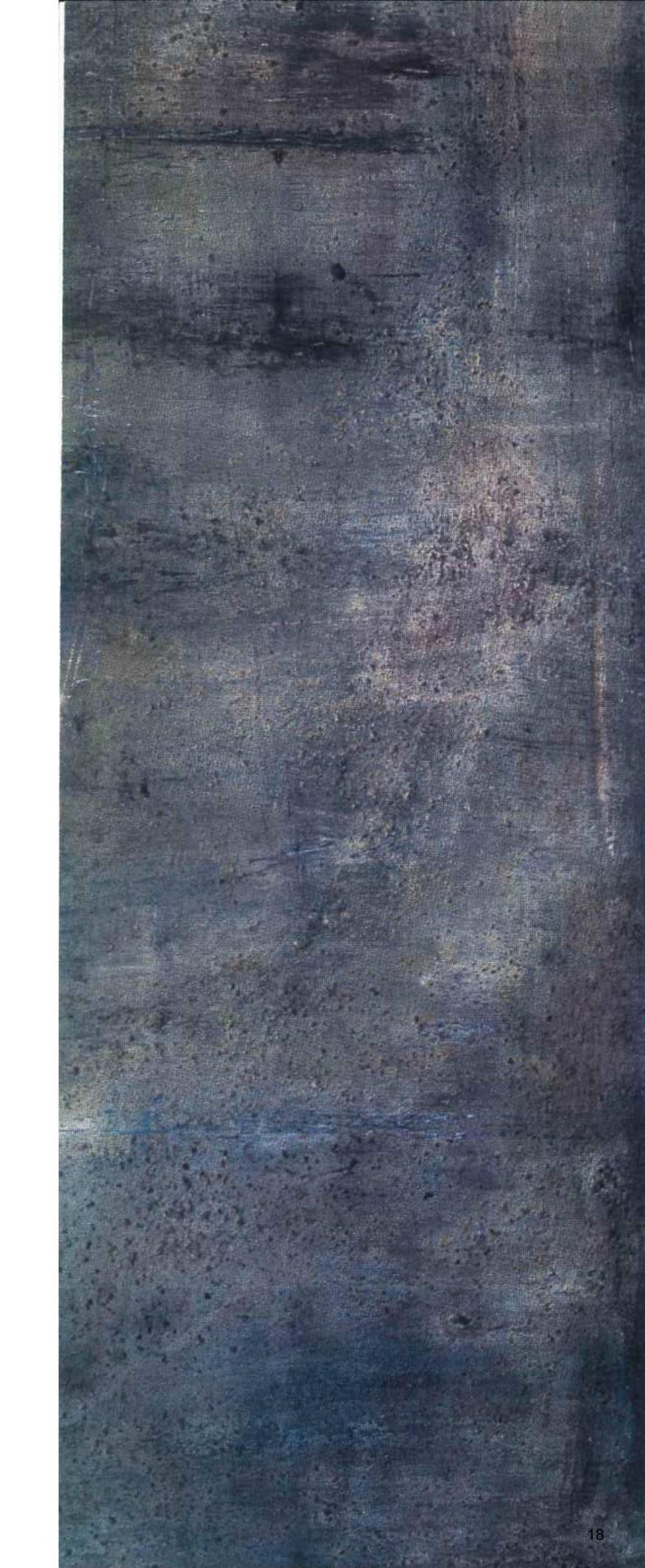
Los procesos para aislar una molécula de estas características eran muy artesanales en aquel entonces. Sin embargo, eso lo comentaré en forma más detallada tomando como base los artículos que Jesús Calderón publicó al respecto.

Para empezar la historia de Jesús y su encuentro con el receptor del Interferón gamma, nos remontaremos hasta 1974,

cuando aparece su primer trabajo en colaboración con el Dr. Emilio Unanue, quien es uno de los inmunólogos más reconocidos en el campo. El trabajo se tituló: *The release of antigen molecules from macrophages: characterization of the phenomenon* y se publicó en el *Journal of Immunology* en 1974.

Aquí se describía, por primera vez, el procesamiento antigénico llevado a cabo por el macrófago. En el mismo año Jesús realizó otra gran contribución al mundo de la inmunología, publicó: *An inhibitor of cell proliferation released by cultures of macrophages*,¹ este trabajo sentó las bases para la búsqueda de las moléculas inmunoreguladoras que ahora conocemos como interleucinas o citocinas. Un año después, en 1975, publicó un artículo de revisión titulado: *Evaluation of the role of macrophages in immune induction*,² trabajo que resumía sus aportaciones al campo de los macrófagos. En el mismo año, publica en la revista *Nature*, *Two biological activities regulating cell proliferation found in cultures of peritoneal exudate cells*³ para consolidar sus notables aportaciones al emergente campo de la inmunología.

En 1976 escribe otro trabajo seminal: *Regulation of immunity and inflammation by mediators from macrophages*,⁴ este trabajo describe de manera detallada el estado del arte de las moléculas liberadas por los macrófagos, sus funciones y establece que los fagocitos mononucleares secretan moléculas en el ambiente extracelular y que éstas pueden agruparse en tres categorías: a) enzimas que afectan las proteínas extracelulares (colagenasa,



elastasa, proteasas lisosomales, activadores de plasminógenos); b) moléculas implicadas en los procesos de defensa (proteínas del complemento, interferones, lisozima) y c) los factores que regulan actividades de células circundantes. Estas últimas incluyen moléculas linfo-estimuladoras, un factor estimulador de colonias y los inhibidores del crecimiento de la célula. Las condiciones para la secreción de estas moléculas, dependen de la actividad de los fagocitos. Las moléculas linfo-estimuladoras secretadas por los macrófagos ejercen varios efectos: 1) aumento en la síntesis de la DNA de los linfocitos, 2) maduración de timocitos tempranos a células T maduras y 3) diferenciación de algunas células B a células productoras de anticuerpos. Jesús describe también el aislamiento y caracterización parcial de un factor mitogénico, de naturaleza proteínica con un peso molecular de 15,000 a 20,000 daltones. Esta molécula resultó ser después el M-CSF y GM-CSF. En 1977, hizo otra gran aportación científica: demostró que el inhibidor de la síntesis de DNA y de la proliferación celular liberado por los macrófagos era la timidina. El inhibidor se sintetiza de *novo* y la cantidad de inhibidor presente en líquidos de cultivo es suficiente para bloquear el crecimiento de una gran variedad de células de la leucemia. Estos hallazgos fueron fundamentales para entender la biología de los macrófagos.

Receptor del Interferón gamma

Como podrán notar, Jesús hizo contribuciones muy importantes en el estudio de los macrófagos; posteriormente, regresó a México. En 1987 volvió al laboratorio del Dr. Schreiber, a trabajar con el receptor del Interferón gamma (IFN-gamma). El primer trabajo que publicó fue: *Reduced receptor binding by a human Interferon gamma fragment lacking 11 carboxyl-terminal amino acids.*⁵ Aplicando su experiencia como bioquímico y biólogo celular, demostró que el Interferón gamma humano recombinante al ser tratado con (1) clostripaina ó (2) pronasa, produce un fragmento estable con peso molecular de 15,500 daltones, con un corte entre los aminoácidos 129 y 130; además, que este fragmento carente de 11 aminoácidos en el carboxilo terminal mostró una reducción de 1000 a 2000

veces en su capacidad de unirse a los receptores celulares del IFN-gamma a 4°C. El fragmento presenta una reducción de 50 veces en su capacidad de inducir actividad antiviral al ser probado en fibroblastos y una reducción de diez veces en su capacidad de inducir la expresión de receptores de Fc. Estos resultados indicaban que el carboxilo terminal del IFN-gamma humano contribuye sustantivamente a la formación del sitio de unión, que se une al receptor. Hoy sabemos que el Interferón gamma es un homodímero que se une antiparalelamente y que tiene la capacidad de juntar a dos receptores a través de la unión de su región carboxilo terminal con el receptor. En 1988, Jesús desarrolló una gran herramienta para el estudio del receptor del Interferón gamma: los anticuerpos monoclonales específicos de ésta molécula⁶ y, posteriormente en el mismo año, la purificación masiva del receptor de interferón a partir de placenta.⁷ Estos trabajos fueron fundamentales para posteriormente clonar el receptor y entender su funcionamiento. Sin lugar a dudas, puedo asegurar que derivado de estos trabajos, hoy entendemos con gran detalle el procesamiento del interferón y la forma en que las células se comunican y responden a estímulos externos.

Una vez aislado y purificado el receptor, se abrió la posibilidad de entender cómo se regulaba esta molécula y cómo interactuaba con otras del sistema inmunológico. Lamentablemente, la molécula no actuaba sola y requería de un segundo componente que hiciera funcional al receptor. Gracias a Jesús se habían producido varios anticuerpos monoclonales específicos para la cadena alfa del receptor. Esos anticuerpos también lograron comercializarse para ponerlos a disposición de la comunidad científica mundial. De esa forma, el Dr. Schreiber recibía regalías de sus ventas y, claro, solicitudes de donación de todo el mundo. Por otro lado, Jesús también participó en la elaboración de los protocolos de purificación de varias interleucinas y factores de crecimiento, que eran probados en el laboratorio de Bob y que a su vez le servían de apoyo económico para hacer su investigación. Es decir, cada que Jesús visitaba el laboratorio de Bob, se creaba un ambiente académico y de compañerismo tan grande, que cada uno de los estudiantes y posdoctorantes que trabajábamos en el laboratorio en ese momento queríamos contactarlo y platicarle nuestros experimentos y avances.

La chispa de Jesús

Siempre llegaba con una gran tarea hecha. Sin duda pasaba horas enteras en la biblioteca del Cinvestav, revisando los últimos artículos de todo lo relacionado con señalización, receptor de interferón, moléculas de adhesión, etc., pues a cada uno de nosotros nos preguntaba si ya habíamos leído tal o cual artículo y, sobretodo, que opinábamos de las hipótesis que circulaban en el campo de nuestro tema. Una vez pasada la prueba a la que nos sometía y demostrábamos que nuestro estado de actualización no era tan malo, surgían las ideas y los comentarios, siempre llenos de la chispa de Jesús, con sus anécdotas y sus ocurrencias. Todos sabíamos dónde estaba, porque su buen humor delataba su presencia.

Cuando Jesús regresaba a México, lo hacía con un gran entusiasmo, y sobretodo, con ideas renovadas y también con muchos reactivos. Bob recibía cada año cerca de un litro de TNF, un litro de Interferón alfa, un litro de Interferón gamma, un litro de IL-10, un litro de Taq polimerasa (para que tengan una idea de la cantidad de este material, se usaban dos microlitros de solución para inducir la respuesta biológica de las células) y, claro, él mismo producía los anticuerpos monoclonales para una gran variedad de estas citocinas. De tal forma que el Dr. Schreiber, no sólo con Jesús, sino con toda la comunidad científica que se lo pedía, compartía todo este material. Así, Jesús surtía a su laboratorio de ideas y de reactivos para que siguiera produciendo el talento que lo caracterizó. Sin lugar a duda, puedo decir que ha sido un gran privilegio conocer a estos dos personajes, tan inteligentes y bondadosos, y un gran honor convivir con Jesús Calderón, un gran ser humano.

REFERENCIAS

1. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* **71**, 4273 (1974).
2. *Fed. Proc.* **34**, 1737 (1975).
3. *Nature* **253**, 359 (1975).
4. *Am. J. Pathol.* **85**, 465 (1976).
5. P.O. Leinikki, J. Calderón, M.H. Luquette, R.D. Schreiber, *J. Immunol.* **139**, 3360 (1987).
6. K.C. Sheehan, J. Calderón, R.D. Schreiber, *J. Immunol.* **140**, 4231 (1981).
7. J. Calderón, K.C. Sheehan, C. Chance, M.L. Thomas, R.D. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 4837 (1988).

Los macrófagos y el procesamiento de antígenos: inicio de la carrera científica de Jesús Calderón

Fernando Navarro García y Leopoldo Santos Argumedo

La estancia posdoctoral de Jesús Calderón Tinoco en la Universidad de Harvard fue determinante en su trabajo de investigación asociado al papel que juegan los macrófagos en la etapa efectiva de la inmunidad.

Macrófagos y respuesta inmune

Para entender las contribuciones de Jesús Calderón en el estudio de los macrófagos, convendría entender de manera simple que son y cuáles son las funciones de los macrófagos con la información disponible en este momento. Si revisamos en *PubMed* (motor de búsqueda de libre acceso a la base de datos *Medline* de citas bibliográficas y resúmenes de artículos de investigación biomédica) encontraremos que la palabra clave Macrófago nos muestra 190,503 referencias, de las cuales, casi el 10% son revisiones bibliográficas (18,949). Para ser más concreto y selectivo con toda esa información, si buscamos en un libro de texto de inmunología, en el índice alfabético, vamos a encontrar que la palabra macrófago tiene más de 70 subtítulos relacionados. Estos subtemas incluyen funciones importantes del sistema inmune como son: activación de macrófagos, presentación de antígeno, captación y procesamiento de antígeno, síntesis de quimiocinas y citocinas, interacción con células T, señales co-estimuladoras, moléculas del complejo principal de histocompatibilidad, receptores para inmunoglobulinas, así como diversos receptores presentes en la membrana de los macrófagos. Lo anterior, sin mencionar las que serían las funciones efectoras de los macrófagos que incluyen: eliminación de células T apoptóticas, rechazo crónico de trasplantes, amplificación de la respuesta inmune, inflamación, destrucción de patógenos intracelulares, destrucción de tejido localizado, síntesis de radicales de oxígeno, ingestión-muerte de patógenos y respuesta a infecciones.

El Dr. Fernando Navarro García es investigador titular y jefe del Departamento de Biología Celular del Cinvestav, fnavarro@cell.cinvestav.mx

El Dr. Leopoldo Santos Argumedo es investigador del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav, lesantos@cinvestav.mx



Fig. 1. Macrófagos. Panel izquierdo: representación esquemática de las funciones de los macrófagos. (a) núcleo, (b) bacteria, (c) receptor de patógenos, (d) internalización de la bacteria, (e) citocinas secretadas, (f) lisosoma fusionándose con vacuolas, (g) digestión de la bacteria, (h) cargado de los antígenos en el MHCII y presentación. Panel derecho: fotografía de un macrófago atacando a las bacterias *Escherichia coli* (SEM x 8,800; seudocoloreado).

La relación de los macrófagos con el sistema inmune, así como la bibliografía al respecto es vasta, delinea claramente la relevancia del tema en el cual estaba inmerso Jesús Calderón, además era más complejo a inicios de los años 70 cuando muchas de estas funciones y su relación con la inmunidad no eran conocidas. Los macrófagos son células que siempre han llamado poderosamente la atención de los inmunólogos. En el siglo XIX, el científico ruso Elie Metchnikoff (1845-1916) creía que la respuesta innata de los macrófagos comprendía toda la defensa del huésped y, de hecho, ahora es claro que los invertebrados, como la estrella de mar que él estudiaba, dependen enteramente de la inmunidad innata para su defensa contra infecciones. Elie Metchnikoff recibió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus trabajos sobre la inmunidad en 1908. Descubrió que ciertas células aisladas digerían partículas que él había introducido en el tubo digestivo de las larvas de peces en las que estudiaba. A estas células las llamó fagocitos y más tarde los identificó como glóbulos blancos que formaban la primera línea de defensa contra las infecciones en los seres vivos. El término macrófago fue asignado por Aschoff en 1924 a un conjunto de células componentes del sistema retículo-endotelial, término que ya no se usa porque incluía a otras estirpes celulares no relacionadas. Después de 1969 se definió con el concepto de sistema fagocítico mononuclear, formado por una variedad de macrófagos, derivados de monocitos procedentes de la médula ósea.¹

El conjunto de células formado por los precursores de la médula ósea, los monocitos circulantes en la sangre y los ma-

crofagos tisulares, se denomina sistema fagocítico mononuclear. Los macrófagos reciben diferentes nombres según el lugar donde se encuentren, debido a que históricamente no se reconocían como el mismo tipo celular. Los macrófagos se denominan: microglía, a los macrófagos del cerebro; células de Kupffer, los del hígado; células espumosas, los predominantes de la arteriosclerosis que fagocitan el colesterol; osteoclastos, los del tejido óseo; histiocito, los del tejido conjuntivo; células mesangiales, los del riñón; células endoteliales, los de los granulomas; células sinusoidales, los del bazo.¹

Los macrófagos (palabra que procede del griego y significa gran comedor) son células blancas de la sangre, de aproximadamente 21 micrómetros de diámetro, que se encuentran en los tejidos producidos por la división de monocitos. Los monocitos y los macrófagos son fagocitos, actúan tanto en la defensa no específica (o inmunidad innata), como en iniciar los mecanismos de defensa específicos (o inmunidad mediada por células) de animales vertebrados. Su papel es fagocitar (ingerir y luego digerir) remanentes celulares y patógenos, funcionando como células estacionarias o móviles, y estimular a los linfocitos y otras células inmunes para que respondan a los patógenos.¹

Los macrófagos son células versátiles que tienen muchas funciones. Como células carroñeras, liberan al cuerpo de células inservibles y otros remanentes celulares. Los macrófagos son las principales entre las células que "presentan" antígenos, una función crucial en la iniciación de la respuesta inmune. Como células secretoras, los monocitos y macrófagos son vitales para la regulación de la respuesta inmune y el desarrollo de inflamación; ambas células producen un sorprendente arreglo de sustancias químicas poderosas (citocinas: una categoría de moléculas de señalización que, como las hormonas o neurotransmisores, son usadas exclusivamente en la comunicación celular) que incluyen enzimas, proteínas del complemento y factores regulatorios tales como la interleucina-1 (IL-1, una de las primeras citocinas descritas). Al mismo tiempo, los macrófagos acarrean receptores para linfocinas (citocinas producidas por linfocitos), que les permiten ser "activados" dentro de buscadores de microbios y células tumorales altamente poderosas.

Después de digerir a un patógeno, el macrófago presenta los antígenos (frecuentemente, fragmentos de proteína que son usados por el sistema inmunológico para su identifica-

ción) a las células T cooperadora correspondientes (ayudadora; células blancas de la sangre conocidas también como linfocitos, la T proviene de timo). La presentación se realiza por la integración de los fragmentos del antígeno a moléculas clase II del complejo principal de histocompatibilidad (abreviado en Inglés como MHCII), indicando a otras células blancas de la sangre que es momento de iniciar los mecanismos de la inmunidad específica.

Eventualmente, la presentación de antígenos resulta en la producción de citocinas que ayudan en la generación de anticuerpos (proteínas presentes en la sangre y fluidos corporales que identifican y neutralizan objetos foráneos) que se adhieren a los antígenos de los patógenos. Estos anticuerpos hacen que los macrófagos coman más fácilmente a los microorganismos patógenos, ya que cuentan en su membrana con receptores que atrapan los complejos antígeno-anticuerpo, este fenómeno se conoce como opsonización.

La presentación de antígenos sobre la superficie de macrófagos infectados (insertados en las moléculas del MHCII) en un nódulo linfático estimula a células TH1 (células T cooperadora tipo 1) para proliferar (principalmente debido a la secreción de IL-1 por los macrófagos). Cuando una célula B (linfocito B, la B proviene de *Bone marrow* o médula ósea en español, un órgano en los mamíferos en el cual estas células maduran) reconoce antígeno no procesado del patógeno en el nódulo linfático, gracias a la presencia de anticuerpos específicos en su superficie, el antígeno es endocitado y procesado. El antígeno procesado es luego presentado en el MHCII sobre la superficie de las células B. Las células TH1 que han proliferado reconocen con sus receptores específicos al complejo antígeno-MHCII, además de incluir en este diálogo molecular a las moléculas co-estimuladoras como CD40L, entre otras. El contacto de la célula B y T a través del antígeno y de las moléculas co-estimuladoras promueve que las células B produzcan anticuerpos que ayudan a la opsonización del antígeno, haciendo que los microorganismos puedan ser removidos por fagocitosis de forma más eficiente.

Los macrófagos proveen además otra línea de defensa contra células tumorales y células somáticas infectadas con hongos y parásitos. Una vez que una célula T ha reconocido su antígeno particular sobre la superficie del macrófago, se convierte en una célula efectora activada. El linfocito T activado produce sustancias químicas conocidas como linfocinas que estimulan a los macrófagos para una destrucción más agresiva

de patógenos y células tumorales. Estos macrófagos activados entonces digieren a los patógenos intracelulares o liberan enzimas para la destrucción de parásitos y células tumorales mucho más eficientemente. Los macrófagos no generan una respuesta específica para un antígeno, pero atacan las células presentes en el área local donde fueron activados.

Para apreciar lo explicado anteriormente y cuáles fueron las aportaciones de Jesús Calderón, necesitamos saber cómo era su grupo de investigación y que conocimientos existían en ese momento. Luego podremos sopesar los hallazgos publicados por Jesús Calderón y sus colaboradores, y por supuesto, la trascendencia de estos datos.

Benacerraf, Unanue y Calderón

A pesar de los esfuerzos de Elie Metchnikoff por explicar la inmunidad por mecanismos celulares, el estudio de la inmunidad estuvo dominado durante la primera mitad del siglo XX por el estudio de los anticuerpos (inmunidad humoral). No fue sino hasta la segunda mitad del siglo XX cuando un conjunto de hallazgos y desarrollos metodológicos, acompañados de un marco teórico adecuado, permitieron un cambio en el paradigma que explicaba el origen y los mecanismos de la inmunidad. El primer cambio fundamental fue la llegada a escena de los linfocitos. Por increíble que pueda parecer, aun



Fig. 2. Buscadores de las funciones de los macrófagos. Recuadro superior: Baruj Benacerraf (premio Nobel 1980). Recuadro inferior: Emil R. Unanue. Foto central: Jesús Calderón Tinoco

a principios de la **década de los cincuenta** la función de estas células no se entendía con precisión. Sin embargo, el impulso dado por fenómenos como el rechazo de injertos y los mecanismos de hipersensibilidad tardía, en las **décadas de los cuarenta y cincuenta del siglo xx**, así como el desarrollo de métodos para el cultivo de las células responsables de la inmunidad, permitió el análisis de la función de estas células en forma sistemática y controlada.

El paradigma que dominó en segunda mitad del siglo xx fue impulsado por dos grandes teóricos de la inmunología, Niels K. Jerne (1911-1994) y Frank Macfarlane Burnet (1899-1985). Jerne propuso inicialmente, y en concordancia con las propuestas visionarias de Paul Ehrlich (1854-1915) a principios del siglo xx, que la especificidad inmunológica residía en los linfocitos y que estos deberían poseer (de forma individual) receptores para cada uno de los antígenos que existen en la naturaleza, esto es, que por cada antígeno debe haber un linfocito con capacidad de reconocerlo. Burnet tomó estas ideas y las expandió en lo que conocemos ahora como la teoría de la selección clonal, que permitió explicar de una manera más precisa fenómenos como la especificidad y la tolerancia inmunológica. Así puestas las cosas, los linfocitos eran los orquestadores de la inmunidad, mientras que los fagocitos eran sus ejecutores, sin una participación activa en la fase de inducción de la respuesta.'

Con el desarrollo de métodos *in vitro* para el estudio de la inducción de la inmunidad se pudo demostrar que los macrófagos no sólo participan en la fase efectora de la respuesta, sino que su participación en la inducción era esencial, sin su participación simplemente no había inmunidad. Dentro de este reposicionamiento del macrófago como célula fundamental de la inmunidad se enmarcan los trabajos de Baruj Benacerraf (1920), médico venezolano quien describió a los genes *Ir* (que más tarde se demostró forman parte del MHC). Los productos de dichos genes (las proteínas del MHC) son los responsables de presentar antígenos a los linfocitos T y de desencadenar la inmunidad.

Un colaborador destacado de Benacerraf, en sus años de estancia en la Escuela de Medicina de Harvard, fue Emilio R. Unanue (Cuba, 1934) quien contribuyó, y a la fecha sigue trabajando, en la caracterización de los macrófagos durante los eventos de la inducción de la inmunidad. El grupo de Unanue, al cual se incorporó Jesús Calderón como investigador pos-

doctoral a principios de la **década de los setenta**, trabajaba en los mecanismos mediante los cuales el macrófago ayuda a la activación y proliferación de los linfocitos. Puesto que el elemento disparador de la respuesta inmunológica es el antígeno, y dado que a fines de los sesenta se había demostrado la participación del macrófago en la inducción de la inmunidad, los primeros trabajos de Jesús Calderón en el laboratorio de Unanue se orientaron a analizar el destino del antígeno.'

Dos procesos de los macrófagos que interesaron a Calderón

Se había descrito que el antígeno debe ser "procesado" por el macrófago, ya que los linfocitos eran incapaces de reconocerlo en su forma nativa; Calderón analizó la liberación de un antígeno modelo (la hemocianina de la lapa californiana, KLH por sus siglas en inglés) de macrófagos purificados y cultivados de la cavidad peritoneal del ratón. En este trabajo se demostró que una pequeña fracción de la proteína es "ingerida" por los macrófagos y luego lentamente liberada en fragmentos más pequeños, aunque algunos de estos todavía reaccionan con anticuerpos (lo que sugiere que algunos de estos fragmentos todavía conservan determinantes antigénicos que dependen de la conformación tridimensional de la proteína).'

La degradación de la proteína requería que los macrófagos estuvieran vivos y metabólicamente activos, descartando una degradación no "específica", producto de las enzimas proteolíticas liberadas por las células muertas. La importancia de esta degradación parcial y liberación de fragmentos más pequeños, pero inmunológicamente relevantes, permitiría (en teoría) un mejor reconocimiento por parte de los linfocitos. Aunque algunos de estos resultados pueden parecernos arcaicos a la luz de la inmunología de principios del siglo XXI, en su contexto histórico trataban de explicar precisamente la naturaleza del procesamiento y presentación de los antígenos por parte de los macrófagos y su papel en la inducción de la respuesta inmunológica.

Los linfocitos y los macrófagos se comunican entre sí a través de la interacción directa de sus proteínas en la membrana (p. ej., las moléculas del MHC cargadas con antígeno del macrófago con los receptores para el antígeno de los linfocitos T), también pueden comunicarse gracias a mediadores

químicos que son liberados al ambiente extracelular. Dichas sustancias pueden aislarse y caracterizarse y son lo que en la actualidad conocemos con el nombre de "citocinas". En este último campo es donde se enmarcan la mayoría de las aportaciones de Jesus Calderon en su estancia en el laboratorio de Unanue. Como se desprende del segundo artículo publicado en este periodo de su vida académica, Calderon encontró que los macrófagos liberan al medio extracelular una sustancia que es capaz de inhibir la proliferación de un tipo de células leucémicas del ratón (denominadas EL-4). Este efecto puede apreciarse también en otras líneas celulares, pero su efecto más marcado es sobre las células EL-4. Este trabajo, publicado en 1974 en la prestigiosa revista de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos (PNAS), fue "apadrinado" por Baruj Benacerraf.

En ese mismo año (1974) se publicó otra comunicación, que corroboraba los hallazgos de un posible factor inhibidor, pero además describía la presencia de factor(es) estimulador(es) de la proliferación de timocitos (linfocito T del timo). El trabajo publicado en la prestigiosa revista *Nature*, describe así que los macrófagos no sólo son capaces de producir y liberar sustancias que inhiben la proliferación de otras células, sino que además pueden liberar factores que por el contrario, estimulan dicha proliferación. Ambos factores pudieron separarse debido a que el factor inhibidor resultó ser de un peso molecular suficientemente pequeño como para aislarlo por diálisis. Mientras que el factor inhibidor podía fácilmente salir de la bolsa de diálisis, el factor estimulador quedaba atrapado, pero libre del efecto inhibidor.⁹ La importancia de estos hallazgos reside en que se demuestra que los macrófagos no son únicamente espectadores pasivos de la inmunidad, sino que son incluso capaces de modular dicha inmunidad mediante factores con actividades biológicas antagónicas.

En una serie de trabajos posteriores se describió la caracterización bioquímica de los factores liberados por los macrófagos.⁵ En forma muy resumida se demostró que los macrófagos liberan timidina y que esta pequeña molécula era la responsable de la inhibición de la proliferación de las células EL-4. En cambio, la caracterización del factor estimulante de la proliferación de timocitos no consiguió revelarse del todo. En primer lugar, se encontró que la concentración de dicha(s) molécula(s) es muy pequeña para permitir su caracterización molecular por los métodos bioquímicos disponi-

bles en aquel tiempo.⁶ Sin embargo, esta serie de trabajos permitió concluir que se trataba de una o varias proteínas con peso molecular en el intervalo de 15-20 kDa. Dicho factor inmunestimulante mostró otra característica de lo que modernamente conocemos como citocinas, esto es, que la misma molécula puede ejercer una multiplicidad de funciones (pleiotropía) ya que no sólo inducen la proliferación de linfocitos por sí solas, sino que favorecen la diferenciación celular tanto de linfocitos B como T. Es muy probable que el factor inmunestimulante estudiado por Jesus Calderon durante estos años fuera la Interleucina 1 (IL-1),⁷ una molécula que por fin pudo ser clonada y caracterizada molecularmente hasta principios de la década de los ochenta y como se desprende de su nombre, fue la primera interleucina, representando una nueva familia de moléculas de comunicación intercelular y una serie de mediadores solubles que regulan la iniciación y la actividad de la respuesta inmunológica.

Los trabajos publicados de Jesus Calderon durante su estancia en el laboratorio de Emilio Unanue contribuyeron de manera importante, no sólo a consolidar el conocimiento que tenemos sobre la participación activa de los macrófagos en la etapa efectora de la inmunidad, sino que confirmaron la posición fundamental que tienen estas células durante la inducción de la respuesta inmunológica⁸ y el papel regulador que tienen para modular la magnitud de la misma.

REFERENCIAS

1. A.M. Silverstein, *A History of Immunology* (Academic Press, 1989); V.L. Sato y M.L. Gefter, *Cellular Immunology. Selected Readings and Critical Commentary* (Massachusetts, Addison-Wesley Publishing Company, 1981).
2. J. Calderón, E.R. Unanue, *J. Immunol.* 112(5): 1804-14 (1974).
3. J. Calderón, R.T. William, E.R. Unanue, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA.* 71, 4273 (1974).
4. J. Calderón, E.R. Unanue, *Nature* 253, 359 (1975).
5. E.R. Unanue, J. Calderon, *Fed. Proc.* 34, 1737 (1975).
6. J. Calderon, J.M. Kiely, J.L. Lefko, E.R. Unanue, *J. Exp. Med.* 142, 151 (1975).
7. E.R. Unanue, J.M. Kiely, J. Calderón, *J. Exp. Med.* 144, 155 (1976).
8. E.R. Unanue, D.I. Beller, J. Calderon, J.M. Kiely, M.J. Stadecker. *Am. J. Pathol.* 85, 465 (1976).
9. M.J. Stadecker, J. Calderón, M.L. Karnovsky, E.R. Unanue, *J. Immunol.* 119, 1738 (1977).



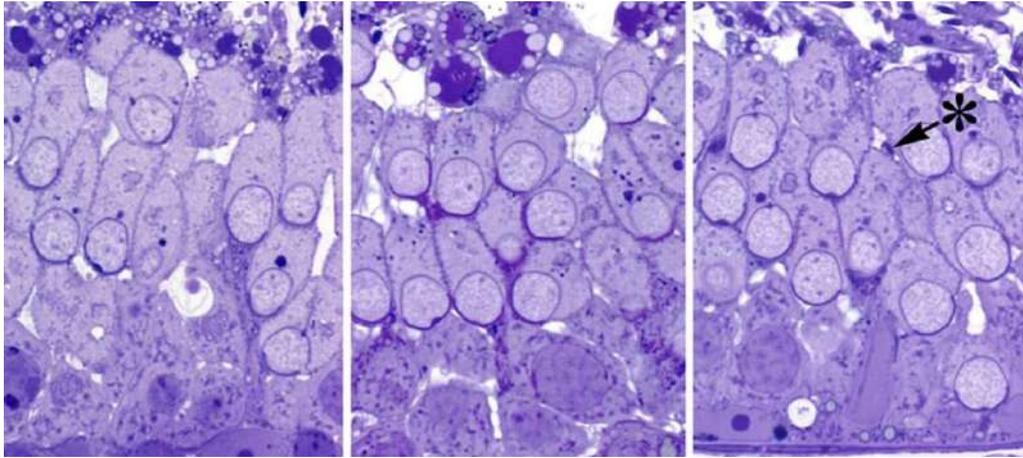
Cortactina controla la integridad de las barreras tisulares

Michael Schnoor

E

l cuerpo humano está compuesto de billones de células diferentes que conforman a los tejidos, los cuales están soportados por un esqueleto de huesos. En dimensiones pequeñas, cada célula está soportada por un esqueleto, pero no de huesos, sino de una proteína denominada actina. El citoesqueleto de actina (CA) es una estructura dinámica que responde a estímulos del ambiente, para mantener la forma y funcionalidad de cada célula. En células epiteliales y endoteliales, que delimitan a los órganos y vasos sanguíneos, respectivamente, el CA también regula la estabilidad de los contactos intercelulares que permiten desarrollar una monocapa, formando así las barreras tisulares. El CA, a su vez, está regulado por proteínas de unión a actina incluyendo la cortactina.

Mi laboratorio está investigando cómo la cortactina afecta la remodelación del CA durante enfermedades inflamatorias como la colitis y sepsis y la leucemia aguda. La cortactina es una proteína con múltiples dominios que le permiten actuar como andamio e interactuar con muchas otras proteínas, regulando así sus funciones [1]. Anteriormente se pensaba que su principal función era el reclutamiento y activación del complejo Arp2/3, el cual induce la formación de nuevas ramificaciones del CA durante la adhesión y migración celular.



Hoy sabemos que esto no es completamente cierto, ya que la cortactina también regula muchos otros procesos celulares, que junto con mis colaboradores alemanes, recientemente resumimos en un artículo de revisión [1]. Mi grupo de investigación contribuyó a descubrir estas nuevas funciones de la cortactina, analizando ratones genéticamente deficientes en esta proteína. Por ejemplo, encontramos que la deficiencia de cortactina activa una vía de señalización que induce la contractilidad del CA y eventualmente eso desestabiliza las barreras tisulares [2, 3]. De esta manera, la deficiencia de cortactina aumenta la permeabilidad vascular y agrava inflamaciones tisulares [2]. Además, observamos que ratones deficientes en cortactina sufren mucho más cuando presentan colitis, y que pacientes con colitis ulcerativa crónica inespecífica (CUCI) tienen menos cortactina en el epitelio del colon [3]. Por otra parte, datos recientes de mi laboratorio revelaron que en muestras de niños con leucemia linfoblástica aguda, las células leucémicas tienen más cortactina y esta sobreexpresión se asocia con la presencia de infiltración en órganos y la recaída.

En general, nuestros datos demuestran que la cortactina tiene un fuerte impacto en varias enfermedades de importancia nacional, y en el futuro puede servir como un blanco terapéutico o biomarcador para dichas enfermedades.

[1] **Schnoor, M.**, Stradal, T.E., Rottner, K. Cortactin: cell functions of a multi-faceted actin-binding protein. **Trends in Cell Biology**, 2018, 28, 2, 79–98. pii: S0962-8924(17)30200-3. doi: 10.1016/j.tcb.2017.10.009.

[2] García-Ponce, A., Citalán-Madrid, A.F., Vargas-Robles, H., Chánez-Paredes, S., Nava, P., Betanzos, A., Zarbock, A., Rottner, K., Vestweber, D. **Schnoor, M.** Loss of cortactin causes endothelial barrier dysfunction via disturbed adrenomedullin secretion and actomyosin contractility. **Scientific Reports**, 2016, 6, srep29003, doi:10.1018/srep29003.

[3] Citalán-Madrid, A.F., Vargas-Robles, H., García-Ponce, A., Shibayama, M., Betanzos, A., Nava, P., Salinas Lara, C., Rottner, K., Mennigen, R., **Schnoor, M.** Cortactin deficiency causes increased RhoA/ROCK1-dependent actomyosin contractility, intestinal epithelial barrier dysfunction and disproportionately severe DSS-induced colitis. **Mucosal Immunology**, 2017, 10, 5, 1237-1247. doi: 10.1038/mi.2016.136.

Volumen 3 - Número 4



Michael Schnoor

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav, Unidad Zacatenco

El virus dengue y los mecanismos de inmunidad en la piel

Leticia Cedillo-Barrón Julio García-Cordero Paola Valenzuela- León y Benito Gutiérrez-Castañeda

El dengue es una enfermedad infecciosa y febril producida por cualquiera de los cuatro serotipos del virus dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4). Este virus es transmitido por el mosquito hembra, de los géneros *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. El virus DEN es uno de los arbovirus con mayor incidencia e importancia médica en México. La infección por un serotipo dado confiere inmunidad permanente contra la re-infección por el serotipo homólogo. En contraste, la re-infección por un serotipo heterólogo sólo induce inmunidad de corta duración y puede condicionar a las formas graves de la enfermedad (Slon Campos, Mongkolsapaya, and Screatton 2018). Cuando un mosquito infectado con el virus dengue introduce su probóscide en la piel del hospedero para alimentarse de un vaso sanguíneo, el virus ingresa del mismo modo a través de la piel, por lo que estará en contacto con diferentes tipos celulares presentes en los estratos de ésta (Briant et al. 2014). Es importante destacar que la piel es un órgano complejo y dinámico provisto de diferentes tipos celulares, encaminados a mantener la homeostasis del tejido (Di Meglio, Perera, and Nestle 2011). Esta función es esencial, ya que la piel puede usarse como portal de entrada por diversos patógenos, que ingresan al huésped por un daño mecánico o bien por la picadura de un vector. Cada estirpe celular de la piel posee una función concertada y eficiente; algunas de ellas, secretan diferentes mediadores como: citosinas, quimosinas, péptidos antimicrobianos, ácidos grasos, entre otros; todos ellos encaminados a impedir y/o controlar el ingreso de los patógenos al organismo (Nestle et al. 2009).

La piel es un órgano inmunocompetente capaz de establecer una respuesta rápida y eficaz ante patógenos o daño físico, pero también para mantener la homeostasis del organismo. En la piel, el sistema inmune innato es el mecanismo de defensa más primitivo del huésped contra agentes patógenos, no es específico y se inicia por el reconocimiento de un grupo de receptores de patrones moleculares asociados a patógenos (PRRs) los cuales están codificados en línea germinal. El sistema inmune innato, involucra diferentes moléculas y estirpes celulares (Kao, Lai, and Yu 2018).

Es importante destacar que cuando el mosquito vector introduce el estilete a la piel, el tejido cutáneo sufre un daño físico, y por lo tanto se inicia un proceso inflamatorio local, promoviéndose la expresión de citosinas, quimosinas y otros mediadores solubles y la llegada de células en el sitio del daño, contribuyendo de esta manera a la respuesta contra el patógeno. Los mediadores solubles liberados por las células

infectadas activan a los polimorfonucleares, neutrófilos, linfocitos T, células naturalmente asesinas NK y otras estirpes celulares que se infiltran al sitio dañado, en donde existen otras células residentes como las células de Langerhans queratinocitos y fibroblastos entre otras. Las células residentes y posteriormente las infiltrantes juegan un papel en la señalización temprana que activa y orquesta la respuesta inmune para el establecimiento de un estado antiviral temprano (Navarro-Sanchez, Despres, and Cedillo-Barron 2005). Dado que el virus DEN ingresa al huésped por la piel, las células blanco son las células dendríticas; adicional a esto se ha demostrado la participación de las células de Lagerhans durante la infección con el virus Dengue en monos, y en modelos “in vitro”, concluyendo más tarde que la molécula DC- SIGN actúa como receptor para el virus dengue. Wu SJ y col (2000) demostraron en un modelo “ex vivo” con explantes de piel cadavéricos, que las células dendríticas migratorias (CD1a) resultaron infectadas (Wu et al. 2000). Con estos resultados se propuso que las LCs dermales y las DC derivados de sangre periférica son el sitio de replicación inicial para el virus dengue, una vez que es introducido por la picadura del mosquito. Más tarde Limón Flores y col 2005, usando explantes de piel humana no cadavérica señalaron la presencia de antígenos virales en la capa supra-basal de la epidermis, donde se encuentran los queratinocitos, sugiriendo que estas células también se infectan y establecen un estado antiviral, siendo estas células en donde se lleva a cabo una primera ronda de replicación viral (Limon-Flores et al. 2005). Este dato fue más tarde confirmado por Surasombatpattana P, (2011) y Lopez González (2018), quienes reportaron que los queratinocitos infectados con el virus dengue, son permisivos a la infección y establecen un estado antiviral, a través de un aumento en la expresión de mRNA de moléculas como TLR3, RIG-I, MDA5 and PKR, resultando en la producción de IFN- β , IFN- γ , β -defensinas y Rnase 7 (Surasombatpattana et al. 2011; Lopez-Gonzalez et al. 2018). En el tejido de primer contacto, hay además células no hematopoyéticas presentes en la piel, las cuales son potencialmente susceptibles a la infección y podrían participar en la respuesta inmune durante las infecciones virales. Kurane y más tarde Busto-Arriaga y col en 2011 infectaron explantes de piel no cadavéricos (provenientes de diferentes donantes) con el virus dengue, para después disgregar el tejido y mostrar que existe una infección productiva con el virus dengue de los fibroblastos dérmicos. Al establecer cultivos primarios de fibroblastos, además de demostrar que son permisivos a la infección por el virus dengue y establecen un estado antiviral a través de la producción de varios mediadores que podrían contribuir a la respuesta inmune innata, unas horas después de que el virus ingresa al huésped (Kurane, Janus, and Ennis 1992; Bustos-Arriaga et al. 2011). (Figura 1).

Recién se demostró que los mastocitos o células cebadas también son blancos de la infección productiva con el virus dengue y que con este estímulo son capaces de desgranularse y modificar su perfil de citosinas. Adicionalmente, se logró aislar al virus dengue de los gránulos liberados por estas células. Este fenómeno podría tener una enorme repercusión en el sentido de la diseminación del virus en el huésped infectado (Troupin et al. 2016).

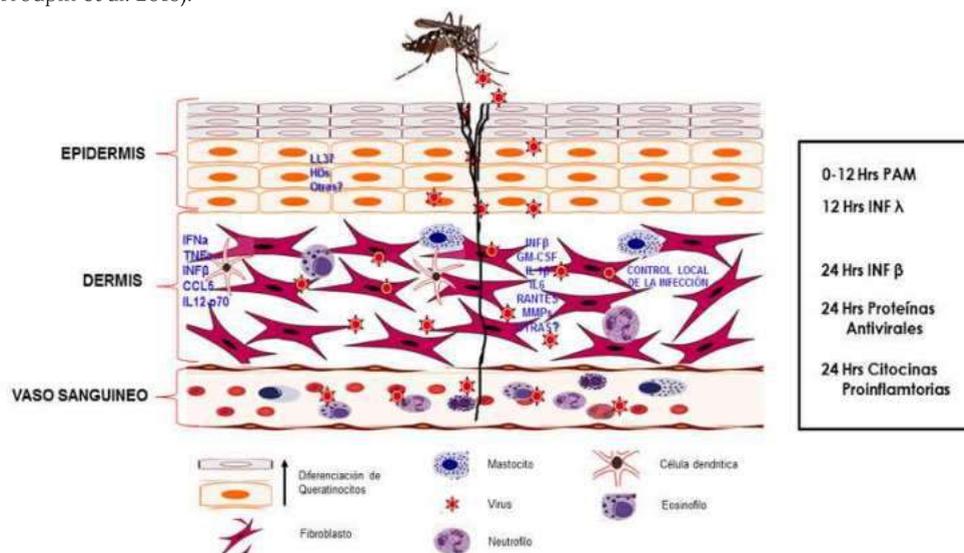


Figura 1. Eventos que ocurren a la llegada del virus transmitido por el mosquito vector. El mosquito introduce su probóscide en busca de un vaso sanguíneo, infectando de manera inicial a las células residentes de la epidermis, las cuales responden mediante la secreción de diferentes sustancias como los péptidos antimicrobianos los cuales son la primera línea de defensa en contra del virus, durante la alimentación del mosquito, la probóscide también alcanza la dermis donde los fibroblastos y otras células residentes son infectadas. Por otra parte, el virus induce la producción de mediadores solubles en diferentes tipos celulares que promueven un estado antiviral en las células vecinas, estableciéndose una intercomunicación entre diferentes tipos celulares, así como un microambiente que tendrá diferentes repercusiones.

Efecto de la saliva del mosquito en la transmisión de arbovirus

C

uando el mosquito hembra hematófaga, busca un vaso sanguíneo para alimentarse, el virus es introducido a la piel del huésped, inmerso en la saliva del vector. La saliva del vector está compuesta por una gran variedad de moléculas biológicamente activas. Estudios realizados en los últimos años demuestran que la saliva del vector coadyuva el éxito de la infección, favoreciendo de manera adicional la transmisión del virus. Varios trabajos revelan que la saliva tiene la capacidad de modular la respuesta inmune del huésped. Así mismo, la saliva en el sitio de la picadura modifica procesos como la coagulación, la vasoconstricción y la respuesta inflamatoria (Ribeiro 1995). La inhibición de estos procesos asegura una alimentación exitosa del vector, necesaria para su supervivencia y propagación. Los virus aprovechan los efectos que ejercen algunas moléculas de la saliva, sobre la respuesta inmune del hospedero para su propio beneficio, infectando diversas estirpes celulares que se encuentran en la piel. Se han demostrado diferencias importantes entre el proteoma de la saliva proveniente un mosquito sano y la saliva de uno infectado. (Chisenhall et al. 2014).

Los componentes moleculares presentes en la saliva del vector inhiben de manera inicial la respuesta inmune pero a su vez activan procesos que favorecen el reclutamiento celular al sitio de la infección dando a los arbovirus la oportunidad de diseminarse a diversas células permisivas en el hospedero (Fontaine et al. 2011; Cox et al. 2012).

Referencias

- Briant, L., P. Despres, V. Choumet, and D. Misse. 2014. 'Role of skin immune cells on the host susceptibility to mosquito-borne viruses', *Virology*, 464-465: 26-32.
- Bustos-Arriaga, J., J. Garcia-Machorro, M. Leon-Juarez, J. Garcia-Cordero, L. Santos-Argumedo, L. Flores-Romo, A. R. Mendez-Cruz, F. J. Juarez-Delgado, and L. Cedillo-Barron. 2011. 'Activation of the innate immune response against DENV in normal non-transformed human fibroblasts', *PLoS Negl Trop Dis*, 5: e1420.
- Cox, J., J. Mota, S. Sukupolvi-Petty, M. S. Diamond, and R. Rico-Hesse. 2012. 'Mosquito bite delivery of dengue virus enhances immunogenicity and pathogenesis in humanized mice', *J Virol*, 86: 7637-49.
- Chisenhall, D. M., R. C. Christofferson, M. K. McCracken, A. M. Johnson, B. Londono-Renteria, and C. N. Mores. 2014. 'Infection with dengue-2 virus alters proteins in naturally expectorated saliva of *Aedes aegypti* mosquitoes', *Parasit Vectors*, 7: 252.
- Di Meglio, P., G. K. Perera, and F. O. Nestle. 2011. 'The multitasking organ: recent insights into skin immune function', *Immunity*, 35: 857-69.
- Fontaine, A., I. Diouf, N. Bakkali, D. Misse, F. Pages, T. Fusai, C. Rogier, and L. Almeras. 2011. 'Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions', *Parasit Vectors*, 4: 187.
- Kao, Y. T., M. M. C. Lai, and C. Y. Yu. 2018. 'How Dengue Virus Circumvents Innate Immunity', *Front Immunol*, 9: 2860.
- Kurane, I., J. Janus, and F. A. Ennis. 1992. 'Dengue virus infection of human skin fibroblasts in vitro production of IFN-beta, IL-6 and GM-CSF', *Arch Virol*, 124: 21-30.
- Limon-Flores, A. Y., M. Perez-Tapia, I. Estrada-Garcia, G. Vaughan, A. Escobar-Gutierrez, J. Calderon-Amador, S. E. Herrera-Rodriguez, A. Brizuela-Garcia, M. Heras-Chavarria, A. Flores-Langarica, L. Cedillo-Barron, and L. Flores-Romo. 2005. 'Dengue virus inoculation to human skin explants: an effective approach to assess in situ the early infection and the effects on cutaneous dendritic cells', *Int J Exp Pathol*, 86: 323-34.

- Lopez-Gonzalez, M., D. Meza-Sanchez, J. Garcia-Cordero, J. Bustos-Arriaga, C. Velez-Del Valle, M. Marsch-Moreno, T. Castro-Jimenez, L. Flores-Romo, L. Santos-Argumedo, B. Gutierrez-Castaneda, and L. Cedillo-Barron. 2018. 'Human keratinocyte cultures (HaCaT) can be infected by DENV, triggering innate immune responses that include IFNlambda and LL37', *Immunobiology*, 223: 608-17.
- Navarro-Sanchez, E., P. Despres, and L. Cedillo-Barron. 2005. 'Innate immune responses to dengue virus', *Arch Med Res*, 36: 425-35.
- Nestle, F. O., P. Di Meglio, J. Z. Qin, and B. J. Nickoloff. 2009. 'Skin immune sentinels in health and disease', *Nat Rev Immunol*, 9: 679-91.
- Ribeiro, J. M. 1995. 'Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists?', *Infect Agents Dis*, 4: 143-52.
- Slon Campos, J. L., J. Mongkolsapaya, and G. R. Screaton. 2018. 'The immune response against flaviviruses', *Nat Immunol*, 19: 1189-98.
- Surasombatpattana, P., R. Hamel, S. Patramool, N. Luplertlop, F. Thomas, P. Despres, L. Briant, H. Yssel, and D. Misse. 2011. 'Dengue virus replication in infected human keratinocytes leads to activation of antiviral innate immune responses', *Infect Genet Evol*, 11: 1664-73.
- Troupin, A., D. Shirley, B. Londono-Renteria, A. M. Watson, C. McHale, A. Hall, A. Hartstone-Rose, W. B. Klimstra, G. Gomez, and T. M. Colpitts. 2016. 'A Role for Human Skin Mast Cells in Dengue Virus Infection and Systemic Spread', *J Immunol*, 197: 4382-91.
- Wu, S. J., G. Grouard-Vogel, W. Sun, J. R. Mascola, E. Brachtel, R. Putvatana, M. K. Louder, L. Filgueira, M. A. Marovich, H. K. Wong, A. Blauvelt, G. S. Murphy, M. L. Robb, B. L. Innes, D. L. Birx, C. G. Hayes, and S. S. Frankel. 2000. 'Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection', *Nat Med*, 6: 816-20.

Leticia Cedillo-Barrón ^{1*}, Julio García-Cordero¹, Paola Valenzuela- León ¹ Benito Gutiérrez -Castañeda ².

1 Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México. **2** Departamento de Inmunología, UMF Facultad de Estudios Superiores-Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, México. *Correspondencia: lcedillo@cinvestav.mx

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 2



Benito Gutiérrez-Castañeda

Departamento de Inmunología, UMF Facultad de Estudios Superiores-Iztacala. UNAM



Julio García-Cordero

Realizó sus estudios de posgrado (maestría y Doctorado) en el programa de Biomedicina y Biotecnología molecular de la ENCB del IPN, actualmente es Auxiliar de Investigación en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.



Leticia Cedillo-Barrón

Realizó el Doctorado en el programa de Inmunología de la ENCB del IPN y tuvo una estancia Postdoctoral de 6 años en Inglaterra; actualmente es investigadora Titular C en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.

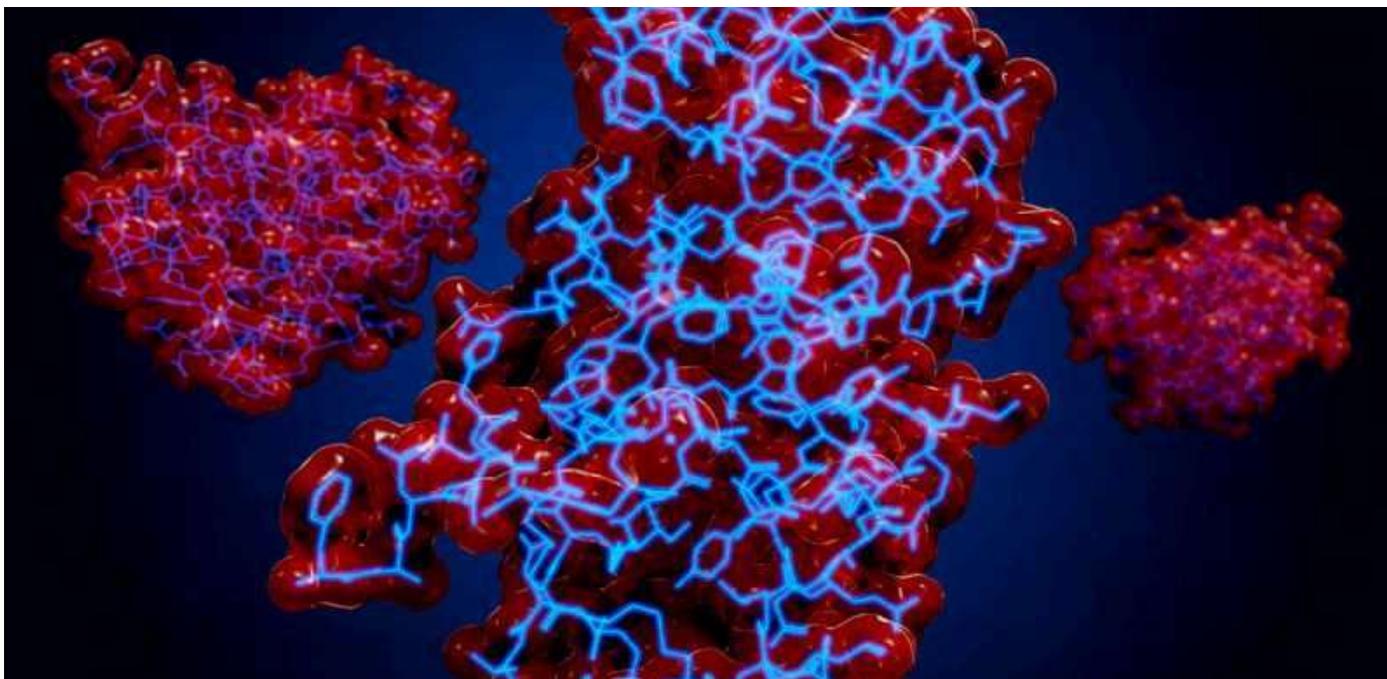


Paola Valenzuela- León

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV)

La importancia de llamarse insulina...en la diabetes tipo 2

Teresa Estrada-García, Diana Helena Ramírez-Velasco, César Iván Elizalde-Barrera, Catalina López-Saucedo y Alberto F Rubio-Guerra



La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, las cuales son el resultado de defectos en la secreción o la acción de la insulina (PROY-NOM-015-SSA2-2018). Dentro de estas patologías, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad que se caracteriza por la pérdida progresiva de la secreción de insulina por las células b pancreáticas y se acompaña de resistencia a la insulina (PROY-NOM-015-SSA2-2018). La función principal de la insulina es contrarrestar la acción concertada de varias hormonas que inducen hiperglicemia y mantener normales los niveles de glucosa en la sangre. Además de su papel en la regulación del metabolismo de la glucosa, la insulina estimula la lipogénesis, disminuye la lipólisis, y aumenta el transporte de aminoácidos en las células (Bergam et al., 2002).

La resistencia a la insulina (RI) es una condición en la cual, la insulina produce una respuesta menor a la esperada sobre sus tejidos blancos (hígado, músculo en reposo, tejido adiposo); por consiguiente, condiciona un incremento en las concentraciones de la insulina sérica (hiperinsulinemia) para compensar la falta de acción de esta hormona. La RI se ha asociado con un aumento significativo de la morbimortalidad cardiovascular y un factor de riesgo para DM2.

La insulina, al unirse a su receptor sobre la superficie de las células blanco, induce a que las vesículas que contienen los transportadores GLUT-4 se transloquen a la superficie de la célula y entonces se transporte la glucosa en la sangre hacia el interior de la célula (fig1). Por lo que la resistencia a la insulina se debe a alteraciones en varios puntos de la cascada de señalización del receptor de la insulina presente sobre la superficie de la célula por diversos mecanismos, lo que conlleva a que los transportadores GLUT-4 no sean translocados a la membrana celular; ello resulta en un aumento en las concentraciones séricas de glucosa fig. 1. El páncreas responde a estas altas concentraciones de glucosa sérica produciendo más insulina, lo que conlleva a una disminución de la funcionalidad de la célula b pancreática, la cual en algún momento deja de producirla.

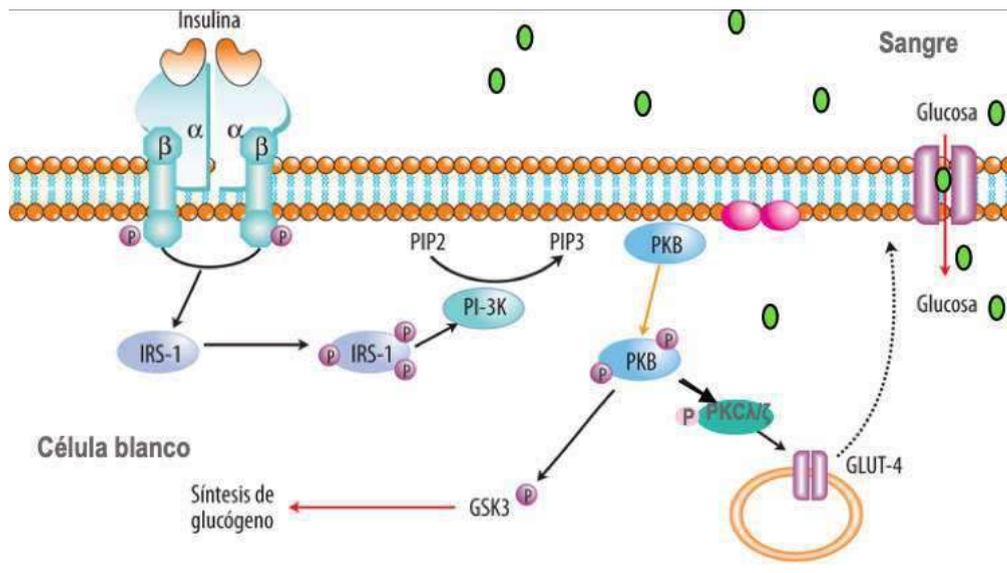


Fig1. Una versión simplificada de la señalización de la insulina para la translocación de los transportadores GLUT-4. Cuando la insulina se une a su receptor desencadena la autofosforilación del receptor que genera sitios de atraque para las proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS), el cual a su vez induce la activación de varias proteínas incluyendo la vía del fosfatidilinositol 3-cinasa (PI-3K) que activa a PKB también llamada Akt, la cual fosforila a la proteína cinasa C (PKCλ/ζ) lo que resulta en la translocación de las vesículas de GLUT-4 hacia la membrana plasmática y finalmente el transporte de la glucosa en la sangre hacia adentro de la célula.

A pesar de la gran importancia de la insulina en la regulación de la toma de la glucosa por las células para mantener las concentraciones adecuadas en la sangre, el diagnóstico de la diabetes continúa siendo glucocéntrico (Tabla1).

Tabla 1. Diagnóstico de diabetes mellitus Tipo 2 y Prediabetes (ADA, 2019)		
Parámetro	Diabetes	Prediabetes
Glucosa al azar	≥ 200 mg/dL	
Glucosa en ayuno, 2 tomas, con diferencia de una semana	≥ 126 mg/dL	100 mg/dL a 125 mg/dL
Hemoglobina glicada	≥ 6.5%	5.7 - 6.4%
Glucosa plasmática, 2 h posteriores a la ingesta de 75g de glucosa	≥ 200 mg/dL	140 mg/dL a 199 mg/dL

Tabla 1

Varios estudios han mostrado que el determinar en un sujeto la concentración de la insulina en la sangre, además de la glucosa, permite identificar la sensibilidad a la insulina y estimar la función de las células β a través de un índice denominado HOMA 2 (The Homeostasis Model Assessment 2). Con estas dos concentraciones es posible establecer el HOMA IR (de resistencia a la insulina) y HOMA B (función de la célula β), los cuales se determinan utilizando un programa de acceso libre de la Universidad de Oxford, Inglaterra, en el que se introducen los datos de glucosa e insulina <https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculat>

or/. Se considera a un sujeto con RI cuando tiene un HOMA IR ≥ 2.6 ; a un sujeto sano con un HOMA B del 100% y con Diabetes Mellitus con un HOMA B $\leq 60\%$ (Levy et al., 1998)

La diabetes tipo 2 es uno de los padecimientos más prevalentes en México. La más reciente estadística de ENSANUT (2016) mostró que la prevalencia era del 9.4% en la población adulta (10.3% en mujeres y 8.4% en los hombres). Además, se observó un incremento en la prevalencia de la DM2 de manera constante del 2000 al 2012, particularmente en dos grupos etarios, el de 20 a 29 años y el de 50-59 años, pasando del 0.4 al 1.6% y del 10.0 al 19.4%, respectivamente. Es una enfermedad que está asociada con varias complicaciones las cuales tienen un gran impacto en la salud. La DM2 es una de las principales causas de ceguera, insuficiencia renal crónica y amputaciones no traumáticas, y es una de las 10 causas más frecuentes de hospitalización en adultos (Rojas-Martínez et al 2018). También los pacientes con DM2, tienen un mayor riesgo de sufrir infarto del miocardio o cerebral y explica el 30% de la mortalidad (Rojas-Martínez et al., 2018). Por otra parte, se ha estimado que el tratamiento de la DM2 genera para los sistemas de salud un gasto de aproximadamente 85 mil millones de pesos al año. (https://www.animalpolitico.com/sin-competitividad-no-hay-paraiso/kilos-de-mas-pesos-de-menos-el-costo-de-la-obesidad-en-mexico/#_ftn2).

Por todo lo anterior es claro lo indispensable que es entender la fisiopatología de la DM2, para identificar a los sujetos en riesgo de desarrollar la enfermedad mucho antes de que la presenten y así cambiar la política de salud hacia la prevención e identificación de sujetos en riesgo de desarrollar este padecimiento. Hasta el momento se han identificados varios factores de riesgo, siendo el de presentar prediabetes (Tabla 1) el de mayor posibilidad de desarrollar la enfermedad, ya que se ha observado que del 5% al 10% de los sujetos con prediabetes desarrollan DM2 al año de diagnóstico así como el 70% de las personas con prediabetes desarrollaran DM2 en algún momento de su vida (Villanueva-Sosa et al., 2015). Como se muestra en la Tabla1, se define a los prediabéticos nuevamente sólo con base en un diagnóstico glucocéntrico (Tabla 1).

Con el fin de identificar las características de individuos con riesgo de desarrollar DM2 realizamos un estudio piloto donde se reclutaron sujetos de 18 a 75 años (sanos) que no fueran hipertensos, diabéticos ni tuvieran insuficiencia cardiaca, renal, hepática, enfermedades reumatológicas/inmunológicas o enfermedades infecciosas. Se reclutaron un total de 273 sujetos a los cuales se les determinó la glucosa, insulina y el perfil de lípidos en ayuno; se tomaron sus datos antropométricos, presión arterial, se realizó una historia clínica y se les determinó el HOMA 2. En la Tabla 2 se muestra los sujetos con y sin resistencia a la insulina (RI).

Tabla 2. Sujetos con glucosa normal y prediabetes, con y sin resistencia a la insulina		
Sujetos N = 273 (%)	Con Resistencia a la insulina n (%)	Sin resistencia a la insulina n (%)
Glucosa normal, 151 (55)	17 (11)	134 (89)
Prediabetes, 122 (45)	44 (36)	78 (64)
Total	61 (23)	212 (77)

Tabla 2

Es claro que es necesario realizar estudios de cohorte que nos permitan determinar cuál es la progresión de los sujetos con RI y establecer si debemos considerarlos sujetos con un mayor riesgo de desarrollar diabetes, ya que identificamos que el 11% de los sujetos sin glucosa alterada en ayuno presentan RI además de un mayor riesgo de eventos cardiovasculares. Con base en encuesta Intercensal 2015 se estimó que para el 2018 tendríamos una población ³ de 18 años de aproximadamente 86 millones 700 mil, por lo que potencialmente tendríamos que cerca de 9.5 millones (11%) de personas podrían tener RI y por ende, potencialmente estar en riesgo de desarrollar DM2 y eventos cardiovasculares. Estos resultados muestran la importancia de determinar la insulina y el HOMA2 como pruebas de rutina para identificar la población en riesgo de desarrollar estas enfermedades.

Referencias

- American Diabetes Association (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes. 2. Classifications and Diagnosis of Diabetes (2019). *Diabetes Care*, 42 (S1), S13-S28.
- Bergman, R. N., Finegood, D. T., & Kahn, S. E. (2002). The evolution of β -cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes. *European journal of clinical investigation*, 32, 35-45.
- Levy JC, Matthews DR, Hermans MP (1998). Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program (Letter). *Diabetes Care*, 21, 2191-2192.
- Rojas-Martínez, R., Basto-Abreu A., Aguilar-Salinas C.A., Zarate-Rojas E., Villalpando S., & Barrientos-Gutiérrez T. (2018). Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México. *Salud Pública de México*, 60(3), 224-232
- Villanueva-Sosa, L. G., Cordero-Franco, H. F., & Salinas-Martínez, A. M. (2015). Prevalence of Prediabetes Based on Fasting Plasma Glucose and Glycosylated Hemoglobin in an At-Risk Mexican Population. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 13(8), 352-355

Diana Helena Ramírez-Velasco^{1,2}, César Iván Elizalde-Barrera^{1,2}, Catalina López-Saucedo¹, Alberto F Rubio-Guerra⁴, Teresa Estrada-García^{1*}

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), CDMX, México

²Hospital General Regional 1 Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), CDMX, México

³Hospital General de zona número 30, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), CDMX, México

⁴Jefatura de Enseñanza e Investigación, Hospital General de Ticomán, CDMX, México

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 2



Alberto F Rubio-Guerra

Jefatura de Enseñanza e Investigación, Hospital General de Ticomán, CDMX



Catalina López-Saucedo

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN



César Iván Elizalde-Barrera

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN. 2Hospital General Regional 1 Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro, IMSS



Diana Helena Ramírez-Velasco

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN. 2Hospital General Regional 1 Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro, IMSS



Teresa Estrada-García

Profesor Investigador Titular del Departamento de Biomedicina Molecular. CINVESTAV-IPN

La histona H3 procesada se integra en los nucleosomas de los genes de replicación en el parásito de la malaria humana *Plasmodium falciparum*

Rosaura Hernández Rivas, AM Herrera-Solorio, SS Vembar y D Lozano-Amado



La Malaria es una enfermedad producida por el parásito protozoario *Plasmodium*. La forma más severa de la malaria es causada por el parásito *P. falciparum*, el cual es el responsable de aproximadamente 500,000 muertes en el mundo anualmente [1]. *P. falciparum* tiene un ciclo de vida complejo y para sobrevivir en cada uno de sus hospederos atraviesa por diferentes estadios de diferenciación e inicia complejos programas de regulación de la expresión genética en respuesta a estímulos como: estrés, transición entre hospederos y mecanismos de defensa del huésped [2].

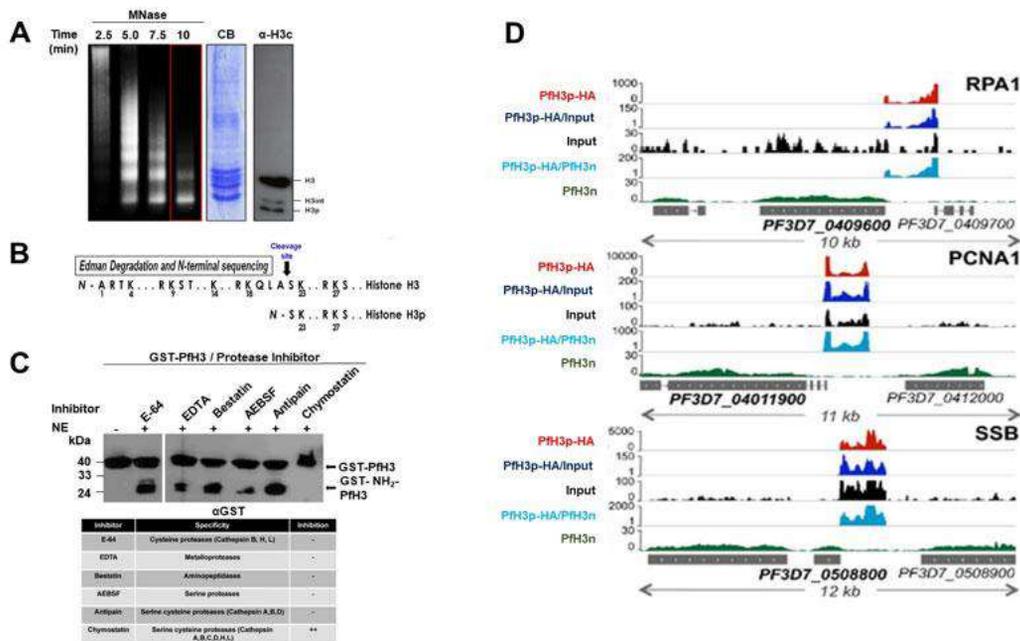
Numerosos estudios indican que la estructura de la cromatina y los factores epigenéticos son los mecanismos principales que regulan los cambios en la expresión de genes asociados con etapas del ciclo de vida del parásito. En este sentido se ha demostrado que la acetilación, la desacetilación y la metilación en los extremos amino terminal de las histonas que constituyen a los nucleosomas de *P. falciparum*, regulan la expresión de genes implicados en la variación antigénica, el desarrollo de las etapas sexuales que se transmiten al vector y en la expresión de los genes de virulencia [2].

En contraste con estas modificaciones químicas que son reversibles, recientemente se ha demostrado que la proteólisis del extremo amino terminal de la histona H3 es un nuevo mecanismo epigenético que es irreversible en eucariotas. Este evento ocurre en diferentes organismos como: ratón, levadura, pollo y más recientemente en los mastocitos. Sin embargo, el resultado biológico del procesamiento del extremo amino de la histona H3, difiere entre diferentes organismos y tipos de células. Por ejemplo, en ratón el procesamiento de la histona H3 conduce a la diferenciación de las células troncales, a la inducción de genes de esporulación en levadura y determina el linaje en los mastocitos [3].

En este trabajo realizado en colaboración con el Dr. Artur Scherf en el Instituto Pasteur (publicado en la revista *EMBO Reports*), identificamos por primera vez en un protozoario patógeno el procesamiento del extremo amino terminal de la histona H3, el

cual ocurre después del aminoácido Alanina en la posición 21, generando una histona H3 procesada (PfH3p), que carece de los primeros 21 aminoácidos y la cual forma parte de la cromatina (Figura 1A y B). Ensayos de actividad *in vitro* y empleando inhibidores de proteasas revelaron que este procesamiento es realizado por una catepsina C-like (Figura 1C). Posteriormente, el uso de parásitos que expresan una versión ectópica de la histona H3 procesada (PfH3-HA) reveló que se integra en los mononucleosoma y mediante ensayos de ChIP-seq (*Chromatin Immunoprecipitation and next generation sequencing*), demostramos que PfH3-HA se encuentra enriquecida en las regiones regulatorias de seis genes involucrados en la replicación y reparación del ADN (Figura 1D). Así, este trabajo descubrió un nuevo mecanismo epigenético empleado por *P. falciparum* para regular la expresión de los genes relacionados con el metabolismo del ADN [4].

Considerando que la región amino terminal de la histona H3, comprendida entre los aminoácidos 1 a 21, es clave para la expresión de genes de virulencia en *P. falciparum*, la identificación de la endopeptidasa permitirá investigar el papel biológico del procesamiento de la histona H3 durante las diferentes etapas de desarrollo de este importante patógeno humano.



A) La histona PfH3 de *falciparum* es procesada y forma parte de los nucleosomas. B) PfH3p es procesada entre los aminoácidos 21 y 22. C) La catepsina C-like es la responsable del procesamiento de la histona GST-PfH3. La tabla muestra el perfil de actividad de los inhibidores de proteasas utilizados en los ensayos de actividad *in vitro*. D) El esquema muestra el contexto genómico de tres genes de replicación cuyas regiones regulatorias se encuentran enriquecidas con nucleosomas que contienen a la histona H3 procesada.

Referencias

1. WHO 2015. Fact sheet: world malaria report 2015. <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>
2. Abel S¹, Le Roch KG The role of epigenetics and chromatin structure in transcriptional regulation in malaria parasites. Brief Funct Genomics. 2019. doi: 10.1093/bfgp/elz005.
3. Azad GK, Swagatika S, Kumawat M, Kumawat R, Tomar RS. Modifying Chromatin by Histone Tail Clipping. J Mol Biol. 2018. doi: 10.1016/j.jmb.2018.07.013
4. Herrera-Solorio AM, Vembar SS, MacPherson CR, Lozano-Amado D, Meza GR, Xoconostle-Cazares B, Martins RM, Chen P, Vargas M, Scherf A, Hernández-Rivas R. Clipped histone H3 is integrated into nucleosomes of DNA replication genes in the human malaria parasite Plasmodium falciparum. EMBO Rep. 2019. doi: 10.15252/embr.201846331.

Herrera-Solorio AM¹, Vembar SS², Lozano-Amado D¹, Scherf A², Hernández-Rivas R¹.

¹Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México. ²Unité Biologie des Interactions Hôte-Parasite, Département de Parasites et Insectes Vecteurs, Institut Pasteur, Paris 75015, France.

Volumen 5 – Número 2



AM Herrera-Solorio
Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV



D Lozano-Amado
Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN



Rosaura Hernández Rivas
Investigadora Titular 3D y SNI nivel III del departamento de Biomedicina Molecular CINVESTAV-IPN. Su laboratorio se especializa en el estudio de los mecanismos epigenéticos que participan en el desarrollo del cáncer pancreático y en la participación de células troncales cancerosas pancreáticas en esta enfermedad.



SS Vembar
Unité Biologie des Interactions Hôte-Parasite, Département de Parasites et Insectes Vecteurs, Institut Pasteur, Paris

Chagas, una enfermedad olvidada: descubrimiento único en la medicina tropical y un problema actual de salud global

Rebeca Georgina Manning Cela, Gabriel Noris-Sarabia, Santiago Martínez-Calvillo y Margarita Rubio-Ortiz

T *Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas (ECh), un padecimiento potencialmente mortal, altamente incapacitante, de transmisión vectorial y endémico de Latinoamérica, por lo que también es conocido como Tripanosomiasis Americana. Se clasifica como una enfermedad tropical desatendida (*Neglected Tropical Disease*, NTD) por la Organización Mundial de la Salud (OMS), sin que existan hasta el momento medicamentos o vacunas eficaces para su tratamiento. El hallazgo de la ECh se dio en 1909 por el médico e investigador brasileño Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (Figura 1) [1], quien es considerado como un personaje único en la historia de la medicina tropical ya que describió completamente una enfermedad infecciosa nueva, sus manifestaciones clínicas, su epidemiología, el agente causal, el vector transmisor (miembros de la familia Triatominae), los hospederos mamíferos y su profilaxis [2]. Se han encontrado porcentajes variables de infección por *T. cruzi* en Latinoamérica, estimándose de 6 a 7 millones de personas infectadas [1]. Sin embargo, debido a los recientes flujos de migrantes infectados a países no endémicos como Estados Unidos, Canadá, diversos países de Europa y el oeste del Pacífico, el padecimiento se ha convertido en una enfermedad mundial desatendida con una alta tasa de morbimortalidad y un impacto social sustancial, emergiendo como una amenaza de salud pública importante en estos países (Figura 1). Además, hay un alto riesgo de transmisión no vectorial del parásito por transfusión sanguínea, trasplante de órganos, o por transmisión vertical congénita en países no endémicos. Con este escenario, actualmente se estima que hay entre 65 a 100 millones de personas viviendo en áreas con riesgo de infección en el mundo [3]. En México la seroprevalencia reportada de infección por *T. cruzi* varía ampliamente. Un trabajo reciente reportó la revisión sistemática y el meta-análisis de estudios epidemiológicos realizados entre 2006 y 2017 en México, mostrando niveles de infección mayores a los reconocidos anteriormente. Así, a nivel nacional se estima una seroprevalencia de 3.38% [IC 95% 2.59–4.16], sugiriendo que hay 4.06 millones de casos de infección con el parásito en el país. Además, también se determinó una seroprevalencia en mujeres embarazadas del 2.21% [IC 95% 1.46–2.96], en menores de 18 años del 1.51% [IC del 95%: 0.77–2.25] indicando una transmisión en curso, y una seroprevalencia nacional estimada en bancos de sangre del 0.55% [IC del 95%: 0.43 a 0.66] [4]. Estas estimaciones colocan a México como el país con el mayor número de infectados con *T. cruzi* en Latinoamérica, incluso por encima de Argentina, Brasil, Honduras y Bolivia, que son los países considerados con el mayor porcentaje de seropositividad y/o número de infectados con el parásito [3]. Esto representa un alto costo para el sector salud de México, ya que además de la incapacidad laboral que produce, representa un gasto de 4,463 a 9,601 dólares estadounidenses para la atención de pacientes ambulatorios y de 6,700 a 11,838 dólares estadounidenses anuales para el tratamiento de pacientes ingresados a unidades de emergencia [5].

T. cruzi es transmitido principalmente a través de heces de insectos pertenecientes a la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), de los géneros *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus*, que se agrupan en 151 especies [6]. En México se encuentra el mayor número de especies diferentes de triatominos y de vectores potenciales del parásito, existiendo 31 especies distintas de los géneros *Rhodnius*, *Triatoma*, *Meccus*, *Panstrongylus*, *Dipetalogaster*, *Belminus*, *Eratyrus* y *Paratriatoma*. Por su amplia distribución geográfica y capacidad para transmitir al parásito, *T. barberi*, *T. dimidiata* y *M. pallidipennis* son considerados como vectores de gran importancia médica en México [7]. Los triatominos infectados con *T. cruzi* se distribuyen en más del 80% del territorio nacional [8], lo que resulta en un estimado de 100 millones de mexicanos en riesgo de contraer la infección, de acuerdo con datos del censo de población del INEGI del 2019. En la naturaleza, la transmisión de *T. cruzi* se lleva a cabo en el ciclo selvático, donde la infección se transmite del insecto infectado a mamíferos silvestres (más de 70 géneros) y viceversa. Pero la distribución de la ECh depende del ciclo doméstico, en el que el insecto vector se ha adaptado a vivir en el domicilio y peri-domicilio, favoreciéndose la transmisión del parásito al humano, animales domésticos y animales de corral. Consecuentemente, la infección por *T. cruzi* se mantiene como una zoonosis compleja, lo que hace difícil su erradicación a pesar de los esfuerzos de control del vector en los países endémicos (Figura 1).

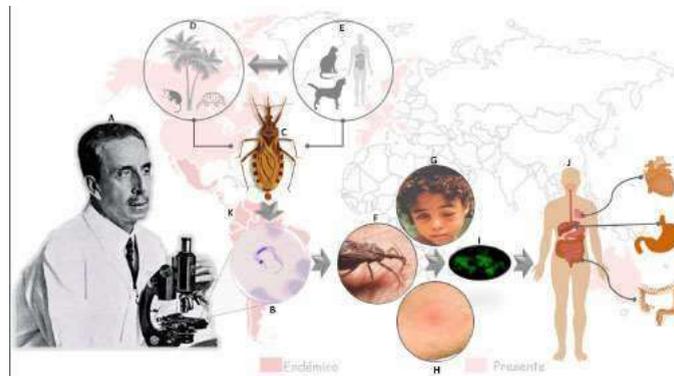


Figura 1. Enfermedad de Chagas: descubierta por Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (A), quién también describió a su agente causal (B), el vector transmisor (C), los hospederos mamíferos (D y E), las manifestaciones clínicas G, H, J), la epidemiología (K) y la profilaxis. En la naturaleza la transmisión de *T. cruzi* se lleva a cabo en el ciclo selvático (D) pero la distribución de la ECh depende del ciclo doméstico (E). Después de la picadura (F) el triatomino deposita tripomastigotes metacíclicos junto con sus heces, entrando el parásito por auto-inoculación produciéndose el chagoma (H) o el signo de Romaña (G) en el sitio de entrada. Dentro del hospedero mamífero *T. cruzi* inicia su ciclo intracelular (I) responsable del desarrollo de la ECh, que en su fase crónica sintomática produce daño cardíaco y digestivo (J). *Imágenes tomadas y modificadas de diferentes fuentes de internet (ver la lista al final del texto) y obtenidas en el laboratorio (I, fibroblasto infectado con parásitos transfectados con EGFP).

El ciclo de vida de *T. cruzi* es bifásico, y en él se alternan cuatro estadios de desarrollo diferentes entre el insecto vector (epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos) y el hospedero mamífero (amastigotes y tripomastigotes sanguíneos). Durante la ingesta sanguínea el vector se infecta al tomar sangre de mamíferos contaminada con tripomastigotes sanguíneos. A lo largo del tracto digestivo del insecto, el parásito se transforma de tripomastigote sanguíneo a epimastigote, el cual se replica en el intestino medio del insecto y se traslada al recto donde se diferencia a tripomastigote metacíclico, eliminándose en las heces del triatomino durante la ingesta sanguínea. Los tripomastigotes metacíclicos penetran al hospedero vertebrado a través del sitio de la picadura, heridas o excoriaciones en la piel o a través de la mucosa intacta ocular, nasal o bucal, iniciando el ciclo intracelular infeccioso. Este ciclo es un proceso complejo con etapas secuenciales en donde los tripomastigotes metacíclicos invaden células fagocíticas y no fagocíticas a través de una vacuola parasitófora. Aquí es donde los tripomastigotes metacíclicos se diferencian a amastigotes, los cuales escapan para replicarse en el citoplasma. Después de su transformación a tripomastigotes sanguíneos, los parásitos salen a la circulación sanguínea y linfática para luego invadir diversos órganos, propagando la infección. Las células con mayor índice de infección son las reticuloendoteliales, del bazo, hígado y linfáticas; así como células del corazón, músculo liso y esquelético, aunque también en algunos casos pueden ser infectadas células del sistema nervioso, piel, gónadas, mucosa intestinal, médula ósea y placenta. Estos parásitos liberados a la circulación sanguínea pueden ser ingeridos nuevamente por el vector invertebrado completando así su ciclo de vida. El proceso de infección en el

hospedero mamífero es un evento determinante en el ciclo de vida y supervivencia del parásito, así como en el establecimiento de la enfermedad; sin embargo, es poco lo que se sabe de los mecanismos moleculares involucrados. La mayor parte de los estudios están dirigidos a entender los mecanismos de infección en las células no fagocíticas, ya que es en éstas en donde se establece la patogenicidad de la enfermedad [9].

T. cruzi es un protozoo intracelular hemoflagelado que pertenece al orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae (Figura 1). Este parásito se caracteriza por mostrar una heterogeneidad genética. Sus poblaciones se componen de complejos multiclonales con genomas de tamaño variable hasta en un 48% (aproximadamente 73 Mb), lo que permite clasificar a sus cepas utilizando diversos marcadores moleculares, en 7 DTUs distintos (TcI-TcVI y Tcbat). La mayoría de las poblaciones del parásito han evolucionado de forma clonal, en donde los genotipos de las generaciones descendientes son idénticos o altamente similares al de origen. Por ello, la variedad genética de la especie se debe principalmente a polimorfismos genéticos. Además, sus cepas han llevado a cabo eventos de recombinación genética entre poblaciones homocigotas, resultando en la producción de cepas con genotipos híbridos, como los pertenecientes a TcV y TcVI, derivados de TcII y TcIII. Se ha propuesto que la variabilidad genética de las cepas se relaciona con el comportamiento biológico y molecular de cada DTU, presentando diferencias en sus niveles de infectividad, virulencia, patogénesis, histo-tropismo, susceptibilidad a fármacos, antigenicidad, generación de las diferentes formas clínicas de la enfermedad, epidemiología y distribución geográfica [10].

La ECh cursa por dos fases consecutivas: la aguda y la crónica. La fase aguda es posterior a la infección, de duración corta, con alta parasitemia en la sangre y regularmente asintomática, aunque en alrededor del 5% de los casos se observan síntomas inespecíficos y esporádicamente los signos característicos de la infección (signo de Romana o el Chagoma de inoculación). La fase crónica se divide en dos etapas, una asintomática o indeterminada, y una sintomática que se presenta después de 10 a 30 años del inicio de la infección en el 30% a 40% de los individuos. Estos últimos desarrollan las manifestaciones clínicas de la enfermedad, consistentes en daño cardíaco (Cardiomiopatía Chagásica crónica), digestivo (síndromes de megacolon y megaesófago), cardio digestivo, o neurológico (siendo éste poco frecuente) (Figura 1) [3]. No se conoce el o los mecanismos para la generación de la ECh, y existen grandes vacíos de información con relación a su establecimiento. La escasa cantidad de parásitos encontrados en las diversas fases de la enfermedad, dificulta una explicación aceptable para la severidad de la misma y no existen datos concluyentes que permitan explicar por qué infecta preferentemente células de músculo cardíaco y músculo liso gastrointestinal. Se han propuesto dos posibles teorías para explicar la fisiopatología de la ECh, que son la persistencia física del parásito y el daño autoinmune. En la primera, durante la etapa crónica la presencia del parásito, determinada por PCR y observación de nidos de amastigotes, induce un daño directo a los plexos nerviosos mientéricos y cardíacos, lo que se observa también en modelos animales, en que la enfermedad no se desarrolla en ausencia de los parásitos. Por otro lado, la teoría autoinmune propone que el daño existente podría ser resultado de una interacción hospedero-parásito constante, la cual origina diversas reacciones autoinmunes que ocasionan daño al hospedero. Se ha propuesto que esto podría ser resultado de alteraciones en la regulación del sistema inmune del hospedero durante la fase crónica, llevando a la pérdida de la tolerancia por parte de sus ramas efectoras hacia los tejidos propios, o por un mecanismo de “mimetismo molecular” dado por los antígenos del parásito hacia antígenos propios del hospedero, lo que se traduce en auto-reactividad del sistema inmunológico. A pesar de los conocimientos obtenidos hasta el momento, todavía es imposible predecir qué sucederá en un individuo infectado con *T. cruzi*, debido a la gran variabilidad en la virulencia de las cepas del parásito, la diferente susceptibilidad humana a la infección y/o la combinación de ambas. Aunque se han estudiado de forma aislada varios mecanismos de patogénesis distintos, se ha propuesto que es la combinación de múltiples mecanismos coincidentes lo que determina la patología final de la enfermedad, considerándose incluso como una colección de enfermedades relacionadas, pero a su vez distintas [11].

A 110 años de su descubrimiento, la ECh ha pasado de ser una enfermedad endémica de Latinoamérica a un problema de salud global. La carga económica mundial de esta enfermedad ya rebasa los 7,200 millones de dólares estadounidenses por año, superando los costos de otras enfermedades de gran impacto en la salud, como algunos tipos de cáncer (6,700 millones de dólares para el cáncer uterino, 4,700 millones para cáncer

cervical y 5,300 millones para cáncer oral) o infecciones por rotavirus (2,000 millones de dólares) [12]. Dado el escenario actual, es esencial unir esfuerzos con un enfoque multidisciplinario y en el ámbito global, para enfrentar esta enfermedad tan desafiante. Continuar con los esfuerzos para lograr mejores estrategias de control del vector y de la enfermedad, así como desarrollar métodos diagnósticos confiables, medicamentos efectivos sin efectos secundarios severos y vacunas eficaces, debe ser una prioridad para el sector salud no solo de países endémicos, sino también de aquellos no endémicos en que las vías de transmisión no vectorial se han convertido en un riesgo constante y la ECh un problema de salud importante.

Este trabajo fue apoyado por el donativo No. 6671 de CONACyT otorgado a RGMC.

Bibliografía

- [1] WHO, Chagas disease (American trypanosomiasis), Fact sheet N°340., 2017
- [2] Kropf, SP, Carlos Chagas: science, health, and national debate in Brazil, *Lancet*, 2011 377, 1740-1741.
- [3] Lidani, KCF;FA Andrade;L Bavia;FS Damasceno;MH Beltrame;IJ Messias-Reason; TL Sandri, Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem, *Front Public Health*, 2019 7, 166.
- [4] Arnal, A;E Waleckx;O Rico-Chavez;C Herrera; E Dumonteil, Estimating the current burden of Chagas disease in Mexico: A systematic review and meta-analysis of epidemiological surveys from 2006 to 2017, *PLoS Negl Trop Dis*, 2019 13, e0006859.
- [5] Ramsey, JM;M Elizondo-Cano;G Sanchez-Gonzalez;A Pena-Nieves; A Figueroa-Lara, Opportunity cost for early treatment of Chagas disease in Mexico, *PLoS Negl Trop Dis*, 2014 8, e2776.
- [6] Justi, SA; C Galvao, The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors, *Trends Parasitol*, 2017 33, 42-52.
- [7] Ramsey, JM;AT Peterson;O Carmona-Castro;DA Moo-Llanes;Y Nakazawa;M Butrick;E Tun-Ku;K la Cruz-Felix; CN Ibarra-Cerdena, Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2015 110, 339-352.
- [8] Cruz-Reyes, A; JM Pickering-Lopez, Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years—a review, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2006 101, 345-354.
- [9] Espinoza Gutierrez, B; RG Manning Cela (2008). An overview of mammalian cell infection by *Trypanosoma cruzi*: Cellular and molecular basis. Advances in the immunobiology of parasitic diseases. L. I. Terrazas. Kerala, India. , Research Signpost.
- [10] Zingales, B, *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity, *Acta Trop*, 2018 184, 38-52.
- [11] Bonney, KM;DJ Luthringer;SA Kim;NJ Garg; DM Engman, Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease, *Annu Rev Pathol*, 2019 14, 421-447.
- [12] Lee, BY;KM Bacon;ME Bottazzi; PJ Hotez, Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model, *Lancet Infect Dis*, 2013 13, 342-348.

Margarita Rubio-Ortiz¹, Gabriel Noris-Sarabia^{1,2}, Santiago Martínez-Calvillo³ y Rebeca Georgina Manning-Cela^{1*}

¹ Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508, Col. San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, CP 07360. A P: 14-740, 07000 Ciudad de México.

² Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Occidente. Unidad Regional Culiacán. Blvd. Lola Beltrán y Blvd. Rolando Arjona S/N. Col. 4 de Marzo. Culiacán, Sinaloa, México. CP 80020.

³ Unidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios 1, Col. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, CP 54090, México.

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 2



Gabriel Noris-Sarabia

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV. Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Culiacán.



Margarita Rubio-Ortiz

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV



Rebeca Georgina Manning Cela

Profesor Investigador Titular del Departamento de Biomedicina Molecular. Cinvestav



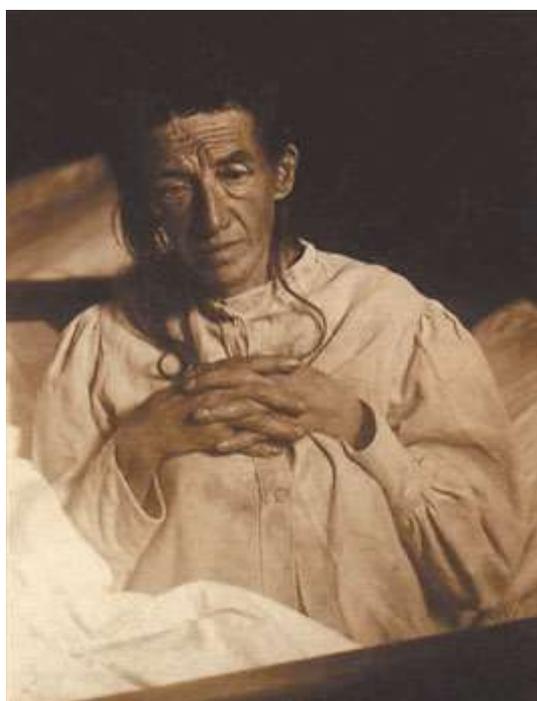
Santiago Martínez-Calvillo

Unidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM

La Enfermedad de Alzheimer Familiar en México

Marco Antonio Meraz Ríos, Mayte Lizeth Padilla Cristerna, Lory Jhenifer Rochin Hernández y Rosalía Alejandrina Santos Mandujano

La Enfermedad de Alzheimer Familiar (EAF) se presenta en individuos menores a 65 años portadores de mutaciones en los genes de la Proteína Precursora del Amiloide (APP), Presenilina 1 (PSEN1) y Presenilina 2 (PSEN2). La forma esporádica de la Enfermedad de Alzheimer (EA) es multifactorial y se relaciona con la presencia del alelo $\epsilon 4$ de la Apolipoproteína E (APOE $\epsilon 4$), el cual puede incrementar hasta 12 veces el riesgo de desarrollar la enfermedad.



La paciente del Dr. Alois Alzheimer: Augusta D. Fotografía: Dr. Konrad Maurer. Universidad Johann Wolfgang Goethe, Alemania.

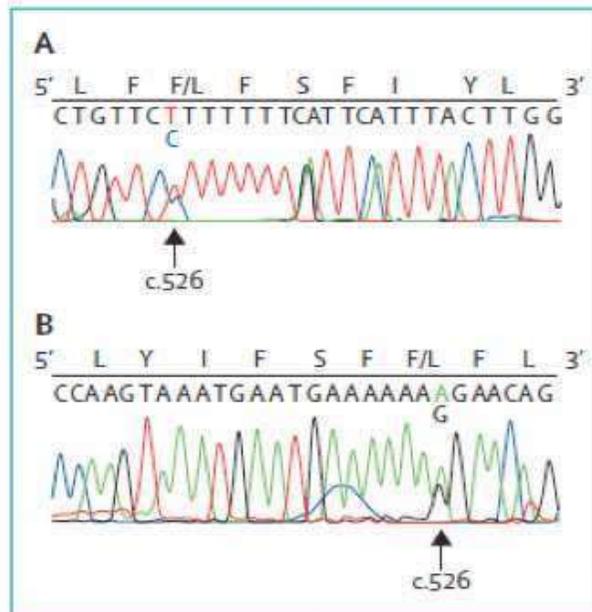
Según las notas de Alois Alzheimer: Cuando Augusta D. llegó al Hospital de Frankfurt en 1902, tenía 51 años y presentaba un cuadro de confusión, ansiedad y agitación. Examinarla, escribía el Dr. Alois, resultaba muy complicado. Una vez que se calmó pudimos realizarle el pertinente examen y concluir que su memoria estaba dañada, tenía dificultades para hablar, se desorientaba y **sufrió paranoia y alucinaciones auditivas**. No supo decir su apellido y por eso decidimos apellidarla con la letra D.

Las mutaciones en el gen de Presenilina 1 (PSEN1) son las más comunes en los casos del Alzheimer Familiar y han sido reportadas al menos 253 mutaciones en este gen (Alzforum, 2019). Estas mutaciones provocan una marcada heterogeneidad del cuadro clínico del individuo portador que, además de tener o no la sintomatología “típica” de la EA, puede cursar con otros padecimientos como parkinsonismo, mioclonía, ataques epilépticos, cambios conductuales parecidos a demencia frontotemporal, afasia y ataxia cerebelosa, así como paraparesia espástica (Larner, 2013; Alzforum, 2019).

En México, se conoce poco sobre cuáles y cuántas mutaciones son responsables de la EAF en los individuos afectados. Recientemente, la mutación que genera un cambio en la posición 431 de la proteína del aminoácido alanina por un ácido glutámico (A431E), ha sido identificada en un gran número de individuos diagnosticados con demencia temprana, la mayoría de ellos originarios del estado de Jalisco, de donde se sugiere que es una mutación con efecto fundador y se ha rastreado en otras familias que radican en el extranjero e incluso, en otras entidades del país, incluida la CDMX (Murrel *et al.*, 2006; Santos-Mandujano *et al.*, 2019).

En 2001, Rogaeva y colaboradores identificaron a la mutación A431E en el gen de PSEN1, junto con otras mutaciones de nuevo registro; fue una de las mutaciones más frecuentes en su grupo de estudio que involucraba a sujetos con una edad promedio de 58 ± 11 años y con un diagnóstico clínico de la EA en su mayoría; sin embargo, no informaron los detalles clínicos ni la historia familiar de los individuos portadores de esta mutación.

***PSEN1* (Exón 6: Phe176Leu)**



Auguste D. poseía una mutación en el gen de Presenilina 1, que le provocó un cambio de aminoácido en la posición 176 de la proteína, del amino ácido fenilalanina a leucina.

Años más tarde, Yescas *et al.* (2006).

describieron esta mutación en nueve familias mexicanas, aparentemente no relacionadas, con EA de inicio temprano y sugirieron que la mutación se originó en un ancestro común. También encontraron que los análisis de las relaciones genealógicas (o pedigrí), mostraban una transmisión autosómica dominante en al menos tres generaciones, con una edad promedio de presentación de síntomas de 40 años y tenían atrofia subcortical. En este mismo año (Murrel *et al.* (2006), se identificaron a 20 pacientes adicionales que también portaban la mutación A431E provenientes de 15 familias, 14 de las cuales eran de ascendencia mestiza mexicana y en 9 de ellas, podría rastrearse su ascendencia en el estado de Jalisco y presentaban un cuadro clínico similar a las reportadas por Yescas *et al.* (2006); algo interesante fue que 9 de los 20 pacientes tenían paraparesia y problemas

cognitivos caracterizados por la pérdida de la memoria y tal como lo había reportado previamente, Ringman *et al.*, (2004) se presentaban cambios psicológicos, especialmente de depresión.

Un marcador importante de la EA, es la presencia del péptido Amiloide beta (bA) en plasma o líquido céfalo raquídeo (LCR). Al evaluar los niveles de 42 o 40 aminoácidos (βA_{42} y βA_{40}) en plasma o líquido cefalorraquídeo en estos individuos, no se encontraron diferencias significativas al compararse con sujetos control (Ringman *et al.* 2008). Sin embargo, la proporción $\beta A_{42}/\beta A_{40}$ fue mayor en las personas portadoras de la mutación. Por otro lado, la otra proteína importante en la EA, la proteína Tau, mostró niveles elevados, así como su estado hiper-fosforilado, en los individuos pre-sintomáticos.

Los estudios de Soosman *et al.* (2017), usando técnicas de imagenología, mostraron disminución de extensas áreas de materia blanca, subyacente a la corteza motora, en hombres que padecían paraparesis espástica asociada a la mutación en PSEN1 A431E, en comparación con mujeres que poseían otras mutaciones en PSEN1 (incluida A431E) y no presentaban paraparesis espástica. Por otro lado, aunque no observaron diferencias significativas en los volúmenes de las estructuras cerebrales, encontraron que en todos los individuos con paraparesis espástica podían identificarse micro-hemorragias. No hallaron diferencias en los depósitos del péptido βA en la corteza sensoriomotora y los volúmenes de materia gris tampoco sufrían alteraciones. Esto sugiere que la disminución de la materia blanca en la corteza motora podría explicar las anomalías motoras observadas en estos individuos, y que no dependía, o al menos no únicamente, del metabolismo exclusivo de APP, sino de otros sustratos.

Hasta ahora, el grupo del Dr. Figuera (Dumois-Petersen *et al.*, 2018), es el grupo con mayor contribución en la identificación de individuos portadores de la mutación A431E, puesto que han registrado esta mutación en aproximadamente el 75% (29/39) de los casos diagnosticados con Demencia Familiar de Inicio Temprano en el Centro Médico Nacional de Occidente-IMSS. La edad promedio del inicio de los síntomas es de 43.3 años, con una evolución de la enfermedad de 7.5 años y al morir de 48.9 años. A través de estudios de genealogía, han detectado un total de 147 individuos afectados y también a 304 familiares menores de 48 años considerados en riesgo y a 233 descendientes de estos pacientes en riesgo potencial. Aunque no especifican el cuadro clínico con el que cursan los portadores de la mutación, reportan que ésta provoca una variabilidad en su presentación e invita a la caracterización clínica y molecular de estos pacientes, así como a la falta de un diagnóstico

pre-sintomático para los adultos en riesgo, dadas las implicaciones en los tiempos de diagnóstico.

Es de destacar que sólo habían sido reportados casos heterocigotos para esta mutación; sin embargo, el estado homocigoto de la mutación A431E parece conferir un fenotipo de anticipación, con un inicio clínico más temprano y una progresión más rápida de la neurodegeneración (Parker *et al.*, 2019).

Nuestro grupo de investigación ha reportado la caracterización clínica más completa de los individuos portadores de la mutación A431E y propuesto un posible mecanismo molecular del desarrollo de la enfermedad (Santos-Mandujano *et al.*, 2019). Los sujetos afectados incorporan la paraparesis espástica en su cuadro clínico y coinciden con otros estudios donde se presenta una alta desmielinización (Soosman *et al.* 2017). Hay atrofia cortical grave e hiperintensidades extensas de la materia blanca periventricular.

Dado que los individuos que desarrollan la EAF debida a la mutación A431E son heterocigotos, es decir, un alelo es normal y el otro es mutado (un cromosoma es normal y el otro está mutado), y ambos alelos (genes) se expresan en las células, se podría esperar que la enfermedad se presente en el individuo conforme avanza la edad, si con ese paso del tiempo cambia la expresión de los alelos y llega a dominar la expresión del alelo mutante. Por lo tanto, la cantidad relativa de la proteína PSEN1 mutante y la normal, que se incorpora en el complejo γ -secretasa (complejo donde es funcional la Presenilina 1), así como el potencial de la proteína mutante para afectar a este complejo enzimático, son factores importantes para la comprensión de la EAF causada por la mutación A431E. Por lo anterior, Collins y cols. (2012) generaron una línea celular con la mutación A431E en el gen de PSEN1 en células de neuroglioma humano (H4). Lo que encontraron fue que todas las células que poseían la mutación, sobre-expresan βA_{42} , y así corroboraban el papel que juega esta mutación en el desarrollo de la enfermedad.

En el Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN, ofrecemos el servicio de diagnóstico molecular para la Enfermedad de Alzheimer.

Referencias

- Alzforum, Forest Biometrics Research Institute. (2018). MUTATIONS PSEN-1. www.alzforum.org
- Collins C., Katz E., Lee G., Alford V., Williams H., Guillen D., Wu X., Flanagan J., Sjoberg E., Gandy S., Lockhart D. J., Wustman B., Dungan L.B. (2012). Cell-based model for presenilin 1 early-onset Familial Alzheimer's Disease (EOFAD): dominant negative effects and relative stabilities of Presenilin 1 with EOFAD mutations. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* 8(4); P241.
- Dumois-Petersen S, Gallegos MP, Magaña T1, Perea FJ, Figuera LE. Frecuencia de la mutación C.1292 C>A en el gene PSEN1, en pacientes con demencia familiar de inicio temprano del Estado de Jalisco. Contacto: luisfiguera@yahoo.com. XXVII Foro Nacional de Investigación en Salud. Investigación en Inflamación la Medicina del Siglo XXI. Congreso del 4 al 7 de septiembre de 2018. Zacatecas, México.
- Larner AJ1. (2013). Presenilin-1 mutations in Alzheimer's disease: an update on genotype-phenotype relationships. *J Alzheimers Dis.* 37(4):653-9. doi: 10.3233/JAD-130746.
- Murrell J, Ghetti B, Cochran E, Macias-Islas MA, Medina L, Varpetian A, Cummings JL, Mendez MF, Kawas C, Chui H, Ringman JM. (2006). The A431E mutation in PSEN1 causing familial Alzheimer's disease originating in Jalisco State, Mexico: an additional fifteen families. *Neurogenetics.* Nov;7(4):277-9.
- Parker J., Mozaffar T., Messmore A., Deignan J. L., Kimonis V. E. & Ringman J. M. (2019). Homozygosity for the A431E mutation in PSEN1 presenting with a relatively aggressive phenotype. *Neuroscience Letters*, 699: 195 – 198 pp.
- Ringman J. M., Diaz-Olavarrieta C., Rodriguez Y., Chavez M., Paz F., Murrell J., Macias M- A., Hill M.& Kawas C. (2004). Female preclinical presenilin-1 mutation carriers unaware of their genetic status have higher levels of depression than their non-mutation carrying kin. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 75(3):500 – 502 pp.
- Ringman J. M., Younkin S.G., Pratico D., Seltzer W., Cole G.M., Geschwind D.H., Rodriguez-Agudelo Y., Schaffer B., Fein J., Sokolow S., Rosario E.R., Gylys K.H., Varpetian A., Medina L.D. & Cummings J. L. (2008). Biochemical markers in persons with preclinical familial Alzheimer disease. *Neurology*, 71 (2): 85 – 95 pp.

- Rogaeva EA, Fafel KC, Song YQ, Medeiros H, Sato C, Liang Y, Richard E, Rogaev EI, Frommelt P, Sadovnick AD, Meschino W, Rockwood K, Boss MA, Mayeux R, St George-Hyslop P. (2001). Screening for PS1 mutations in a referral-based series of AD cases: 21 novel mutations. *Neurology*. Aug 28;57(4):621-5.
 - Santos Mandujano, Rosalía Alejandrina and Marco Antonio Meraz Ríos. (2019). Unvarying Presentation of Atypical Dementia and Spastic Paraparesis in a Mexican Family Carrying the PSEN1 Ala431Glu “Jalisco” Mutation. (Enviado a publicación).
 - Soosman S. K., Joseph-Mathurin N., Braskie M. N., Bordelon Y. M., Wharton D., M. Casado, G. Coppola, H. McCallum, M. Nuwer, P. Coutin-Churchman, L. G. Apostolova, T. Benzinger & J. M. Ringman. (2017). Widespread white matter and conduction defects in PSEN1-related spastic paraparesis. *Neurobiology of Aging*, 47: 201 – 209 pp.
 - Yescas, P., Huertas-Vazquez A., Villarreal-Molina M. T., Rasmussen A., Tusié-Luna M. T., López M., Canizales-Quinteros S. y Alonso M. E. (2006). Founder effect for the Ala431Glu mutation of the presenilin 1 gene causing early-onset Alzheimer’s disease in Mexican families. *Neurogenetics*, 7: 195 – 200 pp.
-

Mayte Lizeth Padilla Cristerna, Lory Jhenifer Rochin Hernández, Rosalía Alejandrina Santos Mandujano y Marco Antonio Meraz Ríos

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México.



Lory Jhenifer Rochin Hernández

Estudiante de doctorado del Departamento de Biomedicina Molecular.



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



Mayte Lizeth Padilla Cristerna

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México.



Rosalía Alejandrina Santos Mandujano

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México.

De la motilidad celular a la biomedicina

Isaura Meza Gómez Palacio



Figura 1

La medicina, en particular, ha hecho avances extraordinarios en los últimos años con el conocimiento aportado por investigaciones en ciencia básica. No es de sorprender entonces que en todo el mundo haya un gran interés por fortalecer una comunicación fluida entre los científicos biomédicos y la clínica. En 1999, el Dr. Adolfo Martínez Palomo, Director General del Cinvestav en ese momento, con una visión clara sobre estos avances en la ciencia, promovió la formación de un Departamento en nuestra Institución cuya misión principal sería establecer una estrecha colaboración con las áreas médicas de nuestro país para investigar y desarrollar proyectos de interés mutuo, aplicando el conocimiento y las metodologías más avanzadas de la ciencia básica (Figura 1). Se formó así el Departamento de Biomedicina Molecular, que en este año celebra 20 años de su creación y cuenta hoy en día con 12 investigadores, todos miembros del SNI. (Figura 2 y Figura 3).



Figura 2

Figura 3

La colaboración entre el área médica y la clínica de los investigadores de este Departamento, con instituciones nacionales e internacionales, ha permitido llevar a cabo proyectos en común con buenos resultados. Las aportaciones científicas han sido publicadas en revistas citadas por expertos reconocidos en estas áreas y tomadas en cuenta para apoyar y continuar otros proyectos en Biomedicina en nuestro país y en el extranjero. Al mismo tiempo, dentro del Programa Académico del Departamento se han graduado cerca de 300 estudiantes de Maestría y 152 de Doctorado; entre los últimos se graduaron 22 médicos que han continuado una carrera en la investigación biomédica. (Figura 4)



Figura 4

Como parte de la celebración de los 20 años del Departamento de Biomedicina Molecular, queremos hacer una presentación, en este número de *Avance y Perspectiva*, de algunos de los resultados que han sido obtenidos en las investigaciones de los integrantes del Departamento que ilustran la misión con la que se inició hace 20 años. Hoy en día, dicha misión representa la llamada “traducción de la ciencia básica”, refiriéndose a que los estudios básicos pueden ser enfocados y enriquecidos con investigaciones en las áreas de la Salud. Mi participación en la formación del Departamento de Biomedicina Molecular, después de muchos años de investigación en ciencia básica, da la oportunidad de conjugar mi entusiasmo por el estudio de la Motilidad Celular con el interés de que mis resultados pudieran relacionarse con problemas en el área de la salud. Quisiera ilustrar esto con los siguientes tres ejemplos.

INTRODUCCION

En organismos multicelulares algunas células se especializan para el movimiento intracelular y en el desplazamiento y migración. Las estructuras que participan en estas funciones móviles se conocen en conjunto como el Citoesqueleto: microfilamentos compuestos de fibrillas de diferente grosor y de tubulillos o microtúbulos que forman una red intrincada en el citoplasma. Para algunas funciones se agrupan en estructuras ordenadas para llevar a cabo un movimiento específico. Las proteínas que los constituyen tienen la propiedad de ensamblar y desensamblar sus unidades formando o deshaciendo los polímeros formados, una propiedad que facilita sus funciones. (Figura 5). Como ejemplo están la miosina y la actina que constituyen a las fibras musculares y también a las estructuras de las uniones intercelulares y de aquellas necesarias para la metástasis de células cancerosas. La tubulina forma los microtúbulos del aparato mitótico que al ensamblarse y desensamblarse permiten la división celular, la cola o flagelo de los espermatozoides cuyo movimiento les permite fecundar a un óvulo, y también se encargan de la transmisión de señales y funciones normales en las neuronas. (Figuras 5 y 6)

Immunofluorescencia: Una Herramienta ponderosa para observar las estructuras del citoesqueleto



Figura 5

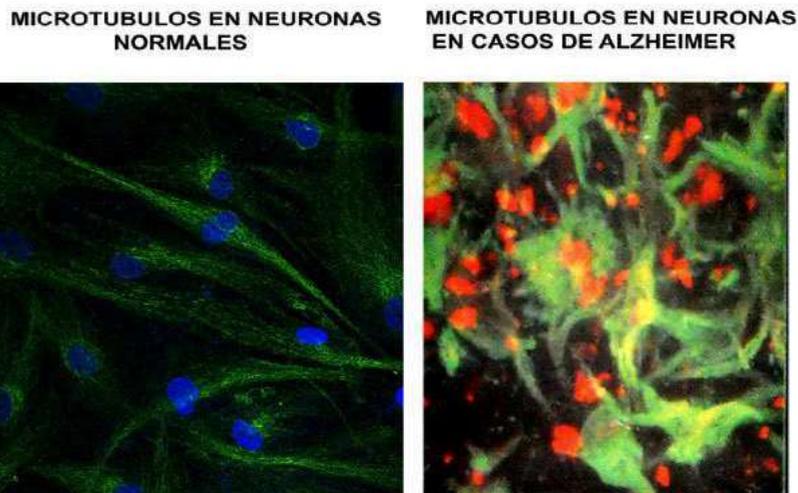
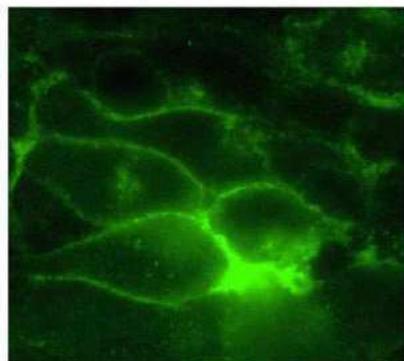


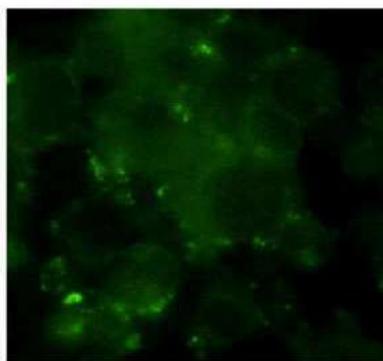
Figura 6

1.-En un trabajo en colaboración con el Dr. Marcelino Cereijido, investigador del Departamento de Fisiología, se demostró que el citoesqueleto de las células de un epitelio de transporte (células MDCK) formado principalmente por actina, participa en la apertura y cierre de las uniones intercelulares. Con anterioridad, el Dr Cereijido había demostrado, midiendo la resistencia eléctrica transepitelial, que en monocapas de estas células renales, las uniones celulares que las mantienen juntas funcionan como una barrera selectiva y regulan la entrada y salida de iones y moléculas en el epitelio. Posteriormente, en mi laboratorio observamos que los microfilamentos de actina se contraen para permitir la apertura y cierre de las uniones manteniendo el funcionamiento epitelial normal. El modelo de las células MDCK es actualmente un descubrimiento clásico que se utiliza en investigaciones hechas en todo el mundo y citadas por su importante papel en el funcionamiento de las uniones celulares de varios tejidos. En enfermedades, en donde la regulación de la permeabilidad está alterada por desarreglo de las uniones, los estudios básicos con estas células son esenciales para entender problemas de absorción intestinal y renal y para diseñar tratamientos médicos adecuados (Figura 7).

Uniones entre las células epiteliales = Barrera biológica



Uniones cerradas



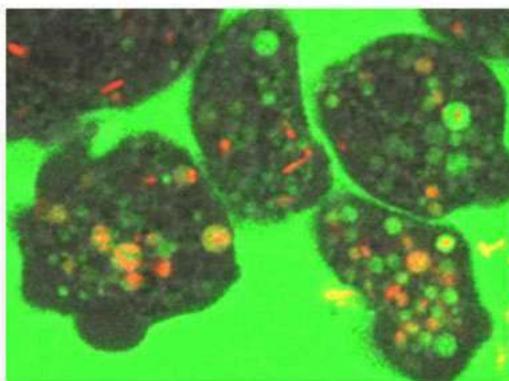
Uniones abiertas

La señal verde muestra la localización de una proteína de las uniones

Figura 7

2.-Estudios con la amiba patógena *Entamoeba histolytica*, causante de la Amibiasis, un problema de salud relevante en México, mostraron la importancia del citoesqueleto de actina en prácticamente todas las manifestaciones de patogenicidad de este parásito. Las amibas requieren de un movimiento continuo y de re-arreglos del citoesqueleto para desplazarse, fagocitar partículas e incluso bacterias y restos celulares en el intestino, tomar líquidos de los tejidos y dividirse. La investigación hecha por mi grupo y por varios investigadores en el Cinvestav y en el Centro Médico siglo XXI demuestran que la alteración del citoesqueleto en su estructura y funciones podría ser un blanco terapéutico para combatir los daños causados por este parásito a los órganos de un individuo parasitado. Se demostró que la presencia de ciertas bacterias patógenas en la microbiota intestinal aumenta la malignidad del parásito. Este hallazgo novedoso, obtenido de la investigación básica sobre las funciones del parásito, despertó el interés de la industria farmacéutica para el desarrollo de nuevas drogas y ha modificado la forma de tratamiento de la enfermedad en la clínica, tomando en cuenta los resultados reportados por la investigación básica (Figura 8 y 9).

Amibas de *Entamoeba histolytica*



Proceso de fagocitosis (bacterias rojas) y pinocitosis(vacuolas verdes)

Efecto de bacterias patógenas (EPEC, *Shigella spp.*) sobre la organización y función de las uniones intercelulares

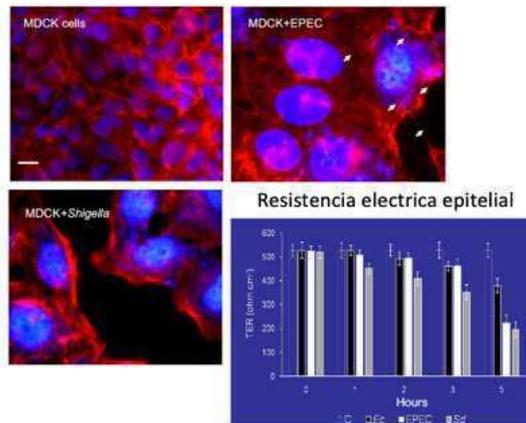
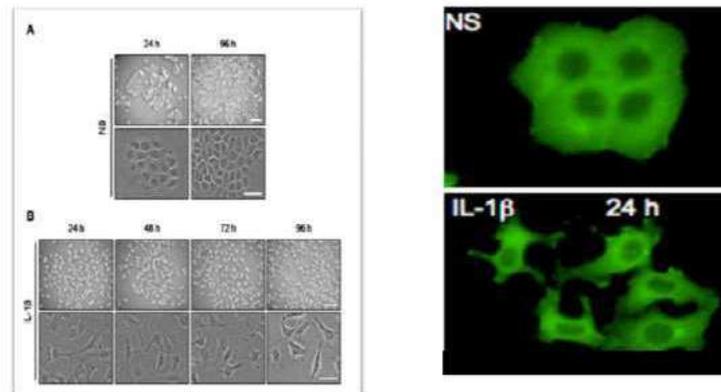


Figura 9

3.-Una manifestación del inicio de un cáncer invasivo es la dispersión de las células de un tumor y su migración a otro sitio en el organismo (metástasis), en donde se formará un tumor secundario. Cuando se detecta una o varias metástasis en un paciente que presenta un tumor, se considera una mala señal en la prognosis y requerirá tratamiento inmediato de quimioterapia y radioterapia. Debido a la diversidad de los tipos de cánceres y al hecho de que su inicio y progresión son multifactoriales, ha sido difícil identificar a todos los factores y señales que conducen a la malignidad en los tumores. La transformación hacia una célula cancerosa se inicia con la participación activa del citoesqueleto en el desarreglo de las uniones celulares que mantienen a las células unidas en el tejido normal y en un cambio de su morfología que les ayuda a migrar. Todas las alteraciones en las funciones de las células se inician por activación de vías de señalización en las que participan diferentes señales específicas que inducen la expresión o silenciamiento de genes, que en una célula normal se encuentran regulados para mantener la homeostasis. Hasta el presente no hay un conocimiento completo del cáncer en sus diversas etapas y de cómo se presenta en diferentes órganos y distintos individuos. Por esta razón, todavía no hay una terapia completamente efectiva y el cáncer sigue siendo un problema de salud muy importante en todo el mundo. Nuestra investigación en colaboración con varios investigadores en instituciones del área médica muestra que la motilidad de las células al ser activadas por una molécula proinflamatoria como es la interleucina IL-1b, presente en el ambiente tumorigénico del organismo, puede dar una señal que inicia el proceso de malignización (fármaco-resistencia y metástasis). Hemos propuesto para el área médica, basándonos en el conocimiento adquirido con nuestra investigación básica, la posibilidad de detener la metástasis mediante un inhibidor de la motilidad ya sea biológico o químico en conjunto con un mediador del proceso inflamatorio en el sitio de un tumor (Figura 10).

Efecto de la IL-1 β en las células MCF-7 de carcinoma mamario



NS = Células **no** estimuladas con IL-1 β .
IL-1 β = células estimuladas.

Figura 10

Bibliografía

- Mendoza-Rodríguez Mónica y colaboradores 2019. IL-1 β inflammatory cytokine induced TP63 isoform DeltaNP63 α signaling cascade contributes to cisplatin resistance in human breast cancer cells. *Int J Mol Sci* Jan 11. Doi10.309/ijms20020270.
- Galván-Moroyoqui Manuel y colaboradores 2011. Pathogenic bacteria prime the induction of Toll-like receptor signaling in human colonic cells by the Gal/GalNAc lectin carbohydrate recognition domain of *Entamoeba histolytica*. *Int J Parasitol* 41:1101-1112.
- Meza Isaura y colaboradores 1980. Occluding junctions and cytoskeleton components in a cultured transport epithelium. *J Cell Biol* 87:746-754.

Isaura Meza Gómez Palacio

PhD, Universidad de California, Berkeley, CA, USA

Profesora Emérita. Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 2



Isaura Meza Gómez Palacio

Profesora Emérita. Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV

Participación de neutrófilos productores de IL-17A en la inflamación crónica de artritis reumatoide

Vianney Ortiz Navarrete, María González Orozco y Rosa Elda Barbosa Cobos

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica que afecta principalmente las articulaciones pequeñas de las manos y los pies, caracterizada por un daño progresivo e irreversible [1]. Sus manifestaciones extra-articulares incluyen afección en la piel (nódulos reumatoides), queratinoconjuntivitis, pleuritis, pericarditis, glomerulonefritis, neuropatía periférica, entre otras [2]. Esta autoinmunidad afecta predominantemente a mujeres y al 1% de la población adulta mundial [1, 3]. Se estima que en México la prevalencia es del 1.6% [4].

En la AR, la inflamación crónica de las articulaciones se caracteriza por una sinovitis e hiperplasia de la membrana sinovial con la concomitante formación de pannus. Particularmente importante de la AR es la acumulación de neutrófilos en el líquido sinovial y en el pannus. Por muchos años se ha considerado que la participación de estas células en la patología de enfermedades inflamatorias como AR se debe a la liberación de productos citotóxicos como metaloproteinasas, elastasas, captasinas, las cuales contribuyen al daño del cartílago. Sin embargo, actualmente se reconoce que los neutrófilos tienen también una participación activa durante la progresión de la inflamación, regulando funciones de otras células del sistema inmune. Esta regulación en gran medida se debe a la capacidad de los neutrófilos para secretar una amplia gama de citocinas y quimiocinas, las cuales modulan la actividad de diversas células del sistema inmune. Los neutrófilos de sangre periférica provenientes de pacientes con AR son funcionalmente diferentes a los de individuos sanos, ya que están mejor capacitados para la producir ROS, expresan elevados niveles de TNF α de membrana y de mieloblastina. Los obtenidos de líquido sinovial secretan diversas citocinas y quimiocinas, además de que las condiciones de hipoxia sinovial incrementan la sobrevivencia de esos neutrófilos a través de IL-8, TNF- α y GM-CSF [5]. Recientemente se descubrió que los neutrófilos obtenidos de la membrana sinovial de pacientes con AR o del pannus expresan IL-17B, mientras que las células cebadas expresan IL-17A, lo que llevó a especular que tal vez la IL-17 A estaría reclutando neutrófilos al tejido inflamado mediante la producción de quimiocinas mientras que la IL17B podría contribuir a la estado crónico de la enfermedad [6].

IL-17A es el miembro prototipo de la familia de citocinas IL-17, que consiste en seis miembros (IL-17A-IL17F). Dentro de las funciones descritas para IL-17A se encuentra el incremento en la producción de quimiocinas (CCL2, CCL20, CXCL2, CXCL8) y citocinas (TNF- α , IL-6, IL-1 β) por parte de los fibroblastos sinoviales, incrementa la producción de metaloproteinasas, bloquea la síntesis de matriz extracelular por parte de los condrocitos, estimula la reabsorción ósea a través del aumentar la expresión del RANKL en osteoblastos y de RANK en precursores de osteoclastos [6, 7]. Las primeras células descritas en producir esta citocina fueron los linfocitos Th17; recientemente se ha descrito que también las células T γ d y neutrófilos son fuente importante de la citocina. Se ha descrito que IL-17 contribuye a la inflamación y la cronicidad de la

AR, sin embargo hay discrepancia en estudios realizados sobre el papel de Th17 como principal productora de IL-17, ya que algunas investigaciones no observan diferencias en la frecuencia de linfocitos Th17 de pacientes con AR con respecto a los individuos sanos, mientras que otros estudios describen un incremento en estas células en líquido sinovial y en sangre periférica de pacientes con AR activa [7]. Estos datos llevan a pensar que otras células productoras de IL-17 estarían participando en las diferentes etapas de la AR, por lo tanto, consideramos a los neutrófilos como los candidatos principales para cumplir dicha función. Para analizar esa posibilidad, establecimos colaboración con los Servicios de Reumatología del Hospital Juárez de México para realizar un estudio observacional, transversal y descriptivo donde determinamos el porcentaje de neutrófilos productores de IL-17, en sangre periférica de pacientes con diagnóstico de AR. Los resultados demostraron incremento en el porcentaje de neutrófilos productores de IL-17A en los pacientes en estado de remisión así como con actividad leve, moderada o severa de la enfermedad (Figura 1) [8]. Estos hallazgos son semejantes a los descritos por nuestro laboratorio en pacientes con asma alérgica, donde encontramos un aumentado el porcentaje de neutrófilos de sangre periférica productores de IL-17 en comparación de individuos sanos [9]. Además, hallamos que moléculas liberadas por el daño de los tejidos, para el caso de AR, el cartilago de las articulaciones, como son ácido hialurónico o fibrinógeno, son capaces de inducir la producción de IL-17 por parte de los neutrófilos, mientras que las citocinas IL-6 e IL-23, cuyos niveles están incrementados en los pacientes con AR, promueven, en los neutrófilos, la expresión del factor de transcripción ROR γ t, proteína indispensable para la síntesis de IL-17 (Figura 2). Con base en nuestros resultados consideramos que en enfermedades donde existe inflamación crónica los neutrófilos contribuyen a mantener ese estado inflamatorio, de tal manera que de la circulación sanguínea se dirigen hacia las articulaciones, donde los productos de daños los activan para producir IL-17A. La IL-17 constituye al daño de las articulaciones activando a los fibroblastos, condrocitos y osteoclastos, coadyuvando con ello a la inflamación crónica.

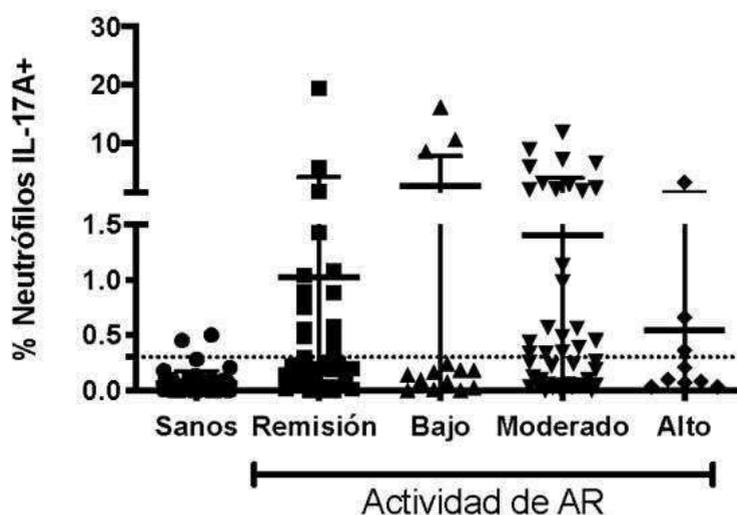


Figura 1. Pacientes que padecen artritis reumatoide poseen altos porcentajes de neutrófilos productores de interleucina 17A. Mediante citometría de flujo, se analizó la frecuencia de neutrófilos productores de IL-17A, ex vivo, en sangre periférica de pacientes con AR e individuos sanos. Los pacientes fueron clasificados de acuerdo al índice de actividad de la enfermedad conocido como DAS28.

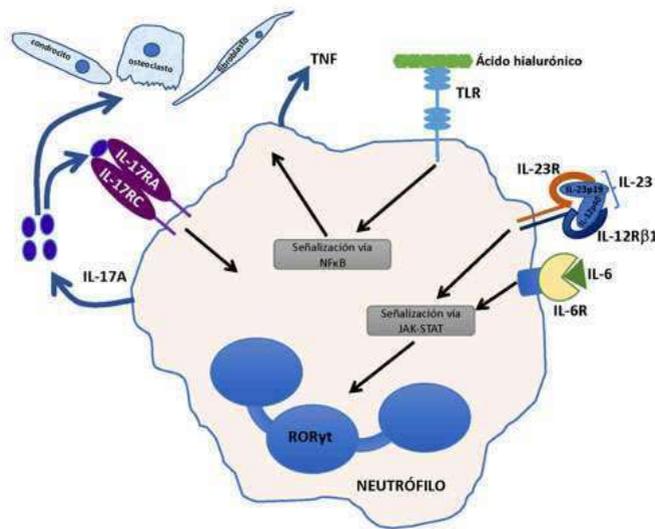


Figura 2. Mecanismos involucrados en la producción y función de IL-17A por los neutrófilos de pacientes con AR. Moléculas de daño como el ácido hialurónico se unen a receptores tipo toll (TLR) induciendo la producción de TNF, mientras que IL-6 e IL-23 conllevan a la producción del factor de transcripción RORγt, indispensable para la producción de IL-17A. La IL-17A tendrá actividad autocrina en el neutrófilo y un efecto paracrino sobre condrocitos, osteoclastos y fibroblastos de las articulaciones.

Bibliografía

1. Grassi, W., et al., *The clinical features of rheumatoid arthritis*. Eur J Radiol, 1998. 27 Suppl 1: p. S18-24.
2. Cojocar, M., et al., *Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis*. Maedica (Buchar), 2010. 5(4): p. 286-91.
3. Khurana, R. and S.M. Berney, *Clinical aspects of rheumatoid arthritis*. Pathophysiology, 2005. 12(3): p. 153-65.
4. Pelaez-Ballesteros, I., et al., *Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology*. J Rheumatol Suppl, 2011. 86: p. 3-8.
5. Wright, H.L., R.J. Moots, and S.W. Edwards, *The multifactorial role of neutrophils in rheumatoid arthritis*. Nat Rev Rheumatol, 2014. 10(10): p. 593-601.
6. Kouri, V.P., et al., *Neutrophils produce interleukin-17B in rheumatoid synovial tissue*. Rheumatology (Oxford), 2014. 53(1): p. 39-47.
7. Lubberts, E., *The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis*. Nat Rev Rheumatol, 2015. 11(10): p. 562
8. Gonzalez-Orozco, M et al, *Endogenous stimulation is responsible for the high frequency of IL-17A-producing neutrophils in patients with rheumatoid arthritis*. Allergy, Asthma Clin Immunol, 2019 Aug 1;15:44. doi: 10.1186/s13223-019-0359-9. eCollection 2019.
9. Ramirez-Velazquez, C., et al., *IL-17-producing peripheral blood CD177+ neutrophils increase in allergic asthmatic subjects*. Allergy Asthma Clin Immunol, 2013. 9(1): p. 23

María González Orozco,¹ Rosa Elda Barbosa Cobos,² Vianney Ortiz Navarrete¹

¹Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México. ²Servicio de Reumatología, Hospital Juárez de México, CDMX, México.



María González Orozco

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México.



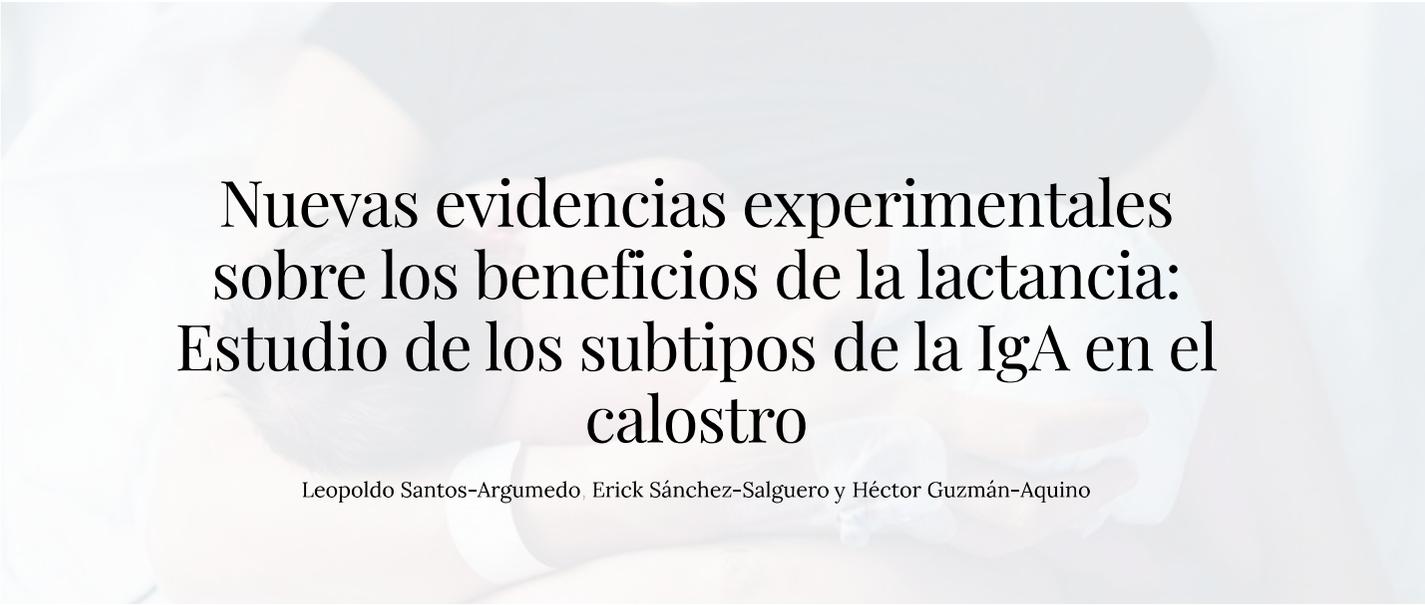
Rosa Elda Barbosa Cobos

Servicio de Reumatología, Hospital Juárez de México, CDMX.



Vianney Ortiz Navarrete

Investigador Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados. Miembro de la del Sistema Nacional de Investigadores (SNI-III).



Nuevas evidencias experimentales sobre los beneficios de la lactancia: Estudio de los subtipos de la IgA en el calostro

Leopoldo Santos-Argumedo, Erick Sánchez-Salguero y Héctor Guzmán-Aquino

E

l nacimiento es un proceso complejo que implica cambios fisiológicos muy importantes tanto para la madre como para el recién nacido. El niño debe hacer frente a las condiciones del medio ambiente del exterior, tales como temperatura, humedad, luz, etc., e iniciar la interacción con una gran cantidad de antígenos propios de la alimentación, la respiración, los patógenos y los microorganismos de la microbiota (Marchant, 2017).

Hoy sabemos que el sistema inmunológico del recién nacido es capaz de responder y establecer una respuesta frente a los microorganismos patógenos (Kollmann, 2017). Sin embargo, su experiencia inmunológica aún es incipiente para, por un lado, identificar y montar tolerancia frente a los antígenos de la microbiota, y por el otro, diferenciar entre los microorganismos dañinos. Esto genera una ventana de susceptibilidad importante y requiere de la protección contra las bacterias potencialmente patógenas que se pueden establecer en el intestino y el tracto respiratorio alto (Kollmann, 2017).

Diversos estudios han demostrado los impactos positivos asociados con una adecuada lactancia materna (Rajani, 2018). Proveer a los recién nacidos de leche materna como alimento exclusivo no sólo ayuda a la prevención contra infecciones; también se ha comprobado la disminución en el riesgo de sufrir enfermedades alérgicas como la rinitis y el asma. Así mismo, se ha visto su papel protector en enfermedades crónicas degenerativas como la obesidad, la hipertensión, la diabetes e incluso algunos tipos de cáncer. Por otro lado, no alimentar al recién nacido con leche materna exclusiva aumenta el riesgo de mortalidad durante el primer año de vida. En países de primer mundo, se calcula que más de 900 muertes súbitas de lactante al año podrían evitarse si el 90% de ellos se alimentara con leche materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida (Briana, 2017).

Por lo anterior, el bebé debe recibir de su madre los factores necesarios para un adecuado desarrollo de su sistema inmunológico; durante el embarazo, por la vía transplacentaria y después del nacimiento, a través de la lactancia. La lactancia se divide en tres etapas: en los primeros tres días posparto se produce el calostro, desde el cuarto día hasta el décimo, una leche de transición y la leche materna madura se produce desde la segunda semana hasta el fin de la lactancia (Ballard, 2013).

Mientras que la leche materna es rica en factores relacionados con la alimentación del niño, el calostro es una fuente de factores que contribuyen a la defensa del recién nacido (Godhia, 2013). El factor, que se encuentra en mayor concentración y se considera de los más importantes, es la IgA materna (Hurley, 2011). En general, la IgA es la inmunoglobulina que más se produce en el cuerpo y se relaciona con la protección

de los epitelios de barrera. La IgA presenta dos subtipos: la IgA1 y la IgA2, con características moleculares bien descritas y con una distribución anatómica muy definida (Woof & Russell M, 2017) (Figura 1).

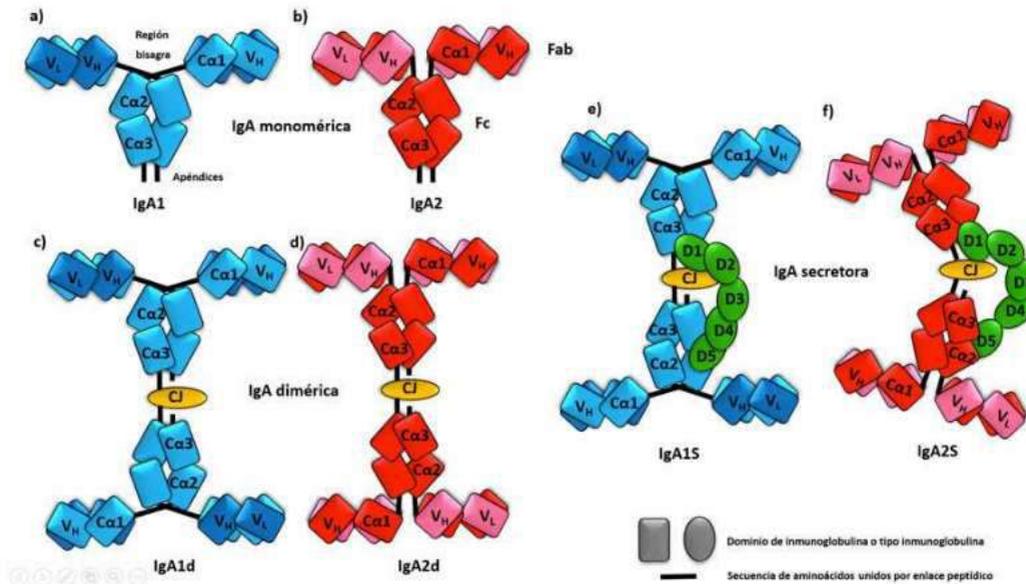


Figura 1. Estructura de los subtipos de la IgA. La figura muestra una representación, comparando los subtipos de la IgA (IgA1 en color azul, IgA2 en color rojo; en amarillo, la cadena de unión; y en verde, el componente secretor). Las secciones a y b muestran los subtipos de la IgA monomérica; las secciones c y d, las estructuras diméricas; y las secciones e y f, los complejos de la IgA secretora. (Sánchez-Salguero & Santos-Argumedo, 2018)

El origen de esta IgA materna viene de, principalmente, las células plasmáticas productoras de IgA generadas como respuesta a una infección en los sitios inductores de la respuesta inmunológica como son la piel, el tracto gastrointestinal y las vías respiratorias altas. Estos sitios anatómicos están en constante interacción con millones de microorganismos de la microbiota, los patógenos y los antígenos del medio ambiente (Brandtzaeg, 2013) a las cuales la madre está expuesta durante las infecciones.

Durante el embarazo, a través de la regulación hormonal, los precursores de las células plasmáticas IgA1+ ($\alpha 4\beta 1+$) o IgA2+ ($\alpha 4\beta 7+$) pueden migrar desde los sitios inductores a la glándula mamaria y residir en la periferia de los acinos mamarios hasta el momento de la lactancia (Pakkanen, 2010). La IgA materna es producida localmente por las células plasmáticas en los acinos mamarios y transportada al calostro y la leche por medio de la transcitosis. La IgA materna en el recién nacido jugará un papel importante en su protección, a través de la exclusión inmunológica y el mantenimiento de la homeostasis (Bunker & Bendelac, 2018).

Se podría esperar que esta experiencia inmunológica que la madre ha acumulado participaría de forma importante en la protección del recién nacido mediante la transferencia materna de la IgA presente en el calostro y la leche. Sin embargo, los estudios epidemiológicos que han evaluado el efecto de esta susceptibilidad en los niveles de IgA de calostro, no encuentran diferencias entre mujeres sanas y mujeres con episodios infecciosos durante el embarazo, o con resultados variables, dependiendo del tipo de vacuna o antígeno (Healy, 2012). Ladjeva y col. (Ladjeva, 1989) demostraron variaciones en la distribución de las subclases de la IgA1 y la IgA2 en 18 muestras de calostro, y analizaron la reactividad de la IgA contra polisacáridos y proteínas. Tanto la IgA1 como la IgA2 reconocieron al lipopolisacárido, pero la especificidad para las proteínas se encontró predominantemente dentro de la IgA1.

Ya que la mayoría de estos trabajos se ha limitado a la determinación de los niveles de IgA total, sin hacer la diferenciación entre la IgA1 y la IgA2 (Maertens, 2014), en nuestro laboratorio nos dimos a la tarea de cuantificar los niveles de inmunoglobulinas en el calostro de 900 madres mexicanas, mediante la técnica de ELISA cuantitativa, con énfasis en los niveles de la IgA1 y la IgA2. Los resultados indicaron que existe una correlación entre los niveles más altos de la IgA1 en el calostro de mujeres que cursaron un mayor número de infecciones en el tracto respiratorio y en la piel. En contraste, la IgA2 se encontró elevada en el calostro

de mujeres que cursaron un mayor número de infecciones en el tracto gastrointestinal durante el embarazo (Sánchez-Salguero, 2019) (Figura 2).

En conclusión, la presencia de infecciones durante el embarazo aumenta los niveles de la IgA en el calostro. Este incremento es dependiente del sitio de inducción de la respuesta, siendo distinto entre la mucosa respiratoria, donde predomina en el calostro la respuesta por la IgA1 y la mucosa digestiva, donde el incremento observado es con la IgA2. Estos datos proveen evidencias para entender el efecto de las inmunizaciones e infecciones durante el embarazo que una mujer clínicamente sana puede presentar de manera normal. Esto nos da una idea de los posibles efectos que tendría en la protección del recién nacido y del papel individual de los subtipos de IgA en la transferencia materna.

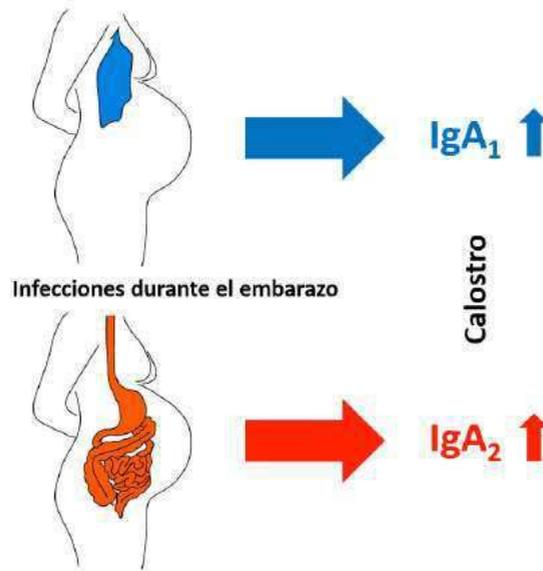


Figura 2. Los niveles de los subtipos de la IgA en calostro se aumentan en mujeres con mayor incidencia de episodios infecciosos dependiendo del sitio de infección.

Referencias

- Ballard, O. (2013). Human milk composition, nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.*, 60, 49-74.
- Brandtzaeg, P. (2013). Secretory IgA: designed for anti-microbial defense. *Front Immunol.*, 6(4), 222.
- Briana, D. (2017). Novel bioactive substances in human colostrum: could they play a role in postnatal adaptation?. *The journal of maternal fetal & neonatal medicine.*, 30(5).
- Bunker, J., & Bendelac, A. (2018). IgA responses to Microbiota. *Immunity*, 49(2), 211-224.
- Godhia, M. (2013). Colostrum – its composition, benefits as a nutraceutical – a review. *Curr Res Nutr Food Sci.*, 137-47.
- Healy, C. (2012). Vaccines in pregnant women and research initiatives. *Clin Obstret Gynecol.*, 55(2), 474-86.
- Hurley, W. (2011). Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients.*, 3(4), 442-74.
- Kollmann, T. (2017). Protecting the newborn and young infant from infectious diseases: lessons from immune ontogeny. 46, 350-63.
- Ladjeva, I. (1989). IgA subclasses of human colostrum antibodies specific for microbial and food antigens. *Clin Exp Immunol.*, 78(1), 85-90.
- Maertens, K. (2014). Breastfeeding after maternal immunisation during pregnancy: providing immunological protection to the newborn: a review. *Vaccine.*, 32, 1786-92.
- Marchant, A. (2017). Maternal immunisation: collaborating with mother nature. *The lancet infectious diseases.*, 17(7), 197-208.

- Pakkanen , S. (2010). Expression of homing receptors on IgA1 and IgA2 plasmablasts in blood reflects differential distribution of IgA1 and IgA2 in various body fluids. *Clin Vaccine Immunol.*, 17(3), 393-401.
- Rajani, P. (2018). Immunologically active components in human milk and development of atopic disease, with emphasis on food allergy, in the pediatric population. *Front Pediatr.*, 6(218).
- Sánchez-Salguero, E. (2019). Infectious episodes during pregnancy, at particular mucosal sites, increase specific IgA1 or IgA2 subtype levels in human colostrum. *Maternal health, neonatology and perinatology.*, 5(9), 1-8.
- Sánchez-Salguero, E., & Santos-Argumedo , L. (2018). [Human microbiota association with immunoglobulin A and its participation in immune response]. *Rev Alerg Mex*, 65(3), 264-278.
- Woof, J., & Russell M. (2017). Structure and function relationships in IgA. *Mucosal immunology.*, 4(6), 590-7.

Erick Sánchez-Salguero,¹ Héctor Guzmán-Aquino,^{1,2} Leopoldo Santos-Argumedo^{1*}

¹Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México.

²Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud, Unidad Milpa Alta (CICSUMA), Instituto Politécnico Nacional (IPN), CDMX, México.

*Correspondencia: lesantos@cinvestav.mx Investigador titular 3E y Jefe del Departamento de Biomedicina Molecular. CINVESTAV-IPN.

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 2



Erick Sánchez-Salguero

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), CDMX, México.



Héctor Guzmán-Aquino

Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud, Unidad Milpa Alta (CICSUMA), Instituto Politécnico Nacional (IPN), CDMX, México.



Leopoldo Santos-Argumedo

Jefe del Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Doctorado (1989) en la especialidad en Inmunología, por la ENCB, IPN. Realizó estudios posdoctorales en el Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Investigación Médica, Mill Hill, Londres, Reino Unido (1989-1991); y, en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigación DNAX, Palo Alto Cal., EE. UU. (1991-1993). Ha supervisado 27 tesis de doctorado y 40 tesis de maestrías.

Nuevo blanco farmacológico para el tratamiento del Cáncer Pancreático y Colorrectal

Miguel Angel Vargas Mejia, Paola Briseño-Díaz, Diana Casique-Aguirre, Pedro Cruz-Nova, Dayan A Carrion-Estrada y Rocío Thompson-Bonilla

La identificación de genes implicados en el desarrollo de algunos tipos de cáncer humanos da pauta para la investigación de nuevas estrategias farmacológicas contra estas patologías¹. Un ejemplo claro de esto fue la tipificación de mutaciones activadoras del proto-oncogén KRAS, debido a que éstas ocurren en alrededor del 20% en los cánceres humanos; de manera importante se han identificado en las neoplasias con el peor pronóstico de supervivencia, como lo son el cáncer pancreático (90%), colorrectal (40%) y pulmonar (30%). Menos del 20% de los pacientes diagnosticados con cáncer pancreático sobreviven el primer año y el 5% sobreviven 5 años².

En México, el cáncer pancreático se posiciona en la octava posición de muerte por neoplasia, presentando un riesgo alto en los estados del norte del país³; el cáncer colorrectal es la tercera causa de muerte³. Este mal pronóstico se debe a la baja respuesta que tiene la enfermedad a los tratamientos convencionales y su alta agresividad promovida por el desarrollo de quimiorresistencia a la mayoría de los tratamientos farmacológicos convencionales e incluso a la radioterapia, así como un diagnóstico tardío⁴.

Las mutaciones del gen KRAS son generalmente asociadas con la resistencia al tratamiento. Por ejemplo, los cánceres de pulmón con KRAS mutado son generalmente resistentes a los inhibidores de pequeñas moléculas dirigidas al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y en el cáncer colorrectal, las mutaciones de KRAS predicen la mala respuesta al tratamiento con anticuerpos anti-EGFR⁵. La proteína K-Ras es de gran importancia para el desarrollo, mantenimiento y progresión del adenocarcinoma ductal pancreático, ya que está involucrada en la regulación de la división celular por la vía de señalización RAS/MAPK, en la que la proteína transmite señales del exterior de la célula al núcleo y da instrucciones de división y/o diferenciación. La proteína K-Ras es una GTPasa, es decir, convierte a una GTP en GDP y así se inactiva y no transmite señales al núcleo; K-Ras se activa mediante su unión a GTP. En condiciones normales, las proteínas Ras se encuentran en equilibrio entre la forma activa e inactiva, pero las formas mutantes pierden la capacidad de hidrolizar al GTP y siempre permanecen en su forma activa. Por lo anterior, se buscan fármacos que logren interferir con los procesos de señalización de KRAS. Las proteínas de la subfamilia RAS y en específico la proteína KRAS, son miembros de una amplia clase de proteínas conocidas como proteínas CAAX⁶. Esto se debe a que la secuencia del extremo C-terminal presenta los aminoácidos CAAX (C: cisteína, A: aminoácido alifático, X: cualquier aminoácido) y dicha secuencia es modificada postraduccionalmente para conferir a las proteínas RAS afinidad por la membrana plasmática (para su posterior activación). Esta modificación es la incorporación de un grupo farnesilo en la cisteína del motivo CAAX⁷. La correcta localización y señalización de KRas4B es regulada por la proteína PDE6δ, la cual facilita su difusión en el citoplasma en donde consigue realizar señalizaciones que promueven el ciclo celular⁶. Dado que el transporte de KRas4B a la membrana plasmática es indispensable para la señalización

celular, se han identificado compuestos que impiden la interacción del complejo heterodimérico KRas4B/PDE6 δ ⁷. El compuesto denominado Deltarasin, presenta una actividad inespecífica al no solamente afectar a las células cancerosas sino también a las células sanas⁸, debido a que la PDE6 δ tiene un amplio repertorio de proteínas blanco además de la GTPasa KRas4B.

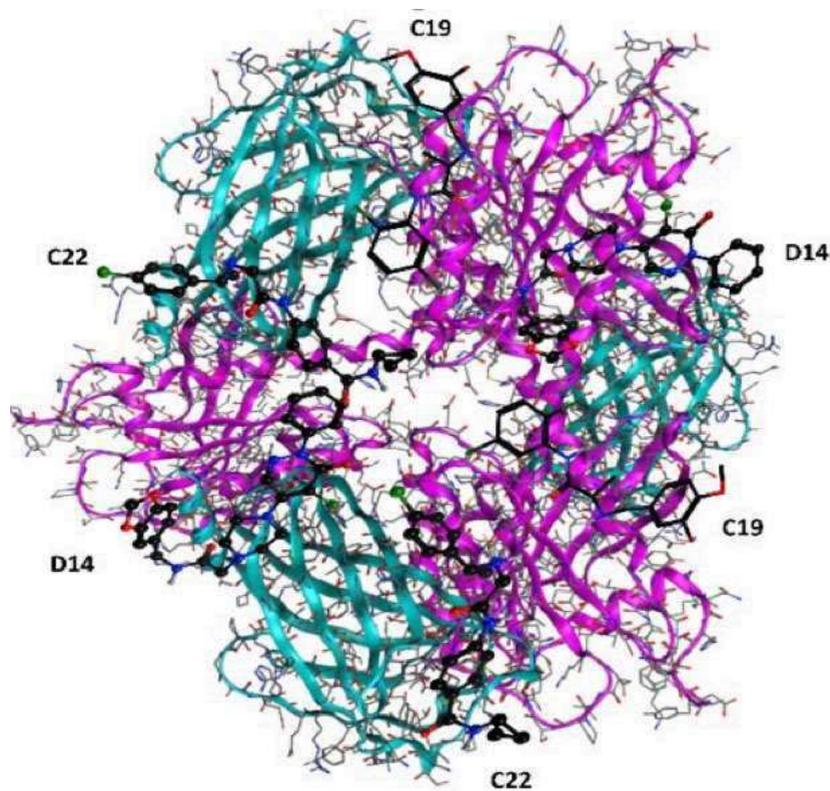


Figura 1. Estructura cristalográfica del multicomplejo heterodimérico KRas4B/PDE6 δ (Rosa KRas4B y Aqua PDE6 δ) y las interacciones de los compuestos D14, C22 y C14.

En nuestro grupo de trabajo nos enfocamos a estabilizar al complejo heterodimérico KRas4B/PDE6 δ a través de softwares bioinformáticos, identificando pequeñas moléculas orgánicas con capacidad de interactuar con el complejo heterodimérico (Figura 1). Obteniendo los compuestos con mayor score de interacción se realizaron ensayos de viabilidad identificando a los compuestos que presentarían mayor efecto citotóxico sobre líneas celulares de cáncer pancreático y no sobre líneas celulares normales; estos compuestos fueron denominados como D14 y C22⁸. Por otro lado, se evaluaron los compuestos en líneas celulares de cáncer colorrectal identificando al compuesto C19, el cual presentó alta citotoxicidad en líneas celulares onco-dependientes de KRas4B⁹. Estos compuestos mostraron una disminución en la activación de Ras dando como resultado una disminución en la vías de señalización de AKT y ERK, implicando una reducción en la proliferación celular, supervivencia, y aumentando la muerte celular *in vitro*. Estos resultados se vieron reflejados en ensayos *in vivo* en modelos de xenoinjerto subcutáneo de cáncer pancreático y colorrectal (Figura 2)^{8,9}. En conclusión, podemos sugerir que los compuestos D14, C22 y C19 son nuevas drogas dirigidas contra el cáncer pancreático y colorrectal. Actualmente contamos con nuevos compuestos y análogos de éstos, los cuales muestran una mayor potencia farmacológica antineoplásica, específica, sobre las células cancerosas.

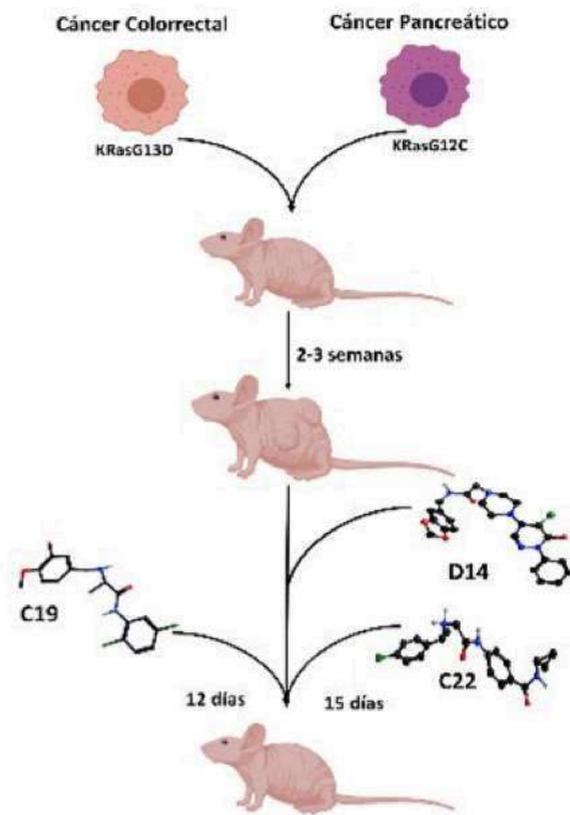


Figura 2. Modelo de xenoinjerto subcutáneo de cáncer pancreático y colorrectal tratados con los compuestos D14, C22 y C19, induciendo disminución tumoral.

Referencias

1. Sawyers CL, & van 't Veer LJ. Reliable and effective diagnostics are keys to accelerating personalized cancer medicine and transforming cancer care: a policy statement from the american association for cancer research. *Clin Cancer Res.* 2014; 20. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2295
2. Cox AD, Fesik SW, Kimmelman AC, et al. Drugging the undruggable RAS: Mission possible? *Nat Rev Drug Discov.* 2014; 13. doi: 10.1038/nrd4389.
3. Rizo-Ríos P, González-Rivera A, Sánchez-Cervantes F, et al. Trends in cancer mortality in Mexico: 1990–2012. *Revista Médica del Hospital General de México.* 2015; 78. doi.org/10.1016/j.hgmx.2015.03.010
4. Ducreux M, Seufferlein T, Van Laethem JL, et al. Systemic treatment of pancreatic cancer revisited. *Semin Oncol.* 2019; 46. doi: 10.1053/j.seminoncol.2018.12.003
5. Singh S, Trevino J, Bora-Singhal N, et al. EGFR/Src/Akt signaling modulates Sox2 expression and self-renewal of stem-like side-population cells in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer.* 2012; 11. doi: 10.1186/1476-4598-11-73
6. Ahearn IM, Haigis K, Bar-Sagi D, et al. Regulating the regulator: post-translational modification of RAS. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011; 13. doi: 10.1038/nrm3255.
7. Zimmermann G, Papke B, Ismail S, et al. Small molecule inhibition of the KRAS-PDEdelta interaction impairs oncogenic KRAS signalling. *Nature.* 2013; 497. doi: 10.1038/nature12205
8. Casique-Aguirre D, Briseno-Diaz P, Garcia-Gutierrez P, et al. KRas4B-PDE6delta complex stabilization by small molecules obtained by virtual screening affects Ras signaling in pancreatic cancer. *BMC Cancer.* 2018; 18. doi: 10.1186/s12885-018-5142-7
9. Cruz-Nova P, Schnoor M, Correa-Basurto J, et al. The small organic molecule C19 binds and strengthens the KRAS4b-PDEdelta complex and inhibits growth of colorectal cancer cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer.* 2018; 18. doi: 10.1186/s12885-018-4968-3

Paola Briseño-Díaz¹, Diana Casique-Aguirre¹, Pedro Cruz-Nova¹, Dayan A Carrion-Estrada¹, Rocío Thompson-Bonilla², Miguel Vargas¹

¹Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México.

² Investigación Biomédica y Traslacional, Laboratorio de Medicina Genómica, Hospital 1° de Octubre, ISSSTE, México, México

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 2



Dayan A Carrion-Estrada

Estudiante de doctorado del Departamento de Biomedicina Molecular del Centro de investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional- Cinvestav.



Diana Casique-Aguirre

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México.



Miguel Angel Vargas Mejia

Investigador titular 3C y SNI II del Departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV. Laboratorio de cancerología farmacológica. Se ha especializado en la evaluación de nuevas terapias farmacológicas no tóxicas y específicas contra las células cancerosas pancreáticas y de otras neoplasias a través de la inhibición específica del complejo molecular heterodimérico KRAS4B oncogénico y de su transportador PDE en las células cancerosas.



Paola Briseño-Díaz

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN



Pedro Cruz-Nova

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México.



Rocío Thompson-Bonilla

Investigación Biomédica y Traslacional, Laboratorio de Medicina Genómica, Hospital 1° de Octubre, ISSSTE

Cortactina es un nuevo biomarcador en leucemia linfoblástica aguda infantil para identificar pacientes con recaída a médula ósea

Michael Schnoor, Martha Velázquez-Avila, Juan Carlos Balandrán y Rosana Pelayo



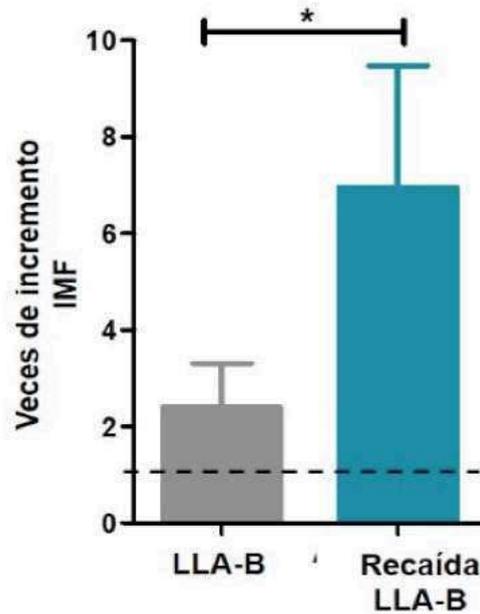
El cáncer es la principal causa de muerte en niños y adolescentes a nivel mundial, siendo la leucemia linfoblástica aguda el más común de acuerdo con datos actuales del Globocan 2018 de la Organización Mundial para la Salud, caracterizada por un gran número de células inmaduras del linaje linfóide en la médula ósea.

Aunque la mayoría de los pacientes entra en remisión, es decir, después de llevar un esquema de quimioterapia el paciente es declarado libre de enfermedad, la preocupación y el gran reto son las recaídas, que suceden en casi el 30% de los pacientes en remisión y que se presentan con la reaparición de las células malignas en la médula ósea o por la infiltración de éstas a otros órganos como cerebro, testículos o pulmón¹.

La recaída es la etapa más crítica, ya que la enfermedad regresa de una forma más agresiva, principalmente por la fármaco-resistencia, lo que conduce en la mayoría de estos casos a un desenlace fatal.

Dado que en los casos de recaídas, la resistencia al tratamiento y la infiltración a órganos agravan el pronóstico, es necesario entender mejor los mecanismos implicados para estratificar a los pacientes y así proveerles mejores alternativas de tratamiento. En la actualidad existe evidencia que procesos moleculares que les permiten a las células malignas adherirse, migrar y salir del flujo sanguíneo podrían ser la clave².

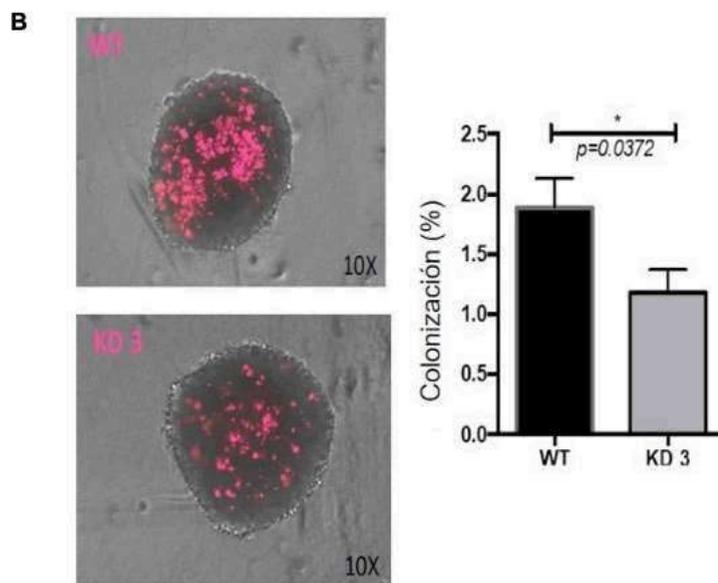
Para que las células tanto normales como malignas migren necesitan de proteínas que remodelen el citoesqueleto de actina, que en la célula es la estructura que le da soporte, integridad, flexibilidad y movimiento. Dentro de la familia de proteínas que se unen a actina se encuentra la cortactina, la cual regula la adhesión y migración celular, y ha sido ampliamente estudiada en diferentes tipos de cáncer sólido. Sin embargo, nada se sabe del papel de la cortactina en las leucemias linfoblásticas agudas (LLA).

A

A) Los pacientes con recaída en LLA-B expresan los mayores niveles de cortactina, respecto a los pacientes al primer diagnóstico. La gráfica expresa la intensidad media de fluorescencia (IMF) de cortactina por citometría de flujo y se expresa como veces de incremento.

Como resultado de un proyecto de vinculación entre el Cinvestav y el Instituto Mexicano del Seguro Social, reportamos por primera vez en la prestigiosa revista *Leukemia* que cortactina se encuentra sobre-expresada en pacientes pediátricos con LLA de células B (la leucemia más común en esta población) ³. Interesantemente, detectamos que la mayor expresión se encuentra en pacientes con recaída con una expresión tres veces más alta que en el resto de los pacientes (Figura 1A). Adicionalmente, nuestro análisis reveló que los altos niveles de la proteína también se asocian con la fármaco-resistencia, por lo que hemos propuesto a cortactina como un potencial marcador pronóstico de riesgo y blanco terapéutico.

Dado las funciones de cortactina como una proteína reguladora de la migración, demostramos por ensayos funcionales y con ayuda de la tecnología CRISPR/Cas9 (para disminuir la expresión de la proteína en estas células), que la cortactina está involucrada en la capacidad de extravasación de las células leucémicas, la colonización de estructuras 3D formadas por células estromales de la médula ósea que emulan el microambiente dentro de ella (Figura 1B). Cuando inyectamos estas células en ratones, también determinamos la importancia de la cortactina para la capacidad de infiltración a órganos como cerebro, testículos, y pulmón, los principales órganos de infiltración que se observan en la clínica, ya que células deficientes de cortactina casi no infiltran estos órganos.



B) Cortactina participa en la colonización de la médula ósea en LLA-B. Células leucémicas genéticamente modificadas para disminuir la expresión de cortactina, se emplearon para colonizar estructuras en 3D que simulan la médula ósea. Las células depletadas de cortactina (células knock-down, KD) disminuyen la capacidad de colonización respecto a las células leucémicas normales (Wild-type, WT). Las células leucémicas se muestran en color rosa.

Por lo anterior, hemos descubierto que cortactina participa en la progresión de la enfermedad y que sus niveles se asocian a la gravedad de la misma. La inclusión del análisis de cortactina en LLA-B podría permitir la posible identificación de las células responsables de la recaída y de la quimioresistencia en LLA-B.

Referencias:

1. Jiménez-Hernández E, Jaimes-Reyes EZ, Arellano-Galindo J, et al. Survival of Mexican Children with Acute Lymphoblastic Dana-Farber Cancer Institute 00-01. 2015;2015. doi:10.1155/2015/576950
2. Ebinger S, Özdemir EZ, Ziegenhain C, et al. Characterization of Rare, Dormant, and Therapy-Resistant Cells in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Cell*. 2016. doi:10.1016/j.ccell.2016.11.002
3. Velázquez-Avila M, Baladrán JC, Ramírez-Ramírez D, et al. High cortactin expression in B-cell acute lymphoblastic leukemia is associated with increased transendothelial migration and bone marrow relapse. *Leukemia*. 2018;1. doi:10.1038/s41375-018-0333-4

Martha Velázquez-Avila,^{1,2} Juan Carlos Baladrán,^{1,2} Rosana Pelayo,² Michael Schnoor¹

¹Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México. ²Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Delegación Puebla, Instituto Mexicano del Seguro Social, Metepec, Puebla, México



Juan Carlos Balandrán

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México. Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Delegación Puebla, Instituto Mexicano del Seguro Social, Metepec, Puebla, México



Martha Velázquez-Avila

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, 07360 Ciudad de México, México. Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Delegación Puebla, Instituto Mexicano del Seguro Social, Metepec, Puebla, México



Michael Schnoor

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav, Unidad Zacatenco



Rosana Pelayo

Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Delegación Puebla, Instituto Mexicano del Seguro Social, Metepec, Puebla, México

Splicing en *Papillomavirus* tipo 16 y su participación en cáncer cervicouterino

Nicolas Villegas Sepulveda Raul Bonilla-Moreno Carolina Vaisman Israel Garcia Aguiar Norberto Ivan Bautista Gaytán y Remberto Conde-Campos

Los *Papillomavirus* son virus pequeños, con un genoma de doble cadena de ADN de aproximadamente 8000 pares de bases (pb). Se encuentran ampliamente distribuidos e infectan diversas especies, desde aves a mamíferos, incluyendo a los humanos. En general, infectan las células epiteliales y de las mucosas de su hospedero, producen lesiones hipertróficas del epitelio como verrugas y mezquinos. Los *Papillomavirus* penetran por lesiones pequeñas (micro-lesiones) hasta las células más indiferenciadas del epitelio (células basales del epitelio) y las infectan. Estas células tienen capacidad de dividirse y diferenciarse, por lo que en una célula basal infectada el virus se propaga a las células hijas que produce o a las células hijas que se diferencian; los *Papillomavirus* producen infecciones persistentes y poco productivas, es decir, generan pocas partículas virales que se liberan con las células epiteliales más diferenciadas, al ser eliminadas de la piel por descamación o por su recambio en las células de las mucosas.

Los *Papillomavirus* se asocian con el nombre de la especie que infectan, por ejemplo, *Papillomavirus* bovino, humano, aviar, etc. Se conocen aproximadamente 200 genotipos del *Papillomavirus* humano (HPV por las siglas de su nombre en inglés), y se acompañan de un número que designa a cada genotipo, por ejemplo HPV-1, HPV-16, HPV-18, etc. En México también se les conoce como: VPH-1, VPH-16, VPH-18 etc., por sus siglas en español. Algunos de los genotipos del HPV confieren un alto riesgo para cáncer cervicouterino y cáncer de la cavidad oral: cáncer de Laringe, de Faringe, del Paladar, de la Lengua etc., y se conocen como VPH de alto riesgo oncogénico, ejemplos son los HVP-16, HVP-18 y HVP-33. La mayoría de los HVP no confieren gran riesgo oncogénico (HPV de bajo riesgo) y sólo producen mezquinos y verrugas; algunos ejemplos son HPV-5, HPV-6, HPV-11, HPV-20, etc. El cáncer cervicouterino representa un grave problema de salud, cada año se producen medio millón de casos nuevos en el mundo y alrededor de 7000 en nuestro país. Desafortunadamente, el 50% de los casos no responden a los tratamientos combinados de quimio y radio terapia, por lo que la mitad de los afectados con este cáncer fallecen por mala respuesta al tratamiento.

Las lesiones hipertróficas de la piel que generan las infecciones de HPV, se producen porque el virus transforma de manera no maligna a las células infectadas. Una célula transformada es aquella que se propaga con una tasa de división más alta de lo normal, o en condiciones en las que no deba propagarse. Esto facilita que en las células de la *cérvix* se acumulen las mutaciones producidas por estímulos ambientales, por ejemplo, radiación, exposición a químicos o los compuestos del humo del cigarrillo. Los genes del HPV que son los principales responsables de la transformación celular, se conocen como oncogenes (ejemplos, los genes E6 y E7 de HPV-16). Los virus de alto riesgo oncogénico detectados más frecuentemente en cáncer cervicouterino son: HPV-16, HPV-18 y HPV-33. Es aceptado, que el nivel de

riesgo oncogénico se basa en la capacidad de sus oncogenes E6 y E7 para unirse a las proteínas celulares que son su blanco: las proteínas P53 y RB. Ambas proteínas controlan la muerte celular programada y la división celular, respectivamente. Destaca que el HPV-16 se detecta hasta en 60% de los tumores de *cérvix* (se considera el tipo viral con mayor riesgo oncogénico), y esto se correlaciona con su capacidad de producir un mayor número de transcritos alternativos por *splicing* de sus oncogenes E6/E7.

Los ácidos ribonucleicos mensajeros (mRNAs, por su siglas en inglés) de virus de alto riesgo oncogénico se transcriben como RNAs policistrónicos (o transcritos policistrónicos) y se procesan por *splicing* (en español se traduce como corte y empalme). Un *policistrón* puede codificar varios genes en su RNA. Todos los transcritos policistrónicos de HPV son procesados por *splicing*. En el caso del cáncer cervicouterino, los genes que se expresan principalmente son los oncogenes E6/E7, los responsables de la transformación celular. Los transcritos de los oncogenes E6 y E7 de los virus de alto riesgo oncogénico se procesan por *splicing*, el transcrito *policistrónico* se llama E6/E7, mientras que los de los virus de bajo riesgo no se procesan por *splicing*. Los mRNAs de los oncogenes E6/E7 del HPV-16, producen 4 formas al ser procesados por *splicing* (Fig.1), mientras que los mRNAs de los oncogenes de otros virus de alto riesgo (por ejemplo HPV-18), sólo producen 2 formas de mRNA por *splicing*. El resultado del *splicing* es que se producen la oncoproteína E7 y 4 formas de la oncoproteína E6, la proteína completa y 3 formas cortas en el caso de HPV-16 y sólo 2 formas en HPV-18. El trabajo en mi laboratorio inició con esa interesante observación y nos preguntamos “¿puede contribuir con un mayor riesgo oncogénico la capacidad de los oncogenes de E6/E7 de HPV-16 para producir un mayor número de formas de sus transcritos? Los resultados publicados y no publicados de nuestro grupo sugieren que el *splicing* de los oncogenes E6/E7, participa en parte, y puede generar diversidad en los tumores de cáncer cervicouterino, como se explica a continuación.

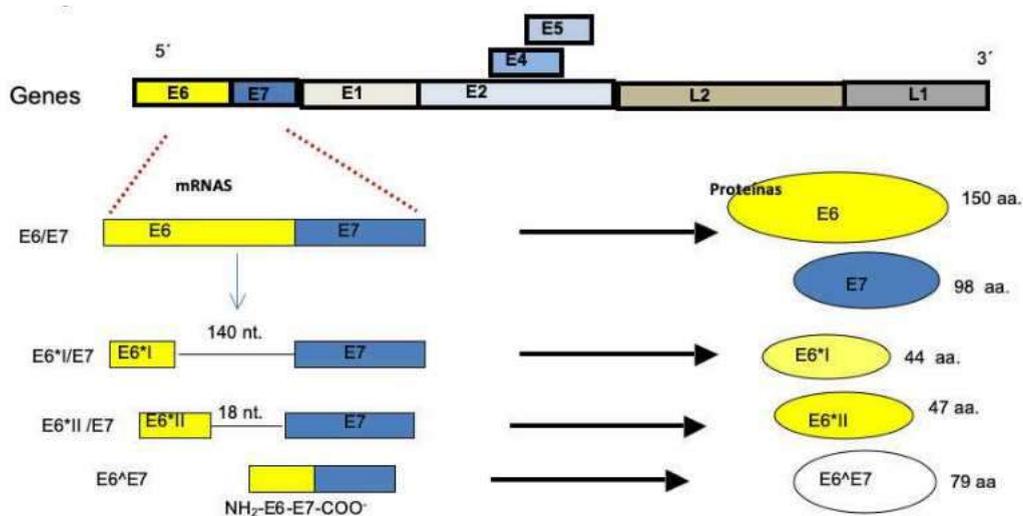


Figura 1 representación de la estructura genética del Papilomavirus tipo 16 (HPV-16) y del *splicing* alternativo de los oncogenes E6/E7, se representan Genoma viral, el mRNA policistrónico de E6/E7 y los mRNAs alternativos que se producen por *splicing*, así como las proteínas que codifican.

Una observación interesante de otros laboratorios y el nuestro, es que los tumores expresan de manera heterogénea las 4 formas de los transcritos de E6/E7 de HPV-16 y esto mismo se observa en las líneas celulares derivadas de tumores de *cérvix* que contiene HPV-16 (Fig. 2A). El resultado de esta expresión heterogénea de mRNAs, es que se pueden producir diferentes niveles de las formas de la proteína oncogénica de E6 en los tumores y también en líneas celulares derivadas de los tumores. De manera intrigante, los tumores de diversos tipos de cáncer son heterogéneos y esto también ocurre en los tumores de *cérvix*. Es decir, los tumores presentan diferencias importantes (de expresión) entre pacientes y aun en el mismo paciente, cuando hay varios focos del tumor. Las diferencias pueden ser de expresión en algunas proteínas e incluso en mutaciones y re-arreglos genéticos, esta característica les confiere propiedades importantes a los tumores, lo que les permite tener una capacidad selectiva y adaptativa de supervivencia a las células tumorales, e incluso adquirir propiedades de resistencia a los tratamientos quimio- y radio-terapéuticos. Por ellos, nos preguntamos si la expresión heterogénea de los transcritos de E6/E7 de HPV-16, es un reflejo de la diversidad de los tumores de cáncer cervical, o viceversa, la

heterogeneidad de expresión de las diferentes formas de los oncogenes E6, contribuye a la diversidad tumoral. La respuesta parece ser compleja y hay contribución de varios factores, por ejemplo, la variación en los niveles de varias de las proteínas celulares que se unen al mRNA, los cambios en los niveles de expresión de las diferentes formas de la oncoproteína E6, y las formas diferentes de esta proteína, que pueden a su vez tener diferentes consecuencias en los mecanismos de resistencia a la apoptosis, un tipo de muerte celular programada, lo que trae como consecuencia una respuesta diferencial a diversos medicamentos quimio-terapéuticos. Estos agentes quimio-terapéuticos inducen apoptosis en las células de cáncer. Desafortunadamente, la mitad de las pacientes de cáncer cervicouterino finalmente fallecen (la vida a 5 años después del diagnóstico, es de 50-60%) por mala respuesta al tratamiento, y porque los tumores resurgen más agresivos y producen nuevos focos e incluso metástasis a otros tejidos.

Cada una de las formas de *splicing* alternativo del oncogen E6 contribuye diferencialmente a la resistencia a la apoptosis. Lo anterior lo demostramos al introducir (por transfección) cada una de las formas de *splicing* del oncogen E6 (contenidas c/u en un plásmido) en una línea celular de cáncer cervicouterino libre de HPV (Fig.2 B). Sin embargo, la participación del oncogen E6 en apoptosis es complejo, ya que como se mencionó afecta la función y niveles de expresión del proteína P53 y también es capaz de unirse o afectar la expresión de varios factores importantes para la apoptosis celular, como son el receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR1) y algunas proteínas asociadas a este receptor llamadas FADD, TRAF3, Caspasa-8 o de las proteínas inhibitoras de la apoptosis como: BCL2 y cIAPs 1 y 2. Aún se requiere mucho trabajo de investigación para comprender mejor la participación de las formas alternativas de la oncoproteína de E6 en la heterogeneidad tumoral , específicamente en los mecanismos de resistencia a la apoptosis.

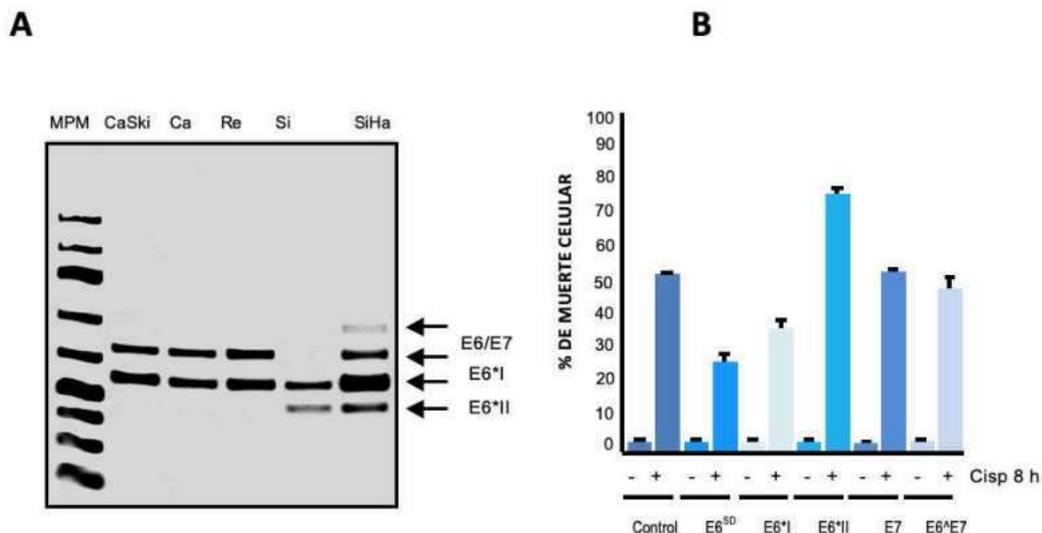


Figura 2 A) Se observa el patrón heterogéneo de los transcritos alternativos de *splicing* de la región de los oncogenes de E6 y E7 de HPV-16 obtenido de RNA total de células CaSki, de la células C33-A transfectadas con diferentes secuencia de los genes de E6/E7 de HPV-16 [obtenidos de células CaSki (Ca), virus de referencia (R) y de células SiHa (Si), respectivamente] y por último el patrón que se presenta en las células SiHa. B) Nivel de muerte celular inducida por 100 µg/ ml de cisplatino (cisp) en células C33-A transfectadas con las cDNAs de cada una de las formas alternativas de *splicing* de E6 (E6*I, E6*II, E6*E7) y de los genes de E6 y E7 de HPV-16 obtenidos usando RNA total de células CaSki. Control se refiere a las células C33-A transfectadas con solo el plásmido.

Raul Bonilla-Moreno, Carolina Vaisman, Israel Garcia Aguiar, Norberto Ivan Bautista Gaytán, Remberto Conde-Campos y Nicolas Villegas-Sepulveda.

Departamento de Biomedicina Molecular Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN



Carolina Vaisman

Departamento de Biomedicina Molecular Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN



Israel García Aguiar

Departamento de Biomedicina Molecular Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN



Nicolas Villegas Sepulveda

Profesor Investigador Titular del Departamento de Biomedicina Molecular. Cinvestav 3C. INVESTIGADOR NACIONAL Nivel II



Norberto Ivan Bautista Gaytán

Departamento de Biomedicina Molecular Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN



Raul Bonilla-Moreno

Departamento de Biomedicina Molecular Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN



Remberto Conde-Campos

Departamento de Biomedicina Molecular Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN

The background of the page features a light pink illustration. At the top, several red, spherical virus particles with protruding spikes are scattered. In the center, a pair of human lungs is depicted in a light pink color. A large magnifying glass is positioned over the left lung. To the right, a doctor in a white coat stands on a tall ladder, pointing towards the right. At the bottom center, another doctor in a white coat sits on the floor, working on a laptop. The overall theme is medical research and the global spread of COVID-19.

COVID-19, la enfermedad viral que se diseminó en el mundo

Leticia Cedillo-Barrón, Verónica Lopez-Perrusquilla, Julio García-Cordero y Giovani Visososo-Carvajal



mediados del pasado mes de diciembre, en la ciudad de Wuhan provincia de Hubei en China, surgió un brote infeccioso de tipo respiratorio con neumonía causado por un agente desconocido. Sin embargo, hasta finales de ese mes se informó a la OMS de dicha enfermedad. Para el 7 de enero se identificó el agente causal de este brote y resultó ser un nuevo tipo de coronavirus (1).

Los coronavirus son virus con ARN que pertenecen a la familia *Coronaviridae* e infectan a humanos y otros mamíferos, ocasionando múltiples infecciones que van desde un resfriado común hasta la muerte. Estos virus se clasifican en dos subfamilias: *Ortocoronavirinae* y *Leptovirinae*. La primera incluye 4 géneros: alfa, beta, delta y gama, de los cuales, solo alfa y beta han sido reportadas que infectan al humano. Estos virus son endémicos en todo el mundo y representan del 10 al 30% de las infecciones en el tracto respiratorio superior en adultos (4).

El nuevo coronavirus que surgió en Wuhan pertenece a la familia de betacoronavirus, a la cual también pertenecen el virus que causa el síndrome respiratorio severo agudo (SARS) y el síndrome respiratorio de medio oriente (MERS), así como 4 coronavirus asociados a la gripe común. A pesar de que se identificó el virus responsable de este brote (referido como SARS-CoV-2) y se compartió a nivel global la secuencia genética de este virus para el desarrollo de kits de diagnóstico, la enfermedad siguió expandiéndose por todo el país asiático. Para mediados de enero Tailandia, Japón y Corea del Sur habían reportado su primer caso de infección (1). El 23 de enero la ciudad de Wuhan y otras ciudades del país asiático se pusieron en cuarentena con el fin de contener la propagación del virus, no obstante, para el 31 de enero 19 países reportaron casos de infección por el virus, entre los cuales se encontraban países de Europa (Italia, Alemania, Francia) y americanos (EU y Canadá). En el mes de febrero, China presentó una tasa de contagio aproximada de 3,000 casos nuevos por día, sin embargo, gracias a las medidas agresivas y draconianas que el gobierno chino implementó ante la epidemia, se logró disminuir la tasa de transmisión en un 90% aproximadamente para finales del mes de febrero (2,3). Sin embargo, la situación se torno más seria, ya que a finales de febrero, 53 países presentaron casos de coronavirus, siendo los más afectados Corea del Sur (3,150), Italia (888) e Irán (388); en Latinoamérica, tanto Brasil como México habían reportado sus primeros casos de infección. Hasta el día 13 febrero se habían diagnosticado 118,455 casos en 113 países; hasta hoy el país más afectado fuera de China (10,149 casos) es Italia, el cual se encuentra en cuarentena con el fin de contener la propagación del virus. Con respecto a Latinoamérica, diversos países han reportado casos de SARS-CoV-2, siendo Brasil el que presenta un mayor número de casos (34), seguido de Argentina y Chile (17 cada uno). En México se han reportado 82 casos: hasta el día en que se escribió este reporte. La figura 1 muestra el comportamiento de esta enfermedad dando un claro panorama de lo que ha venido sucediendo. Se puede observar el número de casos, los que se recuperan y los que han muerto de esta enfermedad.

En México ya se está diseminando el virus en todo el territorio dada su capacidad de transmisibilidad, por lo que en este momento se requiere urgentemente la implementación de medidas de contención enérgica y efectiva para evitar la diseminación de un número mayor de casos. De acuerdo a los datos epidemiológicos mencionados previamente, la mayoría de los pacientes se recuperan (Fig. 1). Sin embargo, la tasa de mortalidad es más alta en los pacientes adultos mayores de 60 años con enfermedades crónicas, como diabetes y enfermedades cardiovasculares. Como es bien sabido, México es el noveno país del mundo con mayor casos de diabetes, con 8.7 millones de enfermos según la OMS, y se estima que 12 millones padecen de la enfermedad sin saberlo (Adolfo Andrade Cett). La diabetes y las enfermedades cardiovasculares son condiciones tan frecuente en México que las autoridades sanitarias deberían estar en alerta máxima. Si bien la tasa de mortalidad por la infección con COVID-19 es baja, la cifra de letalidad puede incrementarse considerablemente en México ya que los datos publicados por China sugieren que las muertes son 5 veces más comunes en personas con diabetes, y enfermedades cardiovasculares como cardiopatías e hipertensión.

Es importante mencionar que de acuerdo a las cifras reportadas, la letalidad varía, lo cual podría también estar asociada a la velocidad de reacción de las autoridades sanitarias, ya que si se compara el número de infectados y el número de enfermos en diferentes países, contrastan enormemente. La estrategia que ha

funcionado en China y Singapur, y que ha sido primordial, es el aislamiento de los pacientes con Coronavirus para contener la transmisión y evitar la propagación, a través del rastreo de contactos de un enfermo, para vigilarlos o aislarlos, dependiendo de su evolución.



Figura 1 Distribución de los casos de COVID-19 hasta el día 11 de marzo 2020. Fuente: John Hopkins CSSE.

La enfermedad causada por SARS-CoV-2, conocida como COVID-19, presenta síntomas tales como fiebre, tos seca, estornudos, dolor de cabeza y de garganta, así como malestar generalizado, fatiga y dificultad para respirar. La enfermedad inicia después de un periodo de incubación de entre 7 y 14 días, pudiendo ser asintomático durante tal periodo y potencialmente contagioso. Los pacientes que evolucionan a las formas graves de la enfermedad presentan trastornos respiratorios como neumonía bilateral (75-98%), las placas de tórax revelan múltiples sombras, además de infiltraciones intersticiales causadas por la neumonía. Estos síntomas son semejantes a lo observado en enfermos con SARS-CoV y MERS-CoV. Pese a que este virus tiene una tasa de letalidad menor a SARS y MERS-CoV, la velocidad de propagación es exponencial.

La transmisión de la enfermedad se da por gotitas contaminadas de individuos infectados, al toser o estornudar, al estrechar la mano o al estar en contacto con superficies inertes contaminadas con el virus (donde puede estar activo hasta 12 horas). Se ha hablado de una posible ruta de transmisión fecal-oral, ya que algunos pacientes presentan dolor abdominal intenso, además de encontrar el genoma viral en heces de pacientes con neumonía y síntomas estomacales.

El análisis filogenético del virus COVID-19, ha revelado que está estrechamente relacionado con otros coronavirus responsables de otros brotes, como BatCoV y RatG13 en China en 2013, con quien tiene 93% de identidad. Interesantemente, presenta una mayor divergencia con SARS-CoV (79% de identidad) y con MERS-CoV (50% de identidad). Los científicos de la facultad de Ciencias de la Vida de la Universidad de Pekin, así como el Instituto Pasteur de Shanghai, sugieren que existen dos tipos de COVID-19, siendo uno más virulento que el otro. Sin embargo, se requieren análisis más exhaustivos para confirmar la idea. El número de infectados hasta el día de hoy en 81 países es de 93,603 y más de 3,215 decesos, por lo que la OMS ha declarado al virus COVID-19 de alta expansión e impacto global y responsable de una pandemia.

COVID-19 es un virus de un tamaño aproximado de 80-120 nm, su genoma está formado por una cadena simple de RNA de polaridad positiva, aproximadamente de 29,891 bases que codifican para 9860 aminoácidos. Este RNA posee dos regiones no traducidas; el extremo 5' que presenta una estructura tipo cap y el extremo 3' que contiene poliadenilaciones. Los coronavirus son los virus de RNA más grandes que se conoce hasta el momento. El ARN de los coronavirus tiene múltiples marcos de lectura abiertos (6-11 ORFs). El primer ORF codifica para aproximadamente 16 proteínas no estructurales, mientras que los ORF restantes codifican para proteínas accesorias y no estructurales. Las proteínas no estructurales (PNS) están involucradas en procesamiento proteolítico, replicación del genoma y síntesis de RNA mensajero subgenómico (transcripción). Por ejemplo, la proteína NS NSP12 posee actividad de RNA polimerasa dependiente de RNA, con ayuda de una primasa (proteína NSP8). Otras PNS importantes son la NSP13 con actividad de helicasa y las proteínas NSP14 y NSP16 involucradas en la actividad de metiltransferasa (6,7).

COVID-19 está formado por tres proteínas estructurales: Espiga (S), Envoltura (E) y Membrana (Fig 2), siendo la proteína estructural S la responsable de permitir el ingreso del COV-19 a las células alveolares de

pulmón. La proteína S se encuentra altamente glicosilada y se asocia en homotrímeros para formar la espiga característica del virus. Cada monómero de la proteína S se organiza en dos dominios: el S1 y el S2. El S2 posee un péptido de fusión, un dominio transmembranal y un dominio citoplasmático, el cual tiene una enorme homología con la proteína codificada por SARS-CoV (99%); por lo que este dominio podría ser un blanco potencial para compuestos antivirales. En contraste el dominio S1 tiene tan solo un 77% de identidad con el SARS-CoV (5). En este dominio se encuentra el sitio de unión a receptor, por lo cual, este dominio, es crucial para la infección, ya que determina el tropismo por el receptor ACE2 (enzima convertidor de angiotensina 2), el cual se expresa en una subpoblación de células alveolares de pulmón tipo 2, en concordancia con lo reportado para SARS-CoV, y en contraste con MERS-CoV que usa a la dipeptidil-peptidasa (DPP)-4 como receptor de superficie. Sin embargo hay la posibilidad de otros receptores presentes en otras células pudieran permitir el ingreso de COVID-19. Tal es el caso de SARS-CoV que infectan además los macrófagos y células T.

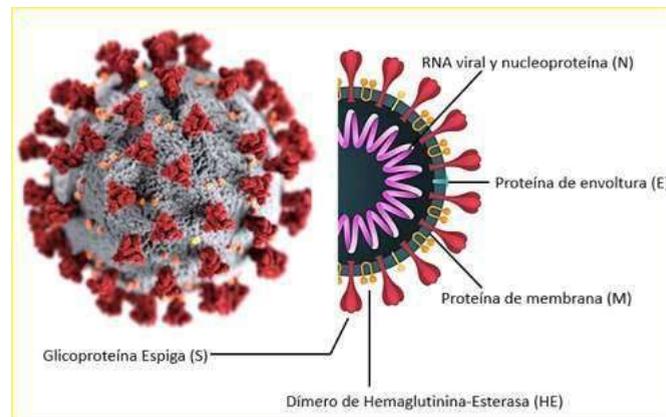


Figura.2 Estructura de COVID-19. La estructura de la partícula viral consiste en lo siguiente: Una glicoproteína espiga (S), un dímero de Hemaglutinina-Esterasa (HE), una glicoproteína de membrana (M), una proteína de envoltura (E), una nucleoproteína (N) y RNA viral. (Coronavirus disease COVID-19 CDC) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>.

La inmunidad contra COVID-19 y Vacunas

Hasta el momento no hay estudios suficientes sobre la inmunidad contra el COVID-19. No obstante, los cuadros clínicos que han presentado los pacientes de esta pandemia han sido semejantes a los reportados en pacientes con SARS-CoV y MERS-CoV, por lo que el conocimiento generado alrededor de la inmunidad contra estos virus podría tener ciertas semejanzas con COVID-19. De acuerdo a dos trabajos reportados en Wuhan con dos cortes diferentes de pacientes graves, una de 99 personas, otra de 44 y una más de 452, se encontró en una gran mayoría, un aumento de los neutrófilos (38%) y una disminución de linfocitos, en particular de los CD4 sin muchos cambios en el total de CD8. Se detectaron niveles altos de IL-6, de IP10, MCP-1 y TNF 1a, datos semejantes a los reportados en enfermos de SARS-1 y MERS-CoV. Estos datos sugieren que la respuesta está asociada con el daño pulmonar y con la inmunopatogénesis, en donde se puede observar una tormenta de citocinas, que pueden llevar al paciente a un estado crítico. Estos datos están en concordancia para SARS-CoV y MERS-CoV (6).

Trabajos recientes han revelado que la respuesta inmune humoral y celular mediada por anticuerpos neutralizantes y células T, de los pacientes con SARS-CoV, está dirigida contra las proteínas S, N y M y E encontrando seroconversión desde 4 días después de inicios de la sintomatología. Los reportes sugieren fuertemente que la inmunidad humoral es esencial para controlar la fase persistente de la infección por CoV. Los anticuerpos inducidos por la infección con SARS-1 tienen capacidad neutralizante y en fases tardías previenen la re-infección. A este respecto, la proteína S contiene el dominio de unión al receptor en el dominio S1, el cual es capaz de inducir anticuerpos neutralizantes; por lo tanto esta proteína es el candidato más factible para la elaboración de vacunas. Para SARS-CoV y para MERS-CoV se han probado algunas estrategias vacunales en estudios clínicos y preclínicos. Trabajos recientes con anticuerpos monoclonales contra la proteína S de SARS-CoV, no mostraron una clara unión con COVID1, confirmando

que se trata de un nuevo virus. Este hecho resulta ser importante, ya que la inmunidad inducida por SARS 1 podría no ser tan efectiva para COVID-1 (4,9).

Diagnóstico

El diagnóstico preliminar en los pacientes con síntomas se hace infiriendo el contacto con casos reportados, o bien por la posibilidad de haber viajado a China. Otro método que ha resultado de gran utilidad es justamente la obtención de una radiografía en donde se ve la imagen del pulmón, por supuesto en los casos sintomáticos. Sin embargo, el diagnóstico confirmatorio se hace por RT-PCR en tiempo real, usando el gen de la proteína N. Para ello se toma una muestra nasofaríngea o bien una muestra de esputo o aspirado traqueal, y en casos muy extremos un lavado bronqueoalveolar (5).

El tratamiento

En casos graves es necesario proveer al paciente soporte respiratorio. Hasta el momento, no hay un tratamiento específico ni vacunas que puedan prevenir la enfermedad. En China, para el SARS-CoV y MERS-CoV se han intentado terapias para VIH combinando, lopinavir/ritonavir (LPV/r). Este tratamiento fue efectivo, pero no se sabe si sea útil para el COVID-19 (7).

Medidas de prevención

- Lavarse las manos con agua y jabón frecuentemente, sobre todo después de estar en lugares públicos (transportes públicos, centros comerciales, etc.) Usar gel antibacterial.
- Evitar el contacto con personas que tosen o estornudan.
- No tocarse los ojos, la boca o la nariz cuando viajes en transportes, o asistas a lugares públicos. No asistir a eventos masivos.
- Los enfermos con síntomas sospechosos, deben usar cubre bocas
- Los trabajadores de aeropuertos deben usar guantes ya que el virus permanecen activos varias horas en superficies inertes.
- Evitar lugares concurridos; si viaja con un enfermo, todos los pasajeros deben estar pendientes de un posible contagio.

Bibliografía

1. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report-1. 21 January 2020. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4
2. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report-51. 11 March 2020. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_4
3. Comunicado Técnico Diario Nuevo Coronavirus en el Mundo (COVID-19).
4. Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development, Enjuanes L, Zuñiga S, Castaño-Rodríguez C, Gutierrez-Alvarez J, Canton J, Sola I. Adv Virus Res. 2016;96:245-286. doi: 10.1016/bs.aivir.2016.08.003. Epub 2016 Aug 30.
5. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Schindewolf C, Menachery VD. Middle East Respiratory Syndrome Vaccine Candidates: Cautious Optimism. Viruses. 2019;11(1). Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, Graham BS, McLellan JS. Science. 2020 Feb 19. pii: eabb2507. doi: 10.1126/science.abb2507.
6. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China, Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, Xie C, Ma K, Shang K, Wang W, Tian DS. Clin Infect Dis. 2020 Mar 12. pii: ciaa248. doi: 10.1093/cid/ciaa248.
7. Coronavirus infections and immune responses. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, Pan P, Wang W, Hu D, Liu X, Zhang Q, Wu J. J Med Virol. 2020 Apr;92(4):424-432. doi:10.1002/jmv.25685. Epub 2020 Feb 7. Review.

8. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Asian Pac J Allergy Immunol. 2020 Feb 27. doi: 10.12932/AP-200220-0772.
 9. Recent Advances in the Vaccine Development Against Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus Yong CY, Ong HK, Yeap SK, Ho KL, Tan WS. Front Microbiol. 2019;10:1781.
-

#VOLUMEN 5 - NÚMERO 4



Giovani Visososo-Carvajal

Departamento de Biomedicina Molecular. CINVESTAV



Julio García-Cordero

Realizó sus estudios de posgrado (maestría y Doctorado) en el programa de Biomedicina y Biotecnología molecular de la ENCB del IPN, actualmente es Auxiliar de Investigación en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.



Leticia Cedillo-Barrón

Realizó el Doctorado en el programa de Inmunología de la ENCB del IPN y tuvo una estancia Postdoctoral de 6 años en Inglaterra; actualmente es investigadora Titular C en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.



Verónica Lopez-Perrusquilla

Departamento de Biomedicina Molecular. CINVESTAV



Las vacunas y la pandemia por la Covid-19

Leopoldo Santos-Argumedo

A mi amigo y hermano Polo Flores, a un año de ausencia.

La pandemia de la Covid-19 (enfermedad por coronavirus 2019) causada por el virus SARS-CoV-2, ha puesto sobre la mesa aspectos de salud pública que generalmente no son del interés de los medios, o que al menos, no están en las primeras planas. La pandemia vino a trastocar la normalidad del planeta, recordándonos la vulnerabilidad de la población humana a las enfermedades infecciosas. Llamamos pandemia a la propagación de una nueva enfermedad por todo el mundo. Las pandemias por gérmenes infecciosos aprovechan que la mayoría de las personas carecen de inmunidad contra este microorganismo, ya sea porque se trata de un germen nuevo (por ejemplo, aquel recién salido de un ambiente silvestre), o bien, porque las comunidades susceptibles estén geográficamente alejadas y sin contacto. Hay dos circunstancias actuales que determinan la aparición de nuevas pandemias, ambas entrelazadas. La primera es la pérdida de hábitat de los organismos silvestres, lo que condiciona el contacto de los humanos con gérmenes propios de éstos. La interacción de los gérmenes con personas susceptibles, o con animales domésticos (mascotas, animales de granja), o peridomésticos (por ejemplo, palomas, ratas, ardillas, ratones, etcétera), puede seleccionar a aquellos microorganismos con la capacidad de adaptarse para infectar a personas (llamamos zoonosis a las infecciones que los animales pueden transmitir a los humanos). El segundo aspecto que influye en las pandemias es la globalización, que en nuestros días permite la movilización muy rápida de personas y productos que en unas pocas horas pueden transportar personas o animales enfermos, o productos contaminados, a prácticamente toda la faz de la tierra.

Las pandemias representan un reto mayúsculo para la humanidad, en primer término, porque afectan la salud de las personas. Aunque no todas las pandemias necesariamente se presentan con una mortalidad excesiva en la población, sí pueden afectar desde aspectos socioeconómicos, al interrumpir abruptamente el funcionamiento normal de las poblaciones, hasta aspectos psicosociales como el confinamiento y la angustia hacia lo desconocido. En la actualidad, la respuesta a estos retos se inicia simultáneamente con la identificación del agente patógeno y su modo de transmisión, para elaborar políticas de salud que permitan contener la infección. Una vez identificado al agente infeccioso se intenta restringir el daño a través del desarrollo de métodos de diagnóstico, para la identificación del patógeno, el uso de medicamentos y de manera paralela, la búsqueda de herramientas profilácticas como son las vacunas. De este último punto es de lo que hablaremos en este artículo.

Las vacunas, junto con otras medidas profilácticas, han modificado radicalmente el curso de las pandemias a tal punto, que algunas enfermedades que asolaron la humanidad desde los albores de su historia han logrado controlarse hasta casi desaparecer, o como en el caso de la viruela, han sido erradicadas del planeta. La viruela es una enfermedad causada por un virus. Los virus son entidades biológicas muy sencillas, formados por ácidos nucleicos (ADN o ARN) compactados en una envoltura de proteínas, y en algunas ocasiones, con una capa protectora de lípidos (virus envueltos en contraposición a los virus desnudos que carecen de esta envoltura). Para replicarse, los virus necesariamente requieren de una célula viva y metabólicamente activa, ya que utilizan la maquinaria celular para su replicación, destruyendo comúnmente a las células huésped en el proceso.

El vocablo virus se ha utilizado por muchísimos siglos significando literalmente veneno. Antes de los descubrimientos de Louis Pasteur y Robert Koch en la segunda mitad del Siglo XIX de nuestra era, se sospechaba que algunos de estos venenos podrían encontrarse en las exhalaciones de personas y de animales enfermos, en organismos o alimentos putrefactos, en las emanaciones de los pantanos, etcétera. Peste y pestilencia son dos vocablos que todavía nos son familiares y ambos se relacionan con los virus o venenos. Esto explica los trajes y máscaras fantásticas que utilizaban los médicos medievales para atender a las víctimas de las pandemias. Asimismo, los métodos de confinamiento no son recientes y los podemos encontrar documentados a lo largo de la historia, como un método para detener la propagación de las enfermedades. Productos de estos confinamientos son algunas obras literarias como el Decamerón, libro escrito por Giovanni Boccaccio en 1353 o trabajos científicos como los que se le atribuyen a Newton como producto de su confinamiento en 1665. Otra rareza es el manual del confinamiento de Quinto Tiberio Angelerio quien en 1575 escribe *Ectypa pestilensis status Algeriae Sardiniae*, manual que contiene 57 reglas de confinamiento (muchas de ellas vigentes hoy en día) para controlar una epidemia de peste en Alger, una población en la isla de Cerdeña.



Foto de Artem Podrez

Una de las primeras descripciones detalladas de la peste, que en realidad es un término genérico utilizado para referirse a varias enfermedades de origen infeccioso, se la debemos a Tucídides. En los libros de *Las Guerras del Peloponeso*, Tucídides describe con todo detalle la gran epidemia de Atenas ocurrida en 430 a.C. Entre las muchas cosas que allí se describen, se cuenta que aquellos individuos que habían sobrevivido a la peste mantenían un estado de inmunidad, es decir, quedaban exentos de sufrir nuevamente la misma enfermedad y por tal motivo eran los responsables del cuidado de los enfermos. Lo que Tucídides está diciendo, es que la enfermedad, si no quita la vida, puede dejar una marca permanentemente en el organismo que permite recordar y resistir nuevos embates de la misma (en la actualidad llamamos memoria inmunológica a dicho concepto). Así, la única forma de conseguir inmunidad en tiempos pasados era padeciendo la enfermedad.

Con la idea de obtener inmunidad, desde hace más de un milenio se comenzó a utilizar un método para prevenir la viruela, una de las enfermedades infecciosas más temidas hasta hace algunas décadas. La viruela es una enfermedad conocida desde tiempos muy remotos. Se ha especulado que Ramsés V padeció viruela hace más de tres mil años, ya que su cuerpo momificado presenta cicatrices características de los sobrevivientes de dicha enfermedad. Así, desde el año mil de nuestra era está documentado tanto en China como en la India, un procedimiento que podía prevenir la enfermedad, y que consistía en tomar material purulento o costras de enfermos de viruela que se administraban a una persona sana por medio de una incisión. Otra manera era mediante el pulverizado de las costras del enfermo; el polvo era entonces aspirado por la persona sana. Dichos procedimientos, conocidos como “variolicación” eran en extremo peligrosos, pues muchas veces la persona sana que recibía dicho material enfermaba e incluso podía morir. Sin embargo, el temor de sufrir la enfermedad era mayor que el miedo a ser variolizado. Dicho procedimiento se extendió poco a poco hasta el medio oriente y de allí fue una práctica extendida, aunque no muy común en varios países de Europa y del Reino Unido, desde principios del Siglo XVIII.

La historia de la variolicación resulta fascinante, aunque imposible de narrar en este breve espacio. Así que pasaremos rápidamente a una práctica paralela bien documentada en la Inglaterra del Siglo XVIII. Existía la observación, no sistematizada, de personas (generalmente mujeres), que habían padecido viruela de las vacas, una enfermedad parecida a la viruela humana. Dichas personas presentaban cicatrices en manos y hombros por el contacto con las pústulas presentes en la ubre del bovino. Sin embargo, la infección por la viruela bovina no se extendía por el organismo, causando molestias menores en manos y brazos. Sorprendentemente, dichas personas eran resistentes a la viruela humana. La inoculación deliberada con viruela de las vacas a los humanos fue practicada y documentada de manera empírica entre los granjeros de la campiña inglesa. El parteaguas fue el estudio emprendido por Edward Jenner, quien no sólo pudo reproducir y sistematizar estas observaciones, sino que mediante el reto deliberado con viruela humana pudo demostrar que las personas inoculadas con la viruela de las vacas efectivamente quedaban protegidas de padecer la viruela humana. Jenner publicó sus resultados para hacerlos del conocimiento de la comunidad médica de su tiempo. Sus hallazgos fueron rápidamente traducidos a varias lenguas y el procedimiento desarrollado por él fue rápidamente implementado en otros países.

En una jornada de carácter épico, por el reto que representó en su tiempo, los doctores Francisco Javier Balmis y José Salvany, con la ayuda de Doña Isabel Zendal Gómez trajeron de La Coruña, en el brazo de 22 niños huérfanos, el preciado material para propagarlo en las posesiones españolas de su tiempo, incluyendo a todo el continente americano. En dicha jornada también participaron niños mexicanos y de otras nacionalidades ya que el material sólo podía ser preservado en el brazo de estas criaturas. La expedición llegó hasta las Filipinas con por lo menos un par de visitas a puertos de China para administrar el preciado material a la población nativa. Esta hazaña, conocida como la *Real Expedición Filantrópica*, se realizó apenas siete años después de que Jenner hizo públicos sus hallazgos. La descripción de esta expedición ha merecido artículos, por lo menos una novela y alguna adaptación cinematográfica. Sin embargo, todavía hay mucho que contar sobre el tema, y más a la luz de la pandemia actual de la Covid-19.

Como ya se mencionó, tanto Pasteur en Francia, como Koch en Alemania, sentaron bases muy firmes sobre el origen infeccioso de algunas enfermedades. Sus trabajos los llevaron no sólo a descubrir algunos gérmenes, sino también a la manera de inducir el ansiado estado de resistencia o inmunidad. En este sentido, Pasteur fue un pionero en desarrollar en el laboratorio microorganismos atenuados, que podrían inducir un estado de resistencia, sin transmitir la enfermedad. Según algunas biografías, Pasteur habría acuñado el término “vacuna” del latín *vacca* (vaca), para referirse a los hallazgos de Jenner con la viruela bovina, que como ya se mencionó arriba, protege a los humanos contra la viruela humana. Es posible encontrar datos biográficos novelados en el magnífico libro *Cazadores de Microbios* del Dr. Paul De Kruif, escrito hace casi cien años.

En unos pocos años Pasteur y sus colaboradores lograron atenuar el germen del cólera de las aves y el bacilo del ántrax para desarrollar “vacunas” de utilidad veterinaria. Ya no era necesario esperar a que la naturaleza brindara, como en el caso de la viruela, un microorganismo menos agresivo para usarse como vacuna. Pasteur y su grupo consiguieron, mediante trabajo de laboratorio, un par de vacunas que sirvieron de plataforma para otros emprendimientos. Quizá la cúspide del trabajo de Pasteur fue la vacuna de la

rabia, una hazaña sorprendente por el hecho de que dicho germen (un virus) no era posible verlo, ni cultivarlo en el laboratorio. Tuvieron que pasar varias décadas, después de la muerte de Pasteur, para identificar al agente causal de la rabia y para cultivarlo en el laboratorio. Sin embargo, la solidez de los conceptos de Pasteur logró vencer los obstáculos para que en su laboratorio se consiguiera atenuar al virus y conseguir la preciada vacuna contra la rabia.

Si bien Koch no consiguió generar vacunas (a pesar de su intento con la tuberculosis), su trabajo dejó un edificio conceptual sobre el cual se hicieron desarrollos fundamentales para la vacunación. Koch siguió con la búsqueda, identificación y aislamiento de microorganismos causantes de enfermedades.

Simultáneamente, al igual que Pasteur, supo rodearse de muy talentosos discípulos que hicieron grandes contribuciones al desarrollo de las vacunas. Emil von Behring y Shibasaburo Kitasato descubrieron que algunas bacterias producen toxinas causantes de enfermedad y muerte. Sin embargo, el hallazgo más notable fue cuando estos investigadores administraron muy pequeñas dosis de la toxina en animales de experimentación. Los animales desarrollaron un estado de inmunidad, y con dosis crecientes, su neutralización. El componente neutralizante se encuentra en la sangre y Paul Ehrlich, otro colaborador de Koch, bautizó a estas moléculas con el nombre de anticuerpos. Más tarde, Gaston Ramon del Instituto Pasteur en Francia y Alexander Thomas Glenny en los laboratorios Wellcome de Londres desarrollaron, independientemente, un método para inactivar la toxina diftérica. Posteriormente, Pierre Descombey y Gaston Ramon usaron el mismo método para destoxificar a la toxina tetánica. Ambos productos, denominados toxoides mantienen la propiedad de inducir anticuerpos neutralizantes y son la base de la vacuna DT (y DPT cuando se mezcla con el agente causal de la tosferina, *B. pertussis*), que se aplica hoy en día.

Con estos pocos ejemplos, podemos mostrar el gran impacto que han tenido las vacunas y la vacunación en la prevención de las enfermedades. Sin embargo, el desarrollo de una vacuna es un camino muy largo, lleno de obstáculos. En la actualidad contamos con una veintena o un poco más de vacunas disponibles para su uso en la población humana, algunas de ellas con una eficiencia cercana al 100%. Estas vacunas han sido herramientas fundamentales para el control y la erradicación de enfermedades. No todas las vacunas son igualmente eficientes, y algunas requieren aplicación anual para mantener cierta efectividad. En el grupo de las menos eficientes tenemos a la vacuna de la tuberculosis, la vacuna contra *S. pneumoniae* (causante de neumonía) y la del virus de la influenza. Estas vacunas necesitan ser mejoradas a través de trabajo de investigación con enfoques novedosos, pero mientras no exista algo mejor, siempre serán más útiles que no tener nada.

La Covid-19 es la primera gran pandemia del Siglo XXI, pero con certeza, no será la última. Existen millones de microorganismos esperando a que llegemos a sus territorios para diezmar a la población. Enfermedades como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), el síndrome respiratorio agudo grave (SARS), el Ébola, etcétera, son, con toda certeza, zoonosis, producto de la depredación que los humanos hemos hecho en diversos ecosistemas, rompiendo el equilibrio ecológico entre gérmenes y sus hospederos naturales. El calentamiento global ha permitido la dispersión de vectores que hacen posible la salida de microorganismos de sus entornos selváticos a zonas más templadas (por ejemplo, Dengue, Chikungunya y Zika). El uso indiscriminado de antibióticos es otra fuente de nuevos microorganismos, o de aquellos ya conocidos, pero con nuevas propiedades. Mientras no aprendamos a convivir con nuestro planeta, nos espera un panorama poco alentador con visos apocalípticos. Para muchas enfermedades, como lo está demostrando claramente la pandemia del Covid-19, no existen medicamentos; por lo tanto, el desarrollo de vacunas resulta una prioridad impostergable y que todas las naciones (comenzando por México), deben apostar con recursos, pues es un área estratégica de seguridad nacional.

La Covid-19 es una enfermedad causada por un coronavirus denominado SARS-CoV-2. Se sospecha que este virus tiene su origen en la población de murciélagos y que pudo haber pasado a la población humana a través de un organismo intermediario (el pangolín). Sin embargo, aún en marzo de 2021, los expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) no han encontrado resultados concluyentes que permitan trazar esta ruta como la correcta. El virus está constituido por una cadena sencilla positiva de ARN protegida por la proteína de la nucleocápside. La partícula se encuentra envuelta en una capa de lípidos, que contiene tres proteínas virales, siendo una de ellas, la proteína de la espiga, o espícula (S) la responsable de que el

virus infecte a la célula hospedera. La proteína S se une a la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ACE2), que es una proteína expuesta en la superficie de las células susceptibles. Enseguida participan otras enzimas que rompen a la proteína S, exponiendo el sitio de fusión del virus con la membrana de la célula. El ARN del virus alcanza la maquinaria celular para replicar miles de copias de sí mismo. El ciclo concluye cuando las nuevas partículas virales infectivas salen de la célula infectada y van a repetir el ciclo con nuevas células susceptibles.

Una vez que el virus penetra en el organismo, se desencadena una serie de mecanismos de resistencia tanto de la respuesta inmune innata, como de la adaptativa. Ambos mecanismos trabajan en forma conjunta para resistir y neutralizar la infección. El componente inmunológico más fácilmente identificable son los anticuerpos, que se encargan de unirse, entre otros blancos, a la proteína S, y de esta manera, impedir que el virus alcance a la proteína ACE2 de la célula. A dichos anticuerpos se les conoce como neutralizantes y son la meta de todas las vacunas que se encuentran en uso o en desarrollo. Sin embargo, los anticuerpos no son el único mecanismo importante para resistir la infección. También participan destacadamente las citocinas (proteínas de bajo peso molecular que comunican y regulan las acciones de las células del sistema inmunológico y que afectan las funciones de otras células), siendo los interferones (citocinas que interfieren con la replicación de los virus) los protagonistas más notorios y por supuesto, las células citotóxicas, que se encargan de la destrucción de las células ya infectadas, consiguiendo con esto bloquear la generación de nuevas partículas virales infecciosas. Para una revisión más detallada de los mecanismos generales de la inmunidad sugiero la lectura del número especial de "Ciencia" la revista de la Academia Mexicana de Ciencias (vol. 66 num.2 abril-junio 2015).



Foto de Alena Shekhovtsova

Las vacunas para enfrentar la pandemia de la Covid-19 tienen dos metas. La primera es reducir la mortalidad causada por el virus en la población vulnerable, y la segunda, detener la dispersión del virus en la comunidad. Para alcanzar estas dos metas se han desarrollado distintos tipos de vacunas, utilizando plataformas biotecnológicas muy diversas. En la actualidad existen candidatos de vacuna de todo tipo: vacunas de virus inactivados o atenuados; en vectores virales replicantes, o no replicantes; con ácidos nucleicos de ARN o ADN; de subunidades proteicas o de partículas parecidas a virus. Al momento de elaborar este manuscrito hay registrados en la OMS (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-lan-dscape-of-covid-19-candidate-vaccines>) 188 candidatos de vacunas en estudios preclínicos y 73 en estudios clínicos (no existe registrado ningún candidato de México en este listado). De este último grupo, hay 14 vacunas con estudios de fase 3 concluidos y de éstas, 11 vacunas obtuvieron aprobación para su uso durante la emergencia sanitaria por autoridades regulatorias sanitarias en distintos países.

Las vacunas más usadas, hasta la fecha de elaboración de este manuscrito, son dos vacunas de ARN (Moderna y Pfizer/BioNTech) que representan hitos de biotecnología, pues la plataforma nunca antes se utilizó en esta escala. Le siguen vacunas utilizando vectores virales de adenovirus, tanto humanos como de chimpancé, a los cuales se les han insertado fragmentos de ADN que contienen las instrucciones para producir parte de la proteína S del SARS-CoV-2 (Oxford/AztraZeneca, Gamaleya, CanSino y Janssen/Johnson & Johnson). Vacunas con virus inactivados (SinoPharma, SinoVac). Vacunas con proteína recombinante (Novavax). Todas estas vacunas, con la excepción de las de CanSino y de Janssen/Johnson & Johnson, requieren dos dosis, aunque en estudios clínicos, todas las vacunas han mostrado alguna efectividad con una sola dosis.

La efectividad de estas vacunas, en términos absolutos, es discutible. Aunque, sin duda, todas ellas han mostrado ser seguras, su efectividad fluctúa entre aproximadamente 50-95%. Los métodos usados para medir efectividad, y las poblaciones en las que estas vacunas fueron ensayadas, hace difícil hacer una comparación definitiva. Los porcentajes están más bien sesgados por la guerra comercial que se ha establecido entre ellas. Sin embargo, todas, sin excepción, han mostrado disminuir los cuadros severos de la enfermedad. Lo que está por demostrarse, es qué tan eficientes son para detener la dispersión del virus. Para esto habrá que esperar lo que resta del año. Por ahora hay que agradecer que todas ellas son herramientas fundamentales para reducir la mortalidad y la hospitalización por cuadros graves en la población.

Como mencionamos arriba, las vacunas buscan estimular la inmunidad para generar anticuerpos neutralizantes, citocinas que interfieran con la replicación del virus (interferones) y células citotóxicas con capacidad de destruir células infectadas. En este cuadro, y para cerrar el círculo iniciado en la introducción, nos falta integrar la memoria inmunológica. Una buena vacuna debe ser capaz de generar una memoria que dure muchos años (idealmente toda la vida). Existen algunas vacunas con una efectividad extraordinaria (viruela, sarampión, polio, etcétera). Hay otras muy eficientes, que, sin llegar a lo extraordinario, brindan protección por muchos años; ejemplos de estas son los toxoides tetánico y diftérico, cuya memoria se mantiene entre 5-10 años. Existen vacunas con un poder limitado para inducir memoria, por ejemplo, la de pneumococo cuya memoria es de solo algunos meses a un par de años; por la misma razón estas vacunas requieren refuerzos frecuentes. Pese a estas limitaciones, todas las vacunas son agentes muy poderosos en protegernos de formas graves de la enfermedad para la que están diseñadas y en muchos casos, incluso de las enfermedades leves. Aquilatamos el gran poder de las vacunas cuando éstas no están disponibles, o cuando deliberadamente se niega su utilidad por causas políticas, religiosas o de cualquier otra índole. Sólo un ejemplo: en tiempos recientes hemos presenciado brotes de sarampión, una enfermedad controlada por vacunación durante décadas, que no se aplican debido a la oposición de grupos radicales anti vacunas en países desarrollados.

El temor a las vacunas y la discusión sobre su utilidad se han exacerbado en los últimos meses debido al temor generado por la pandemia de Covid-19 y a la desconfianza por la rapidez (aparente) con la que se han producido. Estos temores han sido alimentados en buena medida por las redes sociales, donde se publica un sinnúmero de noticias falsas que causan confusión y temor. Aquí conviene decir, que aparte de las vacunas, en este momento no existe otra herramienta farmacológica capaz de controlar esta enfermedad. El desarrollo de las vacunas contra SARS-CoV-2, rápido en apariencia, está sustentado en años de

investigación de las diversas plataformas, que ya habían demostrado su efectividad en ensayos clínicos limitados (por ejemplo, contra el SARS, el MERS, o el Ébola). Sin embargo, dichos estudios no alcanzaron la magnitud de lo que estamos presenciando hoy en día. Dentro de los temores que se escuchan o se leen, están aquellos que cuestionan si las vacunas de ARN no pueden modificar el material hereditario de las personas y causar mutaciones y cáncer. Este hecho es muy poco probable, pues el ARN es traducido a proteína e inmediatamente degradado, sin la posibilidad de integrarse al ADN de la célula. En el caso de las plataformas que utilizan adenovirus existe el temor de enfermar por estos agentes acarreadores. Para esto conviene recordar que los virus de chimpancé, o los virus humanos se han modificado precisamente para impedir su replicación en las células humanas sirviendo únicamente como portadores de la información relevante para la producción de la proteína S (o fragmentos de ella). Otras historias que rayan en la fantasía y en la paranoia son aquellas que proclaman que junto con la vacuna se nos estará administrando un microchip para controlar nuestras acciones futuras. Este último punto ni siquiera vale la pena discutirlo y sólo lo comento como un ejemplo de historias fantásticas creadas alrededor de las vacunas y la vacunación.

Finalmente quisiera comentar que las vacunas son la gran aportación de la medicina a la salud de la humanidad. Junto con los antibióticos, el agua potable y las medidas de higiene, han mejorando la salud humana, disminuyendo drásticamente la mortalidad infantil, e incrementando el promedio de vida de la población. Las vacunas han incidido y seguramente seguirán haciéndolo no sólo en el tratamiento de enfermedades infecciosas, sino también han demostrado su eficacia (limitada todavía) en el tratamiento del cáncer y prometen revolucionar el tratamiento de algunas enfermedades crónicas degenerativas. Sin embargo, hay que recordar que existe un gran número de enfermedades infecciosas graves para las cuales todavía no hay vacunas. Sólo quiero mencionar tres, por el impacto devastador en la población humana, la malaria, que tiene un promedio anual de un millón de vidas perdidas entre la población infantil menor de cinco años, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que, afortunadamente, pasó de ser una enfermedad mortal a una infección crónica controlable con medicamentos, pero donde una vacuna podría ofrecer una solución permanente. Y por último, la tuberculosis, que ha tenido un repunte significativo en el mundo, como consecuencia de la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos disponibles y como infección asociada en los pacientes enfermos por VIH. Muchas enfermedades infecciosas endémicas en países pobres podrían ser tratables con vacunas, pero las farmacéuticas no invierten en su investigación ni en su desarrollo. Por esa razón, los países afectados tienen la obligación moral de invertir en su estudio y en su desarrollo. Las vacunas deben ser un asunto de seguridad nacional, porque, como la pandemia de Covid-19 nos ha venido a mostrar tan descarnadamente, los países que no han invertido en investigación y desarrollo quedan a expensas de las naciones dueñas de la tecnología. El resultado de esta dependencia se paga con vidas humanas que pudieron ser salvadas con estas vacunas y con el impacto económico y social que necesariamente será mayor en aquellos países que no tienen acceso a ellas, o cuyo acceso es tardío.

Referencias

Paul de Kruif. Los cazadores de microbios. (2018) Porrúa, México. ISBN-9789700768045

Balaguer Perigüell, Emilio; Ballester Añon, Rosa (2003). Asociación Española de Pediatría, ed. En el nombre de los niños. Real Expedición Filantrópica de la Vacuna 1803-1806. Madrid.

Luis Miguel Pino Campos. La edición perdida de Quinto Tiberio Angelerio. *Fortvnatae*, 23; 2012, pp. 113-133; ISSN: 1131-6810

Baeza-Bacab MA. El doctor Eduardo Liceaga, pediatra. *Gac Med Mex*. 2018;154(3):398-408.

Servín Massieu, Manuel (2000), *Microbiología, vacunas y el rezago científico de México a partir del siglo XIX*, México, Instituto Politécnico Nacional/Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo/Plaza y Valdés.

J. Ignacio Santos: La vacunación en México en el marco de las “décadas de las vacunas” Gaceta Médica de México. 2014;150: 180-8

Todo sobre el Covid-19. <https://coronavirus.gob.mx>

□

La inmunidad en tiempos del covid-19. <https://www.youtube.com/watch?v=eGq3BpjfbGY&feature=youtu.be>

Vacunas contra Covid-19. <https://www.youtube.com/watch?v=yglGgcMLSI>

Vacunas vs covid-19. <https://conexion.cinvestav.mx/Publicaciones/vacunas-vs-covid-19-7>

#VOLUMEN 6 - NÚMERO 4



Leopoldo Santos-Argumedo

Jefe del Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Doctorado (1989) en la especialidad en Inmunología, por la ENCB, IPN. Realizó estudios posdoctorales en el Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Investigación Médica, Mill Hill, Londres, Reino Unido (1989-1991); y, en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigación DNAX, Palo Alto Cal., EE. UU. (1991-1993). Ha supervisado 27 tesis de doctorado y 40 tesis de maestrías.

La sobreexpresión de H2A.Z suprime la senescencia y la quimiorresistencia en adenocarcinoma ductal pancreático

Pedro Antonio Ávila López, Eric Genaro Salmerón Bárcenas, Isabel Quintana Mora, Roberto Herrera Goepfer, Miguel Angel Vargas Mejia, Félix Recillas-Targa y Rosaura Hernández Rivas

El Adenocarcinoma Ductal Pancreático (PDAC, por sus siglas en inglés), es uno de los cánceres más letales. En México, el PDAC ocupa el 8^{vo} lugar en mortalidad con un índice de fatalidad del 0.96%, es decir, el 96% de los pacientes mueren en un periodo menor a 6 meses (Sung *et al.*, 2021). Esto se debe principalmente a que los pacientes son diagnosticados en etapas avanzadas o metastásicas (80% de los casos), cuando ya no son elegibles para cirugía (Sung *et al.*, 2021). Ya que las terapias comúnmente empleadas contra esta enfermedad [i.e. la gemcitabina (GEM), 5 Fluorouracil] son poco efectivas, el mejoramiento en el tratamiento de este cáncer es un objetivo médico urgente. La mayoría de los esfuerzos de investigación se han centrado en dilucidar cómo las alteraciones genéticas contribuyen al desarrollo del PDAC, con la idea de identificar moléculas clave que puedan ser empleadas para su tratamiento.

En la actualidad, se sabe que la expresión alterada de genes en células cancerosas no solamente es mediada por cambios genéticos sino también por mecanismos epigenéticos, que se han atribuido a alteraciones en los patrones de metilación del ADN y más recientemente en las histonas. Éstas surgen como reguladores críticos (Vardabasso *et al.*, 2014) ya que pueden alterar el paisaje epigenómico mediante dos mecanismos: (1) modificaciones postraduccionales (PTM), como metilación, acetilación, ubiquitinación y fosforilación; y (2) sustitución por variantes. La incorporación de éstas en los nucleosomas es uno de los mecanismos epigenéticos más importantes y responsables de modificar la estructura local de la cromatina y de regular procesos

celulares como la expresión de genes (Colino-Sanguino *et al.*, 2022; Vardabasso *et al.*, 2014). Su desregulación puede contribuir al inicio y a la progresión del cáncer. (Vardabasso *et al.*, 2014). Por lo tanto, estudiar la expresión y las funciones de las variantes de histonas contribuirá a una mejor comprensión de los mecanismos que favorecen el desarrollo de PDAC.

¿Cómo ocurre esto? Primero hay que recordar que el ADN, en células eucariontes, se encuentra dentro del núcleo asociado a un complejo de proteínas conocidas como histonas canónicas (dos pares de H2A, H2B, H3 Y H4), que favorecen el empaquetamiento del ADN dentro del espacio nuclear. Estas histonas canónicas pueden ser reemplazadas por variantes, las cuales alteran la estructura, estabilidad y dinámica del nucleosoma, afectando así la accesibilidad al ADN y su reparación, y la formación de hetero y eucromatina (Weber & Henikoff, 2014). La incorporación de las variantes de histonas al nucleosoma puede generar estados regulatorios diferentes, lo cual crea un estado cromatínico único que conlleva a controlar funciones específicas dependientes de cada variante.(Weber & Henikoff, 2014).

Una de las variantes de histonas más estudiada y que se halla en diferentes organismos es H2A.Z, la cual presenta un 60% de identidad con su histona canónica H2A (Colino-Sanguino *et al.*, 2022). Se han identificado tres isoformas de H2A.Z, de las cuales dos son transcritas por los genes no alélicos H2AFZ y H2AFV (llamados H2A.Z.1 y H2A.Z.2, respectivamente); y la tercera, denominada H2A.Z.2.2, que resulta del “splicing” alternativo de H2A.Z.2. Ninguna de estas isoformas tienen funciones redundantes (Dryhurst *et al.*, 2009). H2A.Z se incorpora a los nucleosomas y se distribuye en los elementos reguladores del ADN, como promotores y potenciadores (Surface *et al.*, 2016; Valdes-Mora *et al.*, 2017); transcripción de genes activos e inactivos, renovación de nucleosomas, reparación de ADN, límites de heterocromatina, segregación cromosómica, recombinación meiótica, progresión a través del ciclo celular y diferenciación de células madre embrionarias (ESC) (Colino-Sanguino *et al.*, 2022).

Además, se ha demostrado que el agotamiento de H2A.Z en líneas celulares de fibroblastos induce un fenotipo de senescencia al permitir la sobreexpresión de p21 dependiente de p53 (Gevry *et al.*, 2007). Sin embargo, aún se desconoce el papel de H2A.Z en la generación de un transcriptoma asociado con la senescencia en el cáncer. Dada la amplia variedad de funciones que realiza H2A.Z y la complejidad resultante de la presencia de tres isoformas diferentes, no es extraño que la sobreexpresión de H2A.Z sea crucial para el desarrollo de varios tipos de cáncer (Colino-Sanguino *et al.*, 2022), incluido el cáncer de mama (Svetelis *et al.*, 2010), el cáncer de vejiga (Kim *et al.*, 2013) colangiocarcinoma intrahepático (ICC) (Yang *et al.*, 2018) y más recientemente el melanoma (cáncer de piel) (Vardabasso *et al.*, 2016). Por ello decidimos estudiar la participación de la histona H2A.Z en el desarrollo del PDAC. Inicialmente se procedió a determinar si la histona H2A.Z se encuentra incrementada en tejido pancreático de pacientes con PDAC, así como en tres líneas celulares de PDAC (PANC-1, Capan-1, y MiaPaCa-2).

Nuestros datos demostraron que H2A.Z está aumentada en líneas celulares de cáncer pancreático, así como en biopsias de pacientes con PDAC. y que sus altos niveles de expresión correlacionan con la progresión de la enfermedad y un mal pronóstico de la misma. Ensayos de RT-qPCR en líneas celulares de PDAC y en tejidos de pacientes con este cáncer demostraron que las tres isoformas de H2AZ a nivel de transcrito están incrementadas. Además de que el “knock down” de las tres isoformas de H2A.Z (3KDH2A.Z) en la línea celular de cáncer pancreático PANC-1, induce un fenotipo senescente, que conlleva a que las células se arreten en la fase G2/M, aumenten la expresión del inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina CDKN2A/p16, incrementen su actividad de SA- β -galactosidasa y la producción de la interleucina 8. Asimismo, el análisis del transcriptoma de las células 3KDH2AZ, mostró una expresión génica alterada en las vías de biosíntesis de ácidos grasos y en las que regulan el ciclo celular, así como la reparación del daño en el ADN. Todos, mecanismos implicados en senescencia (Zhou *et al.*, 2021). Es importante destacar que el 3KDH2A.Z, reduce el tamaño del tumor en un modelo de xenoinjerto de ratón *in vivo* y sensibiliza a las células PDAC a la GEM. También se encontró que el incremento de las isoformas H2A.Z.1 y H2A.Z.2.1 más que el de H2A.Z.2.2, restaura parcialmente el fenotipo oncogénico (Avila-Lopez *et al.*, 2021).

En conclusión, nuestros datos sugieren que la sobreexpresión de las tres isoformas de H2A.Z permiten a las células superar la barrera oncoprotectora asociada con la senescencia, favoreciendo el crecimiento del tumor PDAC y la quimiorresistencia. Así, estos resultados convierten a H2A.Z en un regulador epigenético clave en la biología del PDAC, y en una molécula promisoriosa para el pronóstico y blanco terapéutico contra este tipo de cáncer (Figura 1).

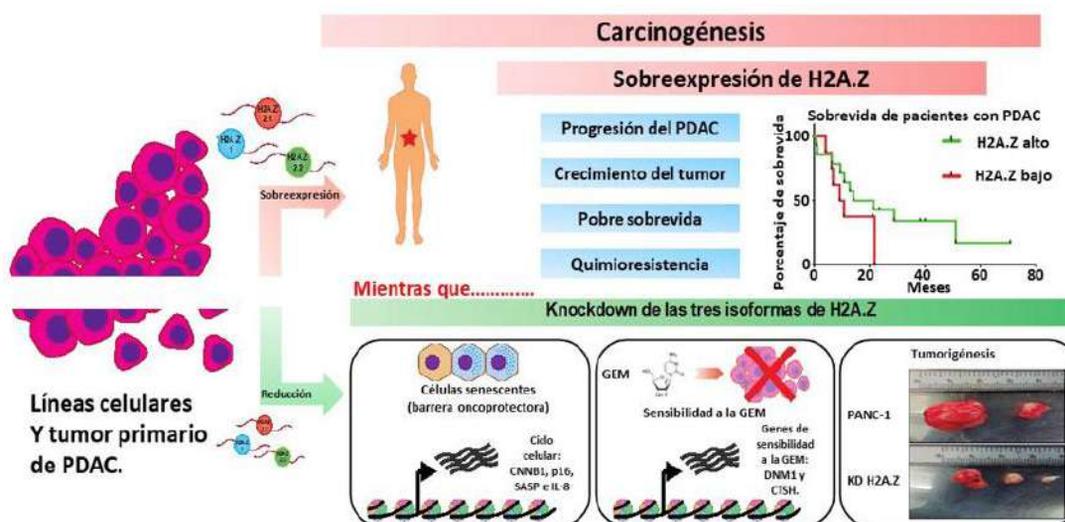


Figura 1. La sobreexpresión de H2A.Z suprime la senescencia y la quimiorresistencia en el PDAC.

En pacientes con PDAC, las tres isoformas de H2A.Z se encuentran incrementadas, lo que se asocia con la progresión, el crecimiento del tumor y con una pobre supervivencia de los pacientes, por lo que H2A.Z resulta ser un potencial biomarcador de diagnóstico y mal pronóstico de la enfermedad (imagen superior). Asimismo, H2A.Z podría ser un blanco terapéutico prometedor, pues la reducción de los niveles de expresión de sus tres isoformas “knock down” reduce el fenotipo proliferativo de las células cancerosas, aumenta la sensibilidad a la GEM y reduce el tamaño del tumor (imagen inferior).

Referencias

- Avila-Lopez, P. A., Guerrero, G., Nunez-Martinez, H. N., Peralta-Alvarez, C. A., Hernandez-Montes, G., Alvarez-Hilario, L. G., Herrera-Goepfert, R., Albores-Saavedra, J., Villegas-Sepulveda, N., Cedillo-Barron, L., Montes-Gomez, A. E., Vargas, M., Schnoor, M., Recillas-Targa, F., & Hernandez-Rivas, R. (2021). H2A.Z overexpression suppresses senescence and chemosensitivity in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*, 40(11), 2065-2080. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-01664-1>
- Colino-Sanguino, Y., Clark, S. J., & Valdes-Mora, F. (2022). The H2A.Z-nucleosome code in mammals: emerging functions. *Trends Genet*, 38(5), 516. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.02.004>
- Dryhurst, D., Ishibashi, T., Rose, K. L., Eirin-Lopez, J. M., McDonald, D., Silva-Moreno, B., Veldhoen, N., Helbing, C. C., Hendzel, M. J., Shabanowitz, J., Hunt, D. F., & Ausio, J. (2009). Characterization of the histone H2A.Z-1 and H2A.Z-2 isoforms in vertebrates. *BMC Biol*, 7, 86. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-86>
- Gevry, N., Chan, H. M., Laflamme, L., Livingston, D. M., & Gaudreau, L. (2007). p21 transcription is regulated by differential localization of histone H2A.Z. *Genes Dev*, 21(15), 1869-1881. <https://doi.org/10.1101/gad.1545707>
- Kim, K., Punj, V., Choi, J., Heo, K., Kim, J. M., Laird, P. W., & An, W. (2013). Gene dysregulation by histone variant H2A.Z in bladder cancer. *Epigenetics Chromatin*, 6(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1756-8935-6-34>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Surface, L. E., Fields, P. A., Subramanian, V., Behmer, R., Udeshi, N., Peach, S. E., Carr, S. A., Jaffe, J. D., & Boyer, L. A. (2016). H2A.Z.1 Monoubiquitylation Antagonizes BRD2 to Maintain Poised Chromatin in ESCs. *Cell Rep*, 14(5), 1142-1155. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.100>

Svotelis, A., Gevry, N., Grondin, G., & Gaudreau, L. (2010). H2A.Z overexpression promotes cellular proliferation of breast cancer cells. *Cell Cycle*, 9(2), 364-370. <https://doi.org/10.4161/cc.9.2.10465>

Valdes-Mora, F., Gould, C. M., Colino-Sanguino, Y., Qu, W., Song, J. Z., Taylor, K. M., Buske, F. A., Statham, A. L., Nair, S. S., Armstrong, N. J., Kench, J. G., Lee, K. M. L., Horvath, L. G., Qiu, M., Ilinykh, A., Yeo-Teh, N. S., Gallego-Ortega, D., Stirzaker, C., & Clark, S. J. (2017). Acetylated histone variant H2A.Z is involved in the activation of neo-enhancers in prostate cancer. *Nat Commun*, 8(1), 1346. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01393-8>

Vardabasso, C., Hake, S. B., & Bernstein, E. (2016). Histone variant H2A.Z.2: A novel driver of melanoma progression. *Mol Cell Oncol*, 3(2), e1073417. <https://doi.org/10.1080/23723556.2015.1073417>

Vardabasso, C., Hasson, D., Ratnakumar, K., Chung, C. Y., Duarte, L. F., & Bernstein, E. (2014). Histone variants: emerging players in cancer biology. *Cell Mol Life Sci*, 71(3), 379-404. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1343-z>

Weber, C. M., & Henikoff, S. (2014). Histone variants: dynamic punctuation in transcription. *Genes Dev*, 28(7), 672-682. <https://doi.org/10.1101/gad.238873.114>

Yang, B., Tong, R., Liu, H., Wu, J., Chen, D., Xue, Z., Ding, C., Zhou, L., Xie, H., Wu, J., & Zheng, S. (2018). H2A.Z regulates tumorigenesis, metastasis and sensitivity to cisplatin in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Int J Oncol*, 52(4), 1235-1245. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4292>

Zhou, D., Borsa, M., & Simon, A. K. (2021). Hallmarks and detection techniques of cellular senescence and cellular ageing in immune cells. *Aging Cell*, 20(2), e13316. <https://doi.org/10.1111/accel.13316>

Volumen 8 - Número 1



Eric Genaro Salmerón Bárcenas

Doctor en Ciencias Biomédicas por la Universidad Autónoma de Guerrero. Candidato en el SNI. Auxiliar de investigación “F”, departamento de Biomedicina Molecular CINVESTAV-IPN. Actualmente, se encuentra trabajando en el papel de miRNAs en células troncales cancerosas en ACDP.



Félix Recillas-Targa

Investigador Titular 3C del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM y SNI III. Director del Instituto Nacional de Fisiología Celular de la UNAM. Su principal área de investigación es la regulación diferencial de la transcripción, la estructura de la cromatina y la regulación epigenética.



Isabel Quintana Mora

Medico Cirujano por la Facultad de Medicina de la Universidad Veracruzana. Maestra en Ciencias en Biomedicina Molecular por el CINVESTAV. Actualmente estudiante de doctorado del departamento de Biomedicina Molecular en el CINVESTAV.



Miguel Angel Vargas Mejia

Investigador titular 3C y SNI II del Departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV. Laboratorio de cancerología farmacológica. Se ha especializado en la evaluación de nuevas terapias farmacológicas no tóxicas y específicas contra las células cancerosas pancreáticas y de otras neoplasias a través de la inhibición específica del complejo molecular heterodimérico KRAS4B oncogénico y de su transportador PDE en las células cancerosas.



Pedro Antonio Ávila López

Maestro en Ciencias en Biomedicina Molecular por el CINVESTAV. Doctor en Ciencias en Biomedicina Molecular. Candidato del Sistema Nacional de Investigadores. Su trabajo de doctorado versó en la “Participación de H2A.Z en la biología del Adenocarcinoma Ductal Pancreático”.



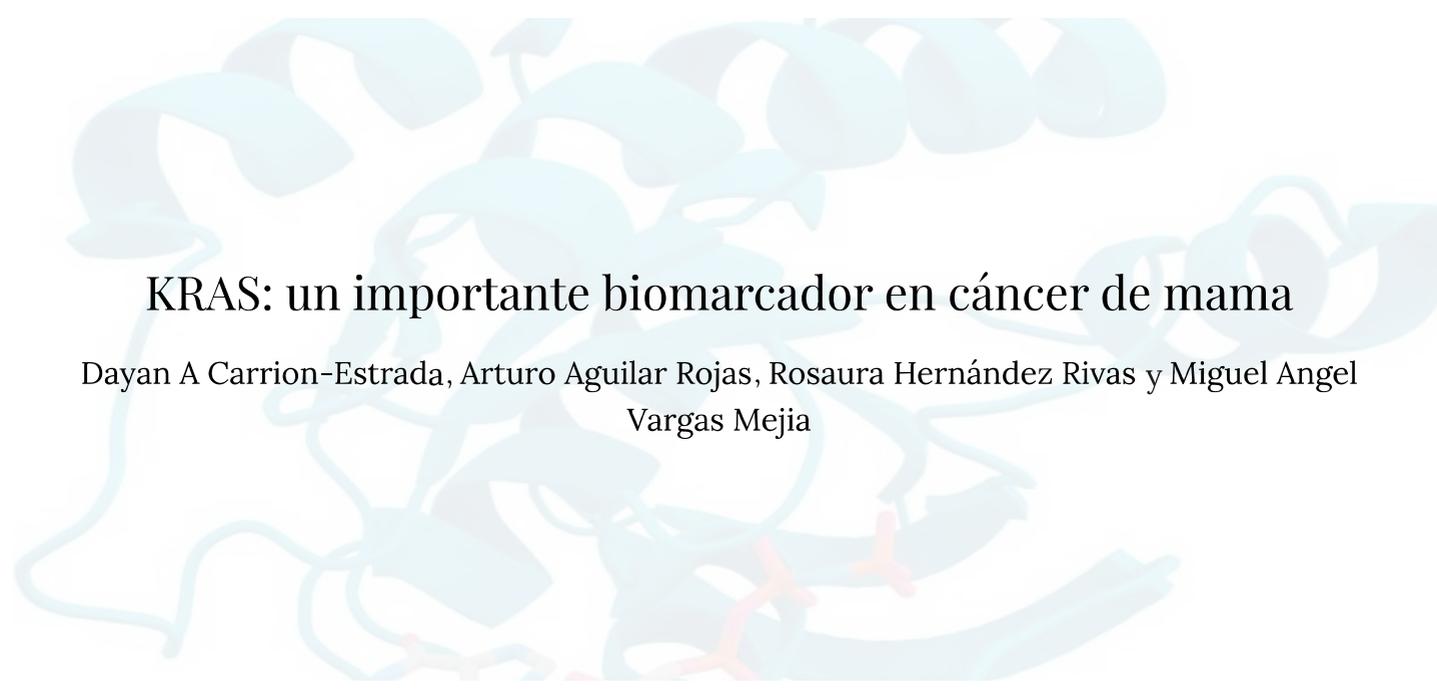
Roberto Herrera Goepfer

Médico cirujano, Facultad de Medicina, U.N.A.M., con especialización en Anatomía Patológica. Médico Especialista "C", Departamento de Patología Quirúrgica, Subdirección de Patología, Instituto Nacional de Cancerología, México. SNI II. Línea de investigación: Mecanismos de carcinogénesis y caracterización fenotípica y molecular de las neoplasias malignas del sistema digestivo.



Rosaura Hernández Rivas

Investigadora Titular 3D y SNI nivel III del departamento de Biomedicina Molecular CINVESTAV-IPN. Su laboratorio se especializa en el estudio de los mecanismos epigenéticos que participan en el desarrollo del cáncer pancreático y en la participación de células troncales cancerosas pancreáticas en esta enfermedad.



KRAS: un importante biomarcador en cáncer de mama

Dayan A Carrion-Estrada, Arturo Aguilar Rojas, Rosaura Hernández Rivas y Miguel Angel Vargas Mejia

E

l cáncer de mama (CaMa) es la neoplasia más común en mujeres en el mundo. La enfermedad constituye el 33% del total de casos de cáncer y es la causa de cerca del 15% de muertes femeninas provocadas por tumores malignos. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que en 2025 habrá más de 20 millones de nuevos casos de CaMa (Rivera-Franco, 2018).

En México, el CaMa presenta un alza tanto en la incidencia como en la mortalidad. Ambos incrementos derivan de un diagnóstico tardío y la baja eficacia de los programas de detección oportuna (Gómez-Dantés, 2016). Por ejemplo, de acuerdo con datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), se calcula que en el país se diagnostican más de 50 pacientes con CaMa por día laborable y mueren poco más de 10 mexicanas diariamente (INEGI, 2012). Aunado a ello, sólo el 30.8% de los casos son detectados en estadios tempranos, y, por el contrario, más de la mitad (66.4%), son detectados en etapas localmente avanzadas.

La deficiencia en la detección oportuna de la enfermedad impacta en las posibilidades de recuperación total, que es de apenas un 35% (Perou, 2000). La alta proporción de pacientes dictaminadas en estadios avanzados de la enfermedad obedece a diversos factores, entre los que se encuentran la falta de información, educación y aplicación de métodos de detección temprana.

Así, el CaMa es una enfermedad compleja con variaciones sustanciales en su desarrollo clínico, aspectos morfológicos y patrones de expresión génica. Un caso sospechoso de CaMa se evalúa con estudios de imagenología como son: mastografía, ecografía y resonancia magnética. Enseguida, se procede a la extirpación del tumor o a la toma de una muestra para establecer el diagnóstico definitivo. A continuación, se define el avance de la enfermedad mediante métodos de estadificación clínica. La herramienta más frecuente es la descripción del estadio mediante el sistema T (Tumor), N (Ganglios linfáticos) y M (Metástasis), del *American Joint Committee on Cancer*. Estos parámetros se combinan y se determina el avance de la enfermedad. Existen 5 estadios del CaMa: estadio 0 (cero), que es carcinoma ductal *in situ* no invasivo; y de forma ascendente los estadios del I al IV, que indican CaMa invasivo (Amin, 2017).

Aunado a los parámetros mencionados, el análisis del estado de expresión de los receptores de estrógenos (ER) y progesterona (PR), definido como positivo (+) o negativo (-), mediante ensayos de inmunohistoquímica (IHQ), ayuda a determinar aspectos como el tratamiento a seguir (endocrinológico, terapia con anticuerpos monoclonales o, quimioterapia), el riesgo de recurrencia de la enfermedad y el pronóstico de sobrevivencia (Sørlie, 2001). Además, es importante evaluar la expresión del receptor del factor de crecimiento epidermal 2 (HER2). En este caso, pacientes con cáncer invasivo y positivo en este parámetro (HER2+), podrán ser tratadas con fármacos dirigidos contra dicho receptor. La determinación de la expresión de los 3 marcadores mencionados se emplea para desarrollar una escala de clasificación molecular del CaMa en subtipos: luminal A, luminal B, HER2 positivo (HER+) y triple negativo (Goldhirsch, 2011).

De acuerdo con la clasificación mencionada, los tumores del subtipo luminal A y B, son las neoplasias más comunes, caracterizadas principalmente por la expresión de ER+ y PR+. Estos tumores suelen tener la mejor tasa de supervivencia al expresar los blancos terapéuticos adecuados para aplicar una terapia endócrina (inhibidores de la actividad de los estrógenos).

Los CaMa HER2+, se caracterizan por presentar el fenotipo ER-, PR- y HER2+. En estos tumores, se encuentra ampliamente aceptada la aplicación de inhibidores específicos de HER2 (anticuerpos monoclonales o inhibidores enzimáticos). Finalmente, los tumores triples negativos son aquellos con fenotipo ER-, PR- y HER2- (Rexer, 2012). Estas neoplasias presentan un curso agresivo y son de particular interés clínico debido a que sus opciones de tratamiento se limitan a los esquemas con agentes quimioterapéuticos debido a la ausencia de otros blancos farmacológicos. Además, se demuestra que estos tumores son clínicamente más agresivos al presentar una tasa de proliferación celular alta y una baja respuesta a los tratamientos, por lo que generalmente tienen un mal pronóstico. Por ejemplo, durante los primeros cinco años después del diagnóstico en pacientes con este tipo de tumor, hay una alta tasa de metástasis y recurrencia en órganos distantes (Dent, 2010).

A pesar de que actualmente existen diversos métodos para combatir el CaMa, en la mayoría de los casos se genera rápidamente resistencia a los mismos. Sumado a lo anterior, es importante tener en cuenta los casos de las pacientes con tumores triple negativos en los cuales las opciones terapéuticas son muy limitadas.

En nuestro grupo de investigación nos hemos dado a la tarea de buscar nuevos blancos terapéuticos con la finalidad de coadyuvar los esquemas de tratamiento que existen. Para ello, hemos evaluado el impacto de nuevas moléculas dentro de la progresión del CaMa. En este sentido, diversos grupos de investigación estudian algunos biomarcadores como las proteínas BRCA-1 y BRCA-2, ATM, CDH1, CHEK2, NBN, NFI, PALB2, PTEN, STK11 y TP53. Sin embargo, la presencia de sus formas mutantes en la población mundial es extremadamente baja, por lo que su impacto en la progresión del CaMa es limitado. Por ejemplo, la proteína BRCA-1/2, que es la mutación genética más conocida y comúnmente evaluada en familias con cáncer hereditario de mama y ovario, se encuentra en sólo el 0.25% de la población mundial. Por el contrario, las variantes del oncogén KRAS se hallan entre el 6 y el 10% de la población, lo que hace que este gen sea 20 veces más común. Así, se establece que hay una fuerte asociación de las formas mutantes de KRAS con la aparición y progresión de muchos tipos de cáncer, especialmente en cáncer de páncreas (90%), de colon (27-56%), de pulmón (17-30%) y de mama (5-20%) (Jančík, 2010). Otro punto que sustenta el posible papel de KRAS durante la progresión del CaMa es la presencia de proteínas constitutivamente activas, principalmente en tumores triple negativo con las mutaciones G12D (Gly12Asp; GGT> GAT) o G13D (Gly13Asp; GGT> GAT) (Erdogan, 2016).

Con base en lo anterior, la presencia de KRAS mutado en CaMa se asocia con tumores de subtipos moleculares de rápida progresión y mal pronóstico, momento en el cual la elección y efectividad de los tratamientos convencionales se ve comprometida. Por lo tanto, la evaluación de KRAS como posible biomarcador en CaMa podría favorecer el diagnóstico y la selección del tratamiento, así como mejorar la respuesta y el pronóstico de las pacientes.

Con el objetivo de demostrar la asociación de la forma mutada de KRAS con la progresión de CaMa, nos dimos a la tarea de determinar los niveles de expresión del gen de interés en cinco líneas celulares de cáncer de mama. Los modelos fueron la línea celular MCF-10A, la cual es la línea control de mama no tumorigénica, las líneas celulares MDA-MB-231 y MDA-MB-231RR como células tumorigénicas que expresan la forma mutante de la proteína KRas (G13D) y, finalmente, evaluamos la expresión en las líneas tumorigénica no mutantes de la proteína KRas, MCF-7 y MCF-7RR.

Con estos ensayos, logramos determinar que existe una expresión diferencial del gen KRAS en los modelos de estudio (Figura 1). Considerando los valores de KRAS en la línea celular MCF-10A como los niveles habituales, se observa que las líneas MCF-7 y MCF-7RR (tumorigénicas sin mutación en KRAS), tienden a presentar altos niveles de expresión de KRAS (Figura 1A). Por el contrario, las líneas MDA-MB-231 y MDA-MB-231RR (tumorigénicas con mutación en KRAS), muestran una disminución substancial en los niveles de expresión del gen KRAS (Figura 1A). Para evaluar el efecto que este cambio puede tener sobre otras moléculas, determinamos la expresión de otro gen asociado a KRAS. En este caso seleccionamos a la PDE6 Δ , molécula responsable de transportar a la proteína KRas a la membrana celular. Los ensayos demostraron que el gen PDE6 Δ , se expresa de manera inversa a KRAS. Es decir, con respecto al control, hubo un incremento de PDE6 Δ tanto en células sin mutación como células con mutación (Figura 1B).

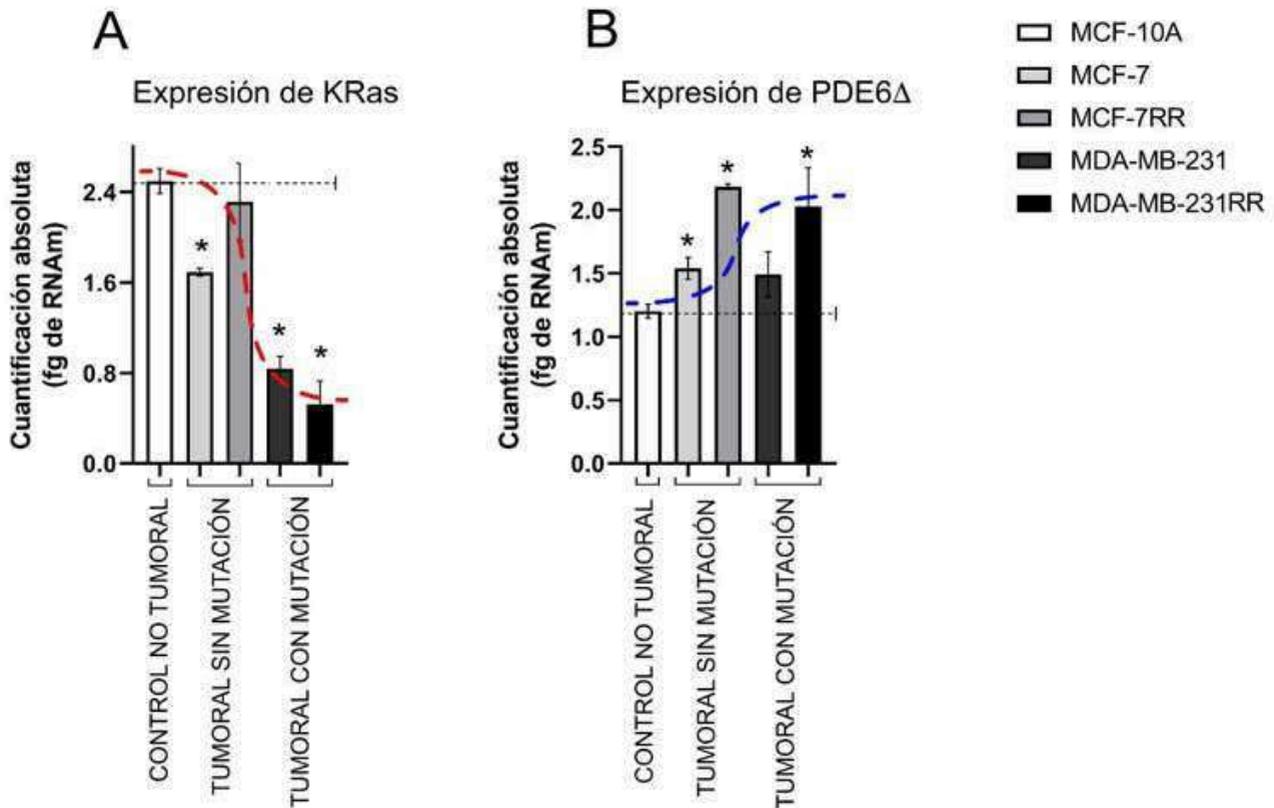


Figura 1. A) Muestran los niveles de expresión del gen KRAS. B) Indican niveles de expresión de PDE6Δ. Las diferencias estadísticamente significativas con respecto al control son señaladas (*). La línea punteada en negro representa los niveles de expresión del control. La línea punteada roja, apunta la disminución de expresión de KRAS. La línea punteada en azul muestra el aumento en la expresión de PDE6Δ.

En conclusión, proponemos de manera preliminar que las células tumorales que exhiben las formas mutantes de KRAS presentan niveles bajos de esta molécula. Por el contrario, en las células tumorales sin mutación en el gen KRAS, los niveles de esta molécula son altos. Así mismo, se observó un incremento de expresión de PDE6Δ en las líneas celulares de cáncer de mama triple negativo. Esto puede ser reflejo de un mecanismo compensatorio por la baja en la proteína KRas. De comprobarse la información descrita, podría proponerse el uso de KRAS como un posible marcador pronóstico de CaMa. Quedan por esclarecer los mecanismos por los cuales las mutaciones de KRAS podrían afectar sus niveles de expresión, tanto de la proteína KRAS como de PDE6Δ. Aún existen incógnitas por dilucidar como ¿Cuál es la importancia de KRas en la progresión de la enfermedad? o ¿Cómo es la interacción de estas formas mutantes con el resto de las moléculas que participan en la progresión del CaMa?

Rivera-Franco MM, Leon-Rodriguez E. Delays in breast cancer detection and treatment in developing countries. *Breast cancer: basic and clinical research* 2018; 121178223417752677.

Gómez-Dantés H, Lamadrid-Figueroa H, Cahuana-Hurtado L et al. The burden of cancer in Mexico, 1990-2013. *salud pública de méxico* 2016; 58118-131.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2012. Estadística de mortalidad.

Perou CM, Sørli T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. *nature* 2000; 406747-752.

Amin MB, Greene FL, Edge SB et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* 2017; 6793-99.

Sørli T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 9810869-10874.

Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS et al. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of oncology* 2011; 221736-1747.

Rexer BN, Arteaga CL. Intrinsic and acquired resistance to HER2-targeted therapies in HER2 gene-amplified breast cancer: mechanisms and clinical implications. *Crit Rev Oncog* 2012; 171-16.

Dent R, Trudeau M, Pritchard KI et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clinical cancer research* 2007; 134429-4434.

Jančík, S., Drábek, J., Radzioch, D., & Hajdúch, M. (2010). Clinical relevance of KRAS in human cancers. *BioMed Research International*, 2010.

Erdogan, G., Ozcan, M., Karaveli, F. S., & Pestereli, H. E. (2016). KRAS, EGFR AND PIK3CA mutation in triple negative breast carcinomas. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 5(3), 95-104.

Fotografía de portada de Thomas Splettstoesser (www.scistyle.com), CC BY-SA 4.0, via [Wikimedia Commons](#)

#VOLUMEN 8 - NÚMERO 1



Arturo Aguilar Rojas

Investigador Titular “A”, Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), SNI I. Línea de investigación: Búsqueda de compuestos con capacidad para inhibir la migración e invasión celular, con énfasis en células altamente metastásicas y proliferativas de cáncer de mama.



Dayan A Carrion-Estrada

Estudiante de doctorado del Departamento de Biomedicina Molecular del Centro de investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional- Cinvestav.



Miguel Angel Vargas Mejia

Investigador titular 3C y SNI II del Departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV. Laboratorio de cancerología farmacológica. Se ha especializado en la evaluación de nuevas terapias farmacológicas no tóxicas y específicas contra las células cancerosas pancreáticas y de otras neoplasias a través de la inhibición específica del complejo molecular heterodimérico KRAS4B oncogénico y de su transportador PDE en las células cancerosas.



Rosaura Hernández Rivas

Investigadora Titular 3D y SNI III del departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav. Su laboratorio se especializa en el estudio de los mecanismos epigenéticos que participan en el desarrollo del cáncer pancreático y en el mantenimiento de células troncales cancerosas pancreáticas.

La Proteína de Nucleocápside, un nuevo blanco para el diseño de vacunación contra COVID-19

Leticia Cedillo-Barrón, Julio García-Cordero y Noe Juvenal Mendoza Ramírez

La COVID-19, enfermedad pandémica causada por el nuevo coronavirus SARS CoV-2 (del inglés, virus del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2) ha causado una crisis económica y social en el mundo. El número de pérdidas humanas y personas con secuelas permanentes, han acelerado la búsqueda de fármacos para su tratamiento, así como el desarrollo de vacunas para el control de la infección. Para este objetivo, el conocimiento y caracterización de los componentes proteicos codificados por su genoma, no sólo de las más inmunogénicas, sino aquellas que induzcan una respuesta inmune protectora, son elementos cruciales para el diseño, desarrollo e implementación de vacunas (Astuti & Ysrafil, 2020).

Por ello es importante recordar que el genoma de SARS CoV-2 codifica para cuatro proteínas estructurales: Espiga (S), Membrana (M), Envoltura (E) y Nucleocápside (N) (Figura1). La proteína espiga interviene al inicio de la infección, ya que es la molécula que se une al receptor celular de la enzima convertidora de angiotensina (ACE2) a través de una región conocida como dominio de unión al receptor (RBD). Así RBD es considerado el principal antígeno blanco en el diseño y elaboración de vacunas para SARS CoV-2 (Astuti & Ysrafil, 2020; Zhou et al., 2020).

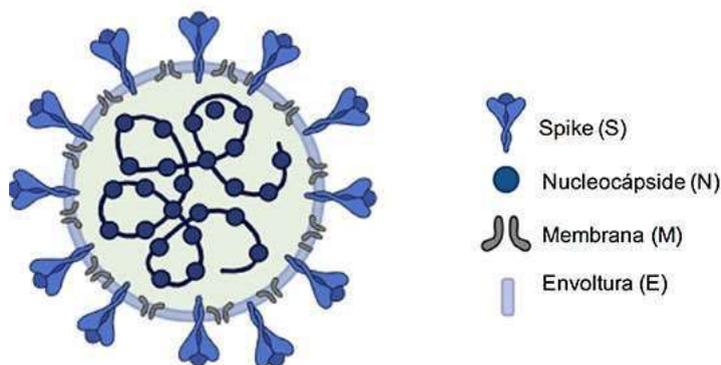


Figura 1.- Estructura del virus SARS CoV-2. La membrana viral (morado) está compuesta por una doble bicapa lipídica en la que se encuentran las proteínas S, que es encargada del reconocimiento del receptor en la célula blanco; proteína de E (envoltura) que funciona en la liberación de los nuevos virus de la célula; proteína M (de membrana) encargada de organizar las nucleoproteínas y la nucleoproteína N, se une al RNA y lo empaqueta en forma helicoidal.

Existe una gran variedad de estrategias para el desarrollo de vacunas contra SARS CoV-2, tales como vacunas vivas, atenuadas, basadas en DNA o RNA entre otras. Muchos candidatos vacunales aprobados involucran a la proteína de espiga completa o, a una porción de ésta. Hasta el momento se desconoce con suficiente detalle si alguna otra proteína de SARS CoV-2 en combinación con la proteína S, podrían ser utilizadas para dar mejor protección contra el virus en cuestión (Jain et al., 2020).

Estudios en las poblaciones afectadas por las pandemias ocasionadas por otros virus miembros de la misma familia, como el virus del síndrome respiratorio agudo severo o el del síndrome respiratorio de oriente medio (SARS CoV-1 o MERS, por sus siglas en inglés respectivamente), demuestran que la proteína N de estos coronavirus, es una molécula altamente inmunogénica que se expresa con abundancia durante el curso de la infección. Adicional a esto, un estudio reciente demostró que los anticuerpos inducidos por la proteína N son indicadores más sensibles que los anticuerpos anti-espiga para la detección temprana de la infección de SARS CoV-2 (Burbelo et al., 2020).

Algunos grupos de trabajo han evaluado el grado de inmunogenicidad de la proteína N en modelos preclínicos para incluirlo en los candidatos vacunales. Existe evidencia de que una vacuna de DNA que codifica para la proteína N fue capaz de inducir una respuesta humoral y celular robusta en un modelo de ratones C57/BL6 (Zhao et al., 2005).

Una investigación aún más alentadora se basa en un estudio publicado por Hong y colaboradores en el *Journal of Science Advances*, en donde demostraron que la inmunogenicidad de las proteínas RBD y N, se veía incrementada al evaluar el efecto adyuvante del epítipo P2 del toxoide tetánico (RBD-P2, N-P2) observando un efecto benéfico de la proteína N en la vacuna. El análisis se realizó en tres diferentes especies de animales, ratón, rata y primates no humanos; se observó un incremento en la respuesta inmune celular, mediada por células T y un aumento en la expresión de moléculas de activación, como CD69 en células T CD4+ así como en la producción de citocinas importantes en la inmunidad celular y humoral, como IFN γ e IL-4 respectivamente. Las mismas moléculas RBD-P2 y RBD-P2/N al ser administradas en primates no humanos fueron capaces de protegerlos ante el reto con SARS CoV-2. Además, se encontró un aumento en la producción de IFN γ , así como en el número de células productoras de IFN γ . Sin embargo, los investigadores notaron que la producción de citocinas perfil tipo Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) fue muy baja. De igual manera se observó, en muestras de garganta analizadas en un frotis, que la eliminación del virus fue más rápida cuando se inmunizó con RBD-P2/N. Por lo tanto, el incremento en la activación de células T aunado a una respuesta eficiente de tipo TH1 podría resultar en una eliminación del virus mucho más eficiente, así como en el control de la diseminación viral (Hong et al., 2021).

Por lo tanto, la proteína de nucleocápside (N) ha sido propuesta como un blanco vacunal eficiente, debido a que se observaron células T específicas contra N tanto en ratones inmunizados como en pacientes convalecientes de COVID-19 (Hong et al., 2021).

Finalmente, una ventaja del uso de la proteína N y su inclusión o combinación en los esquemas de inmunización es que la proteína S contiene muchas mutaciones que dan origen a variantes (alrededor de 30 mutaciones), mientras que la secuencia de aminoácidos de la proteína N es más conservada, por lo tanto, podría proporcionar una protección más eficaz contra las variantes de preocupación del SARS CoV-2 (Variantes que posiblemente escapen a la respuesta inmune del organismo, tales como: Delta y Ómicron) (Hong et al., 2021).

En el estudio de Matchett y colaboradores, en 2021, se empleó el vector Adenoviral Ad5 que expresa la proteína N para inmunizar hámsters sirios. Los investigadores observaron la inducción de células T y la supervivencia de estos animales tras someterlos a un reto con la variante Alfa del SARS CoV-2. Por lo anterior, este grupo propone que la proteína N induce una respuesta inmune independiente de la capacidad de neutralización de los anticuerpos inducidos por la proteína S, siendo la respuesta inmune contra la proteína N muy eficiente contra las variantes del SARS CoV-2 (Matchett et al., 2021).

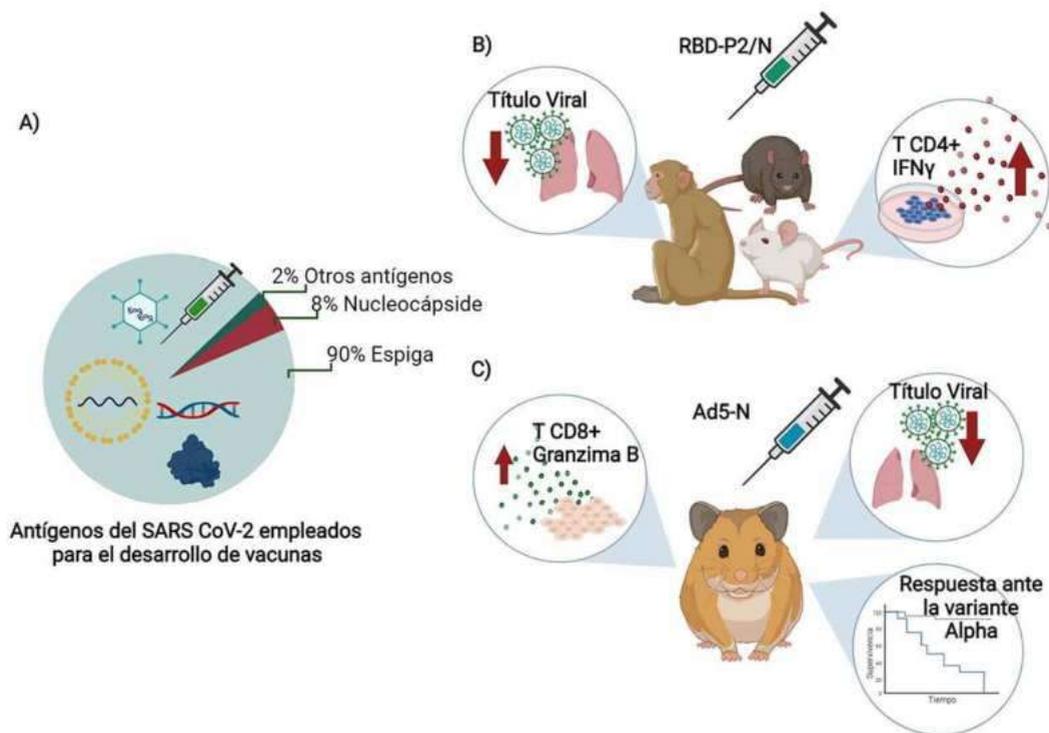


Figura 2.- Variedad de plataformas vacunales empleadas en SARS CoV-2. A) Los antígenos más comunes del SARS CoV-2 utilizados en el desarrollo de vacunas contra SARS CoV-2. B) Diseño general del estudio. La inmunización con la combinación de antígenos virales en diferentes especies de animales de laboratorio (ratones ratas y PNH), induce la activación de LcT CD4+ y promueve la eliminación del virus. C) Diseño general del estudio. La inmunización con un vector Adenoviral q expresa la proteína N en Hámster sirio, induce activación de LcT CD8+ y favorece la eliminación de la variante alfa de SARS CoV-2.

De tal suerte, la combinación de las proteínas RBD/N en la inmunización podría traer una ventaja en la respuesta inmune celular, al superar los mecanismos de escape viral, conferidos por las mutaciones en la proteína S. (Figura 2) (Hong et al., 2021; Matchett et al., 2021).

Referencias

- Astuti, I., & Ysrafil. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 14(4), 407–412. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.020>
- Burbelo, P. D., Riedo, F. X., Morishima, C., Rawlings, S., Smith, D., Das, S., Strich, J. R., Chertow, D. S., Davey, R. T., & Cohen, J. I. (2020). Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. *Journal of Infectious Diseases*, 222, 206–213. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa273>
- Hong, S. H., Oh, H., Park, Y. W., Kwak, H. W., Oh, E. Y., Park, H. J., Kang, K. W., Kim, G., Koo, B. S., Hwang, E. H., Baek, S. H., Park, H. J., Lee, Y. S., Bang, Y. J., Kim, J. Y., Bae, S. H., Lee, S. J., Seo, K. W., Kim, H., ... Nam, J. H. (2021). Immunization with RBD-P2 and N protects against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. *Science Advances*, 7(22). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABG7156>
- Jain, S., Batra, H., Yadav, P., & Chand, S. (2020). COVID-19 Vaccines Currently under Preclinical and Clinical Studies, and Associated Antiviral Immune Response. *Vaccines*, 8(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/VACCINES8040649>
- Matchett, W. E., Joag, V., Stolley, J. M., Shepherd, F. K., Quarnstrom, C. F., Mickelson, C. K., Wijeyesinghe, S., Soerens, A. G., Becker, S., Thiede, J. M., Weyu, E., O'Flanagan, S., Walter, J. A., Vu, M. N., Menachery, V. D., Bold, T. D., Vezys, V., Jenkins, M. K., Langlois, R. A., & Masopust, D. (2021). Nucleocapsid vaccine elicits

spike-independent SARS-CoV-2 protective immunity. *BioRxiv: The Preprint Server for Biology*.
<https://doi.org/10.1101/2021.04.26.441518>

Zhao, P., Cao, J., Zhao, L. J., Qin, Z. L., Ke, J. S., Pan, W., Ren, H., Yu, J. G., & Qi, Z. T. (2005). Immune responses against SARS-coronavirus nucleocapsid protein induced by DNA vaccine. *Virology*, 331(1), 128–135.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.10.016>

Zhou, P., Yang, X. Lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. Di, Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273.
<https://doi.org/10.1038/S41586-020-2012-7>

Fotografía de portada de Crowf

#VOLUMEN 8 - NÚMERO 1



Julio García-Cordero

Realizó sus estudios de posgrado (maestría y Doctorado) en el programa de Biomedicina y Biotecnología molecular de la ENCB del IPN, actualmente es Auxiliar de Investigación en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.



Leticia Cedillo-Barrón

Realizó el Doctorado en el programa de Inmunología de la ENCB del IPN y tuvo una estancia Postdoctoral de 6 años en Inglaterra; actualmente es investigadora Titular C en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.



Noe Juvenal Mendoza Ramírez

Estudió la maestría en el departamento de Biomedicina Molecular en Cinvestav Zacatenco. Actualmente se encuentra realizando el doctorado en la misma institución.

Porcentaje
de células en
circulación

Células B atípicas como biomarcadores de complicación renal en pacientes con lupus

José Luis Maravillas Montero, Diana Gómez Martín y Víctor Andrés Sosa Hernández



E

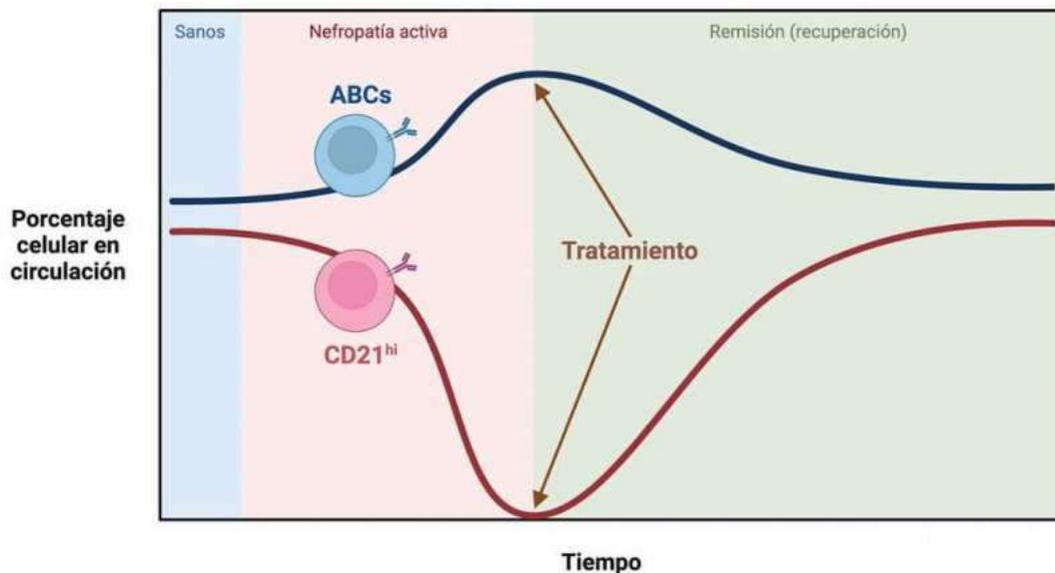
El lupus eritematoso generalizado (LEG) es una enfermedad autoinmunitaria crónica y compleja que induce inflamación constante y puede afectar distintos órganos y tejidos de nuestro cuerpo incluyendo la piel y mucosas; articulaciones, pulmones, cerebro, vasos sanguíneos, y de manera considerable, los riñones. Dentro de las complicaciones más graves del LEG, destacan aquellas que dañan a los riñones y que de no ser tratadas en tiempo y forma, pueden generar una condición llamada nefropatía lúpica (NL), que suele provocar la pérdida de la función renal a largo plazo, derivando en la necesidad de diálisis constantes e incluso, el trasplante de estos órganos.

El método diagnóstico para la NL más reconocido por los médicos es la biopsia de riñón, que implica una pequeña cirugía ambulatoria, sujeta a las complicaciones habituales de cualquier procedimiento quirúrgico; para sustituirla, se han propuesto múltiples alternativas de marcadores en la sangre u orina, que no terminan de convencer a los especialistas, para ser empleados de forma rutinaria en la práctica clínica.

Desde hace algunos años nuestro grupo de trabajo se ha enfocado en el estudio de los linfocitos B, un tipo de células sanguíneas que forman parte del sistema inmunológico y que entre otras funciones, se encargan de producir anticuerpos. Dichas células tienen una función relevante en los procesos de generación del LEG, por lo que decidimos explorar por primera vez su posible intervención en la NL. Dentro de la gran variedad de células B descritas, destacan las llamadas células ABCs (células B asociadas a la edad) que al parecer son responsables de generar procesos inflamatorios en distintas enfermedades. Debido a ello, nos dimos a la tarea de medir los números de estas células en muestras de sangre de pacientes con distintos grados de NL.

En nuestras determinaciones encontramos que las ABCs se asocian con desarrollo de NL; es decir, sus números aumentan en la sangre de los pacientes con NL activa. En contraparte, la cantidad de células B atípicas vuelven a la normalidad una vez que los pacientes reciben tratamiento y se recuperan, parcial o totalmente de la afección renal (pacientes en remisión). Nuestros análisis mostraron la existencia de otro tipo de células B aún más raras pero emparentadas con las ABCs, que poseen mejor capacidad de

discriminar a los pacientes que desarrollan NL o que permiten un mejor seguimiento de su tratamiento a largo plazo; estas células que denominamos de forma simple como CD21^{hi}, desaparecen totalmente en la sangre de los pacientes con NL y se recuperan tras el tratamiento.



Los niveles de ambos tipos de células B: las ABCs (línea azul) y las CD21^{hi} (línea roja) son estables en la sangre de individuos sanos (recuadro azul); sin embargo, su cantidad se altera cuando se presenta la nefropatía (recuadro rosa) en pacientes que desarrollan lupus: las ABCs aumentan discretamente mientras que las CD21^{hi} se abaten casi totalmente. Una vez que se administra el tratamiento adecuado para estos pacientes, la cifra de ambos tipos celulares comienzan a normalizarse (recuadro verde), con lo cual pueden ser empleadas como marcadores para el seguimiento de la efectividad terapéutica y la recuperación de los pacientes.

En suma, nuestro trabajo (<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.892241>) demuestra que ambas poblaciones celulares estudiadas cuentan con un elevado potencial como biomarcadores, tanto de diagnóstico como de seguimiento, en pacientes lúpicos que desarrollan nefropatía; característica que las hace relevantes en cuanto a su posible aplicación en la clínica reumatológica.

#VOLUMEN 8 - NÚMERO 2



Diana Gómez Martín

Doctora en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina (UNAM), Departamento de Inmunología y Reumatología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.



José Luis Maravillas Montero

Doctor en Ciencias con especialidad en Biomedicina Molecular (CINVESTAV). Actualmente Investigador Titular A (tiempo completo) en la Red de Apoyo a la Investigación, Universidad Nacional Autónoma de México.



Víctor Andrés Sosa Hernández

Maestro en Ciencias con especialidad en Biomedicina Molecular (CINVESTAV). Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV.
Estudiante de Doctorado.

La inhibición de ADAM17 previene el daño pulmonar en un modelo de COVID-19

Hilda Vargas-Robles, Armando Montoya-García, Eduardo Vadillo y Michael Schnoor

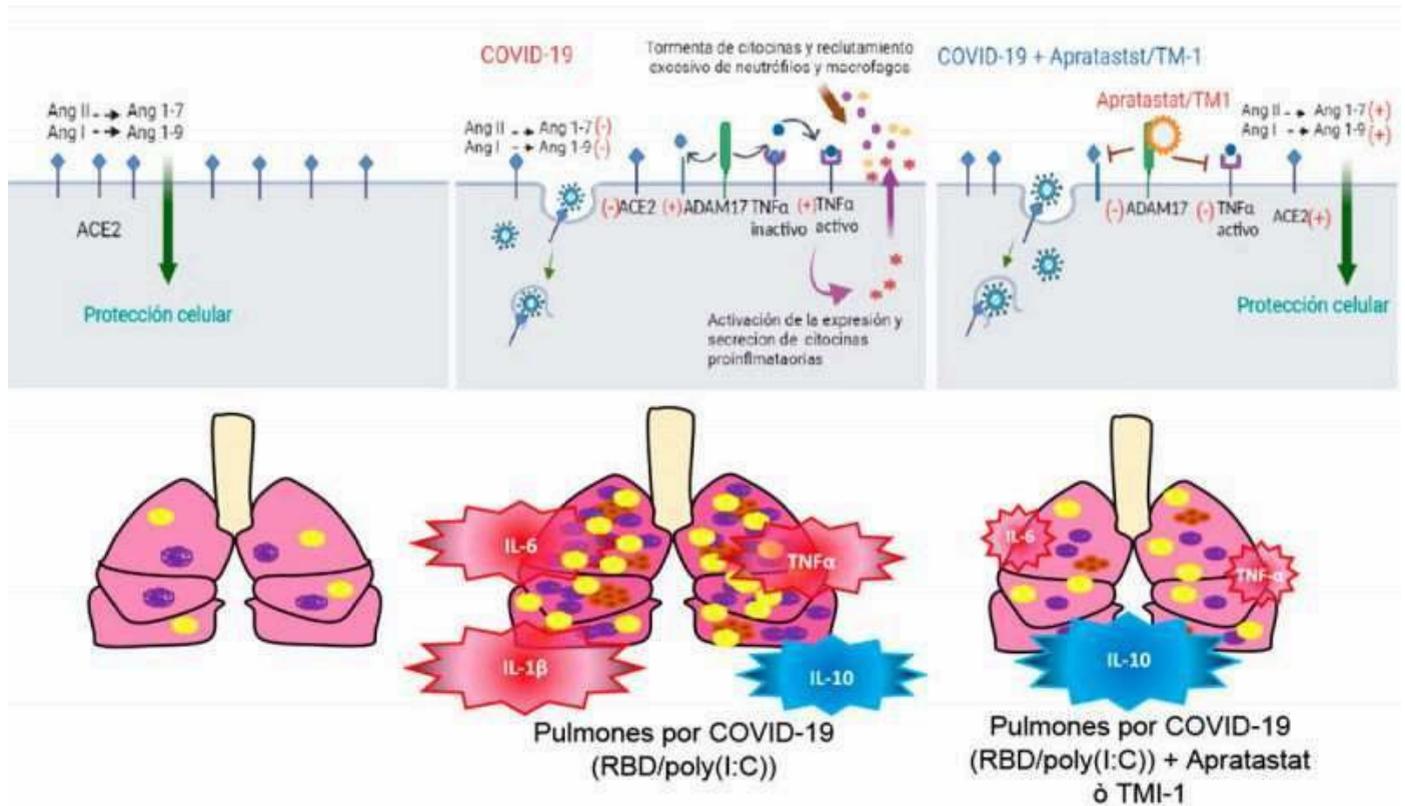


Figura 1. Mecanismo de protección pulmonar con apratastat y TMI-1. En el pulmón sano, ACE2 genera dos metabolitos activos que protegen contra la inflamación excesiva y daño tisular (izquierda). La COVID-19 favorece la activación de ADAM17, que provoca la disminución de la función de ACE2. Además, se aumenta la secreción de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-1 β , TNF- α) culminando en una tormenta de citocinas acompañada de un reclutamiento excesivo de neutrófilos (morado) y macrófagos (amarillo) (medio). La administración de un inhibidor de ADAM17 (apratastat o TMI-1) protege contra la tormenta de citocinas atenuando el reclutamiento de neutrófilos y macrófagos, y el daño tisular (derecha).

E

l coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) es el causante de la enfermedad por coronavirus (COVID-19), que apareció en China en diciembre de 2019. A la fecha, esta enfermedad ha causado 6.11 millones de decesos alrededor del mundo, de los cuales 322 000 ocurrieron en México (2). La enfermedad se presenta con cuadros clínicos que van de leves a moderados y en algunos casos progresan a graves. Esto es debido a que la COVID-19 induce daño pulmonar que puede culminar en SARS y falla multiorgánica que causa la muerte (3). La presencia del SAR-CoV-2 en el

pulmón desencadena una rápida y coordinada respuesta defensiva del sistema inmune. Sin embargo, cuando el virus persiste y logra multiplicarse en el cuerpo, se llega a una fase grave de COVID-19, donde la respuesta inmune se descontrola y se convierte en lo que se conoce como “tormenta de citocinas”, caracterizada por una rápida y alta producción de citocinas proinflamatorias y reclutamiento excesivo de células inmunes agresivas como son los neutrófilos a los órganos, contribuyendo al daño tisular (4). Además, disminuye el número de linfocitos (linfopenia) y aumenta el número de neutrófilos (neutrofilia) en la sangre, un fenómeno característico de la COVID-19.

El SARS-CoV-2 entra en la célula huésped a través de la unión entre su proteína espiga (Spike; S) con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) del huésped, receptor presente en células del pulmón, intestino delgado y de los vasos sanguíneos (7). La ACE2 es una enzima que produce hormonas que protegen contra la inflamación excesiva y el daño tisular (Figura 1) (9). Durante la COVID-19 la concentración de la ACE2 disminuye por enzimas que la degradan (10), incluyendo una desintegrasa y metaloproteasa 17 (ADAM17) (11). Así, el virus reduce los efectos protectores de ACE2 en diferentes órganos incluyendo el pulmón. Además, ADAM17 también produce la forma activa de la citocina proinflamatoria, factor de necrosis tumoral-alfa (TNF α), contribuyendo a la tormenta de citocinas y al excesivo reclutamiento de neutrófilos (13). Derivado de esta información, consideramos importante estudiar el papel de ADAM17 durante la COVID-19 y analizar si ADAM17 pudiera ser propuesto como un blanco terapéutico. Actualmente las terapias para los pacientes con COVID-19 se basan principalmente en tratamientos antivirales y antiinflamatorios, pero ningún régimen está, en particular, dirigido a la prevención y recuperación de los daños en órganos como el pulmón.

Para investigar los efectos de la inhibición de ADAM-17 en la inflamación pulmonar vinculada con la COVID-19, establecimos un modelo preclínico en ratones que simula el daño pulmonar agudo causado por esta enfermedad, el cual consta de la administración intratraqueal de una porción de la proteína S del SARS-CoV-2 (dominio RBD de la proteína Spike; proporcionado por el Dr. Edgar Morelos del Departamento de Bioquímica, Cinvestav-IPN) en combinación con el poly(I:C), una molécula asociada con infecciones virales. Usando diferentes métodos como histología y citometría de flujo encontramos, que la combinación de RBD/poly(I:C) aumentó la producción de citocinas proinflamatorias y el reclutamiento de células inmunes como neutrófilos y macrófagos al pulmón, causando daño pulmonar considerable (13). Tratando a los ratones enfermos con los inhibidores de ADAM-17, apratastat y TMI-1, descubrimos que la presencia de neutrófilos y macrófagos disminuyó en los pulmones, en paralelo con la inhibición del aumento de neutrófilos circulantes en la sangre periférica. Ello se debe a la disminución en la producción de citocinas proinflamatorias y al aumento de citocinas antiinflamatorias en los ratones enfermos tratados con apratastat y TMI-1. Se destaca la observación de menos daño en los pulmones de los ratones enfermos que recibieron apratastat y TMI-1; y ningún efecto adverso en ratones sanos tratados con estos fármacos (13).

Resumiendo, hemos proporcionado evidencia experimental de que la inhibición de ADAM-17 por apratastat y TMI-1 reduce el daño pulmonar, la tormenta de citocinas y el reclutamiento de neutrófilos a los pulmones en un modelo murino de COVID-19 (Figura 1). Proponemos el uso de apratastat y TMI-1 en ensayos clínicos para evaluar su eficacia en pacientes con la COVID-19 como tratamiento para prevenir que una infección con SARS-CoV-2 progrese a su forma grave.

Bibliografía

- 1.- WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when Novel coronavirus (nCoV) infection is suspected: interim guidance. Jan 11, 2020. [https://www.who.int/internalpublications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratoryinfection-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/internalpublications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratoryinfection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected) (accessed Jan 20, 2020).
- 2.- Johns Hopkins University Center for Systems Science and Engineering (JHU CSSE) <https://www.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>

- 3.- Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet* 2020 Volume 395: 507-513
- 4.- Rafael Miranda Pedroso. Tormenta de citoquinas en la infección por SARS-CoV-2 (COVID-19). *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*. 2021;20(3):e830
- 5.- Vadillo E, Taniguchi-Ponciano K, Lopez-Macias et al. A Shift Towards an Immature Myeloid Profile in Peripheral Blood of Critically Ill COVID-19 Patients. *Arch Med Res*. 2021;52(3):311-323.
- 6.- Matthay MA, Wick KD. Corticosteroids, COVID-19 pneumonia, and acute respiratory distress syndrome. *J. Clin Invest*. 2020;130:6218-6221.
- 7.- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271-280e278.
- 8.- Angiotensin converting enzyme 2 and its emerging role in the regulation of the renin angiotensin system. María José Solera, Josep Lloverasa, Daniel Batlle *Medicina Clinica*. 2008;131: 230-236.
- 9.- Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, et al. Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2. *Circ Res*. 2020; 126:1456-1474.
- 10.- Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat. Med*. 2005;11:875-879.
- 11.- Zunke F, Rose-John S. The shedding protease ADAM17: physiology and pathophysiology. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2017;1864:2059-2070.
- 12.- Cui SN, Tan HY, Fan GC. Immunopathological roles of neutrophils in virus infection and COVID-19. *Shock*. 2021.
- 13.- Lartey NL, Valle-Reyes S, Vargas-Robles H et al. ADAM17/MMP inhibition prevents neutrophilia and lung injury in a mouse model of COVID-19. *J Leuk. Biol*. 2021: 26. doi: 10.1002/JLB.3COVA0421-195RR

#VOLUMEN 7 - NÚMERO 4



Armando Montoya-García

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN



Eduardo Vadillo

Unidad de Investigación Médica en enfermedades Oncológicas. IMSS



Hilda Vargas-Robles

Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN



Michael Schnoor

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav, Unidad Zacatenco

Estrategias para prevenir y retrasar la Enfermedad de Alzheimer.

Erika Alejandra Cabrera Reyes y Marco Antonio Meraz Ríos

Las enfermedades neurodegenerativas son difíciles de diagnosticar en sus etapas tempranas porque cuentan con asesinos silenciosos que paulatinamente matan a las neuronas, encogiéndose al cerebro (atrofia) y alterando sus funciones. En etapas avanzadas, afectan la independencia de los individuos, su felicidad, su libertad y pueden provocarles la muerte a estas personas. De las enfermedades neurodegenerativas más comunes son las demencias, y dentro de ellas, la más frecuente es la Enfermedad de Alzheimer (EA).

La EA es la causa más común de demencia en personas mayores de 65 años y hasta la fecha no existe forma de curarla. Dada su naturaleza multifactorial, existen diferentes factores de riesgo, genéticos y ambientales asociados a su desarrollo. Uno de los síntomas iniciales y característico de esta enfermedad, es la pérdida progresiva de memoria, y aunque todas las personas podemos presentar lagunas mentales (olvidos) ocasionales, la pérdida de la memoria asociada con la EA persiste y puede empeorar hasta llegar a olvidar a los seres cercanos; afecta la capacidad para realizar las actividades en el trabajo y en el hogar. De igual manera se presentan problemas para concentrarse y pensar, en especial sobre conceptos abstractos, y puede ser tan grave que se llega a no reconocer ni manejar los números y operaciones aritméticas básicas. También se ven deteriorados la toma de decisiones y el razonamiento, al igual que la capacidad de planificar y realizar actividades familiares que implican secuencias como bañarse o vestirse. Por otro lado, el estado de ánimo y el comportamiento también se ven alterados por los cambios cerebrales (muerte neuronal). Los individuos enfermos presentan cambios de humor, depresión, apatía, irritabilidad, agresión y desorientación, entre otras manifestaciones. Se ha encontrado que existen ciertas habilidades que se preservan por mayor tiempo en los individuos que padecen esta enfermedad, como: leer, dibujar, cantar, bailar, contar historias, hasta que la región del cerebro que controla estas actividades se deteriora profundamente. La EA se caracteriza por la acumulación de dos proteínas: la proteína β -Amiloide ($A\beta$), cuyos agregados forman las placas amiloides extracelulares, y la proteína Tau hiperfosforilada, que da origen a las marañas u ovillos neurofibrilares intracelulares. Estos dos agregados son los componentes principales que caracterizan a la EA y provocan daño y muerte neuronal. Hasta la fecha no se conocen con certeza las causas del mal funcionamiento de estas proteínas, pero se asocian a diferentes factores moleculares, bioquímicos y ambientales.

- **Placas Amiloides.** El péptico β -Amiloide es un fragmento de 40 y 42 aminoácidos (aa) proveniente de una proteína más grande, la proteína precursora del amiloide (APP). Los fragmentos $A\beta(1-42)$ son muy fáciles de unirse entre sí para formar oligómeros, que al agruparse, tienen un efecto tóxico sobre las neuronas e interrumpen la comunicación cerebral. Cuando estos agregados extracelulares son muy

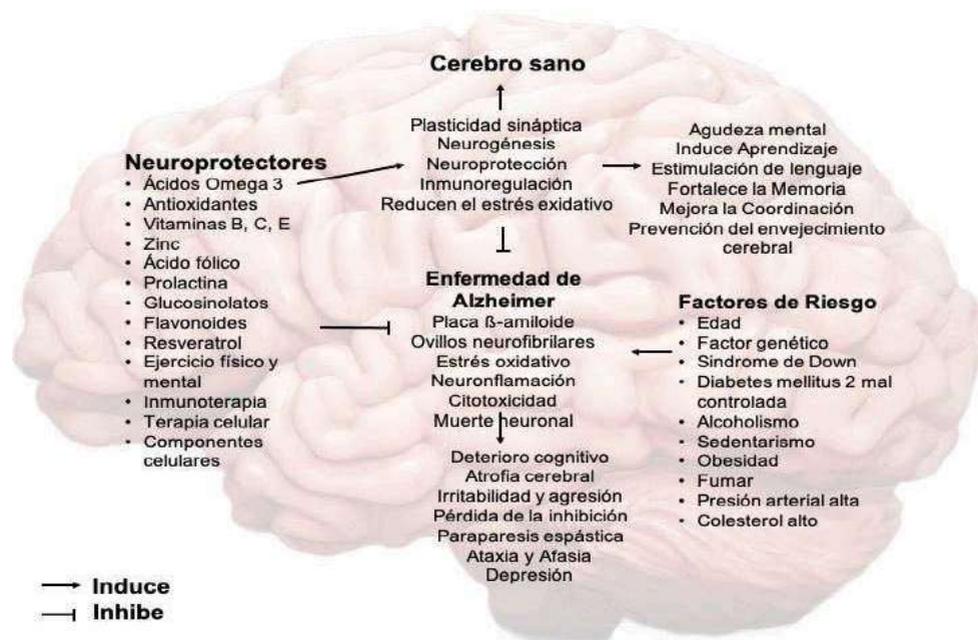
abundantes, forman depósitos más grandes llamados placas amiloides, las cuales pueden incluir a otras moléculas y provocar degeneración dendrítica y axonal.

- **Ovillos neurofibrilares.** La proteína Tau es muy importante, ya que estabiliza a los microtúbulos en las células neuronales y tiene un papel de apoyo para transportar vesículas, nutrientes y otros materiales esenciales en las células. En la EA, la proteína Tau está hiperfosforilada, genera un cambio conformacional en su estructura, lo que ocasiona que se desprenda de los microtúbulos y se organice en estructuras llamadas ovillos neurofibrilares, que se encuentran dentro de las neuronas. Los ovillos neurofibrilares interrumpen el sistema de transporte y son tóxicos para las neuronas.

También existe un componente genético con mutaciones en los genes de la APP, la Presenilina 1 (PSEN1) y la Presenilina 2 (PSEN2) que está asociado al desarrollo de un tipo especial de EA denominado Enfermedad de Alzheimer de tipo Familiar (EAF), el cual afecta a menos del 5% de las personas con EA. La sintomatología en estos individuos aparece en edades menores de 65 años y por eso se le conoce también como EA de inicio temprano. Los individuos con mutaciones en estos genes, inician con la sintomatología en edades entre 40 y 50 años y lamentablemente tienen un periodo de supervivencia corto (3-7 años). Los síntomas pueden variar dependiendo de la o las mutaciones que contengan. Se ha registrado que para el gen de PSEN1, existen más de 253 mutaciones. En México se descubrió una mutación especial denominada *mutación Jalisco* [PSEN1(A431E)], localizada en la posición 431 de la proteína y que involucra un cambio de aminoácido de una alanina, por un ácido glutámico. Esta mutación se ha encontrado en abundancia en personas mexicanas provenientes del Estado de Jalisco, México, particularmente en la zona de “los altos de Jalisco”.

Las mutaciones en cualquiera de los tres genes antes mencionados, ocasionan heterogeneidad en el cuadro clínico del individuo portador que, además de tener o no la sintomatología “típica” de la EA que es la pérdida de memoria, puede cursar con otros padecimientos como parkinsonismo, mioclonía, ataques epilépticos, cambios conductuales parecidos a demencia frontotemporal, afasia (trastorno del lenguaje) y ataxia (deterioro en el equilibrio), así como paraparesia espástica (debilidad progresiva con espasmos musculares en las piernas).

Existen varios **factores de riesgo** relacionados con el desarrollo de la EA; el más importante es la edad avanzada de los individuos. Los antecedentes familiares de primer grado y componentes genéticos de los pacientes, así como el síndrome de Down incrementan el riesgo de padecer esta enfermedad. Otros factores de riesgo son: lesión cerebral traumática severa, consumo de grandes cantidades de alcohol, y los mismos factores de riesgo asociados con la enfermedad cardíaca (falta de ejercicio, obesidad, fumar o ser fumador pasivo, presión arterial alta, colesterol alto y diabetes mellitus tipo 2 mal controlada). Además, el nivel académico es importante: contar con poca instrucción, inferior a la formación secundaria, o no someter el cerebro a desafíos mentales, parecen ser otro factor de riesgo de padecer EA.



Estrategias de protección contra la EA

Hasta el momento no hay cura para tratar la enfermedad; las alternativas disponibles son sólo sintomáticas, y la eficacia disminuye a medida que progresa la neurodegeneración. Se han desarrollado diferentes estrategias farmacológicas y no farmacológicas para ayudar a los pacientes con EA. Su objetivo es retrasar el deterioro cognitivo y permitir que el paciente recupere, lo más posible, su independencia y funcionalidad para mejorar su calidad de vida en lo físico, psicológico y social.

Estrategias no farmacológicas

Se basan en modelos psicosociales, cuyo objetivo primordial es ayudar al individuo que sufre la enfermedad, a recuperar el máximo nivel posible de funcionalidad e independencia y mejorar su calidad de vida. El proceso de este tipo de estrategias, es altamente individualizado, y se desarrolla específicamente para resolver las necesidades del paciente y se basa en la plasticidad del cerebro. De la misma manera, se conoce que la nutrición desempeña un papel muy relevante en el desarrollo de numerosas afecciones, incluidas las enfermedades neurodegenerativas. Son muchas las evidencias que sustentan la idea de la participación del estrés oxidativo en el desarrollo de la EA y en los procesos apoptóticos que se deriven de ella. De esta forma, la alimentación y particularmente el consumo de antioxidantes en la dieta o a través de suplementos dietéticos, parece tener un efecto neuroprotector y puede ayudar a retrasar el declive cognitivo. Dentro de las estrategias establecidas contra esta enfermedad destacan:

Neuro rehabilitación con ejercicio

En este sentido, se generan programas individualizados para resolver las necesidades de los pacientes, y mediante activación física se logra la estimulación de los mecanismos de plasticidad neuronal manteniendo saludables a las neuronas para lograr la máxima recuperación funcional posible en los pacientes con EA.

Ejemplos de actividades con compromiso mental y social:

- Fomentar el hábito de la lectura entre los pacientes con Alzheimer es clave para estimular el lenguaje y la memoria; además contribuye a conservar las funciones cognitivas.
- Bailar ayuda a prevenir los efectos de la EA y otras formas de demencia, y “aumenta la agudeza mental para las personas de todas las edades”, afirman los médicos especialistas en Medicina Familiar.
- Los juegos como buscar objetos, juegos de mesa, ajedrez, sudoku, crucigramas, entre otros, ayudan a prevenir y reducir los síntomas cognitivos de los pacientes con EA.
- La participación en eventos sociales, tocar instrumentos musicales y otras actividades que requieren un compromiso mental y social, ayudan a conservar las capacidades intelectuales en la edad adulta y reducen el deterioro acelerado de la enfermedad de Alzheimer.

Actualmente existen varias estrategias de prevención que se encuentran en proceso de investigación tales como:

Alimentos Neuro protectores

Cierto tipo de alimentos pueden ayudar a mantener saludable el cerebro y protegernos contra la EA. Dentro de los nutrientes que requiere el cerebro para mantenerse en buen funcionamiento están los **ácidos grasos omega-3**, que ayudan a mejorar el desempeño en las funciones cognitivas y la plasticidad sináptica, o dicho en otras palabras, ayudan a que las neuronas del cerebro se comuniquen mejor entre sí y hagan nuevas conexiones.

Antioxidantes

El consumo de **antioxidantes** en la dieta o a través de suplementos dietéticos que tienen por función reducir la inflamación y el estrés oxidativo por radicales libres, que se relacionan con la prevención del envejecimiento cerebral y los trastornos neurodegenerativos como la EA, incrementan la plasticidad sináptica y mejoran el aprendizaje y la memoria. Ello puede contribuir a la reducción o retraso de las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad y el deterioro cognitivo. Además, estimulan la neurogénesis (formación de nuevas neuronas), involucradas en los procesos de memoria y aprendizaje.

Vitaminas del complejo B y ácido fólico

Estas sustancias pueden prevenir la contracción cerebral y retrasar el deterioro cognitivo, ya que ayudan al sistema nervioso y la función cerebral.

Glucosinolatos

Estos compuestos que se descomponen en el cuerpo para producir isotiocianatos que tienen efectos antioxidantes, reducen el estrés oxidativo, y con ello disminuyen el riesgo del progreso de la neuroinflamación en las enfermedades neurodegenerativas.

Ejemplos de alimentos neuro protectores

- **Cereales integrales:** aportan vitamina B y zinc. Arroz, avena, mijo, trigo sarraceno y amaranto.
- **Cítricos:** son ricos en vitamina C y antioxidantes. Kiwi, papaya, limón y naranja.
- **Frutos rojos:** fuente de antioxidantes que neutralizan los radicales libres. Fresas, arándanos, moras, grosella negra y frambuesas.
- **Frutos secos:** contienen vitamina E, ácidos grasos omega-3, grasas insaturadas y antioxidantes. Nueces, anacardos, soya, girasol, almendras, avellanas, semillas de calabaza y linaza.
- **Probióticos:** evitan la disbiosis intestinal, un desequilibrio en la microbiota del intestino que suele estar presente en los cuadros de enfermedades degenerativas del sistema nervioso. Kéfir, yogur y miso.
- **Productos naturales:** la actividad cerebral también se puede potenciar con raíz de ginseng, lecitina de soja, espirulina, levadura de cerveza y ginkgo biloba.

- **Aceite de pescado:** Salmón, atún, arenque y las sardinas son una buena fuente de ácidos grasos omega-3
- **Chocolate negro:** contiene flavonoides que es un tipo de antioxidante.
- **Café:** contiene antioxidantes.
- **Aguacate:** contiene vitamina E (potente antioxidante), grasas monosaturadas e insaturadas.
- **Cacahuates:** grasas insaturadas, proteínas, vitamina E, Resveratrol (antioxidante)
- **Vino tinto:** Contiene resveratrol
- **Huevo:** vitamina B-6, vitamina B12 y ácido fólico
- **Verduras crucíferas:** Antioxidantes, vitamina C, flavonoides, fibra, glucosinolatos y minerales. Brócoli, repollo, coliflor, nabos y col rizada.
- **Ajo y cebolla:** Son ricos en compuestos organosulfúricos, quercetina, flavonoides, saponinas y otros, que pueden funcionar como preventivos cardiovasculares y cardíacos; antiinflamatorios, antidiabéticos, antioxidantes, moduladores inmunológicos y neuro protectores.

Lactancia materna

Además de construir un lazo inquebrantable de seguridad y confianza con los hijos, existen estudios que indican que la proteína prolactina, hormona que se encarga de producir la leche, también promueve la neuroprotección en las mujeres lactantes, ante la excitotoxicidad de algunas sustancias como las presentes en diversas enfermedades neurodegenerativas como la EA. La prolactina genera protección a las neuronas del bebé, así como de la madre, confiriendo plasticidad neuronal gracias a la lactancia materna.

Inmunoterapia

Con base en la idea de que el A β es el principal factor generador de la EA, se busca disminuir su concentración en el cerebro. Para ello, se programa al sistema inmunológico del propio paciente para deshacerse de los péptidos A β impidiendo la formación de las placas amiloides. A esto se le llama inmunoterapia A β activa, y utiliza la proteína sintética completa, o un fragmento de ésta para estimular la producción de anticuerpos por las células B. Los anticuerpos neutralizan los péptidos A β y el complejo se elimina del cerebro. Todos los ensayos clínicos han tenido que ser suspendidos, ya que no fueron efectivos y los efectos colaterales fueron graves.

La inmunoterapia contra el A β es una de las estrategias que podría ser la más prometedora para tratar la enfermedad de Alzheimer. Esta estrategia terapéutica utiliza péptidos sintéticos o anticuerpos monoclonales (mAb) dirigidos contra el péptido amiloide beta para disminuir su presencia en el cerebro y retardar la progresión de la enfermedad.

Por otro lado, la inmunoterapia pasiva se ha usado también para tratar a pacientes con EA. Esta estrategia resuelve los problemas de la inmunización activa mediante el uso de anticuerpos monoclonales (mAb), que actúan a través de 4 mecanismos:

- 1) El primero está mediado por la interacción del A β con el mAb que disminuye la formación de agregados tóxicos.
- 2) El segundo requiere la unión del mAb con los macrófagos del cerebro (microglia) que conlleva a la fagocitosis del complejo A β -mAb.
- 3) El tercer mecanismo induce la citotoxicidad dependiente del complemento por el complejo A β -mAb que conlleva a la muerte de la célula blanco.

4) El cuarto mecanismo implica que el mAb interactúa con el A β en la sangre periférica y crea un gradiente de concentración que causa la salida del A β desde el cerebro.

Algunos mAb contra A β que están probándose en ensayos clínicos incluyen al bapineuzumab, ponezumab, solanezumab, gantenerumab, aducanumab, crenezumab y BAN-2401. De todos ellos, sólo el Aducanumab, que es un anticuerpo que reduce las placas del péptido β -Amiloide, ha sido aprobado por la "Federal Drug Administration (FDA) para su uso comercial. Aunque los resultados han sido marginales y el costo del tratamiento es de más de un millón de pesos por año.

Terapias celulares

Investigaciones recientes han aportado información acerca del uso de células madre mesenquimales como posible terapia contra la EA, por su capacidad de promover la liberación de neurotransmisores que son mensajeros químicos que transportan, impulsan o equilibran las señales entre las neuronas y las células blanco en todo el cuerpo; promueven la neurogénesis, formación sináptica y pueden reducir el estrés oxidativo, la inflamación y la muerte neuronal. De esta forma se podría ayudar a los pacientes con EA a disminuir la formación de placas amiloides, estimular la neurogénesis y diferenciación neuronal, revertir los problemas de memoria y aprendizaje espacial y ayuda a disminuir la inflamación del cerebro producido por la EA. Esta terapia aún está en desarrollo, pero los resultados experimentales en modelos animales son muy prometedores.

Exosomas

Recientemente se ha reportado que algunos componentes celulares como los exosomas, que son estructuras vesiculares de unas cuantas micras, se forman dentro de las células y contienen proteínas celulares, así como moléculas de RNA, que pueden utilizarse para tratar distintas enfermedades, entre ellas la EA. Los exosomas, de forma natural, sirven para transportar su contenido de una célula a otra y así comunicarse entre ellas. El contenido de RNAs dentro de los exosomas es muy variado y tienen funciones moduladoras de la transcripción de genes y de la traducción de proteínas. Varios reportes de estudios en células y modelos animales indican que pueden emplearse para tratar la enfermedad y disminuir la acumulación de las proteínas anormales presentes en la EA. Este tipo de estrategia aún no está disponible comercialmente, pero se sigue investigando para minimizar los riesgos y asegurar su eficacia.

Como podemos ver existen varias estrategias para prevenir o tratar la EA. La parte más difícil de esta enfermedad es que los factores que contribuyen a su desarrollo no son del todo claros, y aunque ya se sabe de algunos factores de riesgo que podrían contribuir a su aparición y progresión, también existen diversas alternativas de compuestos naturales o actividades que pueden conferirnos cierta protección para prevenir y retardar los síntomas o el progreso de la EA. Como dijera Santiago Ramón y Cajal, «todo hombre puede, por sí solo, ser el escultor de su propio cerebro», por tanto, ¡Esculpamos cómo queremos vivir!

Referencias

Brejyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020 Dec 8;25(24):5789. doi: 10.3390/molecules25245789.

Zhang XX, Tian Y, Wang ZT, Ma YH, Tan L, Yu JT. The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. *J Prev Alzheimers Dis*. 2021;8(3):313-321. doi: 10.14283/jpad.2021.15.

Chen X, Drew J, Berney W, Lei W. Neuroprotective Natural Products for Alzheimer's Disease. *Cells*. 2021 May 25;10(6):1309. doi: 10.3390/cells10061309.

Song C, Shi J, Zhang P, Zhang Y, Xu J, Zhao L, Zhang R, Wang H, Chen H. Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting β -amyloid and beyond. *Transl Neurodegener*. 2022 Mar 18;11(1):18. doi: 10.1186/s40035-022-00292-3.

Alzforum Networking for a cure. <https://www.alzforum.org/therapeutics/aduhelm>

Foto de portada: atlascompany

#VOLUMEN 9 - NÚMERO 2



Erika Alejandra Cabrera Reyes

Posdoctorante del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.

Compuestos naturales contra el cáncer colorrectal

Karen Vanessa Fernández Muñoz y Marco Antonio Meraz Ríos

E

El desarrollo socioeconómico actual ha permitido satisfacer nuestras necesidades de una manera más fácil. Sin embargo, esto ha traído serios problemas ambientales, al aumentar los contaminantes a los que nos encontramos expuestos. Además, este nuevo estilo de vida impone una serie de malos hábitos, como el consumo de alcohol y del tabaco, una alimentación poco saludable, basada principalmente en un alto consumo de alimentos ultra procesados, así como de carnes rojas, una baja ingesta de frutas y verduras, y una vida sedentaria; lo que conlleva a sobrepeso y obesidad.

Estos factores, tanto ambientales como de estilo de vida, han ayudado al incremento en la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas y en particular una muy severa, como lo es el cáncer, que es considerado una de las principales causas de muerte en el mundo. Esta enfermedad se caracteriza por el crecimiento anormal, sin control, de células que son capaces de invadir varios órganos.

El cáncer colorrectal (CCR), se encuentra dentro de los 5 de tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad en México y en el mundo, lo que representa un grave problema de salud pública.

Este tipo de cáncer se desarrolla a partir de una tumoración benigna, poco detectable, que se denomina adenoma. Para que un adenoma se transforme en cáncer colorrectal pueden pasar entre 10 y 15 años, por lo que es altamente prevenible. Desafortunadamente, la población en general no cuenta con una cultura de prevención de enfermedades y no acude a su clínica para realizarse las revisiones necesarias y continuas que puedan ayudar a detectar, en etapas tempranas, estos padecimientos, por lo que el cáncer colorrectal suele diagnosticarse en etapas tardías.

Hasta hace poco, un factor de riesgo para desarrollar el CCR era la edad de las personas (mayores de 50 años); sin embargo, su incidencia en adultos jóvenes ha ido en aumento en los últimos 20 años. Su diagnóstico se ha complicado debido a la confusión de los síntomas con otras enfermedades, las cuales también se encuentran altamente presentes en la población de adultos jóvenes, como son: gastritis, colitis o síndrome de intestino irritable, provocando que el cáncer no se diagnostique a tiempo.

Cuando el CCR es detectado en una etapa temprana, el tratamiento principal suele ser la extirpación del tumor mediante cirugía. Si el diagnóstico se hace en etapas avanzadas y el tumor ya se encuentra diseminado en otros órganos o tejidos, más allá del colon o del recto, la terapia sistémica se convierte en el tratamiento principal, ya que, en muchas ocasiones, durante esta etapa, el tumor ya no es candidato para eliminarse por cirugía.

Dentro de la terapia sistémica se encuentran diferentes opciones tales como: quimioterapia, terapia dirigida e inmunoterapia. La quimioterapia comprende la administración de compuestos citotóxicos que, generalmente impiden la replicación del DNA de las células cancerosas, a través de diferentes mecanismos moleculares. La terapia dirigida, involucra el uso de inhibidores contra moléculas específicas que participan en diversas vías de señalización, que les permite a las células cancerosas proliferar y sobrevivir. La inmunoterapia se enfoca en ayudar a activar al sistema inmunológico para que pueda atacar a las células cancerosas y eliminarlas. De estas opciones terapéuticas, la quimioterapia sigue siendo el tratamiento de primera opción para tratar el cáncer colorrectal en la etapa metastásica (invasiva).

El fármaco de elección que se utiliza para tratar el cáncer colorrectal es el 5-fluorouracilo, el cual interfiere con la síntesis y reparación del DNA, impidiendo que las células cancerosas sigan multiplicándose sin control. Sin embargo, este fármaco no ataca específicamente a las células cancerosas, sino que puede dañar a las células sanas en proliferación, ocasionando una serie de efectos secundarios que causan estragos en la calidad de vida de los pacientes.

Esta inespecificidad del 5-fluorouracilo se debe a que ejerce su efecto sobre células que tienen una tasa de proliferación elevada, la cual involucra no solo a las células cancerosas y también, a otro tipo de células como: las intestinales, las de la mucosa de la boca, las células sanguíneas y las células del cuero cabelludo, por mencionar algunas. Esto explica por qué los pacientes sometidos a quimioterapia tienden a sufrir diarreas, llagas en la boca, infecciones frecuentes y pérdida de cabello. Esta citotoxicidad inespecífica de los quimioterapéuticos, en muchas ocasiones, genera que se tengan que reducir las dosis del fármaco o incluso suspender el tratamiento.

Por otro lado, existe otro factor muy importante que afecta la efectividad de la quimioterapia en los pacientes con cáncer: la resistencia a los quimioterapéuticos, también denominada quimio-resistencia. Este fenómeno es muy parecido al desarrollado por las bacterias con los antibióticos; de esa forma, las células cancerosas también evitan ser eliminadas por los quimioterapéuticos. La quimio-resistencia puede estar en los pacientes desde antes de que se les administre el quimioterapéutico, conociéndose como quimio-resistencia innata, o bien, presentarse una vez que se ha comenzado a recibir la terapia, conociéndose como quimio-resistencia adquirida.

Existen diversos mecanismos por los cuales puede haber resistencia a la terapia, entre ellos se encuentra la presencia de bombas de eflujo, que expulsan los fármacos del interior de la célula cancerosa al exterior; aumento de proteínas que protegen a las células de la muerte celular, denominadas proteínas anti-apoptóticas, disminución en la tasa de proliferación de la célula cancerosa y, aumento en la expresión de marcadores de malignidad, por mencionar algunos. La resistencia a la quimioterapia es un grave problema que, a la fecha, no se ha resuelto, y el estudio de los mecanismos de quimio-resistencia tumoral es un campo con gran interés científico para solucionar este problema. En ese sentido, se están buscando nuevos compuestos que puedan utilizarse en combinación con los quimioterapéuticos convencionales, con la finalidad de potenciar el efecto de la terapia.

La búsqueda de compuestos obtenidos de fuentes naturales ha cobrado gran relevancia, debido a que se ha observado que, muchos de ellos, pueden tener propiedades anticancerígenas. Además, por su origen natural, se inclinan a tener menores efectos adversos en la salud de los pacientes. Existen diversos estudios que han probado que, moléculas presentes en frutas y vegetales tienen propiedades terapéuticas que pudieran servir para el tratamiento de distintas enfermedades, incluido el cáncer. Es bien sabido que aquellos individuos que tienen una buena alimentación tienen una menor probabilidad de padecer cáncer, principalmente de cáncer colorrectal, por lo que las investigaciones recientes buscan demostrar si moléculas presentes en los alimentos, que ayudan a mantener a los individuos saludables, pudieran auxiliar a combatir la enfermedad y servir para el tratamiento de personas con cáncer.



Las sustancias activas presentes en los alimentos pueden tener propiedades anticancerígenas, por lo que pueden ser utilizadas como posible terapia contra el cáncer. Autor: Peggy Greb, U.S. Department of Agriculture Licencia: Libre de usar CC0

En el caso del cáncer colorrectal, existen varios productos y compuestos de origen natural que se han probado como adyuvantes a los quimioterapéuticos convencionales, con muy buenos resultados. Uno de los principales compuestos que se ha estudiado es la curcumina, la cual proviene de la cúrcuma. Se ha demostrado que este compuesto presenta propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas, y su administración en combinación con el fármaco 5-fluorouracilo ejerce un mayor efecto citotóxico sobre las células cancerosas, comparado con la administración de los fármacos por separado. Además, se ha comprobado que la administración de la curcumina permite que las células resistentes al 5-fluororacilo, debido a la quimio-resistencia, vuelvan a ser sensibles a este fármaco.

Otro de los compuestos naturales que ha sido ampliamente investigado para su uso contra el cáncer colorrectal es el resveratrol, que se encuentra en diferentes alimentos como cacahuates, moras, arándanos y, sobre todo, en las uvas y por ende en el vino tinto. Al igual que con la curcumina sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas, lo hacen un candidato excelente para emplearse como adyuvante a la quimioterapia. La célula tumoral, tiene una característica muy particular: su alta velocidad de replicación, para ello, necesita grandes cantidades de energía. La fuente primordial de energía dentro de una célula normal es la mitocondria; sin embargo, las células tumorales, además de la energía mitocondrial, necesitan activar otros mecanismos de generación energética a través del citoplasma celular. El resveratrol promueve el metabolismo mitocondrial y como consecuencia, se fomenta el consumo de grandes cantidades de oxígeno, lo que conlleva a la producción de un número considerable de radicales libres que dañan a la mitocondria, induciendo la apoptosis o muerte celular. Numerosos estudios sobre el resveratrol han demostrado que esta molécula tiene un gran potencial en el tratamiento de distintos tipos de cáncer, debido a su capacidad de afectar varias rutas moleculares.

Finalmente, la colina es un compuesto que está presente en distintas plantas y animales en forma de colina o fosfolina, glicerofosfolina, fosfatidilcolina y esfingomielina, así como la betaína, molécula que además se encuentra en muchas plantas, particularmente el betabel, también se puede formar en el intestino delgado de las personas, a través del metabolismo de la microbiota bacteriana. Para ello, la colina es oxidada a betaína, y puede donar un grupo metilo a la homocisteína para formar el aminoácido metionina, componente fundamental de la S-adenosilmetionina (SAM) que actúa como un importante donador de grupos metilos durante el proceso de metilación del DNA, que a su vez se relaciona con el desarrollo de algunos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer colorrectal. El proceso alterado de metilación del DNA, debido a la deficiencia de donadores de metilos (folato, colina, betaína y metionina), se cree que es el principal mecanismo de la carcinogénesis. En un estudio realizado en China se encontró que las personas

que ingerían más betaína, fosfatidilcolina, glicerofosocolina y esfingomiéline tenían menor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal.

Además, estos compuestos naturales son capaces de disminuir otras peculiaridades de malignidad o agresividad en las células cancerosas como: la capacidad de migración e invasión de estas células, característica altamente relacionada con el proceso de metástasis; además, son capaces de disminuir la facultad de las células cancerosas de formar tumores, cuando son inoculadas en ratones inmunológicamente suprimidos.

Actualmente, en diversos estudios, estos compuestos han sido evaluados en humanos, buscando determinar si son compuestos tolerables y seguros en las dosis administradas, observándose que tienden a ser bien tolerados y que inducen pocos efectos secundarios, los cuales no suelen ser muy graves, comparados con los causados por la quimioterapia.

El hecho de administrar conjuntamente, un compuesto natural y un quimioterapéutico como tratamiento contra el cáncer, además de potenciar los beneficios de la terapia, podría incluso reducir la dosis del quimioterapéutico para ejercer su efecto, lo que conllevaría a que los pacientes presentaran menores efectos secundarios y por ende una mejor calidad de vida. Además, los compuestos naturales suelen actuar bajo diferentes mecanismos moleculares, lo que ayudaría a evitar la aparición de resistencia a la quimioterapia, mediante la inducción de la muerte celular a través de diferentes vías de señalización.

Tal vez queda la pregunta de ¿Por qué, si estas moléculas están en los alimentos, las personas con cáncer no complementan sus tratamientos con ellas?

La respuesta no es sencilla; una buena alimentación es fundamental para la salud en general, es posible que la cantidad de moléculas, con actividad anticancerígena en ese alimento, no sea suficiente para llevar a cabo su efecto en los pacientes con cáncer. Como agente preventivo quizá pueda serlo, pero una vez establecida este tipo de enfermedad, al ser tan agresiva, las circunstancias cambian.

Se ha avanzado mucho en la búsqueda de estos compuestos naturales y de su evaluación en conjunto con las terapias convencionales, y si bien, ya se han realizado diversos estudios en humanos, aun queda un sendero largo por recorrer para que estos compuestos naturales puedan utilizarse oficialmente como terapia adyuvante. Esto se debe principalmente a que es necesario pasar una serie de pruebas que verifiquen que estos compuestos son seguros y eficaces en los humanos, lo cual puede llevar bastante tiempo. A pesar de lo tardado que puede ser llevarlos a la clínica, su estudio es prometedor para que en un futuro se pueda brindar, a los pacientes con cáncer, opciones de terapias menos agresivas, que sean altamente efectivas, prolongando y mejorando así su tiempo y calidad de vida.

Algunos consejos alimentarios para prevenir el cáncer:

1. Coma todos los días varias piezas de frutas y verduras frescas. Estos alimentos contienen agua, fibra, vitaminas, minerales, y antioxidantes.
2. Coma varias veces al día cereales, en particular los integrales: pan, pasta, arroz, maíz, etcétera. Contienen carbohidratos complejos, vitaminas, minerales y fibra.
3. Consuma legumbres. Aportan proteínas, fibra, vitaminas y minerales.
4. Consuma carne de aves y pescado, tienen menos grasas saturadas. Aportan proteínas, grasas insaturadas y vitaminas liposolubles.
5. Trate de consumir menos carne roja y grasa (ternera, cerdo, cordero y caza).
6. Evite los alimentos con alto aporte calórico, como los ultra procesados.

Disminuya el consumo de alimentos curados en sal o ahumados por su alto contenido en nitritos, incluyendo los embutidos, carnes frías y el tocino.

1. Ingiera leche (deslactosada) y productos lácteos, son el mejor aporte de calcio y vitamina D.

2. De forma general evite los alimentos tostados, fritos o quemados, lo mejor es comer los alimentos hervidos o a la plancha, sin quemar.
3. Finalmente, haga rutinas de ejercicios ya que la actividad física es una recomendación de salud y de prevención del cáncer.

Referencias

Hossain, M. S., Karuniawati, H., Jairoun, A. A., Urbi, Z., Ooi, J., John, A., Lim, Y. C., Kibria, K. M. K., Mohiuddin, A. K. M., Ming, L. C., Goh, K. W., & Hadi, M. A. (2022). Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers*, 14(7), 1732. <https://doi.org/10.3390/cancers14071732>

Rejhová, A., Opattová, A., Čumová, A., Slíva, D., & Vodička, P. (2018). Natural compounds and combination therapy in colorectal cancer treatment. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 144, 582-594. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.12.039>

Islam, M. R., Akash, S., Rahman, M. M., Nowrin, F. T., Akter, T., Shohag, S., Rauf, A., Aljohani, A. S. M., & Simal-Gandara, J. (2022). Colon cancer and colorectal cancer: Prevention and treatment by potential natural products. *Chemico-Biological Interactions*, 368, 110170. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110170>

Talib, W. H., Alsayed, A. R., Barakat, M., Abu-Taha, M. I., & Mahmud, A. I. (2021). Targeting Drug Chemo-Resistance in Cancer Using Natural Products. *Biomedicines*, 9(10), 1353. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101353>

#VOLUMEN 9 - NÚMERO 2



Karen Vanessa Fernández Muñoz

Estudiante de doctorado del Programa de Biomedicina Molecular. Cinvestav-IPN



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.

Células madre mesenquimales, una futura terapia para tratar las enfermedades neurodegenerativas

Miguel Alejandro Jiménez Acosta y Marco Antonio Meraz Ríos

En este mundo tan complejo y diverso es difícil imaginar que todo aquello que conocemos con formas tan diferentes surgió a partir de una unidad en común. Aquellos apasionados de la ciencias físicas y la astronomía, sabrán que la teoría del Big Bang, según la NASA, propone que el universo comenzó en un solo punto, a partir de un grupo de diminutas partículas calientes mezcladas con luz y energía, las cuales en cierto momento comenzaron a expandirse y estirarse, hasta que durante su enfriamiento dieron lugar a nuevos grupos que, con el tiempo, se convertirían en las **primeras estrellas** y galaxias, formando así el universo que conocemos y el que aun desconocemos.

De una manera similar, pero desde un punto de vista biológico, hace más de 150 años, un renombrado naturalista llamado Charles Darwin, propuso una teoría que entonces parecía descabellada: “todos los seres vivos comparten la herencia genética de un único y remoto antepasado común”. Esta idea constituyó uno de los pilares sobre los que el genial científico edificó su teoría de la evolución, sugiriendo que, a partir de ese único organismo ancestral, la vida se diversificó después en la multitud de formas que hoy pueblan nuestro mundo, desde las bacterias invisibles al ojo humano, hasta las plantas y los grandes mamíferos que habitan el planeta. Con estos dos ejemplos en dos áreas diferentes de la ciencia es posible dilucidar que en ocasiones las cosas más complejas y variadas surgen de un solo elemento, el cual conforme avanza el tiempo va generando estructuras más elaboradas.

El desarrollo de los seres vivos no escapa de esta visión reduccionista, ya que como sucede con las plantas, a partir de una sola unidad elemental, que es la célula, se generan todos los tejidos que conforman nuestro cuerpo. Por increíble que parezca esto es verdad, una vez que el ovulo es fecundado por el espermatozoide comienza una serie de divisiones celulares, que darán lugar a células especializadas, como los hepatocitos, los cardiomiocitos, los eritrocitos, las células del sistema inmunológico, las neuronas, entre muchas otras. Todas estas células especializadas provienen de aquella célula fecundada.

¿Cómo es posible que células con funciones tan diferentes provengan de una sola célula? Sin duda es una pregunta fundamental, ya que todas las células provenientes del ovulo fecundado contienen exactamente la misma información genética; es decir, la mitad de los cromosomas vienen de la madre y la otra mitad del padre. Entonces, ¿qué es lo que hace que una neurona se comporte como neurona y un leucocito actúe como leucocito? La respuesta está en el control de la expresión génica, el control epigenético (cambios en la cromatina que no afectan la secuencia genética y que alteran la expresión de los genes) y la regulación postranscripcional, fenómenos que ocurren en las células embrionarias a lo largo de su desarrollo.

El término “Epigenética” fue acuñado en la década de los cincuenta del siglo pasado, para describir el mecanismo por el cual los organismos multicelulares desarrollan múltiples tejidos a partir de un único genoma. En la actualidad reconocemos que este proceso se logra mediante marcas moleculares en la cromatina, que generan modificaciones que afectan la actividad transcripcional de los genes y una vez establecidas son relativamente estables en las siguientes generaciones celulares. El uso actual del término, consiste en indicar cambios heredables en la estructura y organización del DNA que no involucran cambios en la secuencia de nucleótidos y que modulan la expresión génica. Estos cambios en la expresión génica implican, entonces, cambios heredables en el fenotipo.

La epigenética explica que, aunque todas las células de un mismo organismo presentan la misma secuencia genética entre ellas, no todas son capaces de activar los mismos tipos de genes. Es decir, aunque una neurona y una célula pancreática, de un individuo, contienen exactamente el mismo genoma, las neuronas solo tienen activados los genes que le permiten cumplir sus funciones como neurona y mantienen apagados o silenciados aquellos genes que se encuentran encendidos en una célula pancreática. Este apagado y encendido de genes es lo que permite que células con un mismo genoma puedan diferenciarse en células especializadas con una morfología y función totalmente diferente.

Una célula que ha decidido encender una familia de genes para realizar funciones específicas de una estirpe celular, no puede, al menos de manera fisiológica, apagar estos genes y decidir encender otros para convertirse en una célula diferente. Una vez que una célula se compromete con un linaje específico, su destino será ese tipo celular hasta el día de su muerte. No obstante, en la complejidad de nuestro organismo existen células que escapan en algún sentido a esta regla, pues son capaces de convertirse en diferentes tipos celulares dependiendo de las señales que reciben, debido a que aún no han comenzado con el proceso de silenciamiento genético de sus genes. Estas células han sido denominadas células madre o troncales; y tienen dos propiedades particulares, en primer lugar, pueden autorrenovarse, es decir, dar lugar a nuevas células madre, permitiendo así, mantener una reserva de estas células en el cuerpo. La segunda propiedad es que pueden dar lugar a células comprometidas con un linaje celular en particular. Esta doble característica se lleva a cabo por un proceso denominado división asimétrica.

Mientras que en la división simétrica, los componentes celulares del citoplasma y el genoma se distribuyen de forma similar en las células hijas, dando lugar a dos células exactamente iguales entre sí; en el proceso de división asimétrica, las células resultantes tienen un contenido celular distinto, y eso induce el proceso de diferenciación en una de ellas, mientras que la otra conserva las características de célula madre.

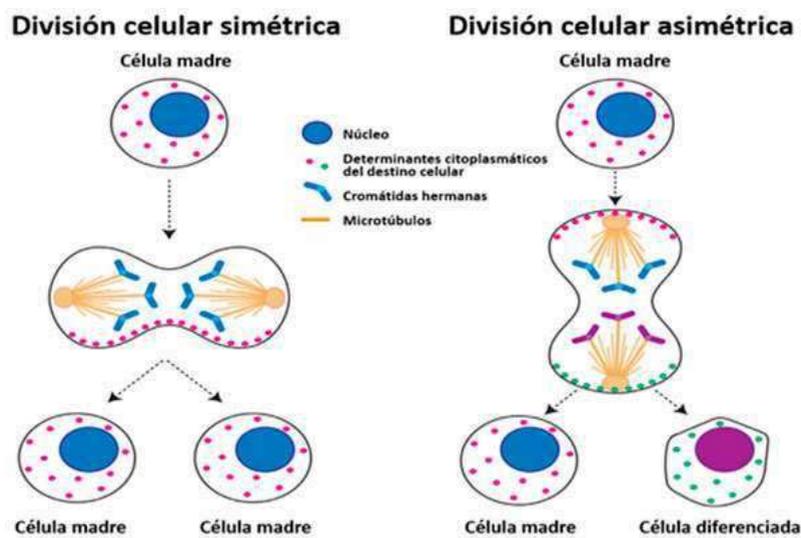


Figura 1. División celular simétrica y división celular asimétrica.

Aparte de las células madre embrionarias, existen otras células denominadas células madre adultas, las cuales residen en los órganos y tejidos de las personas y se usan para sustituir a las células especializadas en el proceso de mantenimiento o regeneración del órgano o tejido en cuestión, a estas células se les

conoce como células madre mesenquimales (MSCs, por sus siglas en inglés) y presentan una amplia capacidad de diferenciación dando lugar a células de distintos linajes celulares.

La historia de las MSCs, comienza en 1966, cuando el grupo de trabajo del doctor Friedenstein encontró que al trasplantar células de la médula ósea en el músculo, para la hematopoyesis en el injerto y en su lugar aparece tejido reticular y óseo. En ese momento se desconocía la población celular específica, responsable de este efecto. Años después, este mismo grupo descubrió que una población con morfología fibroblástica podía crecer y generar colonias en cultivos de células, formando monocapas y que eran capaces de formar hueso espontáneamente. En 1987, demostraron que el trasplante de estas células, daba lugar a células de tejido óseo y cartilaginoso, denominándolas “células madre osteogénicas de médula ósea”. Caplan, en 1991, utilizó por primera vez el concepto de células madre mesenquimales para referirse a las células descritas por Friedenstein en el 87. Finalmente, Pitterget y colaboradores publicaron un trabajo en 1999 donde caracterizaron una población de células derivadas de médula ósea, altamente proliferativas en cultivo y con una morfología fibroblástica extendida, las cuales presentaron una alta capacidad de diferenciación hacia linajes adipocíticos, condrocitos y osteocitos.

A partir de entonces, se han encontrado MSCs en otros tejidos adultos, como el tejido adiposo, el espacio medular de los huesos largos, fragmentos de hueso trabecular, periostio, líquido sinovial, ligamento periodontal, amígdala palatina, glándula paratiroidea, trompa de Falopio, páncreas, hígado, dermis, músculo esquelético adulto, así como de tejidos embrionarios como el cordón umbilical, la pulpa dental temporal, el líquido amniótico, la placenta y recientemente del surco nasal, que expresan genes relacionados con las células neurales, por lo que fueron denominadas células madre ecto-mesenquimales.

Las MSCs pueden diferenciarse relativamente fácil a células mesodérmicas (adipocitos, condrocitos y osteocitos), ya que tienen el mismo origen embrionario. Sin embargo, también pueden dar lugar a otros tipos de tejidos altamente especializados, como cardiomiocitos, células endoteliales, hepatocitos, células beta pancreáticas, células del tejido nervioso, etc. Debido a su gran plasticidad, se ha propuesto que estas células pudieran funcionar como restauradores naturales de los tejidos y, por consiguiente, podrían reponer diversas poblaciones celulares tras su trasplante. Además, presentan una serie de propiedades tróficas que promueven la regeneración en el tejido circundante, como son: su acción secretora, su capacidad de migración y su acción inmunomoduladora.

Se ha descrito que las MSCs, sintetizan y secretan múltiples factores de crecimiento que potencian la regeneración y supervivencia de las células residentes del tejido trasplantado. Además, se ha demostrado que las MSCs son capaces de migrar de manera específica a los tejidos dañados por medio de la captación de señales enviadas por el tejido lesionado, lo que les permite llegar al sitio de acción independientemente de su vía de administración. La propiedad inmunomoduladora de las MSCs, les permite regular al sistema inmunológico y controlar la respuesta inmune. Las MSCs, presentan otra característica importante, no expresan moléculas de histocompatibilidad y por lo tanto no son rechazadas por el sistema inmune receptor. Además, las MSCs alogénicas trasplantadas (tomadas de diferentes individuos de la misma especie), pueden detectarse en los individuos después de mucho tiempo, lo que indica que han sobrevivido al sistema inmune del huésped. Esto se debe principalmente a la falta de expresión de moléculas coestimuladoras como B7-1, B7-2, CD40 o ligando de CD40; moléculas involucradas en la activación de los linfocitos T, generando que las células T no se activen y por lo tanto no se produzca un rechazo del trasplante. Además, las MSCs, producen moléculas que reducen la actividad del sistema inmune, facilitando así la aceptación del trasplante en el sujeto receptor, aun en ausencia de agentes inmunomoduladores.

Las MSCs pueden ser almacenadas, usando medios especiales de congelamiento para ultracongelación a -80°C , por periodos largos de tiempo, sin la pérdida de sus propiedades biológicas o de su potencial de diferenciación y son fáciles de obtener en una amplia variedad de tejidos adultos. Por todas estas características las MSCs se están probando, a nivel experimental, en el tratamiento de varias enfermedades, incluido el sistema nervioso.

La terapia celular para el tratamiento de las enfermedades degenerativas debe cumplir con los siguientes criterios: 1) las células del donante deben estar fácilmente disponibles; 2) deben ser capaces de proliferar

con una rápida expansión en el cultivo celular; 3) deben ser inmunológicamente inertes; 4) deben ser capaces de sobrevivir por un largo periodo e integrarse en el cerebro del huésped; y 5) deben ser susceptibles de mantener una transfección estable y expresión a largo plazo de genes exógenos, que faciliten la resolución de la enfermedad en cuestión. Por fortuna las células madre mesenquimales presentan todas estas características, convirtiéndose en excelentes candidatas para ser aplicadas en los protocolos de terapia celular, demostrando su utilidad en la recuperación funcional en diversos modelos de alteraciones del sistema nervioso como el accidente cerebrovascular isquémico, la lesión desmielinizante, la lesión de la médula espinal, la paraplejía, y las enfermedades de Parkinson y de Alzheimer. El mecanismo involucra la disminución de la inflamación y estrés oxidativo generado por el daño celular, una disminución de la apoptosis de las células nerviosas y un aumento considerable en la producción de nuevas neuronas en la zona de lesión.

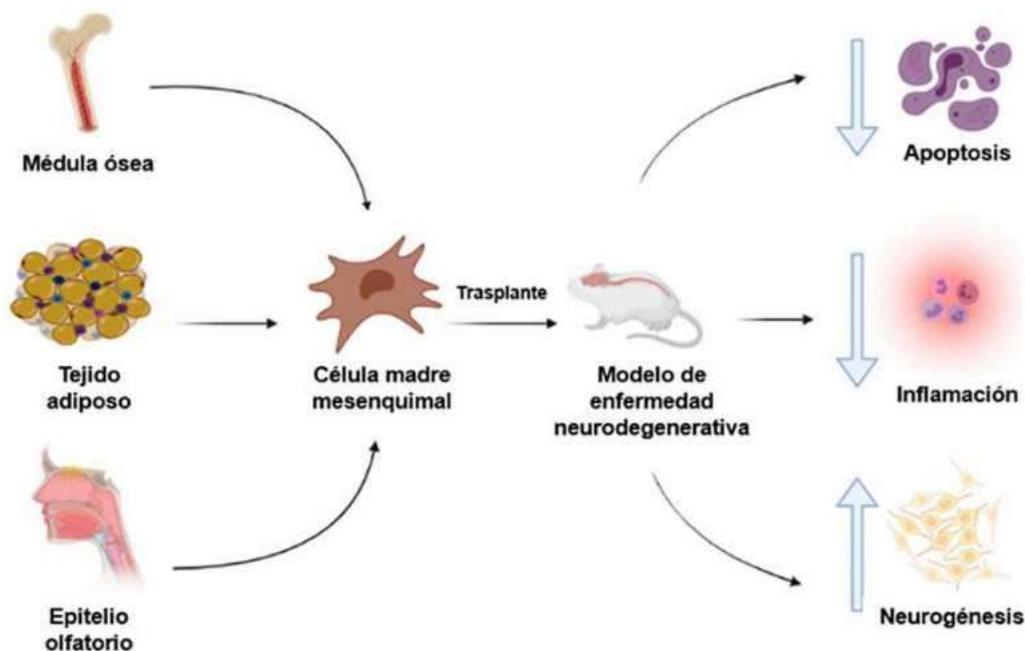


Figura 2. Uso de células madre mesenquimales en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

En otro sentido, se ha observado que las células madre mesenquimales no solo podrían utilizarse como posibles candidatos para el tratamiento de diversas enfermedades del sistema nervioso tras su trasplante, sino que también podrían ser utilizadas como un modelo de estudio para estas patologías, ya que conservan sus propiedades genéticas y epigenéticas, lo que permitiría evaluar, directamente, fármacos candidatos para una aplicación clínica exitosa. El modelado de enfermedades utilizando células derivadas de pacientes tiene como objetivo obtener información sobre disfunciones celulares y moleculares que subyacen a la patología cerebral en lugar de simular funciones cerebrales enfermas. En este sentido los investigadores han utilizado comúnmente células no neuronales de fácil acceso, como fibroblastos o linfocitos, que se transforman en células madre pluripotentes inducidas para el estudio de estas enfermedades; sin embargo, estas células tienen la desventaja de no contener todos los cambios epigenéticos mediados por el nicho neurogénico, lo que puede dificultar la integridad de los resultados y por lo tanto no poder transpolar los resultados a la enfermedad. Para superar este obstáculo se ha propuesto a las células madre ecto-mesenquimales, como modelos eficientes para enfermedades cerebrales ya que son células que están en estrecho contacto con el nicho neurogénico, se derivan de la misma capa germinal que las neuronas, se pueden recolectar mediante métodos no invasivos, consiguiendo crecer en grandes cantidades para producir poblaciones de células homogéneas que podrían ser utilizadas en diferentes ensayos biológicos. Conjuntamente se ha demostrado que las células madre ecto-mesenquimales derivadas de pacientes mantienen las propiedades asociadas con la enfermedad del paciente en diversos trastornos cerebrales, representando una excelente opción para estudiar enfermedades neurológicas, funcionando como “una ventana al cerebro”. Además, estas células se pueden utilizar para la detección sistemática de alto rendimiento, proceso que consiste en realizar múltiples análisis de células individuales mediante el uso de microscopía automatizada y análisis de imágenes, lo que

permite efectuar distintos análisis cuantitativos de componentes celulares, como distribuciones espacio-temporales de proteínas individuales, estructuras del citoesqueleto, vesículas y orgánulos, frente a diversos compuestos químicos, permitiendo así el descubrimiento de nuevos posibles tratamientos para las distintas enfermedades neurodegenerativas que aquejan a la población.

#VOLUMEN 9 - NÚMERO 2



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



Miguel Alejandro Jiménez Acosta

Candidato a doctor en ciencias en el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV.

La proteína Myo1f tiene un papel esencial en la adhesión y migración de los linfocitos intraepiteliales T γ δ

Irving Ulises Martínez Vargas, Leopoldo Santos-Argumedo y Patricia Talamás Rohana

La adhesión y migración celular son procesos biológicos fundamentales que desempeñan un papel crucial en el desarrollo, mantenimiento y reparación de tejidos. En el contexto de la respuesta inmunológica, estos mecanismos son especialmente importantes en la inmunovigilancia, que permite a las células del sistema inmunitario detectar y eliminar células extrañas, infectadas o tumorales. La migración celular puede ocurrir tanto dentro de los tejidos o entre órganos, lo que hace que este proceso biológico sea sumamente complejo.

A la fecha, se ha determinado que la migración celular depende de receptores expresados en la membrana plasmática, como los receptores de quimiocinas, que son moléculas solubles que forman gradientes a lo largo de los cuales viajan las células. Además, en la migración participan receptores de adhesión celular, como las integrinas, que son una familia de proteínas que reconocen componentes de la matriz extracelular, como la fibronectina, el colágeno y moléculas de adhesión expresadas por diversos tipos celulares. El reconocimiento de moléculas de adhesión y gradientes de quimioatracción induce el reordenamiento del citoesqueleto de actina dentro de la célula, lo que promueve el

miento celular mediante la formación de estructuras de membrana, como filopodios o lipodios, a través de mecanismos que involucran diversas proteínas asociadas.

Este estudio, disponible en la revista *Frontiers in Immunology* y dirigido por la Dra. Patricia Talamás Rohana y el Dr. Leopoldo Santos, se enfocó en la proteína motora Miosina 1f (Myo1f) y su papel en la migración de linfocitos. Esa proteína acopla cambios en la membrana plasmática con el arreglo del citoesqueleto de actina, y se descubrió que desempeña un papel esencial en la adhesión y migración de los linfocitos intraepiteliales T $\gamma\delta$. Analizando linfocitos de ratones carentes de Myo1f, se observó una reducción en la expresión del receptor de quimiocinas CCR9 y de la integrina $\alpha4\beta7$ en la membrana de los linfocitos intraepiteliales T $\gamma\delta$ deficientes. Estas dos moléculas son esenciales para el reclutamiento y retención de linfocitos en el intestino delgado. La disminución en su expresión lleva a una reducción en la capacidad de adhesión a componentes de la matriz extracelular y en la migración hacia un gradiente de CCL25 (una quimiocina que se une a CCR9). Además, la ausencia de Myo1f afecta la distribución de CCR9 y $\alpha4\beta7$ en la membrana plasmática, lo que sugiere que Myo1f participa en su transporte desde el interior de la célula hacia la superficie celular. La ausencia de Myo1f también puede afectar la fosforilación de proteínas en los aminoácidos tirosina, que son señales intracelulares necesarias para el movimiento y la adhesión celular. Todo esto resulta en una reorganización defectuosa del citoesqueleto de actina, lo que impacta en la formación de filopodios y lamelipodios, que son estructuras involucradas en los procesos de adhesión y migración celular (Figura). Todo lo anterior, en última instancia, provoca una reducción en la cantidad de linfocitos intraepiteliales T $\gamma\delta$ en el intestino delgado de los ratones deficientes de Myo1f.

Dado que los linfocitos intraepiteliales T $\gamma\delta$ desempeñan un papel crucial en la regulación del equilibrio intestinal y en la protección contra infecciones en el intestino, su disminución debido a la ausencia de Myo1f podría aumentar la susceptibilidad a infecciones.

Normal

Sin Myo1f

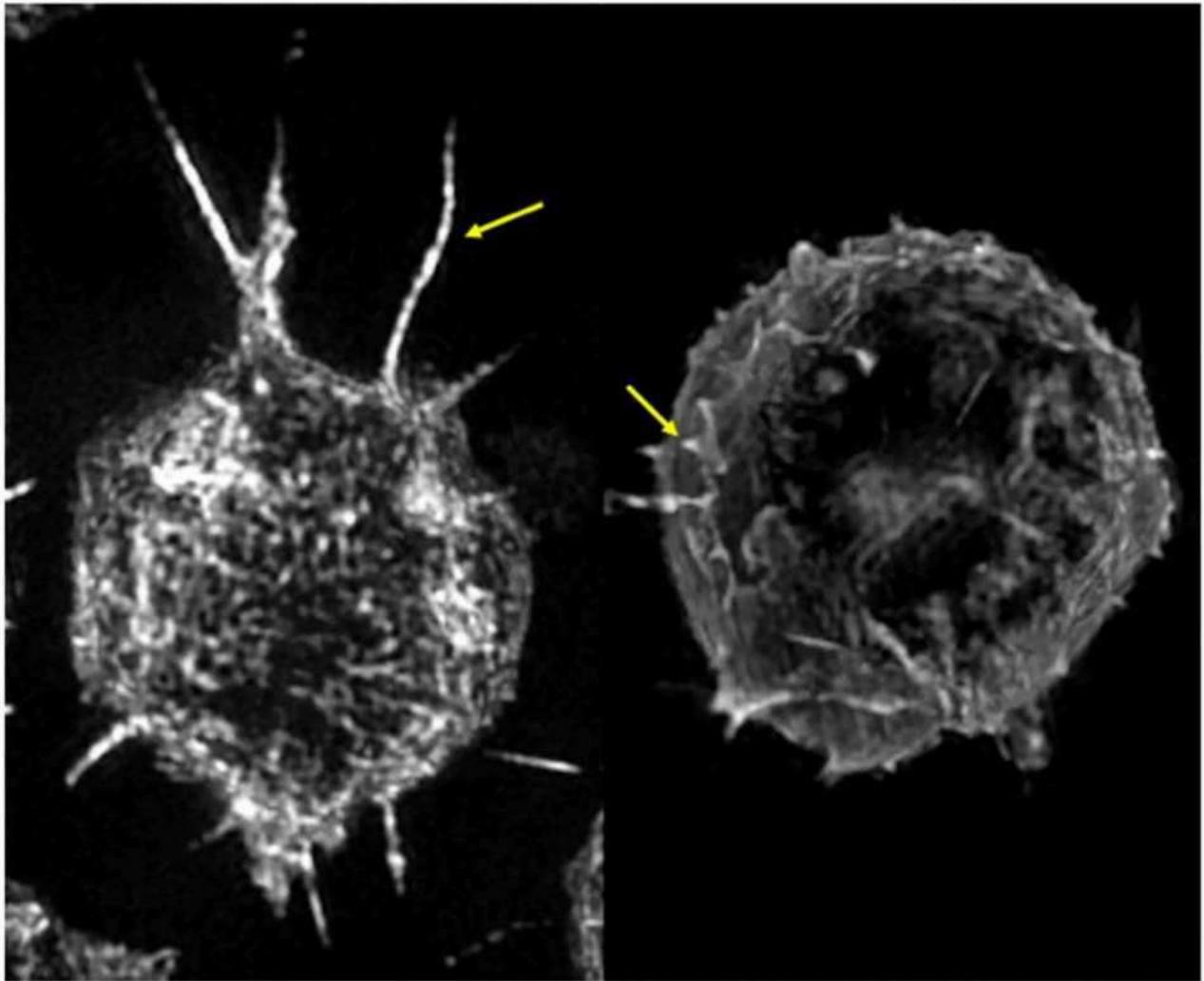


Figura. Linfocitos intraepiteliales $T\gamma\delta$ provenientes de ratones normales (izquierda) y deficientes de Myo1f (derecha). Imágenes de inmunofluorescencia que muestran en blanco el citoesqueleto de actina. Las estructuras alargadas, llamadas filopodios, se encuentran solo en las células normales y no en las células que carecen de Myo1f (flecha amarilla). Referencia: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1041079>



Irving Ulises Martínez Vargas

Investigador postdoctoral. Departamento de Computación, CINVESTAV-IPN



Leopoldo Santos-Argumedo

Jefe del Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Doctorado (1989) en la especialidad en Inmunología, por la ENCB, IPN. Realizó estudios posdoctorales en el Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Investigación Médica, Mill Hill, Londres, Reino Unido (1989-1991); y, en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigación DNAX, Palo Alto Cal., EE. UU. (1991-1993). Ha supervisado 27 tesis de doctorado y 40 tesis de maestrías.



Patricia Talamás Rohana

Recibió el grado de Doctora en Ciencias en 1987 con Especialidad en Biología Celular por el Departamento de Biología Celular CINVESTAV-IPN. Actualmente se encuentra adscrita como profesora investigadora en el Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV). Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores Nivel III.



Los RNAs circulares: Todo un nuevo mundo

Marco Antonio Meraz Ríos y Lory Jhenifer Rochin Hernández

Los RNAs circulares (circRNAs) son una clase especial recientemente descubierta de estructuras de RNA, compuestas por secuencias derivadas de exones (secuencias que codifican para la proteína) y/o intrones (secuencias intergénicas que se eliminan durante la formación del RNA mensajero, mRNA), que son generadas por un mecanismo de retro-empalme (back splicing) y por la maquinaria del espliceosoma (fundamental para generar a los mRNAs). Durante muchos años fueron considerados como subproductos no codificantes de los mRNAs, derivados del proceso de transcripción. Estas estructuras fueron descubiertas gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, y a diferencia de los RNA lineales, como el mRNA (mensajero), el miRNA (micro), los snRNA (pequeños nucleares), los lncRNAs (largo no codificante) y el ncRNA (no codificante), los circRNAs no cuentan con extremos libres 3' o 5' debido a que son circulares. Esta característica molecular los hace más estables y resistentes a la degradación en comparación con los RNAs lineales, además de que no pueden ser reconocidos por las técnicas convencionales de secuenciación que requieren la presencia de los extremos libres 3'o 5'.

Principalmente los circRNAs se forman por el retro-empalme (back-splicing) del exón, posterior al proceso de transcripción del RNA, y tienden a acumularse en altos niveles en varios tejidos humanos, especialmente en el cerebro y están presentes en el tejido neuronal. Además, se encuentran elevados durante la neurogénesis en el humano y en los ratones, indicando que estas moléculas están involucradas en la generación de los diferentes tipos neuronales. Los circRNAs tienen un papel fundamental en la regulación transcripcional, postranscripcional y traduccional de los genes y se encuentran en diferentes especies, desde las bacterias como *Escherichia coli*, la mosca *Drosophila melanogaster*, y en otras muchas donde se les ha buscado. En el genoma humano y el de ratón se conocen más de 3,000 circRNAs, de los cuales aproximadamente 69 son ortólogos. Esta conservación evolutiva de múltiples especies, es una señal relevante de que los circRNAs podrían tener un papel esencial en un amplio espectro de funciones biológicas en los mamíferos. Los circRNAs se han detectado en diferentes tejidos humanos de los sistemas respiratorio, digestivo, endocrino, tegumentario y cardiovascular, con funciones particulares que ayudan a mantener la homeostasis de estos sistemas. Por lo tanto, la concentración alterada de los circRNAs, puede tener correlaciones con diferentes patologías humanas, como las autoinmunes, los trastornos neurológicos y el cáncer.

Formación de los circRNAs.

Los circRNAs poseen un RNA monocatenario de forma circular, catalizado por la maquinaria del espliceosoma o por las ribozimas. La unión del extremo 5' río abajo de la molécula de RNA, con el sitio

aceptor río arriba 3', da como resultado la circularización de la molécula de RNA (**Figura 1**). Este mecanismo, conocido como “back-splicing” (retro-empalme), es fundamental en la generación los circRNAs. Así, pueden formarse distintos tipos de circRNAs, a través de retro-empalmes alternativos, seleccionando diferentes intrones y exones. Se ha descrito que puede existir competencia entre diversas regiones de unión al RNA, lo que podría conducir a la formación de circRNAs con exones distintos, a partir de un solo pre-mRNA (el RNA que contiene exones e intrones).

Dependiendo de su origen, el circRNA puede componerse de exones, intrones o estructuras exón-intrón (ElicRNA). El circRNA exónico (ceRNA) se acumula principalmente en el citoplasma y es resultado del proceso de empalme de las regiones exónicas del pre-mRNA. (Fig. 1). Este desarrollo puede abarcar uno o más exones que dependen de la región de circularización del pre-mRNA. La dimensión del exón definirá la estructura final del circRNA exónico, siendo el tamaño promedio de aproximadamente 404 a 709 nucleótidos (nt). El circRNA intrónico (ciRNA) se produce a partir de las estructuras “lariats” derivadas del splicing, resistentes a la degradación por exonucleasas (Fig. 1).

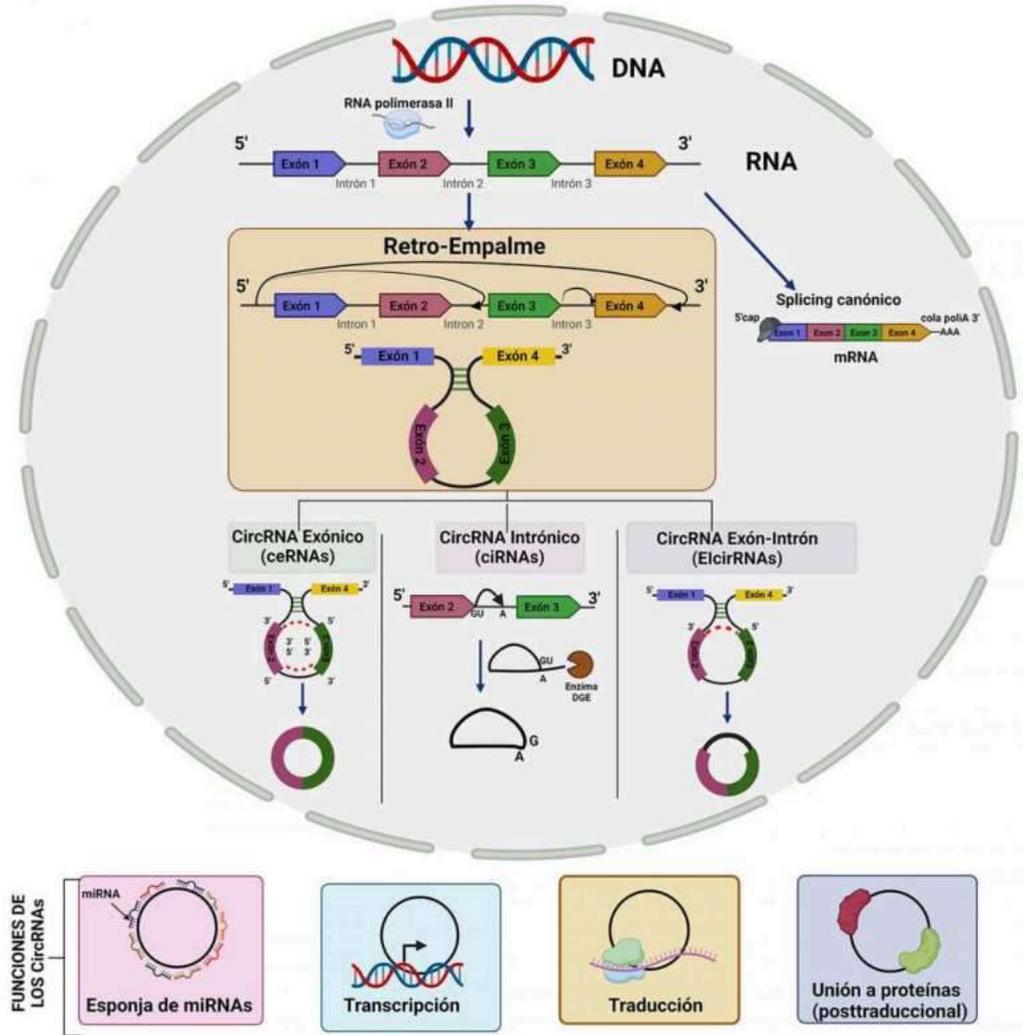


Figura 1. Biogénesis de los circRNA. El pre-mRNA actúa como molécula precursora, que de manera regular y a través del empalme canónico catalizado por la maquinaria del espliceosoma, da como resultado al mRNA maduro lineal. El retro-empalme da lugar a los circRNA y también es catalizado por la maquinaria de espliceosoma, dando lugar a los circRNAs con solo intrones, solo exones, o con intrones y exones.

Una de las diferencias moleculares más relevantes del circRNA intrónico es la presencia de un enlace de carbono 2'-5' en el punto de ramificación de empalme, mientras que el exónico se compone principalmente de una estructura fosfodiéster de 3'-5'. Otra forma de circRNAs es una combinación de exones e intrones dentro de la misma molécula circularizada. Aunque inusual, algunos fragmentos de intrones también pueden estar en la conformación del circRNA. Esta estructura se denomina circRNA exón-intrón (o ElicRNAs) (Fig. 1). Este tipo de circRNA se forma por un mecanismo similar al de los circRNAs exónicos, pero

in el corte y la presencia de sitios de empalme canónicos para la eliminación de los intrones. En el genoma humano los genes productores de circRNAs tienden a ser más largos y contienen más exones que los genes promedio. Una de las funciones establecidas para los circRNAs, es la capacidad de actuar como esponjas de los miRNAs, que son moléculas pequeñas de RNA capaces de regular al 30% de los genes que codifican proteínas, y por lo tanto, influir en las acciones transcripcionales que tienen estas moléculas. Para realizar esta función, los circRNAs presentan múltiples sitios de unión para los miRNAs, lo que les permite capturarlos y controlar indirectamente la expresión génica.

Las proteínas de unión al RNA (RBP, por sus siglas en inglés), también pueden servir como factores reguladores en la formación de los circRNAs. Un ejemplo es la RBP proteína temblorosa (QKI), que regula la formación de circRNA mediante la unión a su pre-mRNA, que presenta sitios de unión capaces de inducir el retro-empalme y, en consecuencia, la circularización de la molécula. Otro regulador importante en la síntesis de los circRNAs es la proteína adenosina desaminasa 1 (ADAR-1). Un incremento en esta enzima regula a la baja la expresión de los circRNAs. El contexto genético juega un papel esencial en la expresión y biogénesis del circRNA, mostrando una expresión específica de tejido.

El propósito real de esta molécula en la homeostasis humana sigue siendo desconocido. Aunque se sabe que pueden actuar como esponjas, su correlación con diferentes tejidos podría ayudarnos a entender mejor sus funciones. A pesar de que los circRNAs están presentes en numerosos tejidos del humano, el tejido neuronal tiene una abundante expresión de estas moléculas.

En el cerebro de los mamíferos, los circRNAs se elevan en diferentes regiones, especialmente en el cerebelo, y muestran una expresión diferente que depende de la etapa del desarrollo. Los cambios epigenéticos (variación en la actividad y expresión génica, sin cambiar las secuencias de DNA), también influyen en la biogénesis de los circRNA. Estas transcripciones circulares tienden a acumularse durante el envejecimiento en varios tejidos, especialmente en el cerebro y su expresión se correlaciona con la aparición de varias patologías, incluido un amplio espectro de trastornos neurológicos. Los hallazgos anteriores también han demostrado que los circRNAs tienen una presencia significativa en el tejido neuronal y se encuentran elevados durante la neurogénesis, con un número importante derivado de genes neuronales, lo que sugiere que estas moléculas circulares están implicadas en el fenotipo celular y molecular de nuestro cerebro. Sin embargo, la biogénesis completa de los muchos tipos de moléculas circRNAs no está completa aún y su participación en el fenotipo neuronal y el desarrollo de patologías siguen siendo un tema desafiante para los científicos.

Aunque existe una distribución asimétrica de los circRNAs en las neuronas, se ha observado que se encuentran en mayor concentración en las terminales sinápticas, actuando como una molécula con funcionalidad específica en las sinapsis. Al ser más estables que los RNA lineales, los circRNAs podrían actuar en estados de estrés y también funcionar como compuestos relacionados con la memoria. Además, durante la diferenciación neuronal, el número de circRNAs aumenta significativamente. Por lo tanto, muchos circRNAs se expresan en diferentes momentos de diferenciación y maduración neuronal, especialmente en el desarrollo postnatal. La expresión ectópica de ciRS-7 deriva en un desarrollo anormal del mesencéfalo en el pez cebra. En nuestro cerebro, el circRNA más abundante es ciRS-7 y contiene más de 70 sitios de unión para el miRNA-7 (miR-7), reprimiendo su funcionamiento normal, lo que supone un papel esencial en el desarrollo del cerebro. La investigación actual muestra que los circRNAs se enriquecen en las neuronas y se acumulan en la corteza cerebral y el hipocampo en los ancianos, lo que sugiere que su sobrecarga puede conducir a la disfunción celular y cerebral. Por lo tanto, a medida que el individuo avanza en edad, los niveles de expresión de los circRNAs aumentan en el sistema nervioso y pueden conducir al desarrollo de varias enfermedades neurológicas.

Por ejemplo, en el tejido cerebral de pacientes con Enfermedad de Alzheimer (EA), se ha demostrado que se encuentra disminuido ciRS-7, ocasionando un aumento de miRNA-7 en el neocórtex y el hipocampo. Este aumento en miRNA-7 provoca una disminución de la enzima conjugadora de ubiquitina E2A (UBE2A), que es una proteína fagocítica autofágica esencial para que el cerebro pueda eliminar los péptidos amiloides y otras moléculas relacionadas con efectos citotóxicos producidos por la degeneración progresiva del sistema nervioso central.

Por otro lado, ciRS-7 también se asocia con la Enfermedad de Parkinson (EP) en la cual hay un desequilibrio entre las tasas de síntesis, agregación y eliminación de alfa-sinucleína (α -syn) resultando en la formación de especies oligoméricas y fibrilares tóxicas. Sin embargo, los mecanismos moleculares a través de los cuales, los agregados anormales de α -syn contribuyen a la neurodegeneración en la EP no son claros. Se sabe que miR-7 regula negativamente la expresión de α -syn, al unirse directamente al extremo 3'-UTR de su mRNA. Clínicamente, los pacientes con EP tienen niveles significativamente más bajos de miR-7 en la *substancia nigra*, y como se mencionó, ciRS-7 puede actuar como esponja de miR-7 y atraparlo. De esta manera, la sobreexpresión de ciRS-7 podría reducir los niveles de miR-7, lo que lleva a un aumento en la expresión cerebral α -syn.

En los trastornos del espectro autista (TEA), caracterizados por el deterioro de la interacción social, la comunicación verbal y no verbal y el comportamiento repetitivo, las investigaciones recientes han encontrado alrededor de 60 circRNAs, expresados diferencialmente en los cerebros post-mortem de individuos con TEA. Este estudio también investigó la correlación de los circRNAs con la expresión de miRNAs y mRNA en muestras de corteza de pacientes con TEA, y halló 8,170 interacciones circRNA-miRNA-mRNA. Estos resultados sugieren que varios genes de riesgo de TEA, como la neurologina 1 (NLGN1), el antígeno estromal 1 (STAG1), el hidroxisteroide 11-beta deshidrogenasa 1 (HSD11B1), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la enzima activadora 6 modificadora similar a la ubiquitina (UBA6), están regulados por un mecanismo de circRNAs.

En un modelo de daño cerebral por isquemia-hipoxia (HIBD) para ratas, sometidas a isquemia, ligando permanentemente la arteria carótida derecha. Después de un tiempo de recuperación de 1 h, los animales son expuestos a hipoxia en una cámara con 8% O₂ y 92% de N₂ durante 2.5 h y luego regresan a su vida normal. En el cerebro, se identificaron alrededor de 66 circRNAs expresados diferencialmente (20 regulados al alza y 46 a la baja) en comparación con el grupo control. Además, estos circRNA alterados, fueron 70% de origen exónico y un 28% de origen intergénico. Estos resultados suponen que la isquemia causada por la falta de oxígeno en el cerebro puede estar directamente vinculada con el desequilibrio de la expresión de los circRNAs en la corteza. Otro RNA circular con característica de esponja implicado en los tejidos neuronales es el circRNA Sry. Esta molécula tiene sitios de unión que pueden capturar miR-138 y se asocia con procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria. En otro estudio se evaluó el efecto del circRNA en el trastorno bipolar, con alteraciones significativas de la expresión de dos circRNA específicos, cNEBL y cEPA3, presentes en los loci genómicos de los genes NEBL (Nebulette) y EPH Receptor A3 (EPA3).

Desde luego, la función de los circRNAs requiere más investigaciones, y aunque el campo de la transcriptómica ha permitido un desarrollo creciente en la detección de los circRNAs, es necesario profundizar en su identificación y clasificación, principalmente para detectar posibles variaciones entre estas moléculas. La asociación de circRNAs con varios fenotipos neurológicos y con distintas enfermedades ya han demostrado la importancia que estas moléculas pueden tener como elementos centrales de la patogénesis en el tejido neurológico. Sin embargo, el estudio del circRNA para patologías humanas aún tiene mucho por avanzar, pero puede ayudar a dilucidar dudas y guiar a los científicos en este nuevo y apasionante campo del RNA.

Referencias:

- Guerra BS, et al. Biogenesis of circular RNAs and their role in cellular and molecular phenotypes of neurological disorders. *Semin Cell Dev Biol.* 2021 Jun;114:1-10. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.08.003. Epub 2020 Sep 3. PMID: 32893132.
- Han B, Chao J, Yao H. Circular RNA and its mechanisms in disease: From the bench to the clinic. *Pharmacol Ther.* 2018 Jul;187:31-44. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.01.010. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29406246.
- Hanan M, Soreq H, Kadener S. CircRNAs in the brain. *RNA Biol.* 2017 Aug 3;14(8):1028-1034. doi: 10.1080/15476286.2016.1255398. Epub 2016 Nov 28. PMID: 27892769; PMCID: PMC5680707.



Lory Jhenifer Rochin Hernández

Estudiante de doctorado del Departamento de Biomedicina Molecular.



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



El CBD un nuevo aliado en el tratamiento del cáncer de mama

Isaura Meza Gómez Palacio y Lázaro García-Morales

E

l cáncer de mama (CaMa) es la causa más común de muerte por cáncer en mujeres en el mundo. Se estima que una de cada doce mujeres padecerá esta enfermedad a lo largo de su vida (WHO, 2023). En México, durante 2020 se reportaron 29,929 casos nuevos de CaMa y 7,931 muertes con una tasa de incidencia de 40.5 y de mortalidad de 10.6 por 100 mil habitantes. La aparición de este cáncer se ha asociado a factores hereditarios como son: las mutaciones en los genes BRCA1, BRCA2, y TP53 en el DNA, los factores reproductivos, el uso prolongado de anticonceptivos orales y terapias de sustitución hormonal y el estilo de vida de cada persona considerando consumo de alcohol, sobrepeso y obesidad (IARC, 2020).

El CaMa se manifiesta a partir del crecimiento descontrolado de los diferentes tipos de células del tejido mamario (células epiteliales, ductales o glandulares). Inicialmente se presenta la aparición de una masa tumoral definida, en el pecho, con bajo potencial de diseminación a otras partes del cuerpo (American Cancer Society, 2023). Sin embargo, algunos estímulos como un microambiente inflamatorio pueden favorecer su propagación (metástasis) mediante la inducción de características malignas en las células cancerosas que aumentan su capacidad de migración, invasión, resistencia a ciertos fármacos y la expresión de mecanismos relacionados con una mayor multiplicación celular y sobrevivencia (Lim *et al.*, 2018; Yang & Lin, 2017).

Debido a esto, gran parte de los estudios sobre cáncer mamario se han centrado en caracterizar la malignidad de los tumores y su asociación con la inflamación, así como el empleo de fármacos específicos para eliminarlos. En cambio, poco se ha estudiado en relación con los mecanismos de transición a la malignidad inducida por el ambiente tumoral. ¿Cómo se lleva a cabo esta transición? ¿Cuáles son las moléculas que detonan los cambios estructurales y moleculares que conducen a la inducción y desarrollo de un cáncer invasivo? Son preguntas que aún no tienen respuesta.

Para responder estas interrogantes diseñamos un modelo *in vitro* utilizando una línea celular de cáncer mamario no invasivo (células llamadas MCF-7). Nuestros resultados mostraron que el estímulo de estas células con la citocina proinflamatoria IL-1 β , reportada aumentada en pacientes con cáncer mamario, fue suficiente para inducir la transformación de las células MCF-7 en células malignas (a las que denominamos células 6D). Encontramos que la conversión a la malignidad se lleva a cabo a través de una vía de señalización (mecanismos intracelulares), no reportada previamente, a la que nombramos IL-1 β /IL-1RI/ β -catenina (Figura 1).

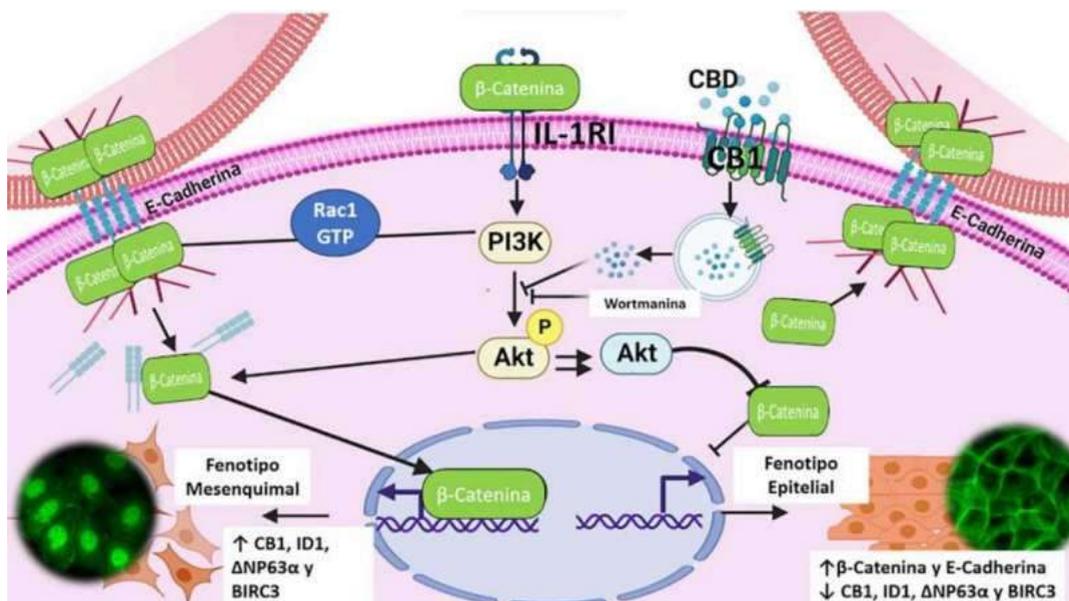


Figura 1. Vía de señalización de IL-1 β en células de cáncer de mama (Modificado de García-Morales *et al.*, 2020).

El primer paso de la activación de dicha vía inicia con la unión de la citocina IL-1 β con su receptor (IL-1RI), lo cual provoca la activación de este último, el rearrreglo del citoesqueleto de las células y la sobreexpresión de las proteínas llamadas PI3K, Rac y AKT, al mismo tiempo que ocurre la disociación de los complejos de unión adherente de las membranas de las células no invasivas, liberando a la proteína β -catenina al citoplasma. La pérdida de contacto entre las células permite que β -catenina se transloque al núcleo, donde funciona como un regulador de la transcripción selectiva de genes que codifican para las proteínas (ID1, CB1, Δ NP63 α , BIRC3) reclutadas a la vía de señalización de la IL-1 β (Figura 1) como efectoras para la expresión de cambios moleculares y estructurales tales como: aumento de motilidad, invasión, proliferación, sobrevivencia y resistencia a drogas.

Utilizando dos de las drogas más empleadas en el tratamiento de CaMa (cisplatino y doxorubicina), encontramos que durante la transición a la malignidad inducida por IL-1 β , se aumenta la expresión de las proteínas Δ NP63 α y BIRC3, que son marcadores de la resistencia a estos dos fármacos (Pérez-Yepez *et al.*, 2014; Mendoza-Rodríguez *et al.*, 2017, 2019). Una vez establecidos estos mecanismos, surgió la necesidad de investigar y desarrollar una estrategia enfocada a bloquear o revertir la vía de señalización que se muestra en la Figura 1.

En la búsqueda de algún compuesto útil para bloquear la vía de señalización de IL-1 β y reducir la sobrevivencia de las células malignas, se encontró que éstas sobreexpresan en su membrana celular el receptor para Cannabinoides 1 (CB1). Este receptor se ha reportado como parte de un sistema de señalización de moléculas conocidas como endocannabinoides, compuestos derivados del ácido araquidónico que normalmente están presentes en las células del cuerpo participando en el desarrollo neurológico y la inflamación.

La expresión de CB1 nos sugirió la posibilidad de usar el Cannabidiol (CBD) como una molécula que podría bloquear la señalización de IL-1 β y la transición de células no invasivas a células malignas. Empíricamente, CBD se ha utilizado en enfermedades autoinmunes, desórdenes alimenticios, trastornos neurológicos, enfermedades cardíacas y cáncer, sin conocer los mecanismos mediante los cuales tiene un efecto antiinflamatorio (Mouhamed *et al.*, 2018; Nahler, 2022). Al ser un cannabinoide no psicotrópico, CBD se distribuye libremente con fines medicinales sin control de las dosis administradas.

En nuestro modelo *in vitro*, al administrar CBD a las células 6D observamos que fue capaz de bloquear y revertir los efectos inducidos por IL-1 β , ejerciendo un efecto adyuvante durante el tratamiento de estas células con el fármaco anticancerígeno cisplatino (García-Morales *et al.*, 2020). Los resultados obtenidos con las células 6D demostraron que la vía por la cual se adquieren algunas de las características asociadas a malignidad en células cancerosas, puede ser bloqueada por CBD, de tal forma que se podría diseñar un

modelo *in vivo* en el cual se pudiera evaluar el uso de CBD como una molécula útil en el tratamiento del CaMa con mayor seguridad para su uso.

Para esto, usamos ratones inmunodeficientes (ratones desnudos *nu/nu*), a los cuales se les inocularon las células 6D en la parte dorsal y una vez que desarrollaron el tumor, los ratones fueron tratados con CBD. En forma paralela otro grupo de ratones se trataron con CBD por varios días previos a la inyección de las células 6D. En ambos casos se logró favorecer la reducción de los tumores y en algunos ratones se llegó hasta una notable reabsorción (Figura 2). Los estudios moleculares de los tumores indicaron que el efecto inhibidor de CBD se debe al bloqueo causado en la vía de señalización IL-1 β /IL-1RI/ β -catenina, específicamente al nivel de la activación de la proteína AKT, que es un punto crítico de la vía de señalización. Estos resultados confirmaron aquellos previamente determinados en el modelo *in vitro*. Además, en el modelo *in vivo* se pudo estudiar que existe una comunicación de esta vía con otras señales participantes en el proceso de muerte celular programada (apoptosis) y de la inhibición de factores asociados con la vascularización de los tumores que favorecen el desarrollo tumoral (García-Morales *et al.*, 2023).



Figura 2. Muestra el efecto del CBD en la reabsorción de un tumor generado en un ratón inoculado con células 6D.

En resumen, a partir de nuestros modelos *in vitro* e *in vivo*, encontramos mecanismos por los cuales se induce la malignidad de las células de cáncer de mama, originalmente no invasoras, que les permiten formar tumores malignos; así mismo, se han investigado alternativas para bloquear o revertir dicho proceso. Los datos obtenidos con estos modelos, basados en la importancia de un microambiente inflamatorio como un inductor de transición a la malignidad, puede ser contrarrestado con una administración adecuada y supervisada de CBD, inhibiendo la expresión de rasgos malignos asociados a la transición generada por dicho ambiente.

Referencias:

WHO. (2023). Breast Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>

IARC. (2020). GLOBOCAN 2020: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence in Mexico. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf>

American Cancer Society. (2023). Cáncer de seno. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/acerca/tipos-de-cancer-de-seno.html>

Yang, L., & Lin, P. C. (2017). Mechanisms that drive inflammatory tumor microenvironment, tumor heterogeneity, and metastatic progression. *Seminars in Cancer Biology*, 47(August), 185-195. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.001>

Lim, B., Woodward, W. A., Wang, X., Reuben, J. M., & Ueno, N. T. (2018). Inflammatory breast cancer biology: the tumour microenvironment is key. *Nature Reviews Cancer*, 18(8), 485-499. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0010-y>

- Perez-Yepez, E. A., Ayala-Sumuano, J.-T., Lezama, R., & Meza, I. (2014). A novel β -catenin signaling pathway activated by IL-1 β leads to the onset of epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells. *Cancer Letters*, 354(1), 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.08.015>
- Mendoza-Rodríguez, M., Arévalo Romero, H., Fuentes-Pananá, E. M., Ayala-Sumuano, J.-T., & Meza, I. (2017). IL-1 β induces up-regulation of BIRC3, a gene involved in chemoresistance to doxorubicin in breast cancer cells. *Cancer Letters*, 390, 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.01.005>
- Mendoza-Rodríguez, M., Ayala-Sumuano, J., García-Morales, L., Zamudio-Meza, H., Pérez-Yepez, E., & Meza, I. (2019). IL-1 β Inflammatory Cytokine-Induced TP63 Isoform Δ NP63 α Signaling Cascade Contributes to Cisplatin Resistance in Human Breast Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 270. <https://doi.org/10.3390/ijms20020270>
- Mouhamed, Y., Vishnyakov, A., Qorri, B., Sambhi, M., Frank, S. S., Nowierski, C., Lamba, A., Bhatti, U., & Szewczuk, M. R. (2018). Therapeutic potential of medicinal marijuana: an educational primer for health care professionals. *Drug, Healthcare and Patient Safety*, 10, 45–66. <https://doi.org/10.2147/DHPS.S158592>
- Nahler, G. (2022). Cannabidiol and Other Phytocannabinoids as Cancer Therapeutics. In *Pharmaceutical Medicine* (Vol. 36, Issue 2). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s40290-022-00420-4>
- García-Morales, L., Castillo, A. M., Tapia Ramírez, J., Zamudio-Meza, H., Domínguez-Robles, M. D. C., & Meza, I. (2020). CBD Reverts the Mesenchymal Invasive Phenotype of Breast Cancer Cells Induced by the Inflammatory Cytokine IL-1 β . *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2429. <https://doi.org/10.3390/ijms21072429>
- García-Morales, L., Mendoza-Rodríguez, M. G., Tapia Ramírez, J., & Meza, I. (2023). CBD Inhibits In Vivo Development of Human Breast Cancer Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), 13235. <https://doi.org/10.3390/ijms241713235>
-

#VOLUMEN 9 - NÚMERO 3



Isaura Meza Gómez Palacio

Profesora Emérita. Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV



Lázaro García-Morales

Doctor en Ciencias, Departamento de Biomedicina Molecular, Auxiliar de Investigación.

La proteostasis y el origami de la vida

Lory Jhenifer Rochin Hernández y Marco Antonio Meraz Ríos

Los seres vivos tienen estructuras biológicas muy complejas, formadas por diferentes sistemas interconectados entre sí para llevar a cabo sus funciones, mantenerse en equilibrio y en buena salud. Si este balance se llega a romper, se puede pasar a un estado alterado conocido como enfermedad.

Los organismos multicelulares, como el ser humano, cuentan con órganos específicos constituidos por tejidos, y éstos, a su vez, por células, componente básico y fundamental de todo ser vivo, cuyas funciones son realizadas en su mayoría por un tipo particular de biomoléculas, algunas sencillas, otras complejas, dinámicas, versátiles y diversas, llamadas **proteínas**. Además de éstas, existen otras tres biomoléculas esenciales: carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos.

Si bien estos últimos contienen la información genética de las células y determinan las características primarias de las proteínas, éstas son las responsables de ejercer las funciones de la célula, y suelen ser mucho más diversas en estructura y función. Las proteínas pueden tener diferentes tamaños, formas y tipos. Existen proteínas estructurales, de soporte o contráctiles que le dan forma y motilidad a la célula; otras son de almacenamiento o de defensa, como los anticuerpos; otras pueden ser de transporte como la hemoglobina, y unas más, como las hormonas, actúan como señales entre las células. Las hormonas son como palomas mensajeras que llevan información a lugares distantes del cuerpo. Otras proteínas como las enzimas, son capaces de acelerar y controlar las reacciones químicas que se producen dentro de las células. Las proteínas constituyen más del 50% del peso en seco de un organismo

En 2018 se reportó que tan solo una célula de levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae*, contiene 42 millones de moléculas de proteínas y que cada proteína tiene entre 1000 y 10,000 copias; algunas son muy abundantes, con más de medio millón de moléculas, mientras que otras existen en menos de 100 moléculas por célula. Se dice que el número de moléculas de proteínas del cuerpo humano es igual a la cantidad de monedas de un peso que llenarían el Océano Pacífico.

A inicios del siglo XIX los científicos comenzaron a estudiar la composición química de los organismos; Jöns Jacob Berzelius, considerado como el padre de la química sueca, sugirió el término proteína (del griego *proteios* que significa primero o primordial, además de que alude al dios griego Proteo, el cual era capaz de transformarse en cualquier animal), para referirse a una sustancia que al parecer era fundamental para los seres vivos. Después, Gerardus Johannes Mulder, por sugerencia de Berzelius, en 1838 empleó el término proteína por primera vez en su artículo "Sobre la composición de algunas sustancias animales".

¿De qué están hechas las proteínas? ¿De qué está hecha esta sustancia fundamental? Los aminoácidos son los componentes básicos de las proteínas. En la actualidad, muchos de ellos se utilizan como suplementos alimenticios para aumentar la masa muscular. En 1806, los franceses Louis-Nicolas Vauquelin y Pierre Robiquet, aislaron la asparagina a partir del jugo de espárrago; posteriormente, en 1820, Henri Braconnot, al hervir gelatina descubrió otro aminoácido, la glicina. La lista se completó hacia finales del siglo XIX, cuando se descubrieron y nombraron 20 aminoácidos capaces de formar a las proteínas y cuya composición química fundamental consiste en un átomo de carbono, denominado carbono alfa (α), al cual se le unen un grupo amino ($-\text{NH}_2$), un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$), un átomo de hidrógeno ($-\text{H}$) y un grupo químico variable al que se le llama cadena lateral o grupo sustituyente ($-\text{R}$), que les confiere propiedades químicas específicas que determinan su identidad y permiten su clasificación en aminoácidos ácidos, básicos, polares y no polares. Es muy importante señalar que 9 de estos 20 aminoácidos deben ingerirse directamente a través de los alimentos, ya que no pueden sintetizarse por las células del ser humano; se designan como aminoácidos esenciales (**Figura 1**).

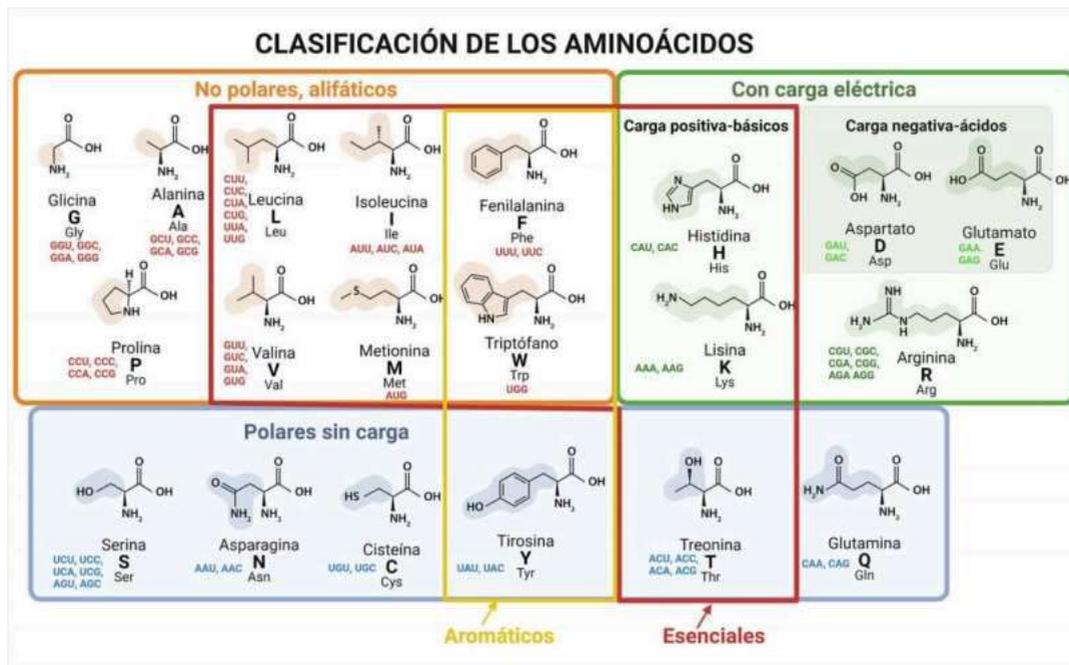


Figura 1. Clasificación de los aminoácidos de acuerdo a sus propiedades.

Las proteínas tienen diferente secuencia de aminoácidos, que se unen linealmente entre sí mediante un enlace covalente denominado enlace peptídico, donde el grupo carboxilo del aminoácido, reacciona con el grupo amino de otro aminoácido; a esta secuencia se le conoce como estructura primaria y, a pesar de que sólo hay 20 aminoácidos diferentes para formar a las proteínas, la cantidad de combinaciones posibles es prácticamente ilimitada, ya que cada una puede contener varios cientos o miles de aminoácidos.

Para darnos una idea, la titina, una proteína importante en la contracción del músculo estriado, pues permite que las células musculares se contraigan en sintonía, es la proteína más grande conocida del ser humano, compuesta por más de 25,000 aminoácidos cuyo nombre proviene de la palabra Titán (personajes gigantes de la mitología griega con fuerza excepcional).

Esta proteína se sintetiza en el citoplasma usando al ácido ribonucleico (RNA) mensajero (mRNA) que contiene la secuencia de nucleótidos adecuada. Es decir, tiene la información o mensaje para producir esta proteína. El mRNA interactúa con un complejo proteico llamado ribosoma, el cual "lee" la secuencia de nucleótidos del mRNA, usando un triplete de nucleótidos para cada aminoácido, permitiendo que otro tipo de RNA, llamado RNA de transferencia (tRNA), vaya ensamblando los aminoácidos hasta terminar toda la secuencia de mRNA y el ribosoma se detenga cuando encuentre un triplete o codón de paro. Éste no codifica para algún aminoácido y su secuencia puede ser uracilo-guanina-adenina (UGA), uracilo-adenina-guanina (UAG) o uracilo-adenina-adenina (UAA). Una vez terminado el proceso de traducción del mensajero a la secuencia de la proteína (estructura primaria), la proteína naciente debe plegarse y adquirir una conformación tridimensional que la hará funcionalmente activa -proteína activa-, proceso complejo

que consta de varios pasos y que involucra a la formación de la estructura secundaria de las proteínas (ESP).

La ESP se refiere a las conformaciones locales de la cadena proteica; las más comunes son las alfa hélices y las láminas beta, que se estabilizan mediante enlaces de hidrógeno. Estas estructuras pueden plegarse o enrollarse de diferente manera y mantenerse unidas por diferentes medios como: las fuerzas de Van der Waals, las interacciones electrostáticas, y los puentes disulfuro (estructura terciaria). Las proteínas también pueden formarse por una o varias cadenas de aminoácidos o polipéptidos (estructura cuaternaria). Sin embargo, estas interacciones pueden interrumpirse por cambios de temperatura, pH, algunos compuestos químicos y otros factores ambientales que pueden alterar su conformación y provocar la destrucción de sus estructuras (proceso conocido como desnaturalización de la proteína) y como consecuencia, causar la pérdida de la función de esa proteína. Un ejemplo claro de este fenómeno es lo que sucede al freír un huevo, donde el calor desnaturaliza a las proteínas ovoalbúminas (proteínas abundantes contenidas en la clara de huevo), que ocasiona la exposición de los aminoácidos hidrofóbicos, los cuales forman una red que la vuelven blanca y opaca.

Mantener la estructura funcional de las proteínas no es sencillo. Debido a su procesamiento complejo, deben sujetarse a un mecanismo riguroso de supervisión. La importancia de estas moléculas, su gran diversidad funcional y constante síntesis y recambio, hace que la célula cuente con una gran variedad de medios para controlar que las proteínas se procesen bien y no presenten malos plegamientos o daños que ocasionen alteraciones en su funcionalidad. Al fenómeno por el cual la maquinaria celular mantiene un estricto control de calidad y equilibrio proteico, se le conoce con el nombre de proteostasis, término acuñado por Balch en el 2008 y publicado en la revista *Science* (1) para referirse a esta compleja red de vías y procesos celulares que mantienen la homeostasis de las proteínas dentro de las células, desde su síntesis, plegamiento, transporte y finalmente su degradación (2). Las proteínas que actúan en varios niveles de esta red de control son las *chaperonas*, encargadas de llevar a cabo el “origami de las proteínas en las células”. Como escribió David Pincus, las chaperonas moleculares, también conocidas como proteínas de choque térmico (HSPs), son las que facilitan el plegamiento correcto de las proteínas y evitan su agregación, justo como los antiguos chaperones acompañaban a las personas que les encargaban, para vigilar el “buen comportamiento” de las personas a su cuidado.

Además de las chaperonas, existen otros procedimientos de control para eliminar a las proteínas mal plegadas, como son: el sistema ubiquitín-proteasoma y la autofagia; ambos procesos de degradación se encargan de eliminar a las proteínas alteradas. También se tiene a la vía de respuesta a la proteína mal plegada (UPR) que en situaciones de estrés se activa a través de 3 sensores del retículo endoplásmico: la proteína cinasa del retículo endoplásmico (PERK), la cinasa transmembranal endoribonucleasa 1 α dependiente de inositol (IRE1 α) y el factor de transcripción activador-6 (ATF6), que en condiciones normales están unidos a la proteína de choque térmico BiP manteniéndolas inactivas. Sin embargo, en condiciones de estrés, esta proteína chaperona (BiP) o la proteína de choque térmico (HSPA5), se separan, permitiéndoles activarse por fosforilación inhibiendo la traducción general de proteínas y facilitando la expresión específica de proteínas chaperonas y otros genes protectores de la proteostasis.

Se ha observado que en condiciones de estrés **crónico** no se puede restablecer la proteostasis, propiciando la agregación de proteínas, lo cual ocasiona toxicidad y muerte celular. Esto es similar a cuando se estira una liga elástica y regresa a su forma original; si se estira demasiado llegará un punto en el que ya no pueda regresar a su forma original, como ocurre con las proteínas de la clara del huevo frito (**Figura 2**).

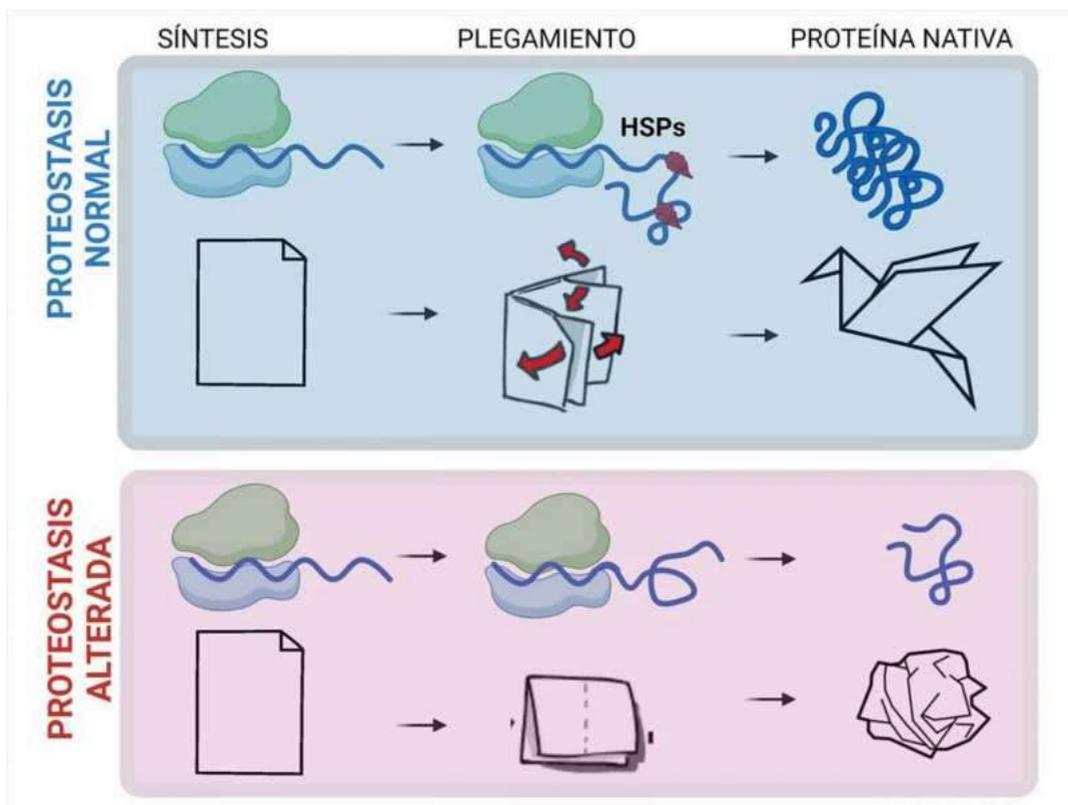


Figura 2. Plegamiento y origami de proteínas.

Existen varias condiciones patológicas en las que ocurre un desbalance en la proteostasis, se ha reportado que este fenómeno se incrementa durante el envejecimiento y en varios trastornos neurodegenerativos. Esas alteraciones se conocen como proteinopatías y se caracterizan por la acumulación de proteínas mal plegadas en zonas específicas del cerebro, lo que puede provocar sintomatologías diferentes en el individuo afectado. La presencia de estas proteínas desata diferentes procesos fisiopatológicos como son: neuroinflamación, daño oxidativo, activación de las células inmunes del cerebro (microglia), así como alteraciones en los mecanismos de degradación proteínica, y finalmente la muerte neuronal, que puede llevar a la demencia.

La principal demencia conocida hasta ahora es la Enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por la acumulación de depósitos extracelulares del péptido amiloide beta (β A) denominados placas amiloides, y por los agregados intracelulares de la proteína tau hiperfosforilada, llamados ovillos neurofibrilares. Otro padecimiento que presenta grandes acúmulos de proteínas mal plegadas es la enfermedad de Parkinson, la cual se asocia con la acumulación de la proteína alfa-sinucleína en las neuronas dopaminérgicas de la *sustancia nigra compacta*, llamados cuerpos de Lewy, y están asociados a la muerte de las neuronas dopaminérgicas. De igual manera, en la enfermedad de Huntington, se acumula una forma anormal de la proteína huntingtina. Esta proteína tiene más de 40 glutaminas (polyQ) en su estructura, lo que provoca cambios conformacionales que alteran su función y llegan a causar la muerte neuronal. Otra enfermedad con alteraciones en la acumulación de proteínas es la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), en donde la proteína TDP-43 y la superóxido dismutasa 1 (SOD1) se aglomeran en las neuronas motoras y en las células gliales, provocando alteraciones funcionales y la muerte. Finalmente, otro trastorno en donde es muy claro el plegamiento anormal de una proteína es la enfermedad causada por los priones o encefalopatía espongiiforme con agregados extracelulares de la proteína priónica (**Figura 3**).

PROTEINOPATÍAS

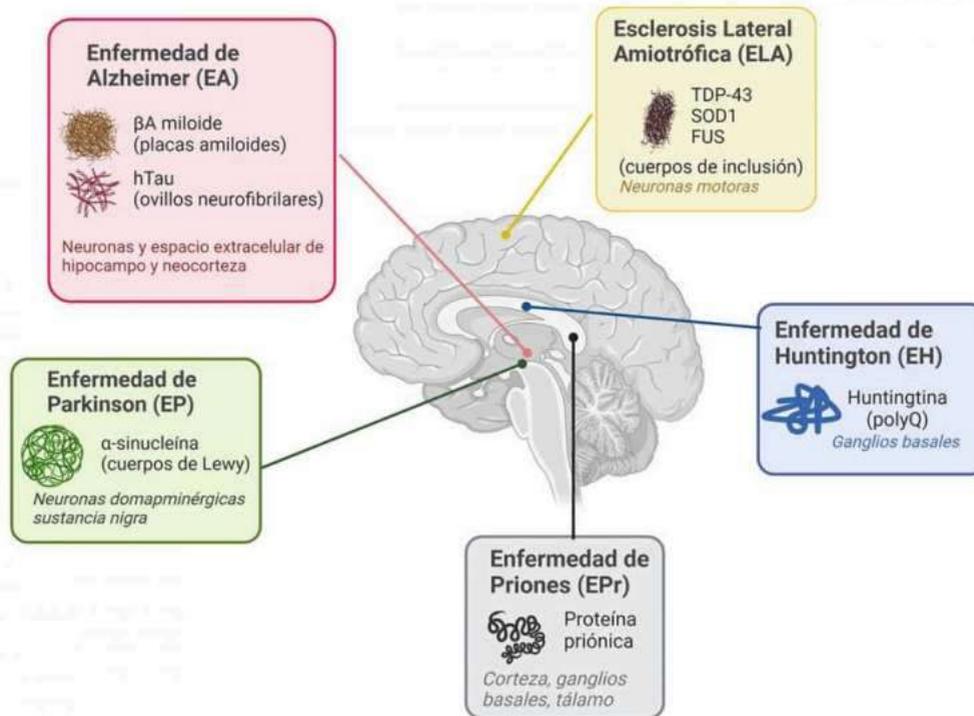


Figura 3. Ejemplos de enfermedades causadas por proteínas anormales.

Hasta la fecha no existe un tratamiento eficaz, ni herramientas de diagnóstico adecuadas para la mayoría de estas enfermedades, causadas por proteínas anormales. Sin embargo, diversos estudios demuestran que las células del cerebro de los pacientes son incapaces de formar y degradar adecuadamente a estas proteínas. Se ha observado que una posible causa son los niveles de las proteínas chaperonas —disminuidos o aumentados— y que esto se incrementa con la edad. La modificación en los niveles o composición de las proteínas chaperonas favorece la acumulación de las proteínas alteradas y la formación de estos agregados, generando una alteración en la proteostasis celular. Se ha reportado que cuando se restablecen los niveles normales de las proteínas chaperonas, se puede disminuir e incluso prevenir la agregación de las proteínas alteradas.

El estudio de la proteostasis y los mecanismos que subyacen al procesamiento y plegamiento incorrecto de las proteínas en las distintas enfermedades neurodegenerativas es fundamental. En años recientes, se han reportado avances considerables en este campo y descifrado las estructuras proteicas de muchas proteínas mediante metodologías novedosas como la Cristalografía de Rayos X, la Microscopía Crioelectrónica, la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y se han realizado estudios proteómicos empleando la Espectrometría de Masas. Todas estas tecnologías han permitido identificar, cuantificar y analizar el conjunto completo de proteínas en una célula, en un tejido o en un organismo completo, para evaluar sus funciones, interacciones, modificaciones o cambios específicos y con ello comparar los factores proteínicos (proteomas) de las células sanas y enfermas, y bajo distintas condiciones de estímulos y tratamientos que han permitido desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que ayuden a combatir estas enfermedades. Aún queda mucho por descifrar de este origami de proteínas para comprender los mecanismos patológicos que facilitan el desarrollo de las afecciones y con ello, descubrir los fármacos para el tratamiento de estos pacientes o identificar las etapas tempranas de la producción de las proteínas anormales para el diagnóstico oportuno estas afectaciones (Figura 4).

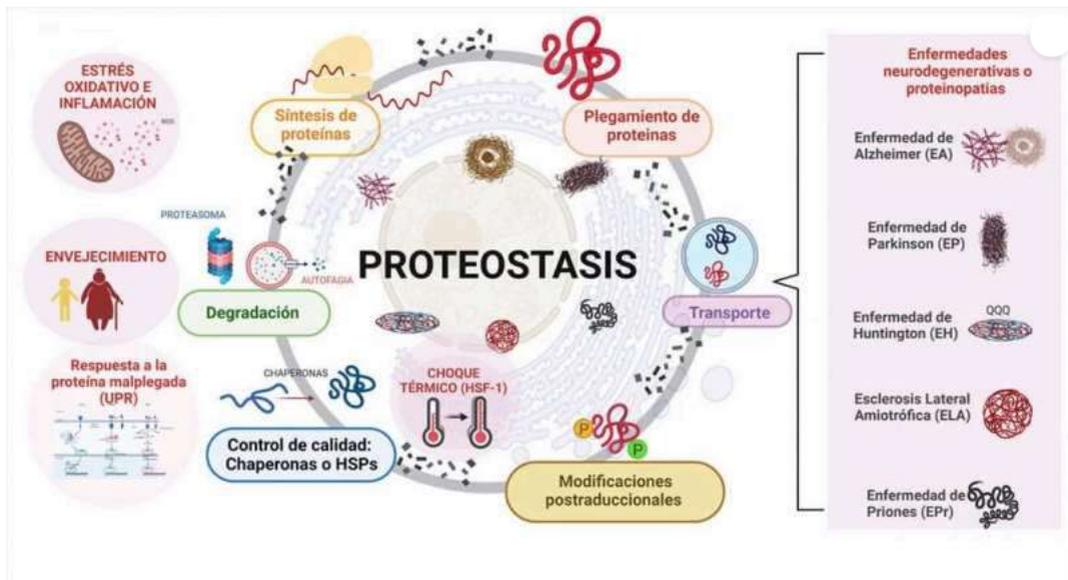


Figura 4. La proteostasis y enfermedades cerebrales relacionadas.

Referencias

- Balch WE, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW. Adapting proteostasis for disease intervention. *Science* 2008 Feb 15;319(5865):916-9. doi: 10.1126/science.1141448. PMID: 18276881.
- Jayaraj GG, Hipp MS, Hartl FU. Functional Modules of the Proteostasis Network. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2020 Jan 2;12(1):a033951. doi: 10.1101/cshperspect.a033951. PMID: 30833457; PMCID: PMC6942124.

#VOLUMEN 9 - NÚMERO 1



Lory Jhenifer Rochin Hernández

Estudiante de doctorado del Departamento de Biomedicina Molecular.



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.

Obituario: Robert Michael Evans Parkhouse (1935-2023)

Leopoldo Santos-Argumedo



Robert Michael Evans Parkhouse (1935-2023)

El Dr. Parkhouse era galés de raíces y familia, pero nacido en Londres, Reino Unido, el 28 de diciembre de 1935; fue un eminente inmunólogo cuya enorme curiosidad lo llevó a incursionar en áreas donde la mayor parte de los inmunólogos básicos no se atreven. En el campo de la inmunología hizo descubrimientos seminales que tuvieron un impacto enorme, particularmente en el área de la inmunidad humoral, y más específicamente, en el estudio del desarrollo y activación de los linfocitos B. Su trabajo posdoctoral, con el Dr. Richard W. Dutton y después con el Dr. Edwin (Ed) Lennox, en California, Estados Unidos de América, le permitió insertarse en la naciente inmunología celular. De regreso a Gran Bretaña, se interesó en los mecanismos que controlan la síntesis y producción de anticuerpos. Su primer contacto con México se dio a través de la Dra. Erika Rebeca Abney, QFB egresada de la UNAM, quien había iniciado su preparación en Inmunología con el Dr. Félix Córdoba. Erika realizó sus estudios de doctorado en el laboratorio del Dr. Parkhouse, describiendo a la IgD como un receptor para el antígeno en los linfocitos B. Este descubrimiento es un clásico, ya que permitió identificar un marcador de linfocitos B maduros y abrió nuevas avenidas para la exploración de la ontogenia de estas células. El hallazgo es significativo por varias razones; primero, porque la IgD es una proteína muy escasa en el suero y solo se presenta en la superficie de los linfocitos B maduros “naive” (que no han tenido contacto con antígeno). Segundo, porque planteó la paradoja de cómo un linfocito puede tener dos receptores distintos y una sola especificidad. Y tercero, porque aún hoy en día no entendemos a cabalidad cuál es la función de dicha molécula en la superficie de las células B.

Por razones personales, el Dr. Parkhouse decidió hacer una estancia sabática en el Depto. de Bioquímica del Cinvestav, en la Ciudad de México, con el Dr. Mauricio Montal. Una razón para elegir al Cinvestav pudo ser que el Dr. Carlos Gitler, especialista en membrana plasmática trabajaba en ese departamento y que el Dr.

Parkhouse estaba caracterizando moléculas de la membrana en los linfocitos B. Durante su estancia en México, se relacionó con la comunidad científica de nuestro país, razón por la cual algunos colegas se beneficiaron no solo de su experiencia, sino también de sus contactos. En los años subsecuentes, el Dr. Parkhouse recibió en su laboratorio a colegas y estudiantes para estancias cortas, o para entrenamientos doctorales y posdoctorales.

Quizá como productos de esos encuentros, el Dr. Parkhouse inició su incursión en temas relacionados con la parasitología, generando así su primera publicación en esta área del conocimiento en 1978 (junto con el Dr. Jesús Calderón del Cinvestav), sobre la determinación de antígenos de la membrana de *Entamoeba histolytica*. Ya de regreso a Londres, hizo contribuciones de avanzada identificando antígenos parasitarios. En 1980 publicó un artículo en la revista *Nature* sobre la caracterización de proteínas de la superficie de nematodos parásitos. Este enfoque abrió nuevas áreas de investigación que permitieron ampliar el uso de herramientas para el diagnóstico de algunas infecciones parasitarias. Los métodos desarrollados por el Dr. Parkhouse abarcaron parásitos de gran importancia médica como *Taenia solium* (y por ende los cisticercos), *Onchocerca volvulus*, *Echinococcus granulosus*, *Meloidogyne incognita*, *Trichinella spiralis*, etcétera. Extendió estos estudios al uso de sondas de DNA, lo que permitió tener mayor sensibilidad en las pruebas realizadas. Otra área de su interés fue la identificación de antígenos parasitarios con potencial protector, trabajando con grupos tanto en México como en España. Gracias a la observación de la biología de los parásitos, y de su gran intuición, el Dr. Parkhouse contribuyó a la descripción de antígenos estadio-específicos. Sin duda, los conocimientos generados durante su incursión en la parasitología impactaron las áreas de diagnóstico, protección y diseño de vacunas para el control de parásitos de importancia en medicina humana y veterinaria.

El Dr. Parkhouse, en su andar por la ciencia, también contribuyó en el área de la virología durante la última etapa de su vida académica. En el campo de la virología hizo aportaciones importantes en el estudio del virus de la fiebre porcina africana, particularmente en la caracterización de moléculas no descritas, y al análisis ultraestructural del ensamble del virus. Sin olvidar su pasión por la inmunología, usó estos conocimientos para evaluar el papel protector de estas proteínas como posibles candidatos para la elaboración de vacunas. También realizó estudios sobre inmunidad protectora en el virus de la fiebre aftosa, enfermedad erradicada de México, pero aún presente en otros países del mundo. En sus últimos años incursionó en el estudio de cómo algunas proteínas del virus Herpes manipulan la respuesta inmunológica.

El Dr. Parkhouse publicó alrededor de trescientos cincuenta artículos, con más de 11 mil citas y un índice H de 57. Entre sus numerosos artículos en revistas de Inmunología (más de un tercio de su producción total), destacan siete artículos en "Nature" y uno en "Science", y contribuciones en revistas de altísimo nivel como *J. Exp. Med.*, *PNAS* y *J. Immunol.* Publicó más de 140 artículos en revistas de parasitología de gran impacto a nivel internacional; en casi un 25% de estas publicaciones aparece al menos un autor mexicano. También publicó alrededor de medio centenar de artículos en revistas de virología, entre las que se encuentran las más importantes en esta especialidad, en 20% de estas publicaciones hay al menos un autor mexicano. Es claro que el Dr. Parkhouse colaboró con un amplio grupo de científicos mexicanos, y sus investigaciones impactaron en los campos de la inmunología, la parasitología y la virología.

Mike, como cariñosamente lo conocimos sus discípulos, fue tutor de un gran número de estudiantes. En su labor docente, impartió numerosos cursos y conferencias en el mundo y en varios sitios de la República Mexicana. En 1981 organizó e impartió un curso para preparar y caracterizar anticuerpos monoclonales; el primero en México y quizá en Latinoamérica. Esto tuvo lugar en el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, en San Cristóbal de las Casas, Chiapas. Ello es solo una muestra del carácter intrépido de Mike y su interés por llevar sus conocimientos a los sitios más recónditos de este planeta.

Su agudeza intelectual era impresionante, ya que siempre hacía las preguntas clave respecto al problema que estudiaba. Esto lo colocaba sin duda, como un gran tutor, pues conducía a sus estudiantes y colaboradores a proponer hipótesis basadas en observaciones muy certeras. Como maestro fue a la vez paciente y estricto. Paciente para guiar el proceso de aprendizaje de sus estudiantes, y estricto en solicitar el mejor desempeño de estos y marcar claramente y sin rodeos los errores cometidos. Su gran generosidad

permitió que muchos de sus exalumnos pudieran iniciar sus carreras académicas de manera independiente, y una vez establecidos, Mike se preocupaba porque siguieran creciendo, dándoles consejos reactivos y ayudándoles a establecer los contactos necesarios para hacer más productivo su trabajo.

Mike fue un hombre de múltiples atributos; además de su gran sentido del humor y ser un gran lector, tenía conocimientos enciclopédicos en muchas ramas del conocimiento. Mike era melómano y un músico de talento que igual tocaba el banjo, el piano, la guitarra, la trompeta o instrumentos autóctonos de México y África. Era un gran deportista y amante de visitar lugares exóticos. Sabía degustar las comidas y bebidas de los lugares que visitaba. Su interés culinario lo llevó a interesarse por la cocina, y muchos de los que trabajamos en su laboratorio tuvimos la fortuna de compartir espléndidas comidas que él mismo preparaba. Los rasgos más significativos de su personalidad fueron la calidez humana con la que se relacionaba con la gente y el gran afecto por las amistades que cultivó con cariño y atención a lo largo de su vida. Mike falleció en su casa en Londres el 1o. de octubre de 2023. Sin duda, Mike dejó huella en todos aquellos investigadores que tuvimos la fortuna de encontrarlo en nuestro camino. Mike fue un líder natural y un ser humano extraordinario a quien agradeceremos siempre sus enseñanzas, y sobre todo, su amistad y cariño.

#VOLUMEN 9 - NÚMERO 3



Leopoldo Santos-Argumedo

Jefe del Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Doctorado (1989) en la especialidad en Inmunología, por la ENCB, IPN. Realizó estudios posdoctorales en el Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Investigación Médica, Mill Hill, Londres, Reino Unido (1989-1991); y, en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigación DNAX, Palo Alto Cal., EE. UU. (1991-1993). Ha supervisado 27 tesis de doctorado y 40 tesis de maestrías.

Descubriendo los secretos de la enfermedad de Chagas

José María Eloy Contreras Ortiz, Daniel Hernández Mendoza, Claudia Márquez-Dueñas, Rebeca Manning-Cela y Moisés Santillan

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, que es endémica en América Latina. En décadas recientes, la enfermedad se ha expandido a otras regiones del mundo. Esto se debe principalmente a dos factores: por un lado, la migración de personas infectadas desde las zonas endémicas ha contribuido a la diseminación de la enfermedad a nivel global. Por otro lado, si bien la transmisión tradicional a través de insectos hematófagos del género *Triatoma* sigue siendo la principal vía de contagio, otras formas de propagación, como la vertical de madre a hijo y la transmisión por transfusiones sanguíneas o trasplantes de órganos, se han vuelto cada vez más frecuentes. Como resultado de estos factores, se estima que alrededor de 7 millones de personas en todo el mundo padecen esta enfermedad.

El parásito se transmite principalmente a través de los insectos mencionados, manifestándose inicialmente de forma aguda y luego evolucionando a una fase crónica. Cerca del 30% de los infectados desarrollan complicaciones graves y potencialmente mortales, años e incluso décadas después. Estas complicaciones incluyen trastornos cardíacos como arritmias, miocardiopatía e insuficiencia cardíaca, así como problemas del sistema digestivo representados como megaesófago y megacolon.

Entender por qué el corazón es uno de los órganos más afectados en la fase crónica de la enfermedad, sigue siendo un importante desafío para la investigación. En un artículo publicado recientemente¹, abordamos esta pregunta utilizando modelos celulares que se

asemejan al músculo esquelético y cardíaco, con el objetivo de desentrañar qué es lo que hace al corazón ser más vulnerable a los daños crónicos causados por esta enfermedad.

Utilizamos una línea celular de mioblastos (H9c2) proveniente de la rata BD1X. Estas células pueden ser cultivadas y diferenciadas en dos tipos celulares: unos que imitan el músculo cardíaco (miotubos cardíacos), y otras que imitan el músculo esquelético (miotubos esqueléticos). También mantuvimos células H9c2 sin diferenciar (mioblastos) como control.

Estos tres tipos de células fueron infectados con *T. cruzi* y seguimos la progresión de la infección a lo largo del tiempo. Además, medimos cuántas células se infectaron inicialmente y cuántos parásitos se liberaron de las células infectadas. La figura ilustra una sección de un cultivo de miotubos en la que una célula está infectada.

Los resultados mostraron que inicialmente, los tres tipos de células eran igualmente susceptibles a la infección por *T. cruzi*. Sin embargo, en etapas tardías de la infección, los miotubos cardíacos presentaron niveles mucho más altos de infección, llegando a casi el 13% de células infectadas, en comparación con solo el 3% en miotubos esqueléticos y mioblastos.

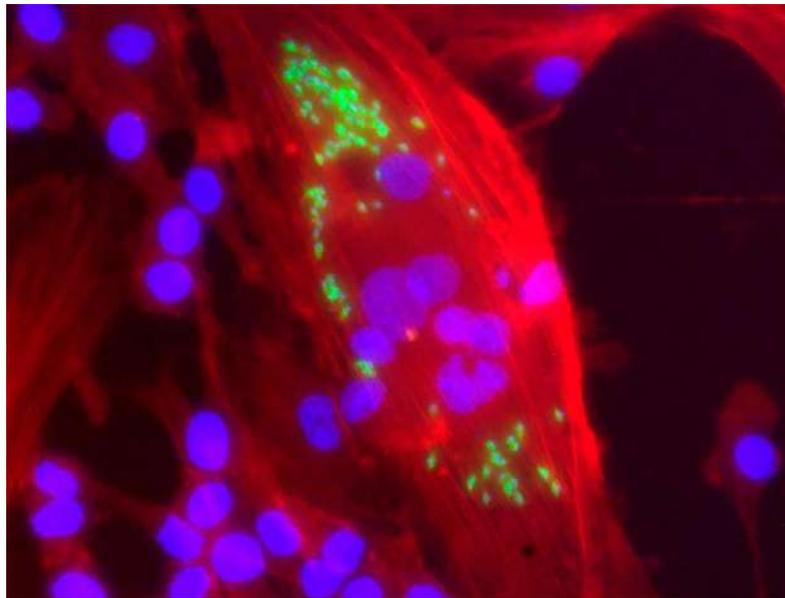
Al examinar más de cerca los parásitos dentro y fuera de las células, y con la ayuda de un modelo matemático, descubrimos que esto no se debe a una mayor liberación de parásitos por célula, pero puede ser explicado por una mayor transmisión de parásitos de célula a célula en los miotubos cardíacos. El modelo matemático consiste en un autómata celular en el que cada compartimento puede estar vacío u ocupado por una célula. Las reglas de evolución del autómata determinan las condiciones en que una célula se infecta de la forma tradicional o por contacto, y cómo progresa la infección intracelular.

Estos hallazgos sugieren que mecanismos específicos en los cardiomiocitos, podrían facilitar la propagación del parásito de una célula a otra, sin necesidad de salir al medio

extracelular, lo que explicaría por qué el corazón es uno de los órganos más afectados en la enfermedad de Chagas crónica.

Este estudio aporta nuevas luces sobre los procesos que subyacen a la patología cardíaca en la enfermedad de Chagas. Al utilizar modelos celulares *in vitro*, pudimos identificar diferencias clave en la dinámica de infección entre células que asemejan al músculo esquelético y cardíaco, algo que sería muy difícil de estudiar directamente en pacientes.

Comprender mejor estos mecanismos celulares podría ayudarnos al desarrollo de mejores estrategias de prevención y tratamiento para esta enfermedad desatendida que afecta a millones de personas. Nuestros próximos pasos serán profundizar en los detalles de cómo el parásito se transmite de célula a célula en el modelo celular utilizado en este trabajo, y explorar si existen formas de interrumpir este proceso.



Miotubos infectados. En rojo, el citoesqueleto de actina; en azul, los núcleos celulares y en verde, amastigotes de *T. cruzi*.

Referencia

1. José María Eloy Contreras-Ortiz, Daniel Hernández-Mendoza, Claudia Márquez-Dueñas, Rebeca Manning-Cela and Moisés Santillán (2024) In vitro characterization of *Trypanosoma cruzi* infection dynamics in skeletal and cardiac myotubes models suggests a potential cell-to-cell transmission in mediating cardiac pathology, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, **18(6)**: e0012288, DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012288>



Claudia Márquez-Dueñas



Daniel Hernández Mendoza

Estudiante de doctorado CINVESTAV Monterrey. Su proyecto aborda el estudio de la infección de por transferencia entre células.



José María Eloy Contreras Ortiz

Profesor de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca. Sus líneas de investigación están enfocadas en estudiar la “Dinámica de infección de *Trypanosoma cruzi*”, y la búsqueda de “Nuevos tratamientos para la enfermedad de Chagas que incluye uso de extractos y componentes de origen natural y el desarrollo de vacunas de nueva generación, mismas que también pueden ser aplicados contra algunos tipos de cáncer del que tengo también particular interés.



Moisés Santillan

Físico de formación, biofísico y biomatemático de profesión, científico por vocación, y con interés por la filosofía y la historia de la ciencia. Cinvestav, Unidad Monterrey.



Rebeca Manning-Cela

Profesora Investigadora Titular del Departamento de Biomedicina Molecular. Cinvestav.



Caracterización de las células asesinas naturales (NK) en un ratón deficiente en una proteína motora

Mariana Flores Castelán y Leopoldo Santos-Argumedo

El sistema inmunológico se ha dividido (en términos operacionales) en dos grandes categorías, de acuerdo con la rapidez de respuesta, así como la especificidad que muestra ante un estímulo antigénico. Por un lado, encontramos a la denominada inmunidad innata, que representa la primera línea de defensa contra los patógenos, caracterizada por una respuesta rápida (minutos, horas) y con aparente poca especificidad; por el otro, a la inmunidad adaptativa que, aunque responde de manera lenta (días, semanas), reconoce y recuerda con exquisita especificidad a los antígenos que detonaron su activación.

Las células responsables de la inmunidad adquirida son los linfocitos, que a su vez se dividen en linfocitos T y linfocitos B. Ambos tipos expresan receptores muy específicos para el reconocimiento de los antígenos. Algunos de éstos requieren ser procesados y presentados por las células de la inmunidad innata, para su reconocimiento posterior por los linfocitos T.

En ratones y humanos, los linfocitos B maduran en la médula ósea (“**B**” del inglés **B**one marrow) y los linfocitos T en el **T**imo. Los primeros reconocen antígenos por anticuerpos anclados en su membrana (BCR por “**B** Cell Receptor”). En cambio, los linfocitos T expresan un “TCR”, que reconoce antígenos proteicos que requieren ser procesados (proteólisis) y presentados en Moléculas del Complejo Principal de Histocompatibilidad

(MHC en inglés), por células profesionales de la inmunidad innata (células dendríticas y macrófagos). Existen linfocitos que no expresan BCR ni TCR, cuya identificación se remonta a mediados de los años setenta del siglo pasado. Dichos linfocitos identifican y eliminan células tumorales y células infectadas con virus de manera rápida, por lo que se les incluye entre las células la inmunidad innata.

Estos linfocitos actualmente denominados ILC (del inglés, Innate Lymphocyte Cells) se clasifican en tres grupos. El grupo 1 se caracteriza por la producción de interferón gamma (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que favorecen las respuestas ante virus y células tumorales. El grupo 2, produce interleucina 4 (IL-4), 5 (IL-5) y 13 (IL-13), importantes en la respuesta contra parásitos y a alérgenos. Y el grupo 3, productores de IL-17 e IL-22 que participan en la respuesta contra bacterias y hongos (Vivier *et al.*, 2018).

Las ILC1 contienen a las células asesinas naturales (del inglés Natural Killer, o NK), o linfocitos granulares grandes, que no requieren del procesamiento y presentación de los antígenos; estas células también regulan al sistema inmunológico a través de la secreción de citocinas (Paul & Lal, 2017).

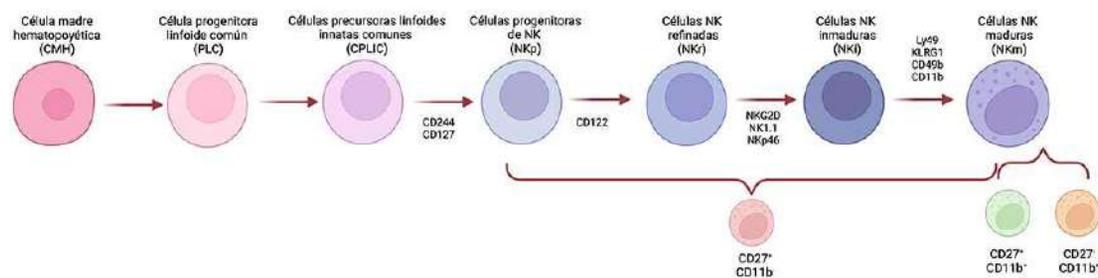


Figura 1. Desarrollo de las células NK en el ratón (figura elaborada con el programa Biorender).

El mecanismo de citotoxicidad comienza cuando la célula NK reconoce una célula blanco (célula tumoral o infectada con virus), generando una interfase de comunicación entre ambas células, conocida como “sinapsis inmunológica” (SI). La SI tiene dos regiones: un clúster de activación periférica supramolecular (pSMAC) y un clúster de

activación central supramolecular (cSMAC). En el pSMAC se acumulan moléculas de adhesión como LFA-1 y MAC-1, mientras que en el cSMAC se conglomeran receptores de activación.

Esta SI permite la interacción de la célula NK con su célula blanco, provocando la liberación dirigida de proteínas al sitio de unión entre ambas células (Krzewski & Coligan, 2012). La SI es el resultado de la reorganización del citoesqueleto que posibilita la movilización de lisosomas secretores hacia el centro organizador de microtúbulos. Los lisosomas secretores contienen perforina, granzima A y granzima B (Crinier *et al.*, 2020).

La perforina es una proteína que forma poros en la membrana de la célula blanco, creando cambios osmóticos y permitiendo la entrada de las granzimas (enzimas del tipo serina proteasas), que inducen la autodestrucción controlada de la célula blanco, proceso conocido como apoptosis (Ham *et al.*, 2022). La granzima B tiene la capacidad de “cortar” a las caspasas 3 y 7, lo que detona la apoptosis. Por otra parte, la granzima A induce la muerte celular de forma independiente de caspasas, al producir especies reactivas de oxígeno (ROS) y promueve la liberación de nucleasas que generan daño en el ADN de la célula blanco (Prager & Watzl, 2019).

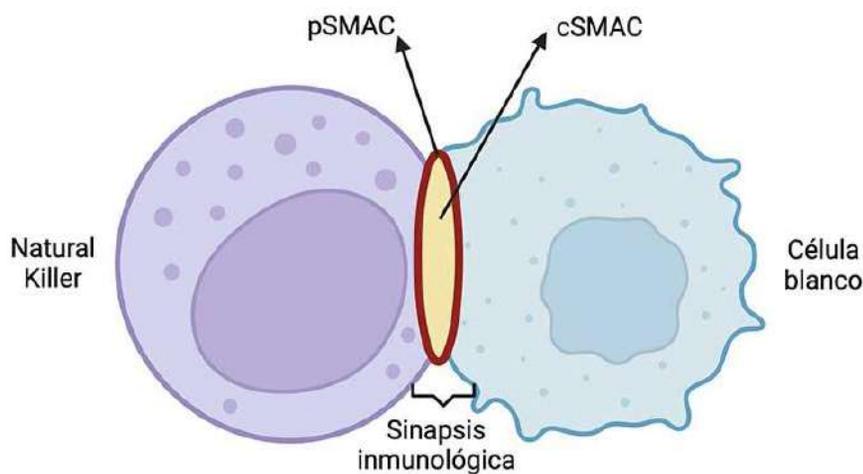


Figura 2.

Sinapsis inmunológica (figura elaborada con el programa Biorender).

Además, las células NK son capaces de realizar citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), cuando el receptor de Fcγ (FcγR) en la NK reconoce a la IgG unida a un antígeno en la célula blanco, lo que induce la liberación de gránulos líticos y su eliminación. Asimismo, las células NK expresan al ligando de FAS (FASL) y TRAIL que, al interactuar con sus respectivos receptores en la célula blanco FAS y el receptor de TRAIL (TRAILR), inducen la apoptosis (Crinier *et al.*, 2020).

Aunque la función principal de la célula NK es la citotoxicidad, también se encargan de secretar diferentes citocinas pro-inflamatorias como el IFN-γ y el TNF-α con actividades antitumorales y antivirales. El IFN-γ estimula la producción de perforina, granzimas y la expresión de FASL (Konjevic *et al.*, 2019). Por otro lado, el TNF-α promueve la maduración y la activación de las células NK (Lee *et al.*, 2009).

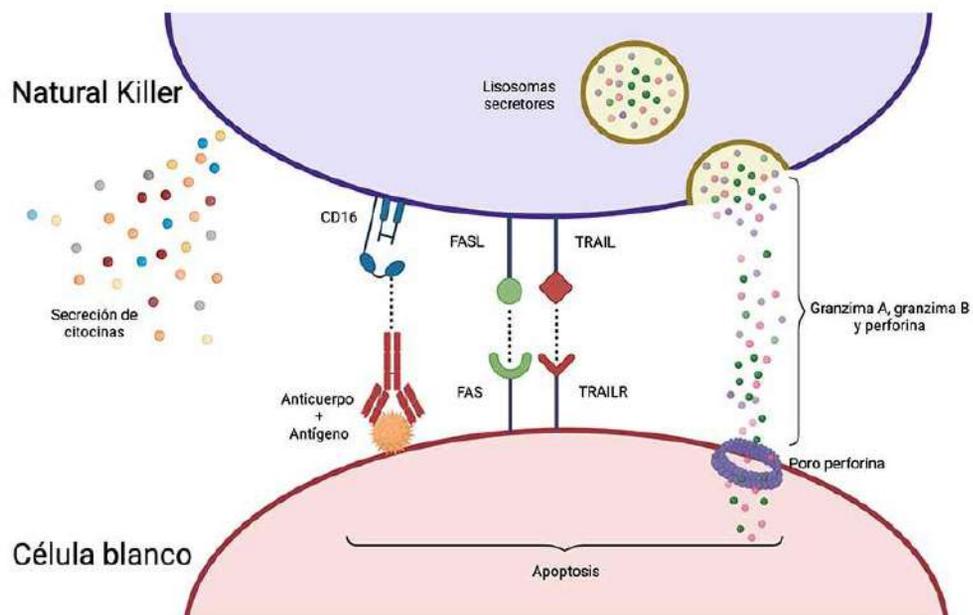


Figura 3. Mecanismos de citotoxicidad de la célula NK (figura elaborada con el programa Biorender).

Las células NK reconocen, pero no atacan células sanas, gracias a la expresión balanceada de sus receptores de inhibición y activación. Los receptores de inhibición se unen a las moléculas del MHC-I, bloqueando las respuestas citolíticas, lo que impide la

muerte de las células sanas. No obstante, las respuestas asociadas al estrés incrementan la expresión de los ligandos reconocidos por los receptores de activación de la célula NK, provocando la liberación de los gránulos líticos, aún en presencia de receptores inhibidores (Paul & Lal, 2017).

La miosina IIa (MyoIIa) desempeña un papel muy importante en el transporte de los lisosomas secretores hacia la sinapsis inmunológica (Krzewski & Coligan, 2012). La MyoIIa pertenece a la super familia de proteínas motoras, las cuales se mueven a través de filamentos de actina por medio de la energía generada por la hidrólisis de moléculas de ATP (Krendel & Mooseker, 2005). Estas proteínas están involucradas en el tránsito intracelular, motilidad celular, regulación de cambios morfológicos celulares, así como en procesos de endocitosis y exocitosis (Maravillas-Montero *et al.*, 2014).

Se han reportado 38 clases de miosinas en organismos eucariontes, las cuales se clasifican en convencionales y no convencionales; dentro de las no convencionales se encuentran las miosinas de clase I (Myo1), involucradas en la regulación del transporte intracelular, en la formación de proyecciones celulares, así como en la exocitosis, endocitosis y fagocitosis. (Cruz-Zárate *et al.*, 2021). Las Myo1 tienen un dominio motor (sitio de unión a filamentos de actina y para la hidrólisis del ATP), el cual usa la energía de la hidrólisis de ATP para crear cambios conformacionales que posibilitan su movimiento a través de filamentos de actina.

Enseguida tenemos el dominio del cuello, que contiene regiones ricas en glutamina e isoleucina conocidas como motivos "IQ", sitio de la unión de las cadenas ligeras variables. Finalmente se encuentra el dominio de la cola (TH de "tail homology"). Las miosinas de cola corta tienen un TH1, que contiene un dominio homólogo a Pleckstrina (PH), que permite la unión a fosfoinosítidos de la membrana y a balsas lipídicas. Por otro lado, las miosinas de cadena larga están constituidas por el dominio TH1, TH2 y TH3. El TH2 es un dominio rico en aminoácidos como glicina, prolina y alanina/glutamina que tiene un sitio de unión a actina insensible a ATP, mientras que el TH3 regula las interacciones de la miosina con otras proteínas (Maravillas-Montero. & Santos-Argumedo, 2011).

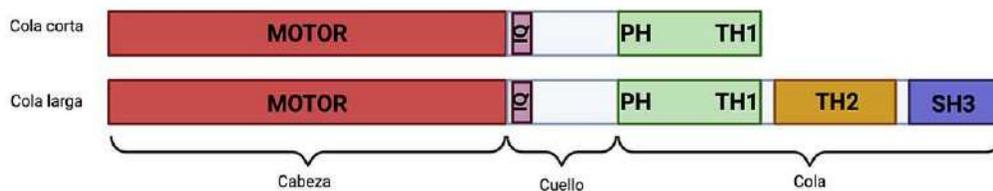


Figura 4. Diagrama (no a escala) de las miosinas de clase 1 de cola corta y de cola larga (figura elaborada con el programa Biorender).

Humanos y ratones tenemos 8 tipos de Myo1, seis de cola corta: Myo1a, Myo1b, Myo1c, Myo1d, Myo1g y Myo1h; y dos de cola larga: Myo1e y Myo1f. De acuerdo con la base de datos Immgen (<https://www.immgen.org>), las células NK expresan ARNm de Myo1g y Myo1f. A pesar de que el ARNm de la Myo1f se expresa en mayor cantidad, datos preliminares de nuestro laboratorio indican que la ausencia de Myo1g tiene un mayor impacto en la función de las células NK (Esparza López, Z. V. A. [2023]).

Gracias al estudio de la Myo1g en ratones deficientes (Myo1g^{-/-}), se encontró que las moléculas de adhesión LFA-1 y CD44 disminuyen su expresión de forma significativa en linfocitos B activados, posiblemente por la alteración en su transporte a través de las balsas lipídicas (Maravillas-Montero *et al.*, 2014). Esto provoca que la adhesión celular se vea afectada y, por ende, su capacidad de migración sea menos eficiente.

De igual forma, la deficiencia de Myo1g^{-/-} mostró que ratones de 8, 10 y 12 semanas tienen una disminución en el porcentaje y en los números absolutos de células NK1.1⁺, en comparación con ratones silvestres C57BL/6. Esto indicaría que la Myo1g está involucrada en el reclutamiento de receptores de activación durante el proceso de citotoxicidad. Por ello, es interesante estudiar cómo se afectan los mecanismos de citotoxicidad por la deficiencia de Myo1g.

Por el momento, este estudio es la primera evidencia de la participación de la Myo1g en la expresión del receptor NK1.1, lo siguiente es evaluar el impacto en la citotoxicidad de estas células.

El hallazgo inicial por bioinformática sobre la expresión de la expresión de miosinas de clase 1 en las células NK ha planteado nuevas preguntas, potencialmente importantes, para el estudio de las células de la inmunidad innata.

Trabajo apoyado por Conahcyt (CF-2023-I-741).

Referencias

1. Crinier, A., Narni-Mancinelli, E., Ugolini, S., & Vivier, E. (2020). SnapShot: Natural Killer Cells. *Cell*, 180(6), 1280-1280.
2. Cruz-Zárate, D., Miguel-Rodríguez, C. E., Martínez-Vargas, I. U., & Santos-Argumedo, L. (2021). Myosin 1g and 1f: A Prospective Analysis in NK Cell Functions. *Frontiers in Immunology*, 12, 760290.
3. Esparza López, Z. V. A. (agosto, 2023). Identificación de la función de Myo1f y Myo1g en células Natural Killer (NK). *Tesis de Maestría, Departamento de Biomedicina Molecular CINVESTAV-IPN*
4. Ham, H., Medlyn, M., & Billadeau, D. D. (2022). Locked and Loaded: Mechanisms Regulating Natural Killer Cell Lytic Granule Biogenesis and Release. *Frontiers in Immunology*, 13, 871106.
5. (2024). ImmGen Data Browser (base de datos) <https://www.immgen.org/Databrowser19/DatabrowserPage.html>
6. Konjević, G. M., Vuletić, A. M., Mirjačić Martinović, K. M., Larsen, A. K., & Jurišić, V. B. (2019). The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment. *Cytokine*, 117, 30-40.
7. Krendel, M., & Mooseker, M. S. (2005). Myosins: Tails (and Heads) of Functional Diversity. *Physiology*, 20(4), 239-251.

8. Krzewski, K., & Coligan, J. E. (2012). Human NK cell lytic granules and regulation of their exocytosis. *Frontiers in Immunology*, 3, 00335
9. Lee, J., Lee, S. H., Shin, N., Jeong, M., Kim, M. S., Kim, M. J., Yoon, S. R., Chung, J. W., Kim, T.-D., & Choi, I. (2009). Tumor necrosis factor- α enhances IL-15-induced natural killer cell differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 386(4), 718-723.
10. Maravillas-Montero, J. L., López-Ortega, O., Patiño-López, G., & Santos-Argumedo, L. (2014). Myosin 1g regulates cytoskeleton plasticity, cell migration, exocytosis, and endocytosis in B lymphocytes. *European Journal of Immunology*, 44(3), 877-886.
11. Maravillas-Montero, J. L., & Santos-Argumedo, L. (2011). The myosin family: Unconventional roles of actin-dependent molecular motors in immune cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 91(1), 35-46.
12. Paul, S., & Lal, G. (2017). The Molecular Mechanism of Natural Killer Cells Function and Its Importance in Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 8, 1124.
13. Prager, I., & Watzl, C. (2019). Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity. *Journal of Leukocyte Biology*, 105(6), 1319-1329.
14. Vivier, E., Artis, D., Colonna, M., Dieffenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., Koyasu, S., Locksley, R. M., McKenzie, A. N. J., Mebius, R. E., Powrie, F., & Spits, H. (2018). Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*, 174(5), 1054-1066.

Volumen 10 - Número 3



Leopoldo Santos-Argumedo

Dr. en Inmunología. SNI III. Centro de Investigación sobre el Envejecimiento (CIE), Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), Sede Sur.



Mariana Flores Castelán

Lic. Bioquímica Clínica. Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), Unidad Zacatenco.

A background image showing a network of orange and green fibers, representing microglia or neural connections, with some green circular spots scattered throughout.

La microglía: dos caras de la moneda

Nadia Rubí García Ríos y Marco Antonio Meraz Ríos

E

l cerebro está compuesto por distintos tipos celulares, en los que se incluye a las neuronas, la glía (oligodendrocitos y astrocitos) y una pequeña población (10-15%) de macrófagos residentes (células del sistema inmune involucradas en la detección, fagocitosis y destrucción de bacterias y otros organismos dañinos), conocidos como microglía. Esta población de células, al contrario de lo que se creyó durante mucho tiempo, tiene funciones que van más allá de su participación en la inmunidad innata del cerebro, y su presencia y acciones son muy importantes durante el desarrollo fetal y a lo largo de la vida adulta.

La historia de la microglía se remonta a 1856, cuando el patólogo alemán Rudolf Virchow describió por primera vez la parte no neuronal del Sistema Nervioso Central (SNC), denominándolo “glía” (por la palabra griega “pegamento”); sin embargo, en ese momento, únicamente se concibió como un tipo de tejido conectivo que contenía distintos tipos celulares diferentes a las neuronas. Fue hasta 1919 que el neurocientífico español Pío del Río Hortega describió a la microglía por primera vez, proporcionando, además, un método de tinción que permitió diferenciarla de los otros tipos celulares del SNC.

Por mucho tiempo se creyó que la microglía y los macrófagos residentes de los distintos tejidos del cuerpo tenían el mismo origen; ahora se sabe que eso no es correcto. La microglía deriva de células progenitoras eritro-mieloides presentes antes del octavo día durante el desarrollo embrionario, en el saco vitelino. Estas células migran al cerebro

antes de su vasculogénesis (la formación *de novo* de vasos sanguíneos), y persisten en el cerebro a lo largo de toda la vida del individuo. Por su parte, los macrófagos fuera del SNC provienen de progenitores mieloides eritroides, que también nacen del saco vitelino en una etapa más tardía y que después migran al hígado fetal donde darán lugar a monocitos intermediarios.

Las funciones de la microglía no se limitan a su papel en la vigilancia inmune y en el cerebro sano; tiene papeles homeostáticos durante el desarrollo fetal y posnatal, así como a lo largo de la vida. De hecho, la morfología de la microglía puede cambiar en cada uno de estos estadios, y se ha reportado que esos cambios morfológicos correlacionan con perfiles de expresión transcriptómicos distintivos.

Durante el desarrollo embrionario y el estadio posnatal temprano, la microglía realiza distintas funciones. Algunas de ellas son la fagocitosis activa y la remodelación de tejido neural, el establecimiento de la arquitectura neuronal del SNC. Además, controla la abundancia, la remoción del exceso y la inducción de las Células Progenitoras Neuronales (NPCs). Se ha reportado que la microglía también participa en el proceso de neurogénesis, estimulándola al promover la supervivencia, proliferación y maduración de las NPCs hacia las neuronas. Por otra parte, se sabe que interviene en la poda sináptica (proceso por el que se eliminan a las neuronas extra y a las conexiones sinápticas, para incrementar la eficiencia de la transmisión de la señal neuronal), y en la mielinogénesis (formación de las láminas de mielina).

En la etapa adulta de los individuos, la microglía tiene funciones de censo permanente, lo que le permite actuar de forma inmediata cuando se detecta alguna lesión o la presencia de algún agente tóxico o patogénico. Una función muy importante de la microglía es el mantenimiento de la homeostasis, participando en la remodelación sináptica, la migración a sitios de muerte neuronal para fagocitar células muertas o en proceso de apoptosis, para eliminar los restos celulares de las células muertas y para mantener también homeostasis de la mielina. Igualmente participa en la eliminación de patógenos infecciosos, en los depósitos de proteínas que se forman en diferentes patologías como: el amiloide beta (A β) en la Enfermedad de Alzheimer, la α -sinucleína en

la enfermedad de Parkinson, la huntingtina mutada en la enfermedad de Huntington, entre otras; para llevar a cabo estos procesos activa una respuesta neuro inflamatoria.

Las células de la microglía nunca descansan, están permanentemente censando, manteniendo la homeostasis, y protegiendo al cerebro de cualquier estímulo extraño o agente agresor. Sin embargo, puede surgir un problema cuando alguna de estas funciones se desregula, lo que puede causar que los efectos benéficos que tiene la microglía se alteren e induzcan un proceso de neurodegeneración, como llega a ocurrir en la enfermedad de Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es padecimiento neurodegenerativo que se caracteriza por la presencia de placas amiloides extracelulares y de ovillos neurofibrilares dentro de las neuronas. Las placas están formadas de agregados de la proteína A β , y los ovillos son agregados de la proteína tau hiperfosforilada (p-Tau). Los cambios patológicos en los individuos con EA, dan lugar al declive cognitivo y atrofia del cerebro. Los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de la patología aún no son claros, y aunque se han considerado distintos aspectos para explicar su progresión, todos coinciden en que uno de los mecanismos con mayor influencia en el proceso patofisiológico es la neuroinflamación.

La neuroinflamación es un proceso de defensa que protege al cerebro. Se activa como una respuesta inflamatoria que promueve la reparación del tejido dañado y la eliminación de los agentes tóxicos y los restos celulares. Sin embargo, puede volverse perjudicial si se descontrola y si se mantiene en un estado de activación permanente.

¿Cómo es que la microglía contribuye a la progresión de la EA?

Se cree que la presencia de los oligómeros del A β puede promover la hiperfosforilación de proteína tau y la formación de los ovillos neurofibrilares, lo cual induce el proceso de neurodegeneración. En esa primera etapa, la microglía se encarga de eliminar a los oligómeros, y con ello evita la hiperfosforilación de Tau. No obstante, cuando los

oligómeros del A β se acumulan y agregan para formar las placas neuríticas, se activa a la microglía induciendo el proceso de neuroinflamación activo y permanente, exacerbando el daño neuronal y el declive cognitivo. Se cree que en las primeras etapas, la microglía protege y controla la neuroinflamación.

En la EA, una vez que se desequilibra la producción de los péptidos A β y se genera más A β 42 y menos A β 40, se empieza a oligomerizar y acumular en el espacio extracelular, alterando la función neuronal. La microglía en esa etapa se encargará de la eliminación de esos oligómeros (*clearance*), mediante la fagocitosis y la endocitosis, a través de sus Receptores Scavenger (SRs). Es probable el A β actúe como lo hacen las moléculas relacionadas a un patrón molecular asociado a daño (DAMP) y que se una a distintos receptores como: los tipo Toll (TLRs), los receptores para producto de glicación avanzada (RAGE), y los receptores de unión a dominios parecidos a nucleótidos (NLRs, nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors). Una de las moléculas vinculadas a este proceso y que ha sido mayormente descrita es TREM2. Esta molécula es un receptor que pertenece a las moléculas de la inmunidad innata y se expresa en distintas células del sistema inmune, incluida la microglía.

Cuando el receptor TREM2 interactúa con la proteína adaptadora DAP12, se desencadena una transducción de señal que promueve la quimiotaxis (desplazamiento), fagocitosis, supervivencia y proliferación de la célula. La eliminación vía fagocitosis de los depósitos del A β , está mediada por este receptor y el proceso es aún más eficiente cuando el A β está forma un complejo con otras lipoproteínas, como la apolipoproteína E (ApoE) (proteína involucrada en el metabolismo de grasas en los mamíferos).

Otra de las funciones de la microglia que podría ayudar a controlar la enfermedad, es la formación de una barrera protectora alrededor de los depósitos amiloides, compactando las fibras amiloides a una forma más empaquetada y menos tóxica, previniendo así la unión de los nuevos péptidos de A β a las placas menos compactas existentes y evitando la formación de más placas neuríticas. Esto podría ser un mecanismo que limitaría la neurotoxicidad de los depósitos amiloides una vez que se empiezan a acumular en el cerebro envejecido.

Se sabe que el A β puede interactuar directamente con microglía y esa interacción la activa, lo que provoca pérdida temprana de sinapsis, producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (NOS), activación del inflamosoma y la producción de citocinas pro inflamatorias, como el TNFa. El proceso inflamatorio atrae y recluta a más microglía activa, iniciando un proceso de neuroinflamación descontrolado.

Cuando la acumulación del A β sobrepasa la actividad de la microglía para eliminarlo, no se logra eliminar a estos agregados, provocando un aumento en la deposición del A β , lo que produce una inflamación crónica. La presencia de citocinas proinflamatorias reduce la actividad *clearance* de la microglía y la liberación de una proteína adaptadora ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) que se une al A β y causa más agregación de A β . La microglía activada promueve la hiperfosforilación de la proteína Tau, que a su vez lleva a la formación de los ovillos neurofibrilares. Esto causa la pérdida de la función neuronal, apoptosis y la activación de otras células del sistema inmunes.

Durante las etapas tempranas de la enfermedad, la microglía juega un papel importante de ayuda para controlar el desbalance producido por la afección. Sin embargo, luego progresa hacia células disfuncionales que dañan a las neuronas al perder el control del proceso de inflamación. Las distintas subpoblaciones de microglía que han sido identificadas en la EA, nos habla de esta transición: homeostática, intermedias y microglía asociada a enfermedad (DAM, disease-associated microglía). Estas DAMs, son células neuro protectoras que limpian al cerebro de los depósitos del A β .

Aunado a lo anterior, se encontró también otro subtipo de DAM en modelos de ratones viejos y de distintas enfermedades neurodegenerativas, que es inducida por fagocitosis de las neuronas apoptóticas. Este último tipo de DAM se encuentra cerca de las placas amiloides y presenta una disminución en la expresión de genes de censo y mantenimiento de la homeostasis y un aumento en los genes relacionados a la neurodegeneración.

Como se ha mencionado, la microglía tiene un papel muy importante en el desarrollo y en la homeostasis durante la vida adulta, pero cuando hay algún detonante de su actividad, como la acumulación del A β en la EA, puede causar su descontrol e hiperreactividad. En la EA tiene una actividad dual: por una parte, ayuda a controlar la enfermedad al promover la fagocitosis, el *clearance*, y a limitar la toxicidad del A β ; pero por otra parte, cuando la microglía se sobre activa, se inducen mediadores de inflamación que causarán daño en el cerebro de los pacientes.

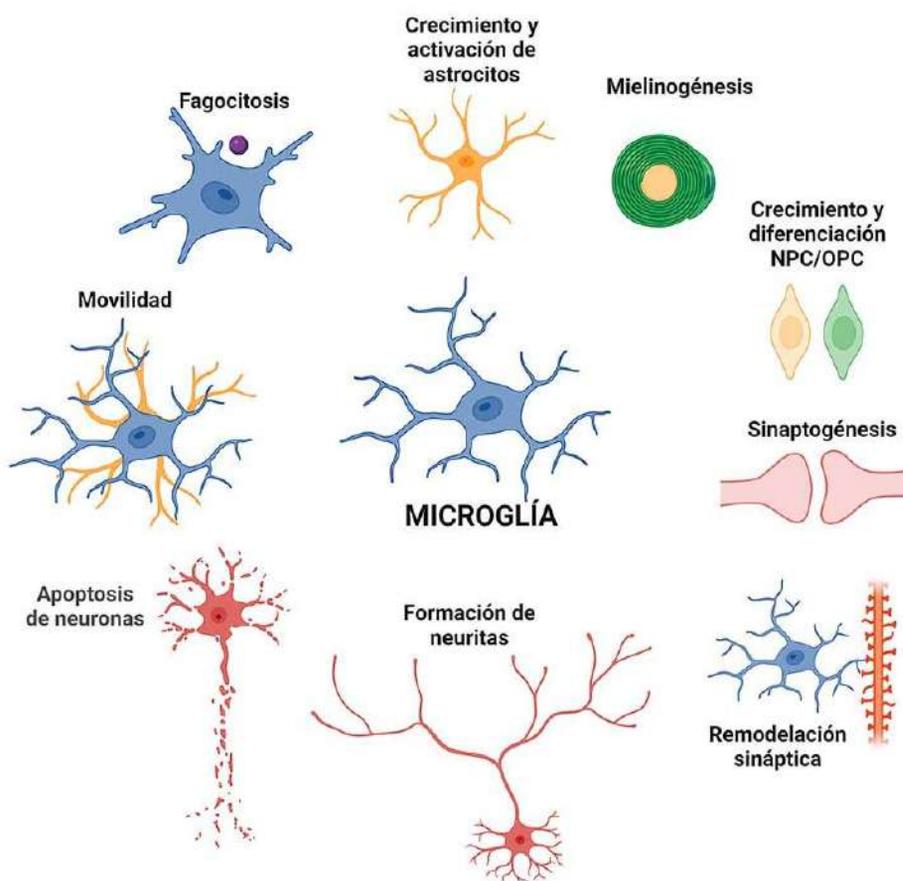


Figura 1. Funciones de la microglía en la homeostasis del cerebro.

Foto de portada: CC por GerryShaw

Volumen 10 - Número 3

Referencias

Gao, C., Jiang, J., Tan, Y. & Chen, S. (2023). Microglia in neurodegenerative diseases: mechanism and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(359), 1-37.

Prinz, M., Jung, S. & Priller, J. (2019). Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts. *Cell*, 179, 292-311.

Wolf, S. A., Kettenmann, B. & Kettenmann, H. (2017). Microglia in Physiology and Disease. *Annual Review of Physiology*, 79, 619-643.

Wright-Jin, E. C., & Gutmann, D. H. (2019). Microglia as Dynamic Cellular Mediators of Brain Function. *Trends In Molecular Medicine*, 25(11), 967-979



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



Nadia Rubí García Ríos

Estudiante de Maestría del Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV Zacatenco.

Un medicamento nuevo y eficaz (Simnotrelvir) para tratar COVID-19

Marco Antonio Meraz Ríos

E

El pasado 18 de enero de 2024, la prestigiada revista The New England Journal of Medicine, publicó un artículo titulado “Simnotrelvir oral para pacientes adultos con COVID-19 leve a moderado”. Los resultados reportados en este artículo corresponden a ensayos clínicos de Fase II-III, realizados en la población china y, ofrecen una nueva perspectiva para las personas de bajos recursos que buscan alivio contra la COVID-19. La administración del Simnotrelvir en las personas infectadas por COVID-19, demostró que tiene la capacidad de acelerar el proceso de recuperación de la enfermedad leve a moderada en aproximadamente 1.5 días. El medicamento Simnotrelvir (también conocido como SSD8432 o SIM0417) se ha introducido en el mercado de China con la marca XIANNUOXIN™. El medicamento se combinó con Ritonavir, para retrasar su degradación y así, tratar a los pacientes adultos que presentan casos leves a moderados de COVID-19 [1].

El estudio clínico reveló que el Simnotrelvir, cuando se ingiere en comprimidos orales, presenta un pronto inicio de acción, aliviando rápidamente los síntomas de COVID-19, como son la fiebre, tos y rinorrea.

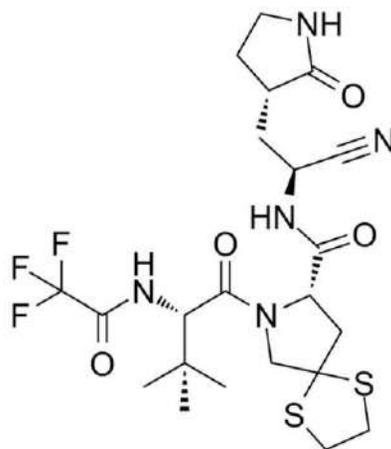


Figura 1. Estructura del Simnoretelvir.

El Simnoretelvir es un medicamento oral que tiene actividad contra el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2); es inhibidor de la proteasa viral 3CLPro, parecida a la 3-quimotripsina, y ha mostrado ser eficaz en un ensayo clínico de fase II-III.

Durante las etapas iniciales de la pandemia de COVID-19, los medicamentos antivirales se evaluaron principalmente en personas que tenían mayor riesgo de experimentar síntomas graves de COVID-19. En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud aconseja que los medicamentos antivirales como Paxlovid, que se usa ampliamente para tratar el COVID-19 en Estados Unidos y otros países, solo deben administrarse a personas en categorías de alto riesgo. Como se esperaba, el SARS-CoV-2 se ha convertido en un virus respiratorio común entre la población. En el estudio mencionado, los investigadores combinaron sinérgicamente al Simnoretelvir con el Ritonavir, un componente del Paxlovid para inhibir la degradación enzimática de Simnoretelvir y mejorar el tiempo efectivo de acción terapéutica. Los investigadores realizaron ensayos en más de 600 individuos, con una edad media de 35 años. Aproximadamente la mitad de ellos tenían al menos un factor de riesgo, como la obesidad, lo cual podría conducir a que progresaran a una enfermedad grave. De forma notable, ninguno de los participantes experimentó casos graves de COVID-19.

Al quinto día después de iniciado el tratamiento, los niveles de SARS-CoV-2 en los pacientes que recibieron el Simnotrelvir disminuyeron aproximadamente 30 veces más que en los que no recibieron la droga y sólo tomaron un placebo.

El Simnotrelvir presenta algunos inconvenientes que se parecen mucho a los que tiene el otro medicamento estadounidense (Paxlovid), y se refiere a que ambos son de un desagradable sabor, además de la incompatibilidad con una variedad de medicamentos de uso común. En los ensayos clínicos, los investigadores solicitaron que los participantes comenzaran el tratamiento dentro de los tres días posteriores a la aparición de los síntomas, para asegurarse de la eficacia del nuevo medicamento.

El concepto que permitió el desarrollo del nuevo fármaco

Todos los coronavirus poseen componentes similares, los cuales pueden representar blancos potenciales para emplearse en el desarrollo de diversas intervenciones terapéuticas. Algunas de esas moléculas son: la glicoproteína de la espícula, la RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp) y la proteasa similar a 3-Quimiotripsina (3CLpro). Las enzimas 3CLpro y proteasa parecida a papaína (PLpro), son responsables de dividir a dos poliproteínas virales (pp1a y pp1ab) que se forman cuando los ribosomas del huésped traducen el RNA viral. Este proceso proteolítico, produce proteínas no estructurales cruciales para la replicación viral. Existen 11 sitios de corte para la enzima 3CLpro dentro de las poliproteínas virales. Por lo tanto, 3CLpro se conoce comúnmente como la proteasa principal (Mpro, por sus siglas en inglés). La enzima 3CLpro del coronavirus, puede identificar sustratos específicos adyacentes a la glutamina [(Leu-Gln) ↓ (Ser, Ala, Asn, Gly)]. y cortarlos. Esta capacidad hace diferente a la proteasa 3CLpro del coronavirus y de las otras proteasas humanas similares, ya que sirve como un mecanismo único para reducir las consecuencias negativas que pudiera tener la inhibición global de todas las 3CLpro. A diferencia de la glicoproteína de la espícula, que es altamente cambiante y susceptible a las mutaciones, la estructura de la proteasa 3CLpro, en especial la cavidad de unión al sustrato, permanece conservada y sin cambios entre varios coronavirus patógenos, incluidos el SARS-CoV-1, el coronavirus del síndrome

respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y el SARS-CoV-2 y todas sus variantes de preocupación (VDP) [2].

El modelaje molecular

Sobre la base de las estructuras cristalinas y las características específicas de unión de diferentes potenciales inhibidores con la proteasa 3CLpro del SARS-CoV-2, se llevó a cabo un proceso para optimizar la capacidad de unión de un nuevo inhibidor a la proteasa y visualizar al candidato ideal, mediante la sustitución de diferentes grupos sustituyentes en sitios específicos del compuesto Boceprevir.

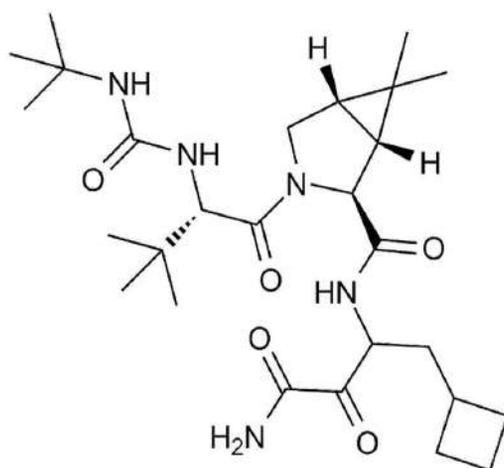


Figura 2. El Boceprevir es un inhibidor potente y selectivo de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C (VHC) con un valor de K_i de 14 nM.

Estas modificaciones mejoraron la eficacia del compuesto contra la proteasa 3CLpro del SARS-CoV-2. El Simnotrelvir presentó su potente actividad antiviral en ensayos enzimáticos y celulares, a través de un mecanismo de acción de unión covalente a la proteasa. Este nuevo compuesto reveló una fuerte afinidad de unión a la enzima 3CLpro del SARS-CoV-2 y demostró ser inhibidor covalente específico para esta proteasa. Además, el Simnotrelvir tiene una estructura que le permite administrarse por vía oral,

ya que se absorbe bien en el intestino y ejerce su acción un inhibidor de la proteasa similar a la 3-quimotripsina (3CLpro) del SARS-CoV-2 en las células infectadas por el virus. El compuesto fue sometido con éxito a evaluación preclínica, acelerando el camino para los subsecuentes ensayos clínicos y la aprobación condicionada para su uso en humanos por las autoridades sanitarias de China. El Simnotrelvir, combinado con ritonavir, para el tratamiento de la COVID-19, demostró una potencia significativa como inhibidor de la proteasa 3CLpro del SARS-CoV-2, y también es capaz de inhibir a proteasas similares en otros coronavirus. El Simnotrelvir exhibe una fuerte afinidad por la proteasa de los coronavirus y no muestra actividad inhibitoria en las proteasas similares de otros organismos, incluido el humano. Tiene un efecto inhibitor de amplio alcance sobre el SARS-CoV-2 y otros CoV 3CLpros. El compuesto inhibe eficazmente la replicación del SARS-CoV-2 y sus variantes, tanto en células como en los modelos animales de ratón. La forma específica en que se une el Simnotrelvir y sus características termodinámicas se han identificado con precisión. El Simnotrelvir es seguro y demuestra concentraciones plasmáticas orales significativas cuando se administra solo o junto con el ritonavir, lo que proporciona una potente eficacia antiviral en organismos vivos. Estas ventajas permiten que el Simnotrelvir se haya sometido con éxito a las evaluaciones preclínicas y clínicas. Los estudios preclínicos de Simnotrelvir mostraron una mayor eficacia antiviral, comparado con otro compuesto como el nirmatrelvir, otro inhibidor de la proteasa 3CLpro, que se usa en la actualidad para el tratamiento de COVID-19. Este resultado enfatiza el potencial del Simnotrelvir como candidato para el desarrollo de una nueva terapia contra la COVID-19. Sobre la base de estos hallazgos, se llevó a cabo la investigación inicial de Simnotrelvir en humanos para evaluar su seguridad, tolerabilidad y farmacocinética. Esta evaluación implicó la administración de dosis únicas y múltiples de Simnotrelvir solo o en combinación con ritonavir [3]. El desarrollo del Simnotrelvir, junto con ritonavir, y su uso como terapia oral, no solo proporciona un enfoque de tratamiento efectivo y duradero para la COVID-19 y otras infecciones por coronavirus, sino que también amplía la implementación clínica y la importancia de los inhibidores peptidomiméticos covalentes específicos de las proteasas virales.

El nuevo compuesto muestra características farmacocinéticas y de seguridad favorables en ratas y monos machos y hembras; además, mostró ser muy efectivo al ser usado en

una terapia oral en un modelo de ratón macho de infección por SARS-CoV-2 Delta. En esos estudios disminuyó drásticamente la carga viral pulmonar y lo erradicó por completo del cerebro. La identificación de Simnotrelvir subraya el valor del diseño basado en la estructura de potentes inhibidores de la proteasa para desarrollar una terapia usando molécula pequeñas que se dirijan eficazmente a las proteínas de los coronavirus humanos.

Primeros resultados: Ensayo clínico Fase I

El 30 de septiembre de 2023, el European Journal of Pharmaceutical Sciences publicó “Un primer estudio de fase 1 en humanos de Simnotrelvir, un inhibidor de la proteasa similar a 3CL para el tratamiento de COVID-19, en sujetos adultos sanos” [4].

Este ensayo clínico evaluó la seguridad, tolerabilidad y farmacocinética de diferentes dosis de Simnotrelvir solo o combinado con ritonavir (Simnotrelvir o Simnotrelvir/ritonavir) en sujetos sanos, así como el efecto alimentario (ClinicalTrials.gov Identificador: NCT05339646). Los resultados del estudio mostraron que Simnotrelvir tenía buena tolerancia y baja incidencia de efectos adversos (EAs), similar a los perfiles de seguridad de otro compuesto, el nirmatrelvir. Todos los EAs, fueron leves y no se observaron efectos adversos graves.

Además, no se encontró alguna tendencia entre estos EA asociados con los niveles sanguíneos o las distintas dosis de Simnotrelvir probadas. Tanto el Simnotrelvir como el Nirmatrelvir son los sustratos de la enzima CYP3A. Por lo tanto, se planteó la posibilidad de usar los compuestos en combinación con el inhibidor de la enzima CYP3A, el Ritonavir, el cual actuaría como potenciador farmacocinético, al evitar su degradación. La administración concomitante del Ritonavir aumentó el área bajo la curva (AUC) en estado estacionario del Simnotrelvir en 9.4 veces después de múltiples dosis, similar a la de nirmatrelvir [5]. Esto se debió a que tanto el Simnotrelvir como el Nirmatrelvir fueron metabolizados principalmente por el CYP3A (86,7 % para el Simnotrelvir y 99 % para el Nirmatrelvir). Además, el Simnotrelvir y el Nirmatrelvir fueron sustratos del

transportador de eflujo P-gp, y el Ritonavir puede aumentar aún más sus exposiciones al inhibir también al transportador P-gp.

El Simnotrelvir se absorbió rápidamente después de la administración oral, solo o en combinación con ritonavir. Su farmacocinética mostró linealidad en el rango de dosis entre 250 a 750 mg cuando se administró conjuntamente con Ritonavir y un aumento inferior a la dosis proporcional, si los niveles de dosis excedieron los rangos anteriores. La incidencia global de eventos adversos (EAs) fue del 22.2% (17/72) y del 6.3% (1/16) en los grupos de intervención y placebo, respectivamente. El aclaramiento aparente de Simnotrelvir fue de 135-369 L/h con Simnotrelvir solo y disminuyó significativamente a 19.5-29.8 L/h con la combinación Simnotrelvir/Ritonavir. Todos los resultados farmacocinéticos anteriores proporcionaron las bases para seleccionar y optimizar la cantidad y el intervalo de dosis en las investigaciones clínicas posteriores. Los alimentos aumentaron significativamente la exposición plasmática al Simnotrelvir, y la influencia sobre la farmacocinética fue comparable entre una dieta alta en grasas y una dieta regular. Esta observación sugiere que el estado alimentario debe considerarse cuidadosamente en el futuro tratamiento clínico tardío del Simnotrelvir.

Conclusión

El Simnotrelvir, un compuesto que inhibe la enzima 3CLpro, demuestra una excelente seguridad, tolerabilidad y características farmacocinéticas favorables en el ensayo clínico de FII-III publicado por el grupo de investigación chino. Estos hallazgos sugieren que Simnotrelvir tiene un gran potencial para controlar la COVID-19. Todos los niveles de dosis administrados a los sujetos en los diferentes estudios fueron bien tolerados y no se alcanzó la dosis máxima de tolerancia. El Ritonavir tiene la capacidad de aumentar sustancialmente la concentración de Simnotrelvir en el torrente sanguíneo, ya que éste es un sustrato de la enzima CYP3A4. El consumo de alimentos, bien se trate de una dieta normal o alta en grasas, también puede aumentar la exposición plasmática al Simnotrelvir. Los datos farmacocinéticos confirmaron que la combinación de Simnotrelvir/Ritonavir, con una dosis de 750 mg/100 mg dos veces al día sin alimentos, es el régimen de tratamiento recomendado para tratar a los pacientes con COVID-19.

La vacunación y ahora este potente antiviral nos puede hacer pensar que la COVID-19 pronto será considerada como una enfermedad catarral más.

Referencias

1. Cao B, Wang Y, Lu H, Huang C, Yang Y, Shang L, Chen Z, Jiang R, Liu Y, Lin L, Peng P, Wang F, Gong F, Hu H, Cheng C, Yao X, Ye X, Zhou H, Shen Y, Liu C, Wang C, Yi Z, Hu B, Xu J, Gu X, Shen J, Xu Y, Zhang L, Fan J, Tang R, Wang C. Simnotrelvir oral para pacientes adultos con Covid-19 leve a moderado. *N Engl J Med*. 18 de enero de 2024; 390(3):230-241. doi: 10.1056/NEJMoa2301425. PMID: 38231624.
2. Xiong M, Su H, Zhao W, Xie H, Shao Q, Xu Y. Lo que nos dice la proteasa similar a 3C del coronavirus: desde la estructura, la selectividad del sustrato hasta el diseño del inhibidor. *Med Res Rev*. 2021 Jul; 41(4):1965-1998. DOI: 10.1002/med.21783. Epub 18 de enero de 2021. PMID: 33460213; PMCID: PMC8014231.
3. Singh RSP, Toussi SS, Hackman F, Chan PL, Rao R, Allen R, Van Eyck L, Pawlak S, Kadar EP, Clark F, Shi H, Anderson AS, Binks M, Menon S, Nucci G, Bergman A. Estudio aleatorizado innovador de fase I y selección de regímenes de dosificación para acelerar e informar el ensayo pivotal COVID-19 de nirmatrelvir. *Clin Pharmacol Ther*. Julio de 2022; 112(1):101-111. DOI: 10.1002/cpt.2603. Epub 4 de mayo de 2022. PMID: 35388471; PMCID: PMC9087011.
4. Jiang X, Su H, Shang W, Zhou F, Zhang Y, Zhao W, Zhang Q, Xie H, Jiang L, Nie T, Yang F, Xiong M, Huang X, Li M, Chen P, Peng S, Xiao G, Jiang H, Tang R, Zhang L, Shen J, Xu Y. Desarrollo basado en la estructura y evaluación preclínica del inhibidor de la proteasa similar a 3C del SARS-CoV-2 Simnotrelvir. *Nat Commun*. 13 de octubre de 2023; 14(1):6463. DOI: 10.1038/s41467-023-42102-y. PMID: 37833261; PMCID: PMC10575921.
5. Yang XM, Yang Y, Yao BF, Ye PP, Xu Y, Peng SP, Yang YM, Shu P, Li PJ, Li S, Hu HL, Li Q, Song LL, Chen KG, Zhou HY, Zhang YH, Zhao FR, Tang BH, Zhang W,

Zhang XF, Fu SM, Hao GX, Zheng Y, Shen JS, Xu YC, Jiang XR, Zhang LK, Tang RH, Zhao W. Primer estudio de fase 1 en humanos de Simnotrelvir, un inhibidor de la proteasa similar a 3CL para el tratamiento de la COVID-19, en sujetos adultos sanos. Eur J Pharm Sci. 1 de diciembre de 2023;191:106598. doi: 10.1016/j.ejps.2023.106598. Epub 30 de septiembre de 2023. PMID: 37783378.

Foto de portada de **cottonbro studio**

Volumen 10 - Número 2



Marco Antonio Meraz Ríos
Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.

Identificación de miRNAs como potenciales biomarcadores para el adenocarcinoma ductal pancreático en pacientes mexicanos

Eric Genaro Salmerón Bárcenas y Rosaura Hernández Rivas

E

l cuerpo humano está constituido por más de 30 billones de células que conforman los diferentes órganos y tejidos, con funciones determinadas para cada uno (Grossman et al., 2016). A pesar de que todas las células que constituyen el cuerpo humano tienen el mismo material genético o ADN, no todas expresan los mismos genes, debido a diversos mecanismos moleculares que se encargan de regular la expresión de genes de manera específica, lo que conduce a que se sintetizen únicamente las proteínas necesarias para que cada tipo de célula pueda llevar a cabo su función. Uno de estos mecanismos incluye la inhibición de la expresión de genes mediada por ARNs no codificantes, denominados así porque no se traducen a proteínas (Catalanotto et al., 2016). Dentro de los ARNs no codificantes, se encuentra un grupo conocido como microARNs (miARNs), porque tiene un tamaño de 19-25 nucleótidos e inhibe la expresión de sus genes blancos para promover la degradación de sus ARN mensajeros (ARNm) blancos o inhibir la traducción de estos (Oliveto et al., 2017).

En humanos se han identificado aproximadamente 2,200 miARNs, que regulan la expresión de más del 60% de todos los genes que codifican para proteínas, por lo que alteraciones en la expresión de los miARNs promueven el desarrollo de enfermedades, incluyendo el cáncer (Tian et al., 2022). Los miARNs pueden secretarse hacia el exterior de las células (conocidos como miARNs circulantes o exomiARNs) y están presentes en prácticamente todos los fluidos biológicos, incluyendo líquido cefalorraquídeo, saliva, suero, plasma y orina, siendo moléculas de fácil obtención (Condrat et al., 2020). Los miARNs también pueden ser secretados a través de vesículas por las células cancerosas

hacia el torrente sanguíneo, lo que les permite llegar a otros tejidos u órganos. Estudios previos han encontrado que el 10% de los miRNAs circulantes son secretados en exosomas y que el 90% restante forma complejos con proteínas como Argonauta 2 (Ago2), Nucleosplamina 1 (NPM 1) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Esto es importante pues previene la degradación de los miRNAs por las RNAsas presentes en los fluidos corporales (Alotaibi, 2023). Además, estos miRNAs son muy específicos para cada tipo de cáncer, por lo que constituyen firmas moleculares cáncer-específicas. Otra propiedad considerable de estos miRNAs es que se pueden detectar a partir de cantidades suficientes por RT-qPCR y que están presentes desde las etapas tempranas hasta las tardías del cáncer (Alotaibi, 2023), lo que los convierte en moléculas ideales como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico temprano en diferentes tipos de cáncer (Condrat *et al.*, 2020).

En 2022 se reportaron 19.976 millones de nuevos casos de cáncer, siendo el Adenocarcinoma Ductal Pancreático (ADDP) uno de los cánceres más letales, por lo que ocupa el 6° lugar en mortalidad en el mundo con un índice de fatalidad del 0.96 (Ferlay *et al.*, 2024). Ello se debe a que el diagnóstico temprano del ACDP es difícil debido a la ausencia de síntomas específicos, así como al tamaño pequeño de los tumores (<1 cm) por lo que no pueden ser detectados por pruebas de imagenología, y aunque el antígeno CA 19-9 (en suero) ha sido propuesto como una herramienta de diagnóstico, tiene baja sensibilidad (70-90%) y especificidad (68-91%), además de que se han observado niveles elevados de este antígeno en condiciones benignas, como la colangitis, por lo que la biopsia sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico de ACDP, a pesar de que es un método invasivo, costoso y requiere hospitalización (Wood *et al.*, 2022), por lo que es imperativa la búsqueda de nuevos biomarcadores de diagnóstico que tengan una alta sensibilidad, especificidad y que no sean invasivos para el diagnóstico del ACDP. Los miRNAs han surgido como moléculas prominentes para el diagnóstico de esta enfermedad, de la cual ya han sido identificados varios miRNAs en el suero o plasma de pacientes (Mok *et al.*, 2024). Sin embargo, si consideramos que la heterogeneidad genética en cada población afecta la expresión y función de los miRNAs en individuos con diferentes orígenes étnicos (Flowers *et al.*, 2022), se hace necesario conocer el perfil de miRNAs de cada población en cada tipo de cáncer. Considerando que en México el

ACDP ocupa el 12^{avo} lugar en incidencia y el 7^{mo} en mortalidad (Ferlay *et al.*, 2024) y que hasta la fecha no se han identificado los miARNs presentes en pacientes con ACDP que residen en México, es que, en este estudio (Álvarez-Hilario *et al.*, 2023), identificamos miARNs diferencialmente expresados (DEmiARNs) en plasma de pacientes con ACDP que residen en México y se compararon contra el plasma de individuos control para identificar una firma de miARNs en pacientes mexicanos que pudiera usarse en el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad (Figura 1).

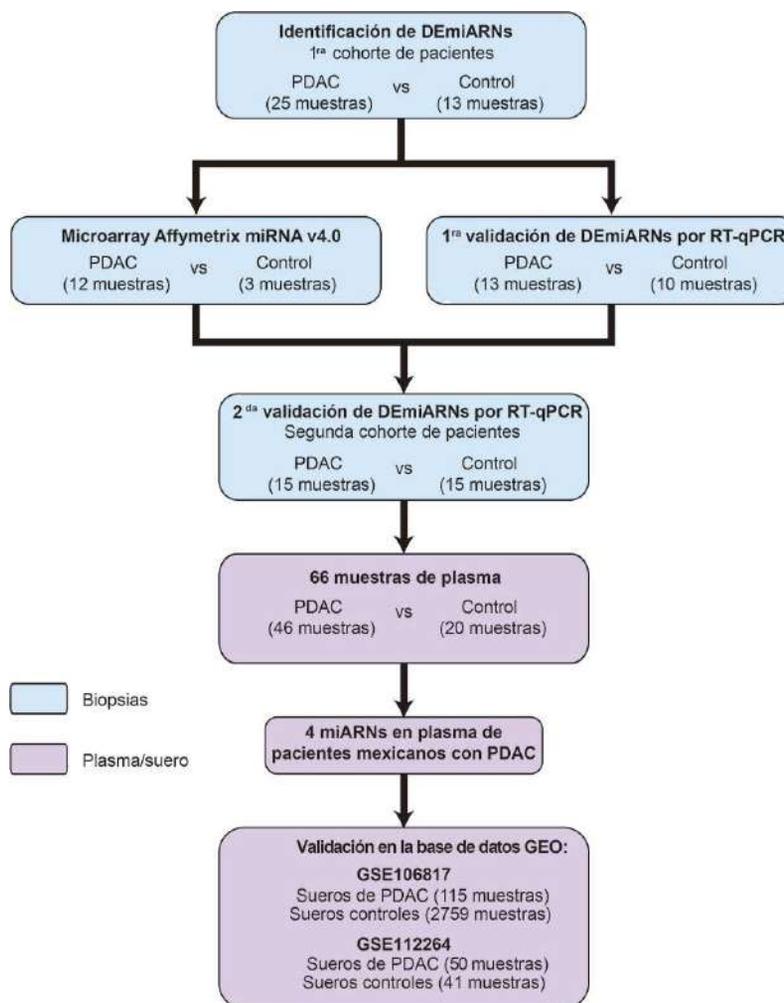


Figura 1. Diagrama de trabajo (Tomado de Álvarez-Hilario *et al.*, 2023).

Inicialmente y debido a que no se conocía el miRNoma del ACDP en pacientes que residen en México se procedió a averiguar los DEmiRNAs que estaban presentes en biopsias de pacientes con ACDP, pero no en biopsias de individuos control, para después identificar a estos DEmiARNs exclusivos en individuos con ACDP en plasma. Sin embargo, antes de recuperar los miARNs de ambas muestras, confirmamos la presencia de células tumorales en las biopsias de ACDP y su ausencia en las biopsias control mediante inmunohistoquímica. A partir de esto, las células tumorales se aislaron de las biopsias mediante macrodissección y se extrajo el RNA, identificando 17 DEmiARNs a través de microarreglos. Éstos fueron validados en 2 cohortes independientes de muestras de biopsias de pacientes con ACDP y de individuos control, encontrando que 10 de los 17 DEmiARNs constituyen una firma para estos pacientes en México. De estos 10 DEmiRNAs identificados en biopsias, solo 4 DEmiARNs (miR-222-3p, miR-345-5p, miR-100-5p y miR-221-3p) se hallaron en muestras de plasma de pacientes con ACDP mediante RT-qPCR. Dos de los cuales (miR-221.3p y miR-222.3p), mediante el análisis de ROC y las curvas de Kaplan-Meier, se demostró que pueden ser empleados en el diagnóstico y pronóstico del ACDP en personas que residen en la República Mexicana.

Finalmente, para identificar los posibles genes blancos de estos 4 DEmiARNs y su papel en ACDP, se realizó un análisis bioinformático, encontrando 47 genes blancos potenciales; los cuales participan en vías metabólicas como la oxidación de ácidos grasos, la homeostasis de la glucosa, los procesos catabólicos de compuestos nitrogenados y el transporte de aminoácidos, todos ellos procesos metabólicos que participan en la reprogramación metabólica y la patobiología del ACDP, una de las marcas de las células cancerosas (Faubert et al., 2020).

En conclusión, en este trabajo se identificaron al menos dos miARNs (miR-222-3p y miR-221-3p), que podrían ser usados como biomarcadores no invasivos, sensibles y específicos para el diagnóstico y pronóstico temprano de esta enfermedad en pacientes con ACDP que residen en México (Figura 2) y se estableció por primera vez el miRNoma del ACDP de pacientes mexicanos (Álvarez-Hilario et al., 2023).

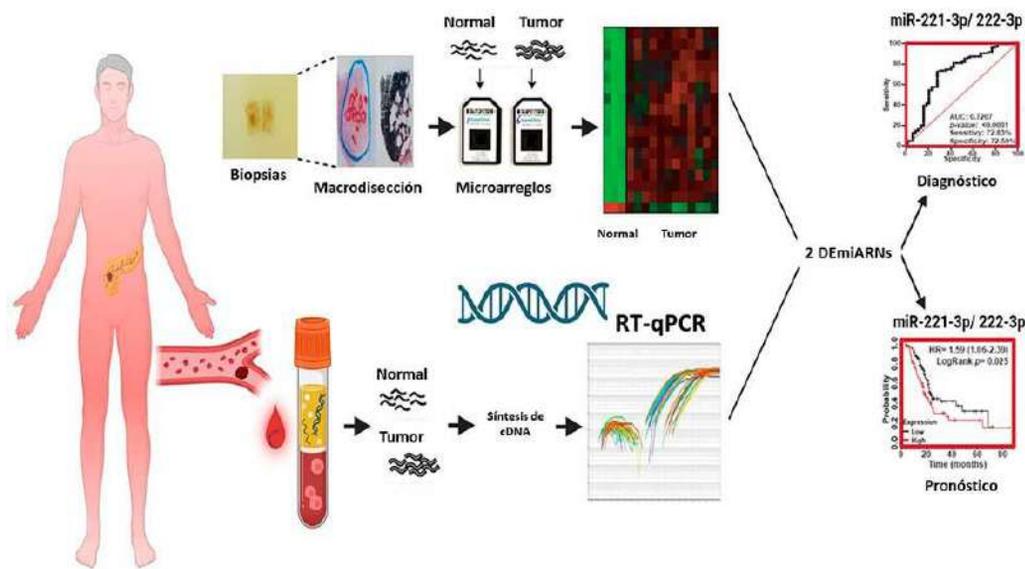


Figura 2. Identificación de miR-221-3p y miR-222-3p como potenciales biomarcadores de diagnóstico y pronóstico en ACDP. A) La identificación de los DE miARNs en ACDP se realizó utilizando 12 muestras de pacientes con ACDP y 3 biopsias de individuos control. La identidad de las muestras tumorales y no tumorales se confirmó mediante inmunohistoquímica. Las células tumorales fueron aisladas a partir de las biopsias de pacientes con ACDP mediante macrodissección, eliminando así el estroma. B) Del material macrodisectado se extrajo el RNA y mediante microarreglos se identificaron los 17 DE miARNs. La validación de estos 17 DE miARNs se efectuó utilizando inicialmente un pool de 10 muestras de biopsias control y un pool de 13 muestras de biopsias de pacientes con ACDP, así como en una segunda cohorte de pacientes (15 muestras de biopsias control y 15 muestras de biopsias de pacientes con ACDP) mediante RT-qPCR, encontrándose que 10 de los 17 DE miRNAs constituían una firma para los pacientes con ACDP que residen en México. C) Una vez identificados los DE miARNs en biopsias, se analizó su expresión mediante RT-qPCR en 66 muestras de plasma, (20 muestras de plasma individuos control y 46 muestras de plasmas de pacientes con ACDP), identificándose 4 DE miARNs (miR-222-3p, miR-345-5p, miR-100-5p y miR-221-3p). D y E) De estos 4 miRNAs mediante análisis tipo ROC y curvas de Kaplan y Meyer se estableció que dos de ellos (miR.221.3p y miR-222.3p) pueden ser empleados en el diagnóstico y pronóstico del ACDP, respectivamente. Tomado de Álvarez-Hilario *et al.*, 2023.

Referencias

- Alotaibi, F. (2023). Exosomal microRNAs in cancer: Potential biomarkers and immunotherapeutic targets for immune checkpoint molecules. *Front Genet*, 14, 1052731. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1052731>
- Álvarez-Hilario, L. G., Salmeron-Barcenas, E. G., *et al* (2023). Circulating miRNAs as Noninvasive Biomarkers for PDAC Diagnosis and Prognosis in Mexico. *Int J Mol Sci*, 24(20). <https://doi.org/10.3390/ijms242015193>
- Catalanotto, C., Cogoni, C., & Zardo, G. (2016). MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*, 17(10). <https://doi.org/10.3390/ijms17101712>
- Condrat, C. E., Thompson, D. C., Barbu, *et al* (2020). miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis. *Cells*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/cells9020276>
- Faubert, B., Solmonson, A., & DeBerardinis, R. J. (2020). Metabolic reprogramming and cancer progression. 368(6487), eaaw5473. <https://doi.org/doi:10.1126/science.aaw5473>
- Ferlay, J., Ervik M, Lam F, *et al* (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. *Int J Cancer*. <https://gco.iarc.fr/en>
- Flowers, E., Kanaya, A. M., Zhang, L., & Aouizerat, B. E. (2022). The Role of Racial and Ethnic Factors in MicroRNA Expression and Risk for Type 2 Diabetes [Brief Research Report]. 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.853633>
- Grossman, R. L., Heath, A. P., Ferretti, V., *et al* (2016). Toward a Shared Vision for Cancer Genomic Data. *N Engl J Med*, 375(12), 1109–1112. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1607591>

Mok, E. T. Y., Chitty, J. L., & Cox, T. R. (2024). miRNAs in pancreatic cancer progression and metastasis. *Clin Exp Metastasis*. <https://doi.org/10.1007/s10585-023-10256-0>

Oliveto, S., Mancino, M., Manfrini, N., & Biffo, S. (2017). Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World J Biol Chem*, 8(1), 45-56. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v8.i1.45>

Tian, S., Wang, J., Zhang, F., & Wang, D. (2022). Comparative Analysis of microRNA Binding Site Distribution and microRNA-Mediated Gene Expression Repression of Oncogenes and Tumor Suppressor Genes. *Genes (Basel)*,13(3). <https://doi.org/10.3390/genes13030481>

Wood, L. D., Canto, M. I., Jaffee, E. M., & Simeone, D. M. (2022). Pancreatic Cancer: Pathogenesis, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterology*, 163(2), 386-402.e381.

<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2022.03.056>

Foto de portada: Micro RNA (miRNA) Ilustración 3d

Volumen 10 - Número 2



Eric Genaro Salmerón Bárcenas

Doctor en Ciencias Biomédicas por la Universidad Autónoma de Guerrero. Candidato en el SNI.

Auxiliar de investigación “F”, departamento de Biomedicina Molecular CINVESTAV-IPN.

Actualmente, se encuentra trabajando en el papel de miRNAs en células troncales cancerosas en ACDP.



Rosaura Hernández Rivas

Investigadora Titular 3D y SNII nivel III del departamento de Biomedicina Molecular CINVESTAV-IPN. Su laboratorio se especializa en el estudio de los mecanismos epigenéticos que participan en el desarrollo del cáncer pancreático y en la participación de células troncales cancerosas pancreáticas en esta enfermedad.

Cúrcuma: alimento contra el olvido

Talía Sánchez Barbosa y Marco Antonio Meraz Ríos

L

La cúrcuma (*Curcuma longa*) es una planta originaria de India cuyo rizoma o tallo subterráneo se ha utilizado desde hace más de 2 mil años como condimento, tinte natural, repelente de insectos y agente antimicrobiano (Figura 1). En la medicina tradicional, se usa para ayudar a la cicatrización de las heridas, tratar enfermedades hepáticas y problemas respiratorios y dermatológicos (Bhat et al., 2022; Zheng et al., 2017).



Figura 1. La cúrcuma (*Curcuma longa*) es una planta que se ha empleado con fines medicinales. De su rizoma se obtiene un polvo rojizo que se utiliza para tratar diferentes malestares, desde piquetes de insectos hasta enfermedades hepáticas. Autor: jigsawstocker.

Los compuestos activos de la cúrcuma, llamados curcuminoides, son: 1) curcumina, 2) demetoxicurcumina y 3) bisdemetoxicurcumina (Figura 2). Entre ellos, la más abundante y a la que más propiedades medicinales se le han comprobado, es la curcumina. La Asociación de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos

(FDA, por sus siglas en inglés), señala que los tres curcuminoides son seguros para el consumo humano y bien tolerados cuando se ingieren de forma oral en dosis de hasta 12g al día (Panaro et al., 2020).

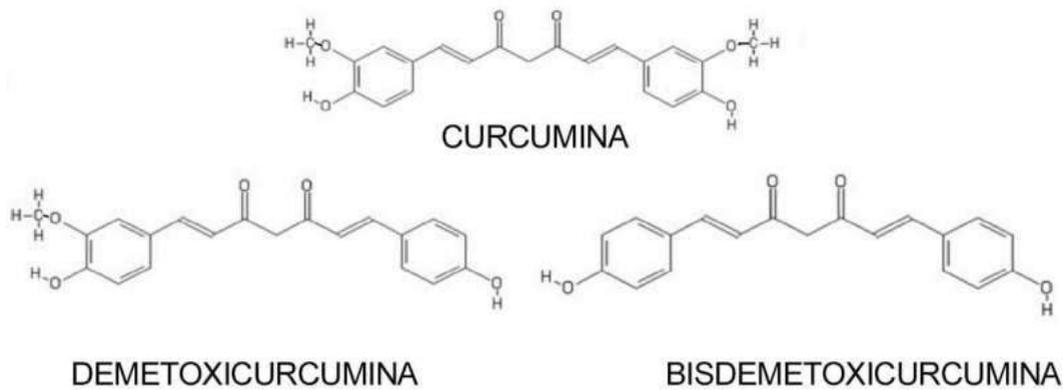


Figura 2. Estructura química de los curcuminoides. Autor: Creative Commons

En años recientes, la curcumina ha recibido atención especial porque diversos estudios han comprobado sus propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas y de antienvjecimiento, además de que ha sido probada en distintos modelos de enfermedades como osteoartritis, diabetes y Alzheimer, obteniéndose resultados favorables.

Para ejercer sus funciones, la curcumina puede actuar en diferentes niveles y con distintos mecanismos dependiendo del contexto biológico que se trate, lo que puede cambiar las diferentes señales emitidas por las células. Por ejemplo, al modificar las señales de crecimiento de las células cancerosas, puede disminuir el tamaño de los tumores en pacientes con cáncer colorrectal. También puede reducir la concentración de algunos factores de riesgo, como triglicéridos o moléculas inflamatorias, en pacientes con enfermedad cardiovascular. Y se ha demostrado que en ratas diabéticas baja los niveles de azúcar y aumenta los de insulina.

La enfermedad de Alzheimer, la demencia más común

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma de demencia más común y la sexta causa de muerte en el mundo. Se caracteriza por la pérdida progresiva de la memoria y de otras funciones mentales que impiden realizar las actividades cotidianas más básicas. A nivel microscópico pueden observarse dos características fundamentales: la presencia de placas neuríticas extracelulares, y la existencia de marañas u ovillos neurofibrilares intracelulares.

Tanto las placas neuríticas como las marañas se forman por un mal procesamiento y plegamiento de las proteínas. Las primeras están formadas por el péptido amiloide beta ($A\beta$), una proteína pequeña, de 40 a 42 aminoácidos que, al asociarse inadecuadamente con ella misma, forma depósitos que se acumulan en el exterior de las neuronas e impiden su buen funcionamiento, su comunicación y eventualmente les provoca la muerte. Por otro lado, las marañas neurofibrilares están compuestas por otra proteína llamada tau, la cual, en condiciones normales, se une a los microtúbulos del citoesqueleto de las células, pero en las personas con la EA, se encuentra hiperfosforilada y se pliega erróneamente, se separa de los microtúbulos y se acumula en el citoplasma, con lo cual todo el sistema de transporte de nutrientes, y de otras moléculas necesarias para la supervivencia de las neuronas, se daña irremediabilmente.

La EA fue descrita por primera vez en 1901 y los avances científicos desde entonces, en cuanto a su diagnóstico y tratamiento, han sido muchos y muy relevantes. En la actualidad se conoce poco sobre el proceso de deterioro que ocurre en esos pacientes y tampoco se sabe cómo curarla. Los medicamentos comúnmente prescritos tienen varias desventajas, que incluyen múltiples efectos secundarios y sólo disminuyen la velocidad con la que avanza el padecimiento, pero no lo curan. Recientemente la FDA aprobó un fármaco que promete eliminar las placas neuríticas, pero sólo en pacientes que están en una etapa temprana de la enfermedad (es decir, una minoría de las personas diagnosticadas con Alzheimer).

Uno de los enfoques que ha cobrado mucha fuerza en la investigación científica actual, es el de estudiar compuestos presentes en las plantas medicinales, ya que está comprobado que pueden actuar de múltiples formas y casi no tienen efectos secundarios. Sin embargo, existe el inconveniente de que su actividad farmacológica puede ser variable. Por ejemplo, su efectividad puede ser mayor o menor dependiendo del ambiente en que la planta fue cultivada, el método que se utilizó para extraer el compuesto activo, e incluso, de las bacterias que se hallan presentes en el intestino de la persona que los toma. Otro problema es que, para conseguir el efecto deseado, en particular para las enfermedades cerebrales, el compuesto debe atravesar la barrera hematoencefálica, un escudo hecho de vasos sanguíneos y células que rodea al cerebro e impide que cualquier molécula llegue hasta él.

La lista de plantas de las que se han obtenido compuestos prometedores para tratar la demencia es muy larga e incluye a ginkgo, centella asiática, ginseng, coco, azafrán, moringa, zarzamora, planta del té, canela, entre muchas otras (Bhat et al. 2022).

Curcumina y la enfermedad de Alzheimer

La curcumina fue descrita por primera vez en 1910, pero fue hasta 2001 que comenzó a sospecharse que podría tener un efecto benéfico en la enfermedad de Alzheimer. Parte de las conjeturas provenían de que algunos estudios epidemiológicos reportaron que la incidencia de Alzheimer en India era hasta 4.4 veces menor que en Estados Unidos y que este efecto podría provenir del alto consumo de cúrcuma en la dieta de la población india [1]. Tras varias décadas de estudio, que comenzaron con el descubrimiento de que la curcumina sí logra atravesar la barrera hematoencefálica y llegar al cerebro, los científicos han logrado dilucidar por qué esta molécula podría funcionar como tratamiento para el Alzheimer. A continuación, se mencionan los hallazgos más importantes de la investigación con curcumina:

- Se une al A β , impide su agregación y acelera su eliminación, con lo cual se disminuye la formación de las placas amiloides (Kang et al., 2004; Yang et al., 2005; Garcia-Alloza et al., 2007; Shi, et al., 2015; Zheng et al., 2017; Zhang et al., 2019; Porro et al., 2019; Gao, et al., 2020; De Lorenzi, et al., 2022).
- Se une a metales como el aluminio o el hierro, evitando que por su acción se acelere la agregación tanto del A β como de tau (Smirnova et al., 2023).
- Bloquea las señales de inflamación más importantes que se mantienen de forma sostenida en el cerebro de las personas con EA y que provocan daño en todas las células que lo componen (Shi et al., 2015; Zhang et al., 2019; Porro et al., 2019).
- Funciona como antioxidante, ya que aumenta la expresión de enzimas que eliminan los radicales libres que afectan gravemente al cerebro, sobre todo cuando ya hay depósitos de A β (Kumar et al., 2009; Mishra et al., 2011; Sarkar et al., 2017; Dong et al., 2018)
- Mejora la memoria y el aprendizaje porque evita la degradación de la acetilcolina, una molécula relacionada con ambos procesos y que se encuentra disminuida en los pacientes con EA (Kumar et al., 2009; Zheng et al., 2017; Bhat, et al., 2022).

Además de estos hallazgos, se ha identificado que la bisdemetoxicurcumina podría ser utilizada como método para detectar la EA, debido a que, al ser una molécula con propiedades fluorescentes que se une al A β , podría emplearse en estudios de imagen para marcar las placas neuríticas en el cerebro de una persona que se sospeche de padecer la EA y aún no presente los signos clínicos de la demencia. Esto es importante

porque es una alternativa accesible, comparada con los altos costos de los estudios que se realizan en la actualidad para diagnosticar esta enfermedad (García-Alloza et al., 2007).

A pesar de estos resultados positivos, la curcumina tiene un par de desventajas que deben sortearse antes de pensar en ofrecerla como tratamiento, pues es poco soluble en agua y se degrada rápidamente. En términos simples, ello significa que, si una persona se tomara una pastilla de curcumina, no sería fácil que llegara al cerebro, porque se eliminaría antes. Para solucionar esto, se ha propuesto recubrir a la curcumina con una capa protectora que le permita viajar por la sangre, al tiempo que evite su degradación antes de llegar a su destino. Se han estudiado muchos materiales para formar esta cubierta, pero los más eficaces son los liposomas y las nanopartículas. En el primer caso, la curcumina se envuelve en capas de lípidos muy parecidos a los que naturalmente se encuentran en las células y que permiten su transporte efectivo por el torrente sanguíneo. En el segundo caso, la curcumina se recubre con oro, tungsteno o carbohidratos; la partícula así generada es tan pequeña que atraviesa la barrera hematoencefálica sin tantas complicaciones. Diversos estudios en células y en animales de laboratorio señalan que con esta clase de cobertura se obtienen mejores resultados que con la curcumina sola (Thapa et al., 2013; Fan et al., 2018; Gao, et al., 2020; Ege, 2021).

Otro enfoque para superar las desventajas estructurales de la curcumina ha sido el de mejorar la molécula, es decir, eliminar o sustituir algunas de sus partes para mejorar su eficacia; a esto se le llama optimizar al compuesto líder (Balasubramanian, 2006; Chen et al, 2011; Orlando et al., 2012). Se trata de un proceso muy común en la actualidad, que permite a los investigadores descubrir fármacos nuevos imitando moléculas presentes en la naturaleza. En el caso de la curcumina, se han descubierto muchos derivados inspirados en ella que funcionan mejor, como la tetrahidrocurcumina, el PQM130, o algunos análogos construidos a partir de la elongación de su cadena de carbonos o de modificaciones en sus anillos. Estos derivados se han probado en combinación con los medicamentos que comúnmente se prescriben para tratar a los pacientes con EA y se ha encontrado que su efecto terapéutico se multiplica (Morrone et al., 2019; Chainoglou y Hadjipavlou-Litina, 2020; Ege, 2021).

Conclusión

Una de las enfermedades más devastadoras que afectan a la sociedad es la enfermedad de Alzheimer, que tiene a la edad como mayor factor de riesgo. Con el actual incremento en el número de personas mayores de 60 años, esta enfermedad se ha convertido en un problema de salud pública. Dado que los fármacos que se usan para tratar la enfermedad no son curativos, es de primera importancia que los pacientes y sus familias cuenten con mayores opciones de tratamiento, que les permitan disminuir su vulnerabilidad y mejorar su calidad de vida. Una de las alternativas es el uso de plantas medicinales; recurrimos a ellas porque nos hemos dado cuenta de que con los medicamentos utilizados hasta ahora no se han obtenido los resultados deseados.

Las pruebas de la curcumina realizadas en humanos se encuentran en fases tempranas y aún no es posible concluir con certeza si funcionan o no. Sin embargo, algunas pruebas realizadas en pacientes con cáncer de páncreas, artritis reumatoide y enfermedades inflamatorias oculares ofrecen resultados prometedores que mantienen a los científicos con la esperanza de que la curcumina pueda dar resultados en pacientes que padecen la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas.

Referencias

- Bhat, B. A. et al. Natural Therapeutics in Aid of Treating Alzheimer's Disease: A Green Gateway Toward Ending Quest for Treating Neurological Disorders. *Front Neurosci* 16, (2022).

- Zheng, K. et al. Curcumin Ameliorates Memory Decline via Inhibiting BACE1 Expression and β -Amyloid Pathology in 5xFAD Transgenic Mice. *Mol Neurobiol* 54, 1967–1977 (2017).
- Panaro, M. A. et al. The Emerging Role of Curcumin in the Modulation of TLR-4 Signaling Pathway: Focus on Neuroprotective and Anti-Rheumatic Properties. *Int J Mol Sci* 21, 2299 (2020).
- Kang, G. et al. Curcumin Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Cyclooxygenase-2 Expression by Inhibiting Activator Protein 1 and Nuclear Factor κ B Bindings in BV2 Microglial Cells. *J Pharmacol Sci* 94, 325–328 (2004).
- Yang, F. et al. Curcumin Inhibits Formation of Amyloid β Oligomers and Fibrils, Binds Plaques, and Reduces Amyloid in Vivo. *Journal of Biological Chemistry* 280, 5892–5901 (2005).
- Garcia-Alloza, M., et al., Curcumin labels amyloid pathology in vivo, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. *J Neurochem* 102, 1095–1104 (2007).
- Shi, X. et al. Curcumin inhibits A β -induced microglial inflammatory responses in vitro: Involvement of ERK1/2 and p38 signaling pathways. *Neurosci Lett* 594, 105–110 (2015).
- Zhang, J. et al. Curcumin inhibits LPS-induced neuroinflammation by promoting microglial M2 polarization via TREM2/TLR4/NF- κ B pathways in BV2 cells. *Mol Immunol* 116, 29–37 (2019).
- Porro, C., et al. Curcumin Regulates Anti-Inflammatory Responses by JAK/STAT/SOCS Signaling Pathway in BV-2 Microglial Cells. *Biology (Basel)* 8, 51 (2019).
- Gao, C. et al. Neuron tau-targeting biomimetic nanoparticles for curcumin delivery to delay progression of Alzheimer's disease. *J Nanobiotechnology* 18, 71 (2020).
- De Lorenzi, E. et al. Modulation of Amyloid β -Induced Microglia Activation and Neuronal Cell Death by Curcumin and Analogues. *Int J Mol Sci* 23, 4381 (2022).
- Smirnova, E. et al. A Review of the Role of Curcumin in Metal Induced Toxicity. *Antioxidants* 12, 243 (2023).
- Kumar, A., et al. Protective effect of curcumin (*Curcuma longa*), against aluminium toxicity: Possible behavioral and biochemical alterations in rats. *Behavioural Brain Research* 205, 384–390 (2009).
- Mishra S, et al. Tetrahydrocurcumin confers protection against amyloid β -induced toxicity. *Neuroreport* 5; 23-7. (2011)
- Sarkar, B., Dhiman, M., Mittal, S. & Mantha, A. K. Curcumin revitalizes Amyloid beta (25–35)-induced and organophosphate pesticides pestered neurotoxicity in SH-SY5Y and IMR-32 cells via activation of APE1 and Nrf2. *Metab Brain Dis* 32, 2045–2061 (2017).
- Dong, W. et al. Curcumin plays neuroprotective roles against traumatic brain injury partly via Nrf2 signaling. *Toxicol Appl Pharmacol* 346, 28–36 (2018).
- Thapa, A. et al. Membrane-Mediated Neuroprotection by Curcumin from Amyloid- β -Peptide-Induced Toxicity. *Langmuir* 29, 11713–11723 (2013).
- Fan, S., et al. Curcumin-loaded PLGA-PEG nanoparticles conjugated with B6 peptide for potential use in Alzheimer's disease. *Drug Deliv.* 25, 1091–1102 (2018).
- Ege, D. Action Mechanisms of Curcumin in Alzheimer's Disease and Its Brain Targeted Delivery. *Materials* 14, 3332 (2021).
- Balasubramanian K. Molecular orbital basis for yellow curry spice curcumin's prevention of Alzheimer's disease. *J Agric Food Chem.*17, 3512-20 (2006).
- Chen, S., et al. Design synthesis and biological evaluation of curcumin analogues as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorgan. Med. Chem.*19, 5596–5604 (2011).
- Orlando, R., et al. A Chemical Analog of Curcumin as an Improved Inhibitor of Amyloid Abeta. Oligomerization. *PLoS ONE* 7(3):e31869 (2012).
- Morroni F, et al., PQM130, a Novel Feruloyl-Donepezil Hybrid Compound, Effectively Ameliorates the Cognitive Impairments and Pathology in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Front. Pharmacol.* 12, 10:658. (2019).
- Chainoglou E., Hadjipavlou-Litina D. Curcumin in Health and Diseases: Alzheimer's Disease and Curcumin Analogues, Derivatives, and Hybrids. *Int J Mol Sci.* 13, 21(6):1975 (2020).

[1] En algunas regiones de India el consumo anual de cúrcuma por persona es de hasta 500g



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



Talía Sánchez Barbosa

Estudiante de doctorado del Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV Zacatenco.



Nanofármacos emergentes como tratamiento para la enfermedad de Alzheimer

Guillermo Rocael Vázquez-Martínez y Marco Antonio Meraz Ríos

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una condición cerebral que deteriora progresivamente la memoria, el lenguaje, y el comportamiento de las personas. Aunque esta enfermedad se ha asociado a la vejez, ya que es más frecuente en los adultos mayores, no es una característica natural del envejecimiento; más bien, es una enfermedad caracterizada por un conjunto de anomalías que provocan la acumulación de agregados proteicos en el cerebro, formados por péptidos amiloide-beta y de la proteína Tau, que finalmente provocan la muerte de las células neuronales.

La EA depende de múltiples factores para su desarrollo, y en la actualidad, no existe cura; por lo tanto, los tratamientos prescritos por el sector salud solo se enfocan en aliviar los síntomas del paciente para mejorar su calidad de vida y retrasar la dependencia. Algunos fármacos, como el Donepezilo, la Galantamina y la Rivastigmina, que son inhibidores de la enzima colinesterasa, promueven el reciclaje de la acetilcolina, un neurotransmisor que tiene varias funciones importantes tanto físicas (contracción muscular), psicológicas y cerebrales.

Sin embargo, ya que en la EA los niveles de esta molécula disminuyen en relación con la muerte de las células neuronales, es posible que estos medicamentos solo sean efectivos en etapas tempranas de la enfermedad, ya que la acetilcolina terminará degradándose y cada vez habrá menos células para producirla.

En este sentido, la muerte neuronal también trae consigo la muerte de otras células, ya que las células sanas son expuestas a un exceso del neurotransmisor glutamato, el cual es liberado por las células lesionadas o dañadas; en respuesta, las células activan el tráfico de calcio hacia el interior durante tiempos más prolongados, lo que provoca su hinchamiento y ruptura.

Para disminuir el impacto de este círculo vicioso, se han desarrollado fármacos que se unen a los mismos receptores que utiliza el glutamato para ser reconocido en la membrana celular, llamados receptores N-metil-D-aspartato, o por sus siglas, NMDA, tal como la Memantina, un medicamento que previene el deterioro y la muerte neuronal en la EA, y que además, de acuerdo con la FDA, se puede administrar en conjunto con ciertos inhibidores de la colinesterasa, como el Donepezilo, para obtener mejores resultados en el tratamiento. Sin embargo, estos medicamentos presentan muchos efectos secundarios y además representan un “alivio” temporal porque el deterioro cognitivo no se detiene.

Afortunadamente, la investigación sigue avanzando en el desarrollo de estrategias para interferir con los mecanismos que producen la EA, sobre todo para prevenir su progresión en etapas tempranas. En la actualidad, solamente existe una estrategia que se acerca a este objetivo, la cual se denomina inmunoterapia pasiva.

Esta terapia se basa en el reconocimiento inmunológico de los agregados proteicos utilizando ciertas proteínas llamadas “anticuerpos monoclonales”, los cuales, al unirse a los agregados de péptidos amiloide beta o de proteína Tau, ayudan a que éstos sean reconocidos y eliminados por las células del sistema inmune.

Para la eliminación de los agregados del péptido amiloide beta, se conocen dos medicamentos prometedores, Lecanemab y Aducanumab. Aunque ambos concluyeron los ensayos clínicos fase III, este último, ha sido el único aprobado por la FDA como tratamiento para pacientes con deterioro cognitivo y demencia leves causada por enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, aunque se demostró que reducía los agregados

maduros de amiloide beta, también llamadas placas amiloides, no se reunieron suficientes evidencias para asegurar una reducción del deterioro cognitivo en los pacientes.

En el caso de los agregados de la proteína Tau aberrante, los anticuerpos monoclonales más conocidos son Gosuranemab, Tilavonemab, Semorinemab y Zagotenemab; no obstante su uso como tratamiento aún está en investigación de ensayos clínicos fase II.

Uno de los retos que enfrentan los investigadores con este tipo de estrategia es que los neurofármacos logren atravesar las barreras que posee el cuerpo, para asegurar una dosis terapéutica del medicamento, principalmente porque puede sufrir degradación desde el lugar de administración hasta el sitio de acción.

Una de estas barreras es la barrera hematoencefálica (BHE), la cual es una estructura que impide el contacto de la sangre periférica con el parénquima cerebral, y por ello, es la encargada de regular el tráfico de metabolitos energéticos y nutrientes que llegan a las neuronas. Por esta razón se empezó a utilizar la nanotecnología para desarrollar diferentes sistemas de liberación de moléculas terapéuticas. Esta ciencia tiene como objetivo diseñar, producir y utilizar materiales con al menos una dimensión comprendida entre 1 y 100 nm, lo que es interesante dado que las proteínas y los ácidos nucleicos tienen el mismo rango de tamaño.

Para atravesar la BHE, se han desarrollado nanopartículas de diferente naturaleza, por ejemplo: metálicas, que incluyen oro, platino, selenio, hierro y molibdeno; poliméricas, tales como el quitosano, el poli(ácido-lacto-co-glicólico) o PLGA, el polietilenglicol o PEG, y los dendrímeros; también de tipo lipídicas; y finalmente, híbridas, es decir, la combinación de dos o más de estos materiales.

Nanopartículas cargadas con agentes terapéuticos de tipo proteico

Estas nanopartículas se han desarrollado con la finalidad de mejorar la inmunoterapia pasiva. En general, se toma un anticuerpo o fragmentos de él, con la capacidad de reconocer agregados del péptido amiloide beta ($A\beta$) y se unen a las nanopartículas, ya sea en la superficie o al interior de ellas:

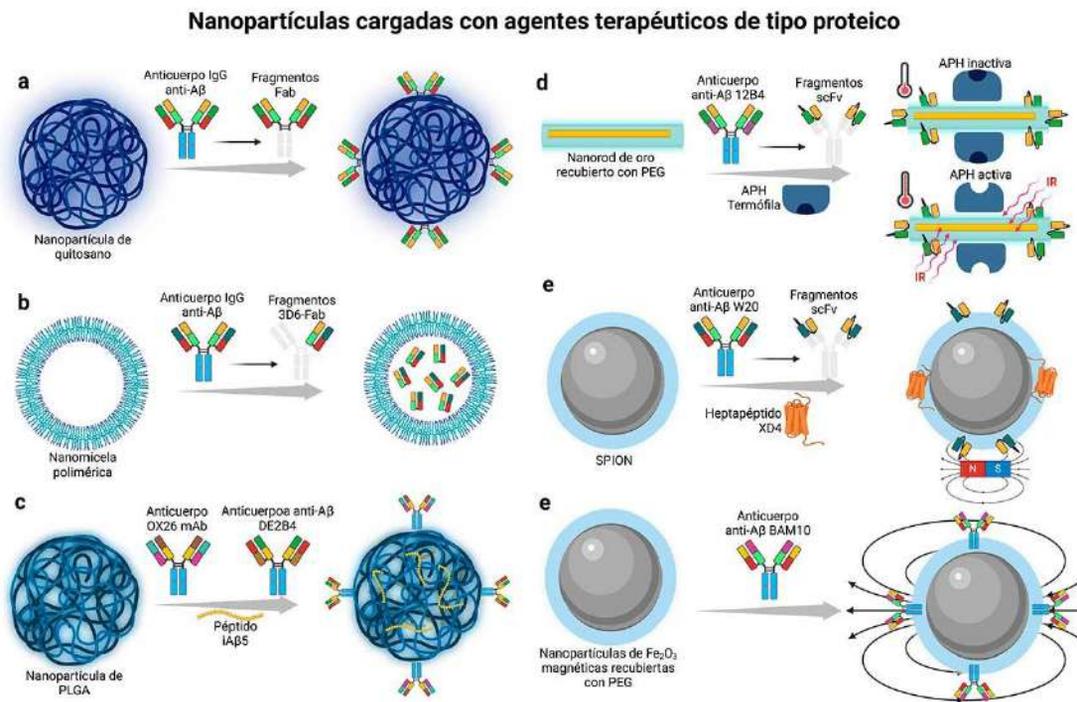


Figura 1. Nanopartículas cargadas con agentes terapéuticos de tipo proteico.

Polímero-proteicas

Algunas de las estrategias para lograrlo, son, por ejemplo, el uso de las nanopartículas poliméricas, como por ejemplo, las de quitosano, un polímero que se obtiene a partir de la desacetilación parcial de la quitina. Estas nanopartículas son recubiertas con fragmentos de unión al antígeno (Fab) de un anticuerpo IgG anti- $A\beta$, tal como se muestra en la Figura 1a; con lo cual, se incrementa la biocompatibilidad por la BHE y se promueve

la eliminación de los depósitos de amiloide beta debido al reconocimiento molecular que le confieren los fragmentos del anticuerpo.

Otra estrategia, son las nanopartículas poliméricas micelares, las cuales se sintetizan a partir de polímeros complejos anfipáticos, es decir, que en su estructura molecular tienen una región soluble en agua y otra insoluble. Estas nanopartículas encapsulan un gran número copias de un solo fragmento Fab del anticuerpo anti-A β , llamados fragmentos 3D6-Fab, tal como se muestra en la Figura 1b. Los resultados muestran que el uso de estas nano-micelas poliméricas aumentan 41 veces el ingreso de los fragmentos del anticuerpo al cerebro.

Por otro lado, también se han desarrollado nanopartículas a base de un polímero sintético de ácido-lacto-co-glicólico, llamado PLGA, el cual ha sido el único polímero sintético aprobado por la FDA para el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos en humanos. Estas nanopartículas brindan varios beneficios, incluyendo una mayor capacidad de carga de fármacos, flexibilidad de unión a diferentes tipos de moléculas, biocompatibilidad y menor toxicidad.

La estrategia para tratar la EA con este tipo de polímero se basa en un enfoque múltiple, para ello, dos anticuerpos diferentes se unen a la superficie de las nanopartículas de PLGA. El primero, el anticuerpo OX26 mAb, que reconoce y se une a un receptor de superficie celular situado en el endotelio capilar del cerebro, llamado receptor de transferrina; y el segundo, el anticuerpo DE2B4, que reconoce al péptido amiloide beta (A β) y a la proteína precursora de amiloide (APP); además, también se incluye al péptido iA β 5, que es un disruptor de la conformación beta o lámina plegada del péptido A β , tal como se representa en la figura 1c. Con lo anterior, se asegura que las nanopartículas ingresen al parénquima cerebral con alta biodisponibilidad, puedan reconocer depósitos de amiloide beta, y al unirse a ellos, los péptidos iA β 5 bloquean su autoensamblaje para evitar la agregación. Otra estrategia terapéutica es el uso de nanopartículas de PLGA para fijar a la proteína de unión a Vitamina-D, también llamada GC-globulina, este complejo se ha evaluado en ratones que sobreexpresan el A β (5XFAD), y se ha observado que disminuye la agregación y acumulación de A β .

Metalicas-proteicas

Otra estrategia emplea nanopartículas metálicas, ya que, por el contrario de las nanopartículas poliméricas, es más fácil manipular su tamaño y forma para favorecer la biocompatibilidad por la BHE, además de que es posible unir proteínas complejas como las enzimas.

En este sentido, las nanopartículas de oro han sido las más utilizadas, debido a que son biocompatibles, estables, se pueden bioconjugan y funcionalizar con casi cualquier tipo de molécula, además de que tienen propiedades ópticas que permiten monitorear su actividad o cambiar sus propiedades físicas. Para este caso, se han desarrollado nanopartículas de oro recubiertas con PEG, que posteriormente sirven de anclaje para fragmentos variables de cadena única (scFv) del anticuerpo 12B4 anti- $A\beta$, y, además, de la enzima termófila acil-péptido hidrolasa, APH, la cual participa en la degradación y procesamiento de proteínas dentro de las células, este modelo se representa en la figura 1d. Estas nanopartículas establecen un complejo con formas aberrantes del péptido amiloide beta (oligómeros y fibras), y al irradiarlas con luz infrarroja, vibran y generan calor, lo que permite que la enzima se active y pueda destruir los agregados del amiloide beta en un sitio específico, reduciendo el daño en otros tejidos.

Otra clase de nanopartículas metálicas son las de óxido de hierro superparamagnético (SPION), las cuales se utilizan comúnmente como agentes de contraste para obtener imágenes con resonancia magnética. Las nanopartículas de este tipo se pueden recubrir con polietilenglicol (PEG) para anclar fragmentos variables de cadena única (scFv) del anticuerpo anti- $A\beta$ W20, el cual reconoce a los oligómeros de amiloide beta. Además, con la adición de un heptapéptido XD4 que activa al receptor eliminador de clase A (SR-A) en la microglía (Figura 1e), se promueve la inhibición significativa de la agregación y la citotoxicidad, y en respuesta a ello, se activa la producción de citoquinas inflamatorias en células BV-2. Otra clase de nanopartículas de este tipo, son las de óxido de hierro magnéticas. En este caso, las nanopartículas se recubren con PEG, y se funcionalizan con

el anticuerpo BAM10, lo que permite la inhibición de la formación de fibras de amiloide beta y la citotoxicidad provocada por el A β (Figura 1f).

Nanopartículas cargadas con agentes terapéuticos no proteicos

Con la finalidad de transportar otras moléculas con potencial terapéutico para la EA se están desarrollando nanopartículas que favorecen la biodisponibilidad de moléculas terapéuticas; algunas de ellas se han usado para transportar curcumina, cumarina, algunos metales como el zinc, selenio y el paladio, incluso nanopartículas recubiertas con extractos de plantas, o bien, antioxidantes como el ácido ferúlico, el cual ha demostrado, al menos en ratones, mantener los niveles cerebrales de ACh, glutamato, GABA, y con ello reducir la ansiedad y los trastornos de la memoria inducidos por el proceso de envejecimiento (Cuadro 1).

Fármacos	Tipo de nanopartícula	Modelo evaluado	Propiedades mejoradas	Forma y tamaño
Curcumina	PLGA-Selenio	Ratón transgénico (5XFAD)	Disminuye los niveles de β A	Esféricas, \approx 70 nm
Cumarina	[PEG-PLA]-Péptidos Mix	Ratón transgénico APP/PS1	Disminuye las placas amiloides y la fosforilación de Tau. Incrementa la degradación de β A. Mejora el aprendizaje espacial y la memoria.	Esféricas, $>$ 100 nm
Ácido ferúlico	Liposomas	Ratas Wistar macho de siete semanas de edad (con un peso de 180 a 200 g)	Mantener los niveles de ACh, glutamato, GABA, y con ello, mejorar la ansiedad y los trastornos de la memoria inducidos por el proceso de envejecimiento (Cuadro 1).	Esféricas, \approx 110 nm
Zinc	Zinc NPs	Ratón Wild-type Ratón APP23	Reducción del tamaño de las placas y afecta la liberación de citoquinas proinflamatorias (IL-6 and IL-18)	Esféricas, 200-220 nm
Hidruro de Paladio	Paladio NPs	Ratón	Liberación in situ y sostenida de hidrógeno (alta carga), disminuyendo el estrés oxidativo	Cúbicas, \approx 30 nm
Extracto acuoso de <i>Lampranthus coccineus</i> , <i>Malephora lutea</i> y <i>F. Aizoaceae</i>	Nitrato de plata NPs	Ratas masculinas albinas (Sprague Dawley)	Anticolinesterasa y actividad antioxidante	Esféricas, \approx 13-28 nm

Cuadro 1. Nanopartículas cargadas con agentes terapéuticos no proteicos. PLGA (poli (ácido D,L-láctico-ácido co-glicólico)); PEG-PLA (Poli (etilenglicol)-poli (ácido láctico)); Péptidos Mix (Péptidos para conferir direccionalidad a cerebro(TGNYKALHPHNGC) y β A (QSHYRHISPAQVC), y péptidos para desestabilizar al β A: H102 (HKQLPFFEED). Cuadro extraído y traducido del trabajo de Kassem y colaboradores (2020).

En 2019, por primera vez, se tuvo registro de un estudio clínico que consideró pacientes con deterioro cognitivo leve a moderado para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de la administración intranasal de nanopartículas APH-1105, las cuales parecen modular la actividad de la enzima alfa-secretasa, una enzima que corta a la proteína precursora de amiloide (APP) para obtener un producto más soluble, lo que favorece su eliminación del cerebro evitando la formación de placas amiloides insolubles. En la actualidad este estudio se encuentra en fase clínica II y se prevé que finalice en diciembre de 2024.

Por lo tanto, aunque la administración dirigida de neurofármacos con nanopartículas, tiene como objetivo mejorar los resultados clínicos en la eficacia terapéutica contra la EA, se necesita un estudio a profundidad para desarrollar una nanomedicina sólida y clínicamente eficiente contra esta enfermedad, sobre todo porque aún no hay evidencia del margen de seguridad de esta tecnología.

Bibliografía de consulta

Harilal S, Jose J, Parambi DGT, Kumar R, Mathew GE, Uddin MS, Kim H, Mathew B. Advancements in nanotherapeutics for Alzheimer's disease: current perspectives. *J Pharm Pharmacol*. 2019 Sep;71(9):1370-1383. doi: 10.1111/jphp.13132. Epub 2019 Jul 15. PMID: 31304982.

Kassem, L. M., Ibrahim N.A. y Farhana, S.A. (2020). Nanoparticle Therapy Is a Promising Approach in the Management and Prevention of Many Diseases: Does It Help in Curing Alzheimer Disease? *Journal of Nanotechnology*, volumen 2020, Article ID: 8147080, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2020/8147080>

Aphios Safety, Tolerability and Efficacy Assessment of Intranasal Nanoparticles of APH-1105, A Novel Alpha Secretase Modulator For Mild to Moderate Cognitive Impairment Due to Alzheimer's Disease(AD). 2021. Available online: clinicaltrials.gov (accessed on 08 September 2024). [Link](#)

Taléns-Visconti, Raquel, Jesus Vicente de Julián-Ortiz, Ofelia Vila-Busó, Octavio Diez-Sales, and Amparo Nácher. 2023. "Intranasal Drug Administration in Alzheimer-Type Dementia: Towards Clinical Applications". *Pharmaceutics*. 15, no. 5: 1399. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051399>

Huang, LK., Kuan, YC., Lin, HW. y cols. Ensayos clínicos de nuevos fármacos para la enfermedad de Alzheimer: actualización 2020-2023. *J Biomed Sci* **30**, 83 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00976-6>

Rossato DR, Rosa JLO, Fontoura MB, de Souza LEM, de Almeida TM, Kudrna KB, Schaffazick SR, da Silva CB, Birk L, Eller S, de Oliveira TF, Burger ME. Ferulic Acid-Loaded Nanostructure Maintains Brain Levels of ACh, Glutamate, and GABA and Ameliorates Anxiety and Memory Impairments Induced by the D-Galactose Aging Process in Rats. *Neurochem Res*. 2024 Sep 20. doi: 10.1007/s11064-024-04248-z. Epub ahead of print. PMID: 39302597.

Volumen 10 - Número 3



Guillermo Rocael Vázquez-Martínez

Posdoctorado del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.



Marco Antonio Meraz Ríos

Profesor Titular del Departamento de Biomedicina Molecular del Cinvestav-IPN.