

COMITÉ EDITORIAL:

Dr. Omar Echeverría Rodríguez  
Dra. Mercedes Esparza Perusquía  
Dra. Noemi Meraz Cruz  
Dr. Héctor Riveros Rosas  
M. en C. Héctor Vázquez Meza  
Dra. Ma. Magdalena Vilchis Landeros

VOL. XLVIII, 2024

MENSAJE BIOQUÍMICO

ISSN-0188-137X



Facultad de Medicina



# MENSAJE BIOQUÍMICO

VOL. XLVIII

© ISSN-0188-137X





**DIRECTORA**

Dra. Ana Carolina Sepúlveda Vildósola

**SECRETARIA GENERAL**

Dra. Gabriela Borrayo Sánchez

**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Dra. Ana Elena Limón Rojas

**JEFE DE LA DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN**

Dr. Andrés Eliú Castell Rodríguez

**SECRETARÍA DE EDUCACIÓN MÉDICA**

Dr. Armando Ortiz Montalvo

**SECRETARIO DEL H. CONSEJO TÉCNICO**

Dr. Arturo Espinosa Velasco

**SECRETARÍA DE SERVICIOS ESCOLARES**

Dra. María de los Ángeles Fernández Altuna

**ENCARGADA DEL DESPACHO DE LA SECRETARÍA ADMINISTRATIVA**

Lic. María de Lourdes Salinas González

**SECRETARÍA JURÍDICA Y DE CONTROL ADMINISTRATIVO**

Lic. Rubén García Zepeda

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA**

Dr. Federico Martínez Montes

**MENSAJE BIOQUÍMICO COMITÉ EDITORIAL**

Dr. Omar Echeverría Rodríguez, Dra. Mercedes Esparza Perusquía, Dra. Noemi Meraz Cruz, Dr. Héctor Riveros Rosas, M. en C. Héctor Vázquez Meza, Dra. María Magdalena Vilchis Landeros

MENSAJE BIOQUÍMICO es una revista académica arbitrada de publicación anual, editada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM. Circuito Interior sin número, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, CP 04510, México, Ciudad de México. Versión electrónica en <http://biosensor.facmed.unam.mx/mensajebioquimico/>. Indizada en revistas.unam.mx, LATINDEX y PERIÓDICA. Ni la Facultad de Medicina ni la UNAM son responsables por las opiniones vertidas por los autores. Se prohíbe la reproducción parcial o total del contenido sin previa autorización. Número de certificado de licitud de título: 5552. Número de licitud de contenido: 4295. Número de reserva al título de derechos de autor: 648- 91.

**CONTENIDO**

	Agradecimientos	
	Editorial	III
ChatGPT: Un vistazo personal a esta Inteligencia Artificial	<i>Dr. Ruy Pérez Montfort</i>	1
De AlphaFold2 a la medicina de precisión	<i>Dr. Alejandro Sosa Peinado</i>	13
Las mitocondrias, el sexo, las drogas y el rock	<i>Dr. Oscar Flores Herrera</i>	29
Desde la diabetes hasta la insuficiencia cardiaca: los silenciadores de mRNA como alternativa terapéutica	<i>Dra. Jessica Edith Rodríguez Rodríguez</i>	49
Enfermedades Crónicas No Transmisibles y COVID-19 en México: un enfoque desde la vigilancia epidemiológica	<i>Dr. Pablo Francisco Oliva Sánchez</i>	61
Actualidades sobre COVID 19	<i>Dra. Rosa María Wong Chew</i>	81
El metabolismo energético como blanco en la cardioprotección	<i>Dra. María Esther Rubio Ruíz</i>	95
El tejido adiposo: más allá del almacenamiento de energía	<i>Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas</i>	107
Transformando al sistema renina angiotensina en un aliado en la diabetes	<i>Dra. Itzell A. Gallardo Ortíz</i>	121
Creando tumores en el laboratorio	<i>Dra. Magali Espinosa Castilla</i>	133
Heterogeneidad tumoral en cáncer de mama: implicaciones en metástasis y tratamiento	<i>Dr. José Esparza López</i>	145
Relevancia biológica de los glicoconjugados	<i>Dr. Edgar Zenteno Galindo</i>	155
Los receptores para el ácido lisofosfatídico: avances en el estudio del subtipo LPA	<i>Dr. Jesús Adolfo García Sainz</i>	165
Taller: Una vista general y consejos prácticos para el buen manejo y cuidado de micropipetas de desplazamiento de aire	<i>Ing. Aurey Galván Lobato</i>	175
Participación de la senescencia celular en la neuroinflamación y el deterioro cognitivo durante la obesidad: el uso de senolíticos y senomórficos como terapia preventiva	<i>Dra. Mina Königsberg Fainstein</i>	185
Músculo esquelético: una fuente clave de oligómeros de $\alpha$ -sinucleína en el envejecimiento. Nuevo paradigma en la enfermedad de Parkinson	<i>Dra. Alicia Ortega Aguilar</i>	201
Complementación metabólica con el microbioma en condiciones de estrés nutricional, lecciones desde las plantas	<i>Dr. Luis David Alcaraz Peraza</i>	213
Microbiomas del metro, un viaje urbano	<i>Dra. Mariana Peimbert Torres</i>	227
Taller aprendiendo a aprender: estrategias y técnicas de estudio	<i>Dra. Diana Sesma Castro</i>	237
Micrografía: el arte de observar la naturaleza a través de un microscopio	<i>I.Q.I. Silvia Andrade Canto</i>	245
Instrucciones para los autores		249



## AGRADECIMIENTOS

La realización de este evento académico ha sido posible gracias al apoyo que nos ofreció la Facultad de Medicina de la UNAM a través de su Directora, la **Dra. Ana Carolina Sepúlveda Vildósola**, y de la Secretaria General, la **Dra. Gabriela Borrayo Sánchez**; así como del Jefe del Departamento de Bioquímica, el **Dr. Federico Martínez Montes**.

Agradecemos al **Químico Giovani García Cruz** por el diseño gráfico de los carteles, banners y lona, además del diseño de las libretas del TAB 51 y la portada del volumen XLVIII del *Mensaje Bioquímico*. A la Jefa del Departamento de Diseño Gráfico e Impresos de Facultad de Medicina **Mtra. Liliana Garrido Gutiérrez** y a su equipo de trabajo, la **Lic. en Comunicación Gráfica Julieta Simón López** y la **Lic. en Diseño Gráfico Karla López** por su amplio apoyo en la impresión de los materiales incluyendo el volumen XLVIII del *Mensaje Bioquímico*.

Dentro del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, queremos agradecer el apoyo del **L. C. Fernando Valentín Farfán Cabrera**, Jefe de la Unidad Administrativa, a la **L.C. Susana Marcela Dorantes Martínez** y a todo el personal administrativo que colabora con ellos. De igual modo, agradecemos al **Sr. Juan García Gutiérrez** de quien recibimos un apoyo incondicional en las diferentes etapas de la organización de este evento académico.

Por último, queremos agradecer a las Editoriales que nos patrocinaron el evento por su donativo en libros de texto: **Wolters Kluwer, Manual Moderno y McGraw Hill**.  
Informes e inscripciones:

### COMITÉ ORGANIZADOR TAB 2024

Dr. Omar Echeverría  
Rodríguez

Dra. Mercedes Esparza  
Perusquía

Dra. Noemi Meraz Cruz

Dr. Héctor Riveros Rosas

M. en C. Héctor Vázquez  
Meza

Dra. María Magdalena Vilchis  
Landeros



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## EDITORIAL

Riveros Rosas, Héctor  

Laboratorio de Medicina Evolutiva, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina,  
 Universidad Nacional Autónoma de México

 Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. UNAM, Avenida Universidad 3000 Circuito Exterior S/N, Col. Ciudad Universitaria, Coyoacán. CDMX (México), C.P. 04510. Tel. +52 (55) 5623 2284, Email: [hriveros@unam.mx](mailto:hriveros@unam.mx)

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.01>

El primer Taller de Actualización Bioquímica se realizó hace exactamente 50 años, en 1974. A partir de entonces se han realizado año con año de manera ininterrumpida, incluso durante la reciente pandemia de COVID, o en los diversos períodos de huelga que se han presentado en nuestra Universidad. Este logro, podemos señalar con cierto orgullo, es el resultado de un esfuerzo colectivo de numerosas generaciones de profesores del Departamento de Bioquímica, en el cuál prácticamente todos los profesores del Departamento han participado en algún momento, ya sea como organizadores y/o como ponentes. Aquí, cabe destacar que son realmente pocos los cursos de actualización dentro de la UNAM que son tan longevos, y dentro de nuestra Facultad de Medicina, es sin lugar a dudas el decano de todos los cursos de Educación Continua impartidos dentro de nuestra Facultad.

Por otro lado, un dato que con frecuencia es soslayado, es el hecho de que los primeros laboratorios de lo que conocemos como “Bioquímica” o “Química fisiológica”, como con cierta frecuencia se les denominó en sus inicios, surgieron en las principales Universidades del mundo a principios del siglo XX, dentro de las Escuelas de Medicina, no en las de Química ni en las de Biología. La Bioquímica en sus orígenes y aún hoy en día, tiene una destacada participación de profesionales cuya formación inicial fue como médicos. No es casualidad que los libros de Bioquímica más populares en el mundo como, por ejemplo, la

Bioquímica de Lehninger, el Stryer, el Devlin, o incluso aquí en México, el Laguna y Piña, todos ellos fueron escritos por médicos. Por esta razón, puede decirse sin faltar a la verdad, que la Bioquímica es una rama de la Medicina, y es la que más ha impactado nuestra vida cotidiana, revolucionando no solo el resto de las ramas de la Medicina, sino trascendiendo más allá de la propia Medicina, dando pie al surgimiento de muchas otras áreas del conocimiento, baste sólo mencionar algunas como por ejemplo: la ingeniería genética, la biología molecular, o las ahora denominadas ciencias genómicas, todas ellas descendientes directos de los laboratorios de Bioquímica.

En sus inicios, el Taller de Actualización Bioquímica surgió como una necesidad de actualizar a los profesores de Bioquímica de los avances más recientes que se estaban gestando. No olvidemos que todos los libros de texto del área que sea, tienen un retraso significativo con respecto a los conocimientos de frontera, y en el área de la Bioquímica, los avances en la década de los sesentas y setentas fueron espectaculares: se propuso como hipótesis el modelo del operón (1,2), y se postuló la función del RNA mensajero (3-6), se propuso la existencia de las enzimas alostéricas (7), y la teoría del acoplamiento inducido en las enzimas (8,9), se elucidó el código genético (10), se propuso el modelo del mosaico fluido de la membrana plasmática (11), y se determinó por primera vez la secuencia la secuencia de aminoácidos de una enzima, la ribonucleasa

(12,13), entre otros muchos más. Todos estos avances resultó imperativo transmitirlos a los profesores, para que a su vez permearan en los estudiantes. Por ello el Taller, se planteó desde sus orígenes, como un evento dirigido no sólo a los profesores de nuestro Departamento, sino dirigido a todos los profesores de Bioquímica de nuestro país. Y resultó ser todo un éxito, y el hecho de que aún hoy, en 2024, cincuenta años después, perdure, es a nuestra manera de ver, otra prueba de ello.

De igual manera, con la intención de mejorar la difusión de los trabajos que los autores generosamente nos confían para su publicación en el *Mensaje Bioquímico*, a partir de este año implementamos algunos cambios con la intención de mejorar el trabajo editorial. En primer lugar, hemos convertido al *Mensaje Bioquímico* en una publicación arbitrada, por lo que todos los trabajos son sometidos a una revisión por pares, por lo que aprovechamos este espacio para agradecer a todos los árbitros que desinteresadamente participaron en la revisión de los manuscritos, ¡GRACIAS!

Por otra parte, a partir de este año, con el apoyo de la Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, adscrita a la Coordinación de Difusión Cultural de la UNAM, se asignará a cada trabajo publicado un Identificador de Objeto Digital o DOI, por sus siglas en inglés, con la intención de agilizar la búsqueda de los trabajos publicados desde diferentes bases de datos internacionales como por ejemplo CrossRef, DataCite, mEDRA entre otros. Todos estos cambios esperamos repercutan positivamente en la calidad del *Mensaje Bioquímico*, y nos abran la puerta para poder incluir el *Mensaje Bioquímico* en otros índices más especializados, además del Latindex [Sistema Regional de Información en línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (<https://www.latindex.org/latindex/ficha/10433>)], Periódica [Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias (DGBSDI, UNAM) (<http://periodica.unam.mx/>)] y Biblat [Bibliografía

Latinoamericana en revistas de investigación científica y social (<https://biblat.unam.mx/es/buscar/mensaje-bioquimico>)]. Estamos convencidos que la calidad de los trabajos publicados bien lo merecen.

## Referencias

1. Jacob, F., and Monod, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J Mol Biol* **3**, 318-356
2. Jacob, F. (2011) The birth of the operon. *Science* **332**, 767
3. Brenner, S., Jacob, F., and Meselson, M. (1961) An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature* **190**, 576-581
4. Gros, F., Gilbert, W., Hiatt, H. H., Attardi, G., Spahr, P. F., and Watson, J. D. (1961) Molecular and biological characterization of messenger RNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **26**, 111-132
5. Gros, F., Hiatt, H., Gilbert, W., Kurland, C. G., Risebrough, R. W., and Watson, J. D. (1961) Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*. *Nature* **190**, 581-585
6. Cobb, M. (2015) Who discovered messenger RNA? *Curr Biol* **25**, R526-532
7. Monod, J., Wyman, J., and Changeux, J. P. (1965) On the Nature of Allosteric Transitions: A Plausible Model. *J Mol Biol* **12**, 88-118
8. Koshland, D. E., Jr. (1958) Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **44**, 98-104
9. Koshland, D. E., Jr. (1996) How to get paid for having fun. *Annu Rev Biochem* **65**, 1-13
10. Crick, F. H. (1968) The origin of the genetic code. *J Mol Biol* **38**, 367-379
11. Singer, S. J., and Nicolson, G. L. (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* **175**, 720-731
12. Hirs, C. H. (1960) The structure of ribonuclease. *Ann N Y Acad Sci* **88**, 611-641
13. Hirs, C. H., Moore, S., and Stein, W. H. (1960) The sequence of the amino acid residues in performic acid-oxidized ribonuclease. *J Biol Chem* **235**, 633-647

## Lista de revisores del “Mensaje Bioquímico” 2024

1. **Dr. Ismael Bustos-Jaimes**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM.
2. **Dr. Alfredo Cabrera Orefice**  
Functional Proteomics Center, Institute for  
Cardiovascular Physiology, Goethe-Universität  
Frankfurt am Main. Frankfurt, Germany.
3. **Dra. Ana María Calderón de la Barca**  
Departamento de Nutrición Humana,  
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo,  
A.C.  
Hermosillo, Sonora, México
4. **Dr. Yonathan Omar Garfias Becerra**  
Research Unit, Institute of Ophthalmology,  
Conde De Valenciana Foundation, Mexico City,  
Mexico & Departamento de Bioquímica,  
Facultad de Medicina, UNAM
5. **Dr. Alberto Guevara Flores**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM.
6. **Dr. Manuel Gutiérrez Aguilar**  
Departamento de Bioquímica,  
Facultad de Química, UNAM
7. **Dra. María de la Luz Ibarra Lara**  
Departamento de Farmacología  
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”
8. **Dra. María Teresa Lara Ortiz**  
Departamento de Bioquímica y Biología Estructural.  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
9. **Dra. Marina Macias Silva**  
Departamento de Biología Celular y del Desarrollo.  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
10. **Dra. Natalia Manzano León**  
Subdirección de Investigación Básica  
Instituto Nacional de Cancerología.
11. **Dr. León P. Martínez-Castilla**  
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad  
Cuajimalpa, Cuajimalpa, Ciudad de México  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
12. **Dr. José de Jesús Martínez González**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM.
13. **Dra. Noemi Meraz Cruz**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM.
14. **Dra. Rebeca E. Milán Chávez.**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM
15. **Dr. Héctor Vicente Miranda Astudillo**  
Departamento Biología Molecular y Biotecnología  
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
16. **Dr. Rafael Nambo Venegas**  
Laboratorio de Bioquímica de Enfermedades Crónicas  
Instituto Nacional de Medicina Genómica
17. **Dr. Víctor Hugo Oidor Chan**  
Departamento de Biotecnología, División de CBS  
UAM Iztapalapa
18. **Dra. Patricia Orduña**  
Laboratorio de Microbioma. División De Investigación  
Facultad De Medicina, UNAM
19. **Dr. Juan Pablo Pardo Vázquez**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM.
20. **Dr. Alejandro E. Rodríguez-Sánchez**  
Universidad Panamericana  
Guadalajara, Jalisco, México
21. **Dra. Eugenia Silva-Herzog Márquez**  
Unidad de Vinculación Científica,  
Facultad de Medicina, UNAM-INMEGEN
22. **Dra. Paulina Soberanes Chávez**  
Laboratorio de Neurofisiología Molecular  
Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente  
Muñiz”
23. **Dr. Héctor Vázquez Meza**  
Departamento de Bioquímica.  
Facultad de Medicina, UNAM.
24. **Dra. Nora Gabriela Velasco Loyden.**  
Departamento de Biología Celular y del Desarrollo.  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
25. **Dra. Valeria Violante Soria**  
Departamento de Farmacobiología  
Cinvestav Sede Sur
26. **Dra. Elena Zambrano González**  
Departamento de Biología de la Reproducción  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición  
“Salvador Zubirán”
27. **Dra. Ana Cecilia Zazueta Mendizábal**  
Departamento de Biomedicina Cardiovascular  
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## ChatGPT: Un vistazo personal a esta Inteligencia Artificial

### ChatGPT: A personal look at this Artificial Intelligence

Pérez Montfort, Ruy  

Departamento de Bioquímica y Biología Estructural Instituto de Fisiología Celular, UNAM

✉ Circuito exterior, Zona de Investigación Científica. Ciudad Universitaria. Ciudad de México,  
CP 04510, México. Tel. +52 (55) 56225657; Email: [ruy@ifc.unam.mx](mailto:ruy@ifc.unam.mx)

Editor responsable: Héctor Vazquez-Meza

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.02>

Recibido: 7 de marzo de 2024

Revisado: 24 de abril de 2024

Aceptado: 30 de abril de 2024

#### Resumen

Este artículo relata mis experiencias personales con ChatGPT desde que fue accesible públicamente. Inicialmente ignoré su lanzamiento en noviembre de 2022, pero tras leer sobre la herramienta y su prohibición en escuelas de Nueva York, decidí abrir una cuenta en OpenAI en enero de 2023. Inicialmente usé la versión 3.5, y me impresionó su capacidad para generar respuestas coherentes sobre diversos temas. Comencé, usando *prompts* simples y palabras clave, y más adelante experimenté con recetas y estilización de textos al estilo de autores famosos. En el artículo destaco términos clave de Inteligencia Artificial y menciono limitaciones de ChatGPT 3.5, como errores y "alucinaciones". También describo como encontré valioso el uso de ChatGPT para revisar y corregir textos científicos en inglés (y español), mejorando significativamente la calidad, la velocidad y la eficiencia del proceso. Para optimizar el uso de esta herramienta sorprendente, tomé el curso "*Prompt Engineering for ChatGPT*" en la plataforma de Internet "Coursera", aprendiendo sobre varios patrones de *prompts* como "Persona", "Receta" y "Refinamiento de Preguntas". Posteriormente, cuando se lanzó ChatGPT 4 y su función de Interpretador de Código (ahora llamada Análisis Avanzado de Datos), exploré interacciones más avanzadas. Las experiencias que relato en este artículo abarcan hasta febrero de 2024. Concluyo con recomendaciones para redactar *prompts* efectivos, incluyendo detalles contextuales, y definiendo claramente la "persona" y el tono del lenguaje.

#### Abstract

This article narrates my personal experiences with ChatGPT since it became publicly available. Initially, I ignored its launch in November 2022, but after reading about the tool and its ban in New York schools, I decided to open an account on OpenAI in January 2023. I initially used version 3.5 and was impressed by its ability to generate coherent responses on various topics. I started using simple *prompts* and keywords, and later experimented with recipes and text stylization in the style of famous authors. In the article, I highlight some key terms of Artificial Intelligence and mention the limitations of ChatGPT 3.5, such as errors and "hallucinations." I also describe how I found ChatGPT valuable for reviewing and correcting scientific texts in English (and Spanish), significantly improving the quality, speed, and efficiency of the process. To optimize my use of this awesome tool, I took the course "Prompt Engineering for ChatGPT" on the Internet platform Coursera, learning about various *prompt* patterns like "Persona," "Recipe," and "Question Refinement." Later, when ChatGPT 4 and its Code Interpreter function (now called Advanced Data Analysis) were released, I explored more advanced interactions. The experiences narrated in this article span up to February 2024. I conclude with recommendations for drafting more effective *prompts*, including contextual details, and clearly defining the "persona" and the tone of the language.

*Palabras claves: ChatGPT, OpenAI, Inteligencia Artificial*      *Keywords: ChatGPT, OpenAI, Artificial Intelligence*

### Mis inicios con ChatGPT

Para mí, como creo que les pasó a muchas otras personas, el 30 de noviembre de 2022, no me ocurrió gran cosa, en relación con el lanzamiento público de ChatGPT. La preparación y, después la celebración de las fiestas navideñas y del Año Nuevo 2023 me tuvieron ocupado y distraído respecto a averiguar exactamente de qué se trataba. También, en la semana del 19 al 26 de diciembre me enfermé de COVID-19 por segunda vez. Por suerte, en esa ocasión los síntomas de la enfermedad fueron bastante benignos y no me afectaron mucho. Durante el mes de diciembre pude leer en los medios de comunicación que se trataba de una nueva herramienta computacional maravillosa. Así que muy pronto me interesé por seguir los pasos necesarios en ese entonces para tener acceso a una cuenta en Open AI para utilizar ChatGPT. Una noticia que me llamó la atención por esas fechas fue enterarme de que el uso de ChatGPT había sido prohibido en las escuelas públicas de Nueva York para evitar que los alumnos lo utilizaran en sus actividades académicas. Esto ocurrió el 5 de enero de 2023. A finales de 2022 había que hacer una solicitud en línea, enviando una dirección de correo electrónico y algunos otros datos personales, para recibir, después de un tiempo de espera (que, según recuerdo, fueron varias semanas), una invitación con una liga para abrir una cuenta gratuita en el sitio de internet de ChatGPT en OpenAI.

Otra de las cosas que me animó ese fin de año a solicitar una cuenta en ChatGPT, fue que, en la plataforma de Twitter (ahora llamada X), me encontré con el *Tweet* que aparece en la figura La creatividad, el ingenio y la chispa de humor en la imitación del lenguaje y estilo de Donald Trump resumiendo una de mis novelas favoritas de la literatura estadounidense (Moby Dick de Herman Melville) me impresionó y divertí mucho. Por suerte, mi invitación por parte de OpenAI a tener una cuenta en ChatGPT me llegó el 7 de enero de 2023.

### Primeras interacciones con ChatGPT

Durante mis primeros pasos utilizando ChatGPT, sólo se había publicado la versión ChatGPT-3.5. La versión ChatGPT-4 sería accesible al público más tarde, hasta marzo de 2023.

Siendo un antiguo y constante usuario del internet, me sentía bastante experto, pues llevaba muchísimos años utilizando Google (desde 1998) y otros buscadores, para encontrar la información que

necesitaba en internet. La página en el internet de ChatGPT, tiene bastante similitud con la página de Google (y algunos otros buscadores de internet que lo han imitado). Recordaba que esos buscadores en algún momento comenzaron a anunciar que uno podía buscar la información que uno necesitaba sometiendo oraciones completas en forma de preguntas o aseveraciones y que esto permitiría recibir mejores respuestas. Aunque, utilizando Google, no probé la modalidad de oraciones completas en forma exhaustiva, si lo hice en varias ocasiones y, honestamente, los resultados que obtuve no eran necesariamente mejores a que si uno utilizaba palabras clave en una combinación inteligente en su búsqueda. A veces el orden en el que se presentaban las palabras clave para buscar la información era relevante para obtener mejores o peores resultados de la búsqueda, pero, en mi experiencia, preguntar en forma de oraciones o preguntas completas, no generaba resultados mucho mejores.

Pues, con esos antecedentes, mis primeras interacciones con ChatGPT fueron enviarle oraciones sencillas con palabras clave, muy similares a las que había venido utilizando con otros buscadores de internet (principalmente Google, pero a veces también otros).

Las respuestas de ChatGPT eran muy impresionantes, pues eran párrafos completos, muy bien escritos y con información relevante sobre cualquier tema en que pensara, que fueron variados. Recuerdo que pregunté sobre perros loberos irlandeses, enfermedades transmitidas por garrapatas, efecto de la glicina sobre el sistema inmune, mejora de la visión en edad avanzada, y en ciencia, sobre clasificación de patrones de plegamiento en proteínas, moléculas patogénicas de *Trypanosoma cruzi*, métodos de purificación de proteínas y una explicación de qué es cómputo cuántico, entre otras cosas. Pero, esto no se iba a quedar así, y en los siguientes días comencé a experimentar y probar varias otras cosas diferentes. Pero antes, quisiera hacer un paréntesis y definir algunos términos que son útiles cuando respecto a cuando uno interactúa con ChatGPT.

### Términos útiles para ChatGPT

1. **Inteligencia Artificial (IA):** Es un campo de la informática enfocado en crear máquinas que pueden realizar tareas que típicamente requieren inteligencia humana, como entender el lenguaje o reconocer imágenes.

2. **Aprendizaje Automático:** Un subconjunto de IA donde las máquinas aprenden de los datos para mejorar su rendimiento en una tarea específica. Es como enseñar a una computadora a mejorar una tarea alimentándola con ejemplos.
3. **Procesamiento de Lenguaje Natural (PLN):** Una rama de la IA que trata sobre la interacción entre computadoras y humanos a través del lenguaje natural. Esencialmente, se trata de enseñar a las computadoras a entender y responder al lenguaje humano.
4. **Chatbot:** Un programa de computadora diseñado para simular conversaciones con usuarios humanos, especialmente a través de Internet. ChatGPT es un ejemplo de un *chatbot*.
5. **GPT (Transformador Preentrenado Generativo):** Este es el tipo específico de modelo de IA en el que se basa ChatGPT. Está diseñado para generar texto coherente y contextualmente relevante en respuesta a la entrada que recibe.
6. **Prompt:** El mensaje o pregunta que ingresas en ChatGPT. Es lo que escribes para iniciar o continuar una conversación.
7. **Respuesta:** La respuesta o salida proporcionada por ChatGPT a tu *prompt*.
8. **Datos de Entrenamiento:** La información (como texto, imágenes, etc.) utilizada para 'entrenar' o enseñar al modelo de IA. Es como el libro de texto para la IA.
9. **Modelo:** En IA, un modelo es la parte central del programa que toma decisiones y predicciones. Es como el cerebro de ChatGPT.
10. **OpenAI:** La organización que desarrolló ChatGPT. Se enfocan en investigar y desarrollar IA de forma segura y benéfica.
11. **Token:** Un fragmento de texto, como una palabra o parte de una palabra, que procesa el modelo de IA. En los modelos de lenguaje de IA, las oraciones complejas se descomponen en tokens.
12. **Ajuste fino:** Después de su entrenamiento inicial, el ajuste que se le hace a un modelo de IA para que funcione mejor en tareas específicas o que comprenda mejor cierto tipo de datos.
13. **Ventana de Contexto:** La cantidad de texto que la IA puede considerar a la vez para generar una respuesta. En ChatGPT, está limitado, por lo que no puede recordar toda la información que se intercambiaba en una conversación larga.
14. **Transformador:** Un tipo de arquitectura de modelo utilizada en procesamiento de lenguaje natural moderno. Es particularmente bueno para manejar secuencias de datos, como oraciones.
15. **Aprendizaje Profundo:** Un subconjunto de aprendizaje automático que involucra redes neuronales con muchas capas. Es una tecnología

clave detrás de muchos sistemas avanzados de IA, incluido ChatGPT.

16. **Red Neuronal:** Un sistema informático diseñado para trabajar clasificando y procesando información de manera similar al cerebro humano.

17. **Modelo Grande de Lenguaje:** Es un sistema de IA entrenado para comprender y generar texto en lenguaje natural, basado en el análisis de grandes volúmenes de datos de texto.

### Otros experimentos tempranos

Con el pasar de los días y semanas seguía probando esporádicamente mandar mensajes o preguntas a ChatGPT, a las que de aquí en adelante me referiré como *prompts*, palabra que me parece muy adecuada para describir cómo iniciamos nuestra interacción con ChatGPT. Uno de los primeros *prompts* que probé fue el pedirle a ChatGPT recetas de cocina. Yo no soy un cocinero, ni muy experimentado, ni muy bueno, aunque si soy amante de la buena cocina y creo poder reconocer una buena receta cuando la veo escrita. Debo decir que me impresionaron mucho las respuestas que obtuve de ChatGPT a mi solicitud de recetas de cocina. Después aprendí que uno de los *prompts* más frecuentes que la gente escribe son precisamente las "recetas". Otros tipos de *prompts* con los que experimenté un poco fueron variantes del *prompt* que mostré en la Figura 1, pidiéndole a ChatGPT que imitara estilos de escritura de algunos de mis escritores favoritos en lengua inglesa como Robert Louis Stevenson o Edgar Allan Poe.

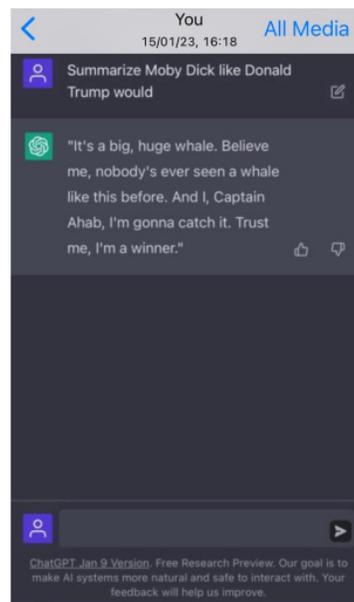


Figura 1. Ejemplos de la utilización de *prompts* en ChatGPT

También de escritores científicos famosos, por escribir en forma sobresaliente, como el gran inmunólogo inglés del siglo XX: Peter B. Medawar. Después aprendería que estos *prompts* pertenecen a un patrón general al que se le denomina “persona”. Me seguí pidiéndole que inventara cuentos fantásticos y poemas serios o chistosos. ChatGPT respondía mis *prompts* muy bien, en forma muy divertida y muchas veces muy impresionante.

Pero, también había que tomar en cuenta otras cosas. Los medios prevenían de que ChatGPT podía cometer errores, a veces bastante graves y que no detectaba ni avisaba que hacía esos errores. Lo que sí podía hacer era que, una vez que por medio de un *prompt* se le corregía el error que había hecho, en la conversación subsecuente ChatGPT aprendía y recordaba cual había sido su error y lo tomaba en consideración subsecuentemente en esa misma conversación. Sin embargo, si se iniciaba una nueva conversación, ChatGPT volvía a cometer el o los mismos errores que había hecho la primera vez, pues sus datos de entrenamiento seguían siendo aquellos con los que contaba en el momento de su publicación. En medios de comunicación se informaba que ChatGPT-3.5 podía cometer errores en temas de matemáticas, por lo que se recomendaba corroborar cuidadosamente las respuestas que daba. Naturalmente que podía hacer errores en otros campos del conocimiento, así que había que también verificar las respuestas en todos los casos. ChatGPT-3.5 también tenía otras limitaciones. Una de ellas era que las bases de datos y conocimiento con las que había sido entrenado sólo llegaban hasta septiembre de 2021. Entonces, ChatGPT desconoce todo en lo que se había incrementado el conocimiento y los eventos que habían ocurrido en el mundo entre esa fecha y el momento que se está usando. Uno puede dar la información relevante para actualizar a ChatGPT-3.5 previo al *prompt* o como parte del *prompt* que uno quiere darle y ChatGPT-3.5 lo integrará a su respuesta. Sin embargo, cuando se inicie otro nuevo *prompt*, esa nueva información que se proporcionó—ya no estará dentro del sistema de ChatGPT-3.5.

ChatGPT 3.5 también fue entrenado a propósito para no expresar opiniones, ni tomar postura en aspectos que tienen que ver con la situación política de algún país en el mundo. Los *prompts* que intenten lograr esto con ChatGPT, no van a lograr su objetivo, pues el programa está diseñado para evitarlo.

Otra cosa en que ChatGPT-3.5 fallaba bastante, era en encontrar referencias que documentaran adecuadamente las afirmaciones que incluía en sus respuestas, incluyendo aseveraciones científicas. Incluso, ChatGPT llegaba a inventar referencias inexistentes, las cuales se podían identificar como falsas, una vez que se utilizaban otros métodos más

tradicionales y confiables de búsqueda de referencias en el internet.

Esto era un aspecto particular de ChatGPT de un comportamiento más general que se denominó “*alucinación*”. Estas “alucinaciones” de ChatGPT pueden ocurrir en respuestas a cualquier tipo de *prompt* y tienen la característica de que parecen ser plausibles, pero que, en realidad, son incorrectas o no están relacionadas con el contexto del *prompt*. Esto se debe a los sesgos inherentes del modelo de IA, los cuales no tienen un entendimiento del mundo real y/o a limitaciones en su entrenamiento.

Es por lo que la página en el internet de ChatGPT previene al usuario diciendo: “*ChatGPT puede cometer errores. Considere corroborar la información importante.*”

### Trabajo con textos y con procesamiento de textos

Muy pronto después de los experimentos relatados arriba y casi simultáneamente, también comencé a utilizar ChatGPT para que revisara y corrigiera textos. Sobre todo, de artículos científicos en inglés que estaba escribiendo o en los que participaba como coautor por esas fechas.

La verdad, fue que el comenzar a usar ChatGPT-3.5 para este propósito, fue como algo mágico para mí. Creo que la razón de esto fue lo rápido y bien que ChatGPT-3.5 podía hacer esas revisiones y correcciones de texto. En mi caso, ya llevaba más de cuarenta años en que me pasaba horas y horas, y a veces bastantes días, revisando el texto de artículos, oración por oración, para mejorar su sentido semántico y su estilo en la utilización del idioma inglés.

Ciertamente que la “*Ventana de contexto*” era limitada, por lo que había y hay que ir limitándolos *prompts* que le da uno a ChatGPT para que realice esa labor. Sin embargo, se puede revisar un texto largo si se va haciendo por partes. Esto requiere algo de trabajo, pero como las respuestas de la IA son muy rápidas, y con rapidez se logra una utilización correcta del inglés en el texto. La calidad de la respuesta de ChatGPT es generalmente buena, pero depende mucho de la calidad del texto original que se le da como *prompt*. Una cosa que carece ChatGPT, y que sí tienen los humanos que hacían o hacen esta labor, es la revisión *analítica y crítica* del texto, aportando elementos que transformen al artículo. Así, podían convertir un artículo bien escrito en uno que se podría considerar una contribución científica (por ejemplo, sugiriendo nuevos experimentos relevantes, o cambiando el orden de presentación de los resultados para mejorarlo en forma considerable).

Como ChatGPT no tiene ninguna comprensión de la realidad detrás del estudio científico, es incapaz de llevar a cabo una revisión analítica y crítica del texto.

Sin embargo, ChatGPT puede hacer muy buen trabajo con el uso del idioma, y, utilizándolo en forma adecuada, a veces, puede ayudar también a mejorar el contenido del artículo. Pero eso, lo aprendería yo algo más tarde. Entonces, la utilización de ChatGPT como revisor, corrector y mejorador del estilo del inglés en textos científicos de artículos, me pareció fantástica. Por esas fechas yo leía continuamente en las noticias y en los medios de comunicación que ChatGPT y varias aplicaciones de IA iban a dejar a muchísimas personas sin trabajo. Aunque ese tipo de aseveraciones me parecían bastante alarmistas, sí me convenció la siguiente aseveración cuando la vi por primera vez: **“ChatGPT no te quitará tu trabajo actual, pero ... una persona que utilice bien el ChatGPT será quien te lo quite”**.

Hasta entonces, yo me había divertido mucho usando ChatGPT y además había resultado muy divertido para mí y bastante útil en algunos aspectos de mi quehacer, sin embargo, debido a la aseveración anterior, decidí hacer un esfuerzo y tomar un curso

para mejorar mi uso de esta herramienta.

### Cursos para mejor utilización de ChatGPT

El primer curso que tomé fue una llamado *“Prompt Engineering for ChatGPT”*, que se imparte en la plataforma de Coursera en el internet. Hubo varias razones por las que decidí tomar ese curso primero. Una de ellas fue histórica. En 2012 cuando se creó Coursera, me entusiasmó mucho esta plataforma y, durante algunos años, llevé varios cursos que ofrecían. Tuve muy buenas experiencias con estos cursos, por lo que me fue fácil regresar a esa plataforma después de muchos años de no haberla utilizado. Otra razón es que, en los medios sociales, habían recomendado este curso, como una buena introducción para mejorar el uso de ChatGPT. Y una razón más fue que, en esos mismos medios sociales, me había ido encontrando con listas de *prompts* recomendados para el uso de ChatGPT como la que aparece en la Tabla 1 (con algunas modificaciones mías).

**Tabla 1.** Algunas posibilidades del patrón “persona” en ChatGPT

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Actúa como un terminal Linux</li> <li>• Actúa como una consola JavaScript</li> <li>• Actúa como una hoja Excel</li> <li>• Actúa como traductor y corrector de inglés</li> <li>• Actúa como detector de plagios</li> <li>• Actúa como guía de viajes</li> <li>• Actúa como cuentacuentos</li> <li>• Actúa como experto en debates</li> <li>• Actúa como guionista</li> <li>• Actúa como novelista</li> <li>• Actúa como crítico de cine</li> <li>• Actúa como poeta</li> <li>• Actúa como filósofo</li> <li>• Actúa como un tutor de escritura</li> <li>• Actúa como etimólogo</li> <li>• Actúa como mago</li> <li>• Actúa como médico</li> <li>• Actúa como chef</li> <li>• Actúa como mecánico de automóviles</li> <li>• Actuar como catador de Té</li> <li>• Actúa como libro de aforismos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Actúa como un generador de títulos extravagantes</li> <li>• Actúa como estadístico</li> <li>• Actúa como generador de <i>prompts</i></li> <li>• Actúa como intérprete de sueños</li> <li>• Actúa como generador de contraseñas</li> <li>• Actúa como dietista</li> <li>• Actúa como psicólogo</li> <li>• Actúa como académico</li> <li>• Actúa como revisor de revistas</li> <li>• Actúa como escritor de ensayos</li> <li>• Actúa como visualizador de datos científicos</li> <li>• Actúa como sistema de navegación para coches</li> <li>• Actúa como historiador</li> <li>• Actúa como compositor de música clásica</li> <li>• Actúa como un artista de símbolos Ascii</li> <li>• Actúa como buscador de sinónimos</li> <li>• Actúa como mi chef personal</li> <li>• Actúa como traductor de Emojis</li> <li>• Actúa como generador de mensajes ChatGPT</li> <li>• Actúa como página de Wikipedia</li> <li>• Actúa como asistente para tomar notas</li> </ul>
--	---

Ese tipo de listas, algunos de cuyos ejemplos había probado, me hicieron sospechar que la manera en que uno interacciona con ChatGPT es muy importante. Desde la introducción al curso me di cuenta de que mi sospecha estaba bien fundada. El primer ejemplo introductorio que pone el instructor de ese curso me pareció muy bueno e imaginativo. Utilizando el patrón de *prompt* llamado “receta” le pide a ChatGPT haga un plan para una comida con una fusión de comida de Etiopía y de Uzbekistán. Yo ya había tenido la suerte de haber probado comida de la cocina etíope, pero nunca de Uzbekistán. En los distintos sitios del mundo que he visitado algunos de ellos tienen restaurantes con

comida de Etiopía, pero nunca en mi vida he visto un restaurante que ofrezca comida uzbeka. Actualmente, también considero que las probabilidades de que visite Uzbekistán durante el resto de mi vida son bastante remotas. Sin embargo, el resultado que da ChatGPT permite tratar de preparar esas recetas, y probarlas. El plan de comida me parece genuino y el resultado aparece en la Tabla 2. Como lo anunciaba su título, el curso trató extensamente sobre el uso de *prompts* en quízatodas las variedades que hay, y si no todas, por lo menos en muchas más de las que yo me imaginaba que existían.

**Tabla 2.** Comida Cetogénica de Etiopía y Uzbekistán sugerida por ChatGPT

<p><b>ChatGPT</b>          Crear un plan de comida fusionando la cocina etíope con la uzbeca, enfocándose en una dieta cetogénica, es un desafío emocionante que combina sabores intensos y únicos con las restricciones de carbohidratos bajos. Aquí está un ejemplo de cómo podrías hacerlo, teniendo en cuenta las características de cada cocina:</p>
<p><b>Entrante: Ensalada Cetogénica de Etiopía y Uzbekistán</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ingredientes:</b> Mezcla de espinacas y rúcula, tomates Cherry, pepino, aguacate, aceitunas negras, y un aderezo de aceite de oliva con limón.</li> <li>• <b>Toque Etíope:</b> Añade berbere (mezcla de especias etíope) al aderezo para darle un sabor distintivo.</li> <li>• <b>Toque Uzbeco:</b> Incorpora rábanos encurtidos finamente cortados para añadir un toque de sabor uzbeco.</li> </ul>
<p><b>Plato Principal: Berenjenas Rellenas al Estilo Etíope-Uzbeco</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ingredientes:</b> Berenjenas, carne molida de cordero (o carne de res para una opción más accesible), cebolla, ajo, tomate, y especias.</li> <li>• <b>Toque Etíope:</b> Usa mezclas de especias etíope s como berbere y niter kibbeh (mantequilla clarificada etíope aromatizada) para cocinar la carne.</li> <li>• <b>Toque Uzbeco:</b> Añade comino y cilantro molido a la mezcla de carne, evocando los sabores de platos uzbecos como el kebab o el plov, pero manteniéndolo cetogénico sin arroz</li> </ul>
<p><b>Acompañante: Coliflor estilo "Rice Pilaf"</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ingredientes:</b> Coliflor rallada, cebolla, ajo, zanahorias (en cantidad moderada, dado su contenido de carbohidratos), y especias.</li> <li>• <b>Toque Etíope y Uzbeco:</b> Sazona el "arroz" de coliflor con una combinación de especias de ambas cocinas, como berbere y comino, cocinándolo con niter kibbeh para darle un sabor profundo y rico.</li> </ul>
<p><b>Postre: Queso Cottage con Especias y Nueces</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ingredientes:</b> Queso cottage (requesón), nueces mixtas (almendras, nueces, pistachos), edulcorante cetogénico, y especias como canela y cardamomo.</li> <li>• <b>Toque Etíope:</b> El cardamomo, muy usado en la cocina etíope, le da un sabor especial.</li> <li>• <b>Toque Uzbeco:</b> La inclusión de nueces y almendras remite a los postres uzbecos, adaptándolos a la dieta cetogénica.</li> </ul>
<p><b>Bebida: Té Verde con Especias</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ingredientes:</b> Té verde, jengibre fresco, cardamomo, y un toque de canela.</li> <li>• <b>Toque Etíope y Uzbeco:</b> Ambas culturas disfrutaban de tés aromáticos, por lo que esta bebida combina elementos de ambos, ofreciendo un final perfecto para la comida.</li> </ul>
<p>Este plan de comida combina los sabores ricos y complejos de Etiopía y Uzbekistán de manera que se ajusta a una dieta cetogénica, proporcionando una experiencia culinaria única y deliciosa</p>

A continuación, enlisto los que me parecieron los llamados patrones de *prompts* que me parecieron más importantes de ese curso y que cambiaron y mejoraron de manera importante mi interacción con ChatGPT.

Ya mencioné antes dos patrones de *prompt* llamados “*Persona*” y “*Receta*”. Veamos algunas consideraciones de estos dos patrones por separado. En el patrón “*Persona*” el usuario de ChatGPT quisiera que el Modelo Grande de Lenguaje tome un cierto punto de vista o adopte una perspectiva en particular. Por ejemplo, le puedo solicitar a ChatGPT que actúe como una persona a la que normalmente le pediría ayuda sobre el asunto con el que quiere interactuar con este Modelo Grande de Lenguaje. La manera general de interactuar con ChatGPT en este caso es poner los siguientes *prompts*:

1. Actúa como la “persona” X.
2. Dame la(s) respuesta(s) que la “persona” X me daría.

Esta persona puede ser muchísimas cosas: desde cualquier ser vivo o inanimado, personaje de ficción, figura histórica, cualquier tipo de profesión, cualquier

carácter. Las “personas” pueden también representar entidades no humanas, como terminales de Linux, bases de datos, o cualquier animal. Entonces las posibilidades de respuestas que uno puede obtener con este patrón de *prompt* es muy variado y sofisticado. Cabe hacer notar que en algunos casos en que si la “persona” corresponde a personas que están vivas o que se considera que las respuestas pueden ser dañinas, las reglas de privacidad y seguridad con las que fue entrenado ChatGPT no le permitirán dar la respuesta esperada.

Uno de estos patrones persona que probé alguna vez, que me pareció divertido y que recuerdo bien, es el de “Escritor de Emojis”. Para eso utilicé el siguiente *prompt*: “Quiero que traduzcas las frases que he escrito en emojis. Yo escribiré la frase y tú la expresarás con emojis. Quiero que sólo la expreses con emojis. No quiero que me respondas con nada más que con emojis.

Cuando tenga que decirte algo en español, lo haré entre llaves {así}.

Mi primera frase es: Hace mucho tiempo que no nos vemos.”



perspectiva más objetiva y fundamentada sobre el tema en cuestión. Sin embargo, es importante tener en cuenta que, aunque ChatGPT puede proporcionar información basada en los datos con los que fue entrenado, siempre es recomendable consultar fuentes primarias o expertos humanos para verificaciones críticas.

El patrón "**Interacción Volteada o Inversa**" invierte los roles típicos en la interacción con ChatGPT, donde el modelo asume el papel de quien formula preguntas y el usuario el de responder. Este enfoque puede ser particularmente útil para explorar temas en profundidad, evaluar el conocimiento del usuario o incluso para fines educativos. La manera general de interactuar con ChatGPT en este caso es mediante *prompts* que inviten al modelo a tomar la iniciativa, tales como:

1. Hazme preguntas sobre el tema X para lograr Y (por ejemplo: evaluar mi conocimiento).
2. Basado en mis respuestas, sígueme haciendo preguntas hasta que se logre mi objetivo, y sugiéreme áreas en las que pueda aprender más o profundizar lo que ya sé.
3. (Opcional) hazme una, o dos, o tres, etc., preguntas a la vez.

Este patrón fomenta una dinámica de aprendizaje activo y puede ayudar al usuario a identificar lagunas en su conocimiento o a obtener una comprensión más profunda de un tema específico. Al mismo tiempo, permite a ChatGPT guiar la conversación hacia áreas de interés o importancia que el usuario podría no haber considerado previamente. Aunque este enfoque pone al usuario en el centro del proceso de aprendizaje, la eficacia de las preguntas de ChatGPT dependerá de su capacidad para generar cuestionamientos relevantes y estimulantes basados en el contexto proporcionado por el usuario.

El patrón "**Acercamientos Alternativos**" se centra en explorar diferentes maneras de abordar un problema, pregunta o situación. Este patrón es particularmente útil cuando el usuario se enfrenta a un desafío que puede tener múltiples soluciones viables o cuando las respuestas convencionales no han sido satisfactorias. Al utilizar este patrón con ChatGPT, el usuario invita al modelo a pensar fuera de la caja y a considerar opciones menos obvias o tradicionales. La manera general de interactuar con ChatGPT usando este patrón puede seguir *prompts* como:

1. Dentro del contexto X, si hay maneras alternativas de lograr lo mismo, lista los mejores acercamientos alternativos.
2. (Opcional) compara/contrasta los pros y contras de cada acercamiento.
3. (Opcional) incluye la forma original en que hice la pregunta.
4. (Opcional) pregúntame cual es el acercamiento que me gustaría utilizar.

Este enfoque permite al usuario recibir una gama más amplia de posibilidades, fomentando el pensamiento creativo y la resolución de problemas desde perspectivas novedosas. Los "Acercamientos Alternativos" pueden ser especialmente valiosos en campos como la innovación, la estrategia, o cuando se buscan soluciones disruptivas en cualquier área de estudio o trabajo. Sin embargo, es importante evaluar estas alternativas con un análisis crítico para determinar su viabilidad y efectividad en el contexto específico en el que se aplicarán.

El patrón "**Verificando la Lista de los Hechos**" es una estrategia orientada a corroborar la exactitud y lo completo de la información proporcionada antes de tomar decisiones o formular conclusiones. Este patrón es esencial en procesos que requieren precisión y diligencia, como la investigación académica, el periodismo de investigación o la toma de decisiones empresariales críticas. Al interactuar con ChatGPT utilizando este patrón, el usuario busca que el modelo actúe como un asistente en la revisión de datos o afirmaciones específicas. Los *prompts* adecuados podrían ser:

1. Genera una lista de hechos sobre el tema X para identificar posibles errores u omisiones e inclúyelos en tu respuesta.
2. El conjunto de hechos debe insertarse en un punto específico de la respuesta (p. ej. al principio o al final).
3. El conjunto de hechos debe ser procesos fundamentales con un grado de exactitud confirmada que no pongan en peligro la veracidad de la respuesta si alguno de ellos es incorrecto.

Este patrón ayuda a asegurar que la información considerada en cualquier análisis o discusión sea fiable y completa, minimizando el riesgo de errores o malentendidos basados en datos incorrectos o incompletos. "Verificando la Lista de los Hechos" fomenta un enfoque metódico y detallado hacia la recopilación y autenticación de la información, lo cual es crucial en un entorno donde la desinformación puede ser prevalente. Aunque ChatGPT puede asistir en la identificación de inconsistencias o en la sugerencia de áreas para una verificación más profunda, siempre se recomienda complementar esta revisión con una consulta de fuentes primarias y herramientas de verificación de hechos especializadas.

El patrón "**Cadena de Pensamiento**" se utiliza para desglosar un proceso de razonamiento complejo en pasos más pequeños y manejables, permitiendo tanto al usuario como a ChatGPT navegar a través de argumentos o problemas complicados de manera más estructurada y transparente. Este enfoque es particularmente útil en situaciones donde la solución a un problema no es obvia de inmediato o cuando se requiere una explicación detallada de un razonamiento complejo. Al interactuar con ChatGPT utilizando este

patrón, el usuario podría seguir *prompts* como:

1. Desglosa el proceso de pensamiento para llegar a la conclusión X.
2. Explica paso a paso cómo resolverías el problema X.

Este método permite al usuario seguir la lógica detrás de una conclusión o solución propuesta, facilitando un entendimiento más profundo del tema en cuestión. La "Cadena de Pensamiento" es especialmente valiosa en campos educativos, en la resolución de problemas matemáticos, en la programación de computadoras, o en cualquier área donde comprender el proceso es tan importante como la respuesta final. Este patrón promueve el análisis crítico y el aprendizaje activo, ayudando a los usuarios a desarrollar habilidades de pensamiento crítico y resolución de problemas.

El patrón "**Expansión de Índices**" se enfoca en explorar y profundizar en temas o subtemas específicos a partir de un punto de partida general o de un índice de temas. Es útil para explorar en detalle áreas de conocimiento amplias o para profundizar en aspectos particulares de un tema. Al utilizar este patrón con ChatGPT, el usuario solicita al modelo que amplíe información sobre un elemento de una lista o un tema dentro de un índice, proporcionando una exploración más detallada y focalizada. Los *prompts* adecuados podrían ser:

1. Haz un índice sobre el tema X y expáñelo en subtemas.
2. Proporciona más detalles sobre el subtema X.

Este enfoque es ideal para la investigación académica, el aprendizaje autodirigido, o cuando se busca una comprensión más profunda de un tema específico. La "Expansión de Índices" permite a los usuarios construir su conocimiento de manera incremental, partiendo de una visión general hacia un entendimiento más detallado y especializado. Este patrón fomenta la curiosidad intelectual y ayuda a los usuarios a navegar a través de grandes volúmenes de información de manera eficiente, asegurando que se cubran los aspectos más relevantes y se profundice en los puntos de particular interés.

En el patrón de "**Reflexión**" se le pide a ChatGPT que explique automáticamente el razonamiento detrás de las respuestas que se dan al usuario. El patrón permite a los usuarios evaluar mejor la validez de las respuestas y también da información de cómo ChatGPT llegó a una respuesta en particular. Los *prompts* adecuados pueden ser:

1. Cuando generes una respuesta, explica el razonamiento y las suposiciones que te llevaron a dar esa respuesta.
2. (Opcional) ... de manera que yo pueda mejorar mi *prompt* (o pregunta).

El patrón "**Generador de Visualización**" se centra en la creación de representaciones visuales para ilustrar

conceptos, datos o relaciones complejas de manera más intuitiva y comprensible. Este enfoque es especialmente valioso cuando se trabaja con información que es intrínsecamente abstracta o difícil de asimilar solamente a través de texto o números. Utilizando este patrón con ChatGPT, el usuario solicita al modelo que proponga o describa visualizaciones que ayuden a interpretar o comunicar información de manera efectiva. Los *prompts* adecuados para interactuar con ChatGPT podrían ser:

1. Describe una visualización que ilustre el concepto X.
2. Propón un tipo de gráfico que represente adecuadamente los datos sobre X.

Este patrón es útil en una amplia gama de campos, desde la educación, donde facilita el aprendizaje y la retención de conceptos complejos, hasta en análisis de datos, donde permite identificar tendencias, patrones y anomalías de manera más eficiente. El "Generador de Visualización" no solo mejora la comprensión de la información, sino que también puede revelar visiones que no eran evidentes a través de haber hecho un análisis textual o numérico.

Al solicitar visualizaciones, el usuario puede explorar diferentes maneras de representar la información, como infografías, diagramas de flujo, mapas conceptuales, gráficos estadísticos, entre otros, dependiendo del objetivo y el público al que estará dirigido. Este patrón promueve una comunicación más efectiva de ideas y facilita el diálogo y la comprensión entre distintos públicos, desde expertos en la materia, hasta audiencias generales que carecen de conocimientos especializados en el tema.

Existen otros patrones de *prompts* aparte de estos que pueden ser útiles en situaciones particulares. Por ejemplo: el "**Creador de un Metalenguaje**", el "**Automatizador de Respuestas**", el de "**Generación Infinita**" o el de "**Creador de Juegos**". Esos patrones se pueden explorar en el internet o solicitándole a ChatGPT que los explique y ya no ahondaré en ellos aquí.

Un listado de los patrones de *prompts* que mencioné en el texto anterior aparece en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Patrones de *prompts* para ChatGPT mencionados en el texto

- |  |
|--|
| 1. Patrón "Persona"                            |
| 2. Patrón "Receta"                             |
| 3. Patrón "Refinamiento de Preguntas"          |
| 4. Patrón "Verificador Cognitivo"              |
| 5. Patrón "Interacción Volteada o Inversa"     |
| 6. Patrón "Acercamientos Alternativos"         |
| 7. Patrón "Verificando la Lista de los Hechos" |
| 8. Patrón "Cadena de Pensamiento"              |
| 9. Patrón "Expansión de Índices"               |
| 10. Patrón "Reflexión"                         |
| 11. Patrón "Generador de Visualización"        |

## Segundo curso y ChatGPT 4

Después de haber aprendido sobre ingeniería de *prompts* en ChatGPT, todo basado en ChatGPT-3.5 que nada más procesa lenguaje, decidí continuar con un segundo curso que ampliaba las capacidades de uso de esta herramienta llamada “ChatGPT Advanced Data Analysis”. Para cuando comencé a tomar dicho curso, ya estaba accesible ChatGPT-4 (pagando una tarifa). Inscribirme a ChatGPT-4 fue necesario para poder hacer todas las tareas y exámenes que se requieren para completar con el curso. Todos hemos oído que ChatGPT-4 es mejor que ChatGPT-3.5.

ChatGPT-4 y ChatGPT-3.5 presentan varias diferencias clave, destacando avances en capacidad, comprensión y aplicabilidad: ChatGPT-4 es más avanzado, con un número inmenso de parámetros en su modelo de IA, lo que le permite comprender y generar texto con mayor precisión, complejidad y coherencia que ChatGPT-3.5. ChatGPT-4 tiene una mejor capacidad para entender contextos complejos y matices en las conversaciones, lo que da lugar a respuestas más relevantes y precisas. Gracias a su arquitectura mejorada, ChatGPT-4 puede ser más eficaz en una gama más amplia de aplicaciones, desde la generación de texto hasta la resolución de problemas específicos de dominio. ChatGPT-4 introduce capacidades multimodales (en algunos casos), permitiendo interactuar no solo con texto, sino también con imágenes, mejorando la interacción en escenarios donde se requiere procesamiento de varios tipos de datos. ChatGPT-4 ha sido entrenado con métodos más avanzados para manejar sesgos y garantizar respuestas seguras, haciendo un esfuerzo adicional para producir contenido que sea justo y menos propenso a generar respuestas inapropiadas.

En resumen, ChatGPT-4 representa una evolución significativa en términos de IA, ofreciendo mejoras en comprensión, generación de texto, capacidad de manejo de contextos complejos y aplicabilidad en una gama más amplia de tareas, además de esfuerzos mejorados para manejar sesgos y seguridad.

En español, el curso que llevé se llama “ChatGPT Análisis Avanzado de Datos” y gira alrededor de la utilización del Interpretador de Código de ChatGPT-4. Este Interpretador de Código le permite a ChatGPT aceptar distintos tipos de archivos como parte del *prompt* con el que uno interactúa con él. Los archivos pueden ser PDF's, archivos de Excel, archivos de PowerPoint, archivos de imágenes y archivos de video, entre otros.

El Interpretador de Código de ChatGPT, es capaz de reconocer el tipo de archivo que se trata y hacer distintas operaciones computacionales con ellos, algunas de ellas muy sorprendentes. Por ejemplo, puede aceptar un archivo tipo PDF y puede contestar preguntas sobre el contenido del archivo. Si el PDF es

un documento o un artículo con texto, puede contestar preguntas sobre el contenido del texto. Una función muy útil para ver qué entiende ChatGPT es solicitarle que extraiga el texto y que lo analice y/o lo resuma. Esto mismo puede hacer con otros archivos tipo Word (.doc) o PowerPoint (.pptx). En el caso de archivos .xls (Excel), puede analizar y realizar operaciones con los datos, como sumas, promedios, o visualizaciones básicas (gráficas). En todos los casos anteriores, puede generar resúmenes de documentos largos o presentaciones para proporcionar una visión general rápida del contenido.

¿Qué pasa respecto a archivos con imágenes o de video?

Aunque ChatGPT-4 es principalmente un modelo de lenguaje, en teoría, si se combinara con capacidades de visión por computadora, podría describir el contenido de una imagen, realizar reconocimiento de objetos, e incluso generar un nuevo texto basándose en la imagen proporcionada.

Con respecto a video, podría extraer el audio para transcribirlo o generar subtítulos, aunque esto requeriría capacidades específicas de procesamiento de audio y video. Podría, en teoría, ofrecer descripciones o resúmenes de los contenidos del video, pero esto también implicaría capacidades avanzadas de análisis de video y audio.

Este segundo curso, básicamente lo introduce a uno a poder manipular los archivos tipo PDF, Excel, PowerPoint, Word, imágenes y videos en formas muy poderosas y a veces inesperadas, aumentando la productividad y apoyando la creatividad en nuestras interacciones con ChatGPT, todo esto gracias al Interpretador de Códigos incorporado al algoritmo.

## Avances muy recientes de ChatGPT

En los últimos meses y semanas, OpenAI ha ido introduciendo nuevas funciones impresionantes a ChatGPT. La última a la que yo he tenido acceso la han llamado GPT-4 Vision (GPT-4V). En ella se pueden hacer lo siguiente:

**Identificación de Objetos.** GPT-4V puede identificar con precisión objetos y proporcionar una descripción detallada al procesar una imagen (como cualquier fotografía, pero también cualquier otra imagen). Sus capacidades de reconocimiento son espectaculares, desde objetos cotidianos hasta maquinaria compleja.

**Transcripción de Texto de Imágenes.** GPT-4V puede escribir cualquier texto legible que aparece en la imagen. Esta característica permite a los usuarios extraer sin problemas texto escrito o impreso de imágenes, una ventaja para aquellos que manejan documentos vastos o archivos antiguos.

**Descifrado de Datos.** Extrae datos esenciales de contenido gráfico, como gráficos, diagramas e infografías, traduciendo datos visuales en textos

comprensibles.

**Procesamiento Multicondicional.** GPT-4V muestra una capacidad analítica inigualable para analizar imágenes bajo múltiples condiciones, ya sea interpretando lo que hay en una fotografía tomada bajo iluminaciones variadas o discerniendo detalles en una escena abarrotada.

**Asistencia Educativa.** Estudiantes y educadores pueden aprovechar GPT-4V para analizar diagramas, ilustraciones y ayudas visuales, transformándolos en explicaciones textuales detalladas, ayudando así en el proceso de aprendizaje.

**Mejora de la Codificación.** Para los expertos en tecnología, GPT-4V puede interpretar estructuras de código visual o diagramas de flujo y traducirlos a lenguajes de codificación reales, haciendo que el proceso de desarrollo sea más rápido y eficiente.

**Comprensión del Diseño.** Para que los diseñadores puedan comprender patrones intrincados, diseños o estructuras visuales y hacerlas más fáciles de interpretar. GPT 4V (Vision) puede desglosar elementos de diseño y ofrecer explicaciones en forma de texto, ayudando a refinar y mejorarlos conceptos de diseño.

Por ejemplo, lo que a mí se me ocurrió hacer, fue tomar una fotografía del laboratorio en el que trabajo (Figura 2) con el siguiente *prompt*: “Describe detalladamente lo que se ve en esta foto. Dame una lista detallada de lo que hay en la foto y cómo el uso de la IA Generativa para analizarlos, extraer información, detectar cosas, encontrar similitudes y discrepancias, etc., con el fin de poder cambiar profundamente las tareas que hago todos los días. A continuación, hazme preguntas sobre lo que hago profesionalmente y el sector en el que trabajo. Después de que te dé mis respuestas, crea tres ideas para fotos que podrías tomar y la información que proporcionarías con ellas a GPT 4V para resolver un problema del mundo real en mi trabajo”

Esta fue la primera parte de la respuesta que me dio:

#### ChatGPT

La foto muestra el interior de un laboratorio. Hay estanterías con numerosos frascos de productos químicos, cajas y material de laboratorio. Los focos fluorescentes iluminan el espacio. Un banco central está repleto de diversos artículos de laboratorio, como pipetas, vasos de precipitados y otras herramientas. Hay un fregadero, un refrigerador (posiblemente para almacenar muestras o productos químicos), una centrífuga y un mezclador de vórtice, junto con objetos personales como una botella de agua y una bolsa, lo que sugiere un espacio de trabajo activo. La IA generativa podría utilizarse aquí para:

**Gestión de inventarios:** La IA podría analizar imágenes del laboratorio para hacer un seguimiento de los niveles de productos químicos, pedir suministros o

alertar sobre fechas de caducidad.

**Cumplimiento de las normas de seguridad:** Detectar riesgos para la seguridad, como productos químicos almacenados incorrectamente o falta de equipo de seguridad.

**Mejoras de la eficiencia:** Sugerir cambios óptimos en la organización del laboratorio o en el flujo de trabajo basándose en los patrones de uso actuales y en el análisis del espacio.



**Figura 2.** Fotografía del laboratorio 201 Ote, Departamento de Bioquímica y Biología Estructural del Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Ahora, para generar ideas que puedan abordarse con IA en forma de fotos e indicaciones ChatGPT-4V, ¿podría hablarme de su profesión y del sector en el que trabaja?

La última noticia de la que me he enterado relacionada con ChatGPT es el anuncio reciente de “Sora”, que es un modelo de IA de texto a video desarrollado por OpenAI. Sora fue anunciado el 15 de febrero de 2024 y no está accesible al público. Puede generar videos fotorrealistas de gran consistencia y duración, aparentemente a partir de *prompts* de texto. Actualmente se piensa que eventualmente se incorporará a una versión avanzada de ChatGPT. Las implicaciones de qué traerá consigo esta nueva capacidad de ChatGPT todavía están en el aire.

#### Conclusión con recomendaciones

Finalmente, quiero terminar con unas recomendaciones generales para un mejor uso de los *prompts*, cuando se está interactuando con ChatGPT. Dominar *prompts* eficaces, explicando el contexto y

seleccionando cuidadosamente la “persona” mejorará significativamente cualquier interacción con ChatGPT. Con estas recomendaciones, se obtienen respuestas más precisas, relevantes y atractivas, adaptadas a sus necesidades.

Recuerde:

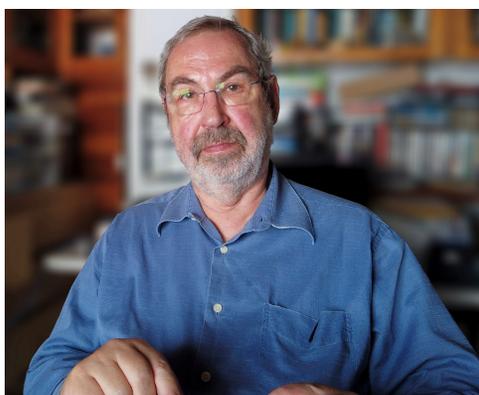
1. Redactar *prompts* específicos y claros.
2. Dividir los *prompts* complejos en secciones más pequeñas.
3. Incluir pistas contextuales en los *prompts*.
4. Solicitar explicaciones paso a paso.
5. Fijar expectativas y establecer el contexto mediante la introducción de detalles importantes para el mismo.
6. Limitar la longitud de la respuesta cuando sea

necesario.

7. Definir bien a la “persona” y especificar las características del lenguaje y del tono.
8. Utilizar escenarios fingiendo ser un personaje ficticio o real, para crear contenidos atractivos.
9. Combinar las “personas” y los contextos para obtener resultados altamente personalizados.

Al poner en práctica estas estrategias avanzadas, el uso de ChatGPT será más eficaz y se disfrutará de una experiencia altamente personalizada y valiosa.

**Agradecimiento:** Agradezco al Dr. Diego González Halphen su revisión crítica de este manuscrito.



**Dr. Ruy Pérez Montfort**  
**ORCID: 0000-0003-0810-1159**

El Dr. Ruy Pérez Montfort cursó sus estudios de licenciatura en la Facultad de Química de la U.N.A.M. y sus estudios de Doctorado en Investigación Biomédica Básica en la Unidad de los Ciclos Profesionales y de Postgrado del Colegio de Ciencias y Humanidades, U.N.A.M. en su sede del Instituto de Investigaciones Biomédicas. Realizó durante tres años y medio trabajo posdoctoral en los Institutos Nacionales de Salud de los E.U.A. en Bethesda, Maryland. En 1984 trabajó durante un año como investigador del departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas. En 1985 se incorporó al departamento de Microbiología del

Instituto de Fisiología Celular. Fue Jefe de ese departamento de 1995 a finales de 1996 y de 1997 hasta 2009 fue Jefe del Departamento de Bioquímica, en el mismo Instituto. Actualmente es Investigador Titular “C” del departamento de Bioquímica y Biología Estructural del Instituto de Fisiología Celular, U.N.A.M. También es nivel “D” del PRIDE y miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel III en el área de Ciencias Biológicas, Biomédicas y Químicas. Su campo de especialidad es la función y estabilidad de la triosafosfato isomerasa de diversas especies. Cuenta con 105 publicaciones, que tienen más de 2,300 citas, con un índice “h” de 30. Es también autor de un libro de divulgación científica y de 11 capítulos en diferentes libros científicos.

Fue Secretario-Tesorero de la Sociedades Mexicanas de Inmunología y Bioquímica y también es miembro de otras 6 sociedades científicas internacionales. Además ha sido representante del Personal Académico del Instituto de Fisiología Celular ante el Consejo Universitario y ante el Consejo Académico de Área Ciencias Naturales, así como miembro de Comisiones Dictaminadoras y del PRIDE en distintos Institutos y Facultades de la UNAM. Ha dirigido 11 tesis de licenciatura, 12 tesis de maestría y 11 tesis de doctorado. Pertenece los comités editoriales de las revistas: Revista de Investigación en Salud, CIENCIAUANL, Current Medicinal Chemistry y The Open Medicinal Chemistry Journal.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## De AlphaFold2 a la Medicina De Precisión

### From AlphaFold2 to precision medicine

González Andrade, Martín<sup>1</sup>; Álvarez Añorve, Laura I.<sup>2</sup>; Sosa Peinado, Alejandro<sup>2</sup>.

1. Laboratorio de Biosensores, Departamento de Bioquímica, Fac. Medicina, UNAM
2. Laboratorio de Físicoquímica e Ingeniería de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Fac. Medicina, UNAM.

✉ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, Avenida Universidad 3000 Circuito Exterior S/N, Col. Ciudad Universitaria, Coyoacán. CDMX (México), C.P. 04510. [asosa@bq.unam.mx](mailto:asosa@bq.unam.mx)

Editor responsable: Héctor Riveros-Rosas

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.03>

Recibido: 28 de mayo de 2024

Revisado: 5 de agosto de 2024

Aceptado: 7 de agosto de 2024

*La Biología es la tecnología más poderosa que ha sido creada; el software es el ADN, las proteínas son el hardware y las células son las maquinarias.*

Arvind Gupta

#### Resumen

En el presente trabajo se describen los avances recientes en el diseño de proteínas que utiliza la inteligencia artificial y en especial AlphaFold2, que han contribuido de manera muy significativa a tratar de resolver uno de los grandes problemas de la ciencia de proteínas: *¿Cómo la información contenida en la secuencia de aminoácidos determina la estructura y la función de las proteínas?* Es decir, avances recientes permiten predecir la estructura tridimensional de una proteína a partir de su secuencia de aminoácidos con enorme precisión, comparable a la de los métodos experimentales. Este desarrollo se debió a la utilización de las redes neuronales entrenadas con la información proveniente de datos estructurales de proteínas, depositadas en las bases de datos públicas, tales como el PDB (por sus siglas en inglés: Protein Data Bank). Además, las predicciones estructurales con las redes neuronales utilizaron también la información contenida en los alineamientos de secuencias de aminoácidos, lo que permitió correlacionar la información de coevolución (cambios evolutivamente concomitantes en diferentes regiones de las secuencias de aminoácidos) con la información estructural contenida en mapas de distancia entre los átomos de

#### Abstract

This paper describes recent advances in protein design combined with artificial intelligence like AlphaFold2 contributed to solve one of the most significant problems for protein science: *How the information contained in the sequence of amino acids determines the structure and function of proteins?* Recent advances have made it possible to predict the three-dimensional structure of a protein from a sequence with an enormous precision, comparable to experimental methods. This development is based on neural networks trained with information from the Protein Data Bank (PDB). Structural predictions with neural networks used amino acid sequence alignment, to correlate amino acid sequence coevolution information with structural information contained in distance maps between atoms of a protein. Through several refinement cycles a remarkable advance in structure prediction was achieved. This technology has initiated a series of protein designs with new functions, or pre-existing combined functions have been initiated. This will allow several applications based on "de novo designed" proteins, *i.e.* applications that will impact in the chemical and pharmaceutical industries, biomarker sensors, among others, all of them aimed to improve the

una proteína, de tal suerte que a través de varios ciclos de refinamiento se logró un avance notable en la predicción de estructuras proteicas. Con esta tecnología se han iniciado una serie de diseños de proteínas con nuevas funciones, o funciones preexistentes conjuntadas en nuevas combinaciones, lo que permitirá diversas aplicaciones basadas en las proteínas “*diseñadas de novo*”, es decir, aplicaciones con repercusión en la industria química, farmacológica, sensores de biomarcadores, entre otras, todas ellas encaminados al perfeccionamiento del diagnóstico y el diseño de terapias moleculares para combatir enfermedades.

**Palabras claves:** diseño de proteínas, ingeniería de proteínas, biosensores, medicina de precisión, proteína *de novo*.

diagnosis and design of molecular therapies against diseases.

**Keywords:** protein design, protein engineering, biosensors, precision medicine, *de novo* protein.

## Introducción

En los últimos sesenta años, la revolución tecnológica del ADN recombinante permitió notables avances en la medicina molecular, lo que se tradujo en innovaciones en el diagnóstico de enfermedades, en las terapias génicas, en las vacunas basadas en ADN o ARN entre otros avances (1). Ahora, con el diseño de proteínas basado en la “Inteligencia Artificial” (AlphaFold2), se prometen nuevos desarrollos para el diagnóstico y la generación de diversas terapias (medicina de precisión), entre ellas la detección temprana y/o terapéutica para diversos tipos de cáncer o enfermedades neurodegenerativas (2).

Esta promesa tecnológica se basa en la creación de proteínas diseñadas “*de novo*” que funcionan como *navajas suizas*, es decir, a partir de proteínas previamente conocidas, se diseñan proteínas con algunas funciones adicionales a la original, tales como: i) sitios de reconocimientos específico a receptores que pueden estar relacionados con cambios en el metabolismo de las células; ii) detección de transducción de la señal de reconocimiento específico acoplada a cromóforos para que emitan señales espectroscópicas; iii) actividades enzimáticas requeridas para terapias específicas; iv) sitios de reconocimiento, por ejemplo a las células T (mediadores de inmunidad); v) sitios de acarreo de fármacos entre los más importantes (3). Para entender porque podemos diseñar proteínas con nuevas funciones, primero describiremos parte de la historia del diseño de proteínas y el uso del software AlphaFold2, para posteriormente describir algunos avances en el diagnóstico molecular y el inicio de diversas terapias basadas en la lógica de AlphaFold2.

## Diseño de proteínas asistido por inteligencia artificial (AlphaFold2)

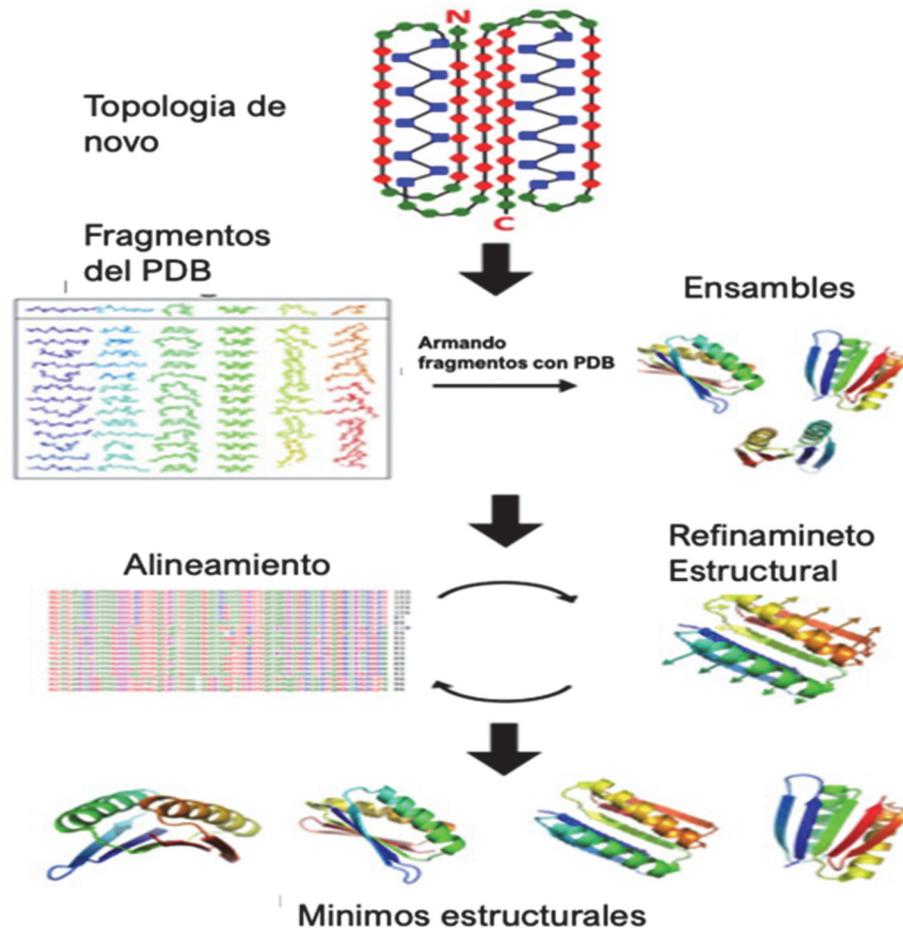
Las proteínas presentan secuencias específicas de aminoácidos que determinan una estructura tridimensional requerida para su función (4). Es decir, la información requerida para el plegamiento proteico está contenida en su secuencia de aminoácidos. Esto fue planteado por Anfinsen en 1973 (5) al renaturalizar una proteína (ribonucleasa A) *in vitro* (sin asistencia de la maquinaria celular). Para este fin retiró por diálisis los agentes químicos desnaturizantes (urea y agentes reductores) que le impedían a la proteína mantener su estructura nativa, por lo que la ribonucleasa recuperó su estructura y función particular en ausencia de los agentes químicos indicados, mostrando que las secuencias de residuos de aminoácidos eran suficiente para conferirle a la proteína su estructura y función nativas. En este sentido, el diseño de proteínas ha sido una manera de entender los principios que rigen la relación entre la estructura y la función de las proteínas.

A finales de los años ochenta, el grupo de trabajo de William DeGrado (6) diseñó cuatro alfa-hélices unidas para formar un haz, a partir de la tendencia natural de las cadenas de residuos de aminoácidos a formar alfa-hélices, información previamente conocida del banco de datos de las estructuras de proteínas PDB (“Protein Data Bank” <https://www.rcsb.org/>).

Uno de los hitos en el diseño de proteínas fue la implementación del programa computacional *RosettaDesign* (7), desarrollada por el grupo del Dr. David Baker de la Universidad de Washington en Seattle. De hecho, algunos de los parámetros que la inteligencia artificial de AlphaFold2 aprende para poder predecir la estructura tridimensional de proteínas, provienen de conceptos desarrollados en *RosettaDesign*. La estrategia original de este programa consiste en predecir la secuencia de aminoácidos que se plegaría en una estructura

tridimensional específica, utilizando la información estructural de fragmentos de secuencia de entre tres y nueve residuos que se correspondían con estructuras ya conocidas del PDB. Durante esta búsqueda de los pares secuencia-estructura óptimos, a partir de una serie de secuencias candidatas, se selecciona la secuencia con la mínima energía de acuerdo con una serie de parámetros energéticos que incluyen varios factores, como la hidrofobicidad, los puentes de hidrógeno, los rotámetros de las cadenas laterales y el ajuste a la estructura diana (Fig. 1). Estos parámetros se optimizan buscando mínimos energéticos vía métodos Monte Carlo. En un siguiente paso lo que se

busca minimizar es la energía libre de la estructura predicha, mediante refinamiento de los ángulos de los enlaces de su esqueleto polipeptídico y de sus cadenas laterales. En este paso se selecciona únicamente el plegamiento que haya dado la mínima energía libre. Este ciclo de optimización alternativa entre secuencias y estructuras tridimensionales se itera hasta obtener la estructura blanco con un mínimo de energía libre. A partir de este algoritmo se diseñó la primera proteína *de novo* “Top7” en donde el algoritmo generó la secuencia de aminoácidos requerida para obtener la estructura deseada (7).



**Figura 1. Diagrama de Flujo del programa Rosetta Design.** El uso de este diseño permitió diseñar la primera proteína *de novo*, denominada Top7, la topología fue diseñada con base en la metodología de búsqueda de fragmentos del PDB.

En 2018 se creó una empresa tecnológica de Google denominada DeepMind, la cual concursó con un programa denominado AlphaFold en la edición 13 del evento académico *Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction* (CASP). Así, el CASP es una competencia académica en la que cada dos años los investigadores especializados en

predicción de estructura y diseño de proteínas concursan utilizando sus métodos de predicción estructural para predecir la estructura tridimensional que adoptará una proteína basándose sólo en la información de su secuencia de residuos de aminoácidos. La estructura tridimensional de dicha(s) proteína(s) ya se tiene resuelta previamente, pero se

mantiene en secreto, y la mejor puntuación en la competencia la tendrá el equipo cuya predicción de estructura(s) se desvíe menos de la(s) estructura(s) elucidada(s) experimentalmente. Durante la decimotercera edición de la competencia CASP, llevada a cabo en 2018, AlphaFold obtuvo un valor estadístico alto de  $z$  ( $z$ -score) de 52.8 en la versión con modelado libre, el valor de  $z$  mide la distancia de datos desde la media en términos de la desviación estándar (de tal suerte que entre mayor sea el valor de este estadístico, menor será la desviación entre la estructura predicha y la experimental), mientras que el equipo que obtuvo el segundo lugar alcanzó un  $z$ -score de 36.6, lo que ya mostraba un avance por encima de todos los métodos de predicción del momento. En la edición siguiente, la número 14 del CASP (2020) la nueva versión AlphaFold2 sorprendió al mundo con un valor de  $z$  de 244.8, comparado con 90.8 del segundo lugar. Cuando compararon la desviación cuadrática media de la distancia de los carbonos alfa entre la predicción y la estructura real, fue de 0.8 Å, mientras que la del segundo mejor lugar fue de 2.8 Å.

Por lo anterior, se dijo que AlphaFold2 había resuelto el problema planteado por Anfinsen poco más de 50 años atrás: *¿cómo la información contenida de la secuencia de aminoácidos determina la estructura tridimensional de la proteína?*

Lo que se demostró desde la primera versión de AlphaFold es la factibilidad de entrenar una red neuronal con la información contenida en el PDB para predecir la estructura tridimensional a partir de secuencia de aminoácidos con una precisión comparable a la información obtenida experimentalmente.

### Principios del diseño de proteínas por AlphaFold2

Para entender en qué se basan los diseños de proteínas, es importante analizar los principios de la predicción de su estructura tridimensional. En primer lugar, AlphaFold2 utiliza redes neuronales entrenadas con la información estructural del PDB, lo que permite analizar la información estructural y compararla con la información proveniente de la evolución de las proteínas (contenida en las secuencias de aminoácidos), dando como resultado predicciones estructurales a nivel atómico (8).

Afortunadamente, esta información es de dominio público y se enriquece continuamente por las colaboraciones del mundo académico, lo que ha generado un ambiente de código abierto, es decir diversos grupos de investigación del mundo trabajan en constante desarrollo e implementación de nuevas vertientes de algoritmos (9), de tal suerte que hoy en día existen varias suites o programas computacionales similares: RosettaTTAFold del grupo de Baker en la Universidad de Washington (se publicó el mismo día

de la publicación de AlphaFold2). También existe ESMfold desarrollado por Lin y colaboradores en 2022 (10), que además de utilizar las redes neuronales, incorpora reglas de la lingüística computacional (reglas basadas en modelos de lenguajes humanos), lo que permitió en su algoritmo incorporar 15 mil millones de parámetros.

Más aún, existe una iniciativa denominada AlphaFold2 que se maneja en un ambiente de Google Colab, que es un servicio que funciona a través de un kernel Jupyter, que a su vez aglomera los siguientes lenguajes de programación: **Julia**, **Python** y **R** (de hecho, el nombre Jupyter de ahí se toma). Todo esto está alojado en las nubes computacionales de la compañía Google, lo que se ha denominado "AlphaFold2 para todos", por la accesibilidad de utilizar estas paqueterías en su modo más básico a bajo costo (11).

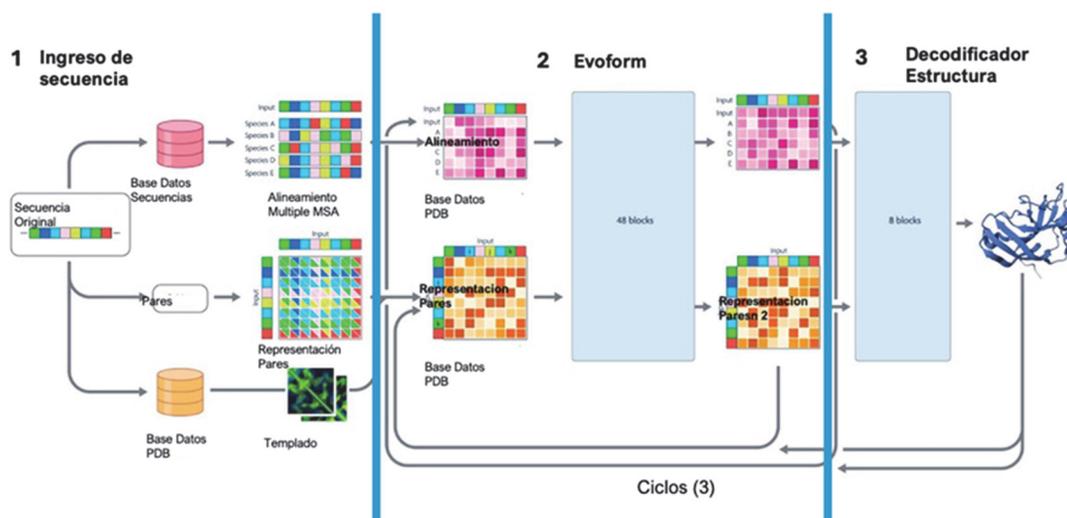
### Algoritmo de AlphaFold2

Nos enfocaremos en el algoritmo de AlphaFold2 para tratar de entender los principios de búsqueda de la predicción estructural. En primer lugar, a partir del esquema original del diagrama de flujo de AlphaFold2 (12), podemos dividir el algoritmo en tres módulos (Fig. 2).

#### 1. Módulo de entrada de secuencias de aminoácidos.

Este módulo procesa la información de la secuencia de aminoácidos de proteínas con las bases de datos UniProt y Uniclust30 para generar alineamientos múltiples de secuencias similares (MSA por sus siglas en inglés: "Multiple Sequence Alignment"), que a su vez serán utilizados en la predicción de la estructura secundaria. Al mismo tiempo, AlphaFold2 identifica la estructura de las proteínas similares (homólogas) y construye un mapa de interacciones entre los residuos, que se llama representación de interacciones por pares. Esta representación es una matriz de las distancias entre todos los residuos de una proteína (13).

La información de distancias moleculares entre átomos se correlaciona con la información de secuencia de aminoácidos; este paso es fundamental, ya que acota enormemente el problema en términos de búsqueda computacional, pues solo se centra en el universo de proteínas conocidas, en vez del universo de conformaciones posibles, lo que nos llevaría a números astronómicos por las combinaciones requeridas para adquirir una estructura proteica. Es decir, delimitar el problema al universo conocido de secuencias reduce en órdenes de magnitud la búsqueda combinatoria, porque se ajusta a las interacciones por pares y secuencias de aminoácidos de las proteínas reportadas la fecha (14).

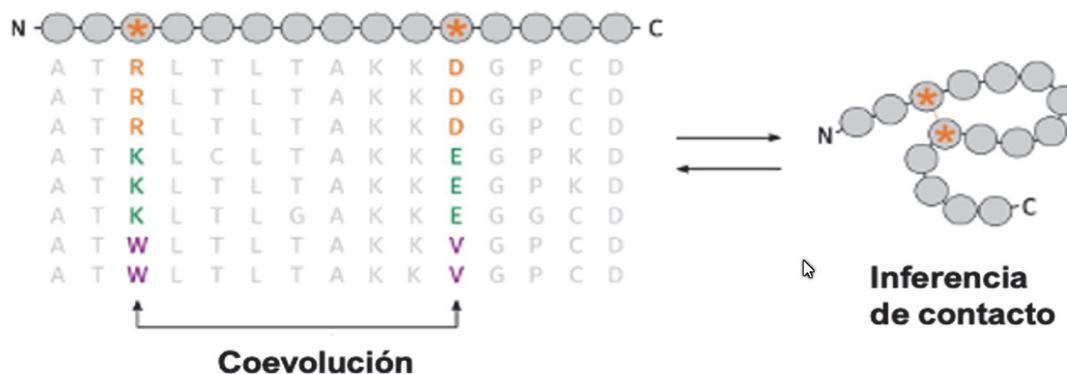


**Figura 2. Diagrama de flujo de los componentes de AlphaFold2.** Suite computacional compuesta de tres módulos: 1. Módulo de entrada de secuencias de aminoácidos.; 2. Módulo Evoform y 3. Módulo de generación de la estructura tridimensional. Figura modificada a partir de la publicada por Jumper *et al.*, (12).

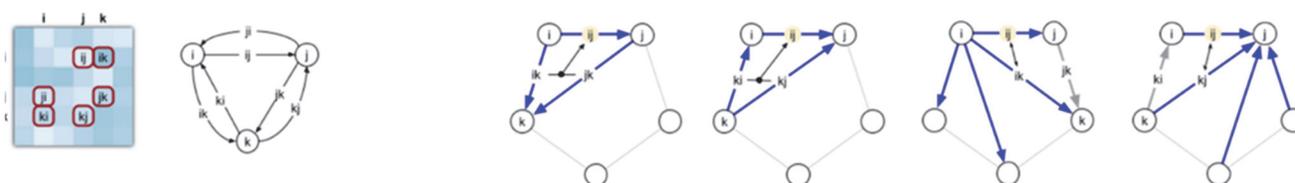
Para analizar los alineamientos múltiples se utilizan modelos ocultos de Markov, lo que permite identificar secuencias homólogas y los cambios evolutivamente concomitantes que se pueden observar al comparar las secuencias de proteínas en las bases de datos UniProt y Uniclust30 (15). La idea que ronda en el alineamiento múltiple y en los modelos ocultos de Markov es que aquellas proteínas parecidas en secuencia (más de 30% de identidad de secuencia) probablemente tendrán estructuras similares, lo que simplifica la búsqueda de la estructura (12).

El alineamiento múltiple de las secuencias de aminoácidos es utilizado para identificar, dentro de las familias de proteínas conservadas, las regiones que presentan cambios concomitantes o codependientes en diferentes posiciones, es decir, esto permite determinar las regiones más susceptibles de ser modificadas (información de variabilidad y posibles mutaciones presentes en variantes de proteínas homólogas). En resumen, en este módulo la información de las covariaciones al cambio observadas (en las secuencias) se correlacionan con las distancias intramoleculares resumidas en las representaciones por pares (16), ya que probablemente indican interacciones moleculares requeridas para la conformación tridimensional de la proteína (Fig. 3).

**2. Módulo Evoform.** A partir de este módulo se generan estructuras tridimensionales utilizando redes neuronales que combinan la información coevolutiva obtenida del alineamiento múltiple y la información de distancias moleculares obtenida por la representación por pares. Este módulo es el centro de la arquitectura de AlphaFold2 (12), ya que la estructura predicha es refinada a través de subsecuentes ciclos, es decir, tanto las representaciones de secuencia y de estructura intercambian constantemente información en las redes neuronales hasta que logran obtener un modelo con buen ajuste estadístico. El módulo de Evoform contiene 48 bloques que actualiza en cada ciclo tres tipos de datos: i) la información del alineamiento múltiple (MSA); ii) la información del alineamiento con la representación por pares y iii) la información de la representación por pares (distancia y ángulos). En cierto modo, Evoform es un codificador de los tres pasos indicados en una representación euclidiana (geométrica) denominada desigualdad de triángulo (Fig. 4), la cual permite hacer operaciones menos costosas desde el punto de vista computacional. Esta información será decodificada en el siguiente módulo para predecir la estructura.



**Figura 3. Correlación entre la coevolución y la estructura de la proteína.** La codependencia de residuos permite correlacionar que los cambios en secuencias corresponden a posibles contactos moleculares presentes en la estructura de una proteína (Figura modificada a partir de la publicada por Marks *et al.*, (16).



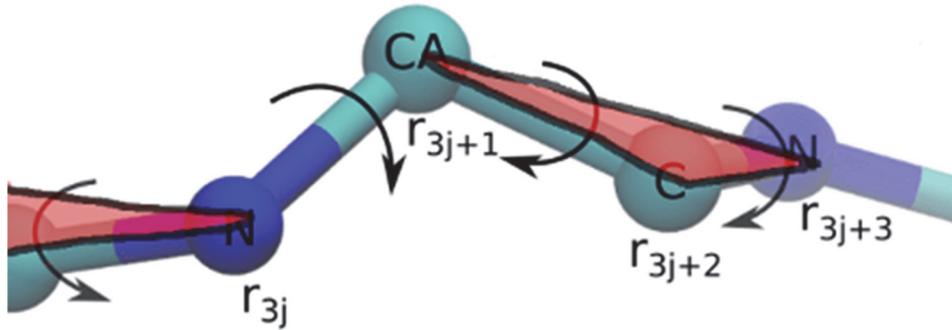
**Figura 4. Representación de los átomos acorde al teorema de la desigualdad triangular.** La distancia y relación entre los residuos de una proteína se buscan con el algoritmo de la desigualdad del triángulo (Figura modificada a partir de la publicada por Jumper *et al.*, (12).

**3. Módulo de generación de la estructura tridimensional.** Este módulo refina la predicción de la estructura tridimensional de manera iterativa, lo que permite ciclos de predicción hasta lograr valores estadísticos confiables. Este módulo funciona como decodificador de la representación de la cadena de aminoácidos como la sucesión de triángulos ya descrita, es decir, sabemos que el enlace peptídico es planar y se utilizan tres átomos del esqueleto o cadena principal de la proteína para describir estos triángulos (los átomos CA, C y N, según la nomenclatura de las cadenas polipeptídicas, ver Fig. 5). Estos triángulos fluctúan en espacios conformacionales por la red de interacciones entre átomos implícita en la estructura de la proteína (17).

El módulo de estructura utiliza una red neuronal llamada de “transformación”, que utiliza 8 bloques para transformar la información geométrica de los triángulos (esqueleto de la proteína) en la información estructural de la posición de cada átomo (Fig. 5), de tal manera que no solo predice la estructura del esqueleto de las proteínas, sino también la de las

cadena laterales y la estereoquímica o rotámetro apropiado. Este módulo tiene tres ciclos de refinamiento(12).

El programa AlphaFold2 también utiliza los procesos de relajación atómica de las cadenas laterales provenientes de programas de dinámica molecular (Amber), para evitar choques estéricos o violaciones a las geometrías de interacción entre los átomos. Por lo tanto, el proceso de predicción de estructura a partir de la secuencia aminoácidos, es la combinación de una serie de programas computacionales, organizados en módulos, que pueden ser combinados o modificados según las preguntas académicas de interés, por ejemplo, si se desea rediseñar una proteína que ya pertenece al mundo de las “proteínas de novo” (proteínas con secuencias nunca antes descritas) ya no se requiere del módulo de alineamiento múltiple (MSA) porque ya nos encontramos fuera del espacio conformacional de las proteínas conocidas en el PDB o en las bases de datos de secuencias.

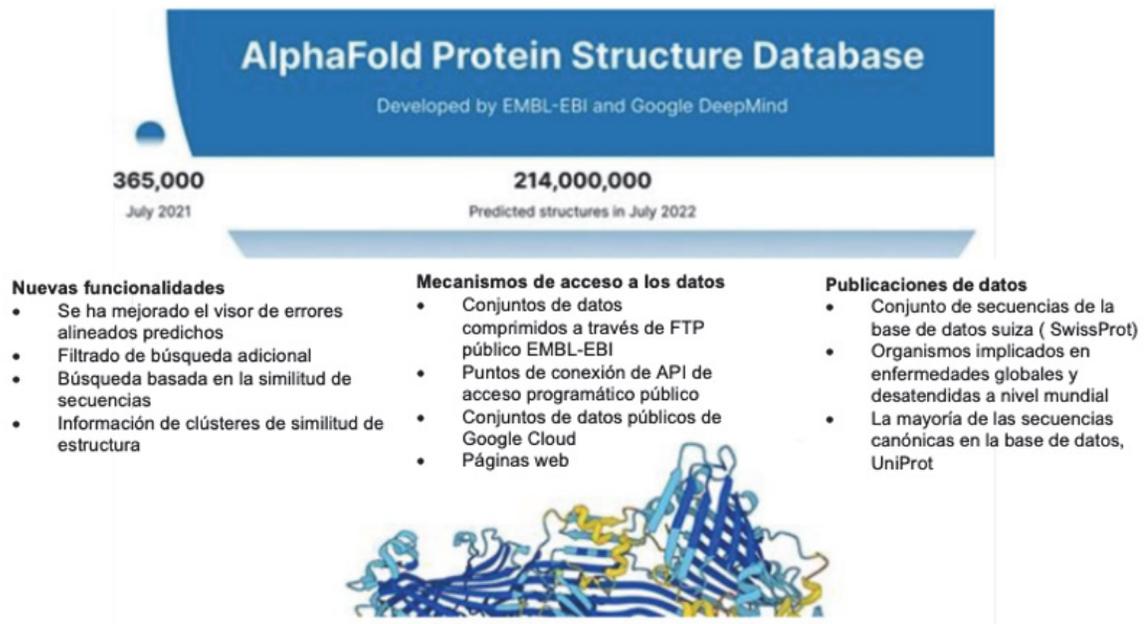


**Figura 5. Esqueleto de la proteína modelado como triángulo.** Los triángulos permiten buscar en un espacio conformacional de una red de interacciones para formar la estructura/topología de la cadena principal y las cadenas laterales de la proteína; “r” indica la posición del átomo y “j” nos indica los tres átomos que forman el triángulo con referencia al átomo “r”, tomado de: <https://lupoglaz.github.io/OpenFold2/index.html>

### Base de datos de estructuras obtenidas con AlphaFold2

El impacto de AlphaFold2 en la biología estructural ha sido enorme, no solo por la implementación de redes neuronales en la predicción de las estructuras proteicas, sino por la capacidad de generar un ambiente de código abierto, donde parte de la información se vuelve pública por la participación interdisciplinaria de instituciones académicas o privadas, lo que además acelera la generación de nuevos conocimientos y su aplicación en tecnologías (18). Un ejemplo de esto es la base de

datos de predicciones de estructura de proteínas provenientes de AlphaFold (AlphaFold DB, por sus siglas en inglés (12)). A la fecha, esta base de datos cuenta con más de 214 millones de estructuras predichas (Fig. 6). Esta información estructural está integrada en una serie de base de datos relacionadas con proteínas, por ejemplo, el PDB, la base UniProt (<http://www.uniprot.org/>), entre otras, las cuales contienen información que va desde la secuencia hasta los diferentes aspectos de la funcionalidad, interacciones con otras proteínas, análisis genético de las proteínas, etc (19).



**Figura 6. Base de datos de estructuras predichas con AlphaFold2, la cual puede consultarse en:** <https://alphafold.ebi.ac.uk/>.

La información puede ser consultada ya sea por el nombre funcional o genérico de las proteínas, por su número de acceso en la base de datos UniProt, por secuencia de residuos de aminoácidos, etc. Esta iniciativa se desarrolló con la colaboración de la compañía DeepMind (filial de Google) que creó AlphaFold2 y el Instituto Europeo de Bioinformática (EMBL-EBI). Lo que permitió automatizar la predicción estructural de 48 proteomas completos de organismos muy estudiados, incluidos organismos modelo o patógenos de interés. Toda esta información es de acceso público, por lo que puede ser utilizada para una gran cantidad de estudios, por ejemplo, en el desarrollo de fármacos basados en información estructural de proteínas (20).

Esta información no solo contiene las coordenadas estructurales de los mejores modelos obtenidos, también contiene información sobre la probabilidad de error por residuo (pLDDT, por sus siglas en inglés) o la probabilidad de error proveniente del alineamiento original (PAE, por sus siglas en inglés), parámetros que nos hablan de la confiabilidad del modelo de la proteína completa o de la región analizada.

Las estructuras predichas en esta base de datos de proteínas monoméricas y en ausencia de interacción con ligandos, por lo que estas estructuras pueden tener limitaciones en sus predicciones: Por ejemplo, muchas proteínas en su estado nativo son multiméricas, o bien en presencia de las interacciones específicas (presencia de ligandos) adquieren su conformación funcional. Tampoco las interacciones con otras proteínas, cofactores o con ácidos nucleicos están consideradas para la predicción de estas conformaciones. Otra limitante de AlphaFold2 es que no predice el efecto de mutaciones o modificaciones químicas en los residuos de una proteína, por lo que la estructura o los diferentes conformeros asociados a las alteraciones en la secuencia o glucosilaciones, metilaciones, etc., no existen en esta base de datos. Otra posible limitante es la presencia de regiones con estructuras desordenadas, que potencialmente adquieren una conformación estable cuando interactúan con otras proteínas o cuando cambian las propiedades del ambiente que rodea a la proteína, por lo que tampoco se pueden observar estas posibles conformaciones. Todas estas condicionantes sugieren que el acceso a esta base de datos debe ser vista como el inicio para continuar las predicciones estructurales considerando los factores indicados (21).

### AlphaFold2 en la determinación de la estructura

Si bien AlphaFold2 puede presentar un error alrededor del 2 al 3% en la determinación de la estructura, la estructura obtenida por métodos experimentales siempre será más confiable. Sin

embargo, el número de estructuras resueltas por métodos experimentales es tres órdenes de magnitud menor al número de proteínas con secuencia de aminoácidos conocida (por ejemplo, en el PDB existen 218,000 estructuras de proteínas determinadas experimentalmente) mientras que la base de datos de proteínas del laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL, "MGnify-EBI") es de 625 millones de secuencias y este número sigue creciendo a una velocidad mucho mayor que con la que crece el PDB. Por esta razón, iniciativas como AlphaFold2 son de vital importancia para reducir la falta de información estructural de las secuencias conocidas a la fecha (18). En este sentido, los métodos experimentales de determinación de la estructura pueden ser asistidos por AlphaFold2. Por ejemplo, en la determinación de la estructura a través de difracción de rayos X de cristales de proteínas, donde las estructuras predichas pueden ser utilizadas como moldes en el remplazo molecular, es decir, la generación de cristales con selenio-metionina requeridos para resolver las fases podría ser eliminado. También en la determinación de estructuras por criomicroscopía electrónica, la determinación de complejos de proteínas requiere de posibles moldes, los cuales se pueden obtener con AlphaFold2 (17), para su posterior ajuste a la densidad electrónica obtenida experimentalmente. La determinación de estructuras por AlphaFold2 no reemplaza a la fecha a los métodos experimentales, sin embargo, debido al costo y consumo de tiempo requeridos para la difracción de rayos X o la resonancia magnética nuclear, AlphaFold2 permitirá reducir los costos y tiempo de obtención de datos.

### Alphafold2 en el desarrollo de fármacos

El desarrollo de fármacos que inhiben o modulan las funciones de las proteínas es una poderosa herramienta para combatir enfermedades. En este sentido, contar con información estructural de potenciales blancos moleculares para realizar acoplamientos moleculares con familias de compuestos que las inhiban es fundamental. Desde este punto de vista, la base de datos de estructuras basadas en AlphaFold2 presenta un incremento en órdenes de magnitud de las estructuras potenciales con las que se podrían hacer estudios experimentales o *in silico* para probar los cribados moleculares de alto rendimiento. Un estudio sobre las estructuras reportadas en el PDB de los casos exitosos de fármacos que interactúan con sus blancos moleculares de manera específica muestra que: de 2401 estructuras cristalográficas reportadas en presencia de un fármaco, 299 corresponden a moléculas certificadas como fármacos por agencias internacionales (por ejemplo, la Administración de

Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, conocida como FDA por sus siglas en inglés). De este total de estructuras, 509 son proteínas únicas, las cuales, además presentan una resolución estructural de 2 Å en promedio, lo que sugiere que el nivel de resolución de AlphaFold2 es suficiente para encontrar blancos moleculares basados en métodos de cribado y acoplamiento molecular, lo que ayuda a encontrar interacciones fármaco-proteína de manera computacional (18). Sin embargo, hay que tomar ciertas precauciones, ya que los modelos estructurales predichos con AlphaFold2 presentan diferentes grados de precisión, y generalmente se requiere de un valor mayor de 80 de (pLDDT) para ser un modelo de proteína confiable. Además, el grado de confiabilidad por residuos o por dominios varía, es decir, de toda la estructura predicha, existen regiones de baja confiabilidad. Una manera de abordar este problema es comparar los modelos originales con proteínas homólogas (proteínas que presentan un origen evolutivo común), además de ser comparados con estructuras que presenten interacciones con otros dominios o ligandos. Comúnmente, la comparación muestra ciertos cambios conformacionales de en regiones locales a propagados entre regiones que deben ser considerados durante la búsqueda de blancos moleculares (cribado molecular *in silico*), en particular nos referimos a las proteínas multidominio, porque muchos fármacos al interactuar en las interfaces entre dominios, las cuales pueden presentar rearrreglos durante sus interacciones, lo que modificará la capacidad de unión del fármaco. Sin embargo, es importante el desarrollo de herramientas que ayuden a ampliar el universo de biomoléculas y de ligandos que se pueden poner a prueba y a hacer más eficiente el desarrollo de fármacos, ya que el 95% de las búsquedas de fármacos falla, por diversos factores, tales como baja solubilidad de la molécula candidata, falta de afinidad en la interacción, toxicidad, y fallos en las pruebas clínicas entre otros factores (14).

### AlphaFold2 y el diseño de proteínas “*de novo*”

Si bien AlphaFold2 y RoseTTAFold predicen estructuras a partir de secuencias de aminoácidos (22), durante el proceso se generan múltiples secuencias con sus respectivas estructuras, de entre las cuales debemos seleccionar el mejor modelo basados en los ajustes estadísticos (pLDDT); además, es posible, a partir de una estructura conocida, generar secuencias que se ajusten a la estructura y sus posibles interacciones por los métodos de MPNN o RoseTTAFold diffusion o Rfdifusion (21). Es decir, podemos generar “proteínas *de novo*”, porque son secuencias que nunca se han presentado en la naturaleza. El primer caso fue la proteína Top7

indicada previamente (7). Por lo que, si unimos secuencias que contengan diferentes dominios, es posible generar proteínas nuevas con más de una función preexistente, es decir, esta es una tecnología para realizar ingeniería de proteínas con la capacidad de generar nuevas proteínas para aplicaciones a la medida, que van desde usos industriales, hasta diseños de biosensores capaces de monitorear biomarcadores de procesos metabólicos (9).

El diseño de proteínas *de novo* ha producido proteínas más robustas, es decir, son más estables a la pérdida de actividad por desnaturalización térmica, y tienen mayores tiempos de vida media como consecuencia de que los diseños están basados en estructuras secundarias idealizadas, que presentan conectores cortos (asas) y residuos más conectados. Además, se diseñan núcleos hidrofóbicos más compactos, lo que lleva a proteínas mejor empaquetadas, las superficies expuestas al solvente acuoso son polares y los contactos salinos internos están bien estabilizados por cargas contrarias. Adicionalmente, se ha observado que resisten más que las proteínas nativas a la pérdida de funciones por mutagénesis en general (23).

Los métodos convencionales de ingeniería de proteínas han permitido rediseñar y producir proteínas moduladoras de la respuesta inmune (citocinas) o anticuerpos (24), que involucra la metodología de evolución dirigida, combinada con rediseños computacionales que optimizan o estabilizan enzimas o anticuerpos, entre otros casos de éxito. Esto nos ha llevado a revolucionar los procesos de inmunoterapia para combatir enfermedades (1). Sin embargo, las proteínas *de novo* nos ofrecen más posibilidades de mejoras en los diseños, ya que tan solo el número de secuencias diferentes para una proteína de 100 residuos (usando los 20 aminoácidos naturales), nos da un número astronómico, de  $20^{100}$  ó  $10^{130}$  variantes, el cual es más de 100 órdenes de magnitud mayor que el número estimado de posibles secuencias únicas de proteínas existentes. Si a esto le añadimos que las proteínas *de novo* son más solubles que las proteínas naturales, y pueden presentar nuevas funciones, se vislumbra que el uso de proteínas *de novo*, permitirá una revolución tecnológica en el rediseño de proteínas.

Algunos de los avances recientes han permitido diseñar cientos de péptidos con potenciales efectos inhibidores contra el virus de la influenza y a la toxina del botulismo. Otro caso interesante es el diseño de proteínas fluorescentes con mayor intensidad y estabilidad de la señal, o el diseño de biosensores basados en proteínas bioactivas que cambian de conformación cuando interactúan con su blanco molecular y a las cuales se le adiciona algún reportero de la señal de interacción (Fig. 7.)

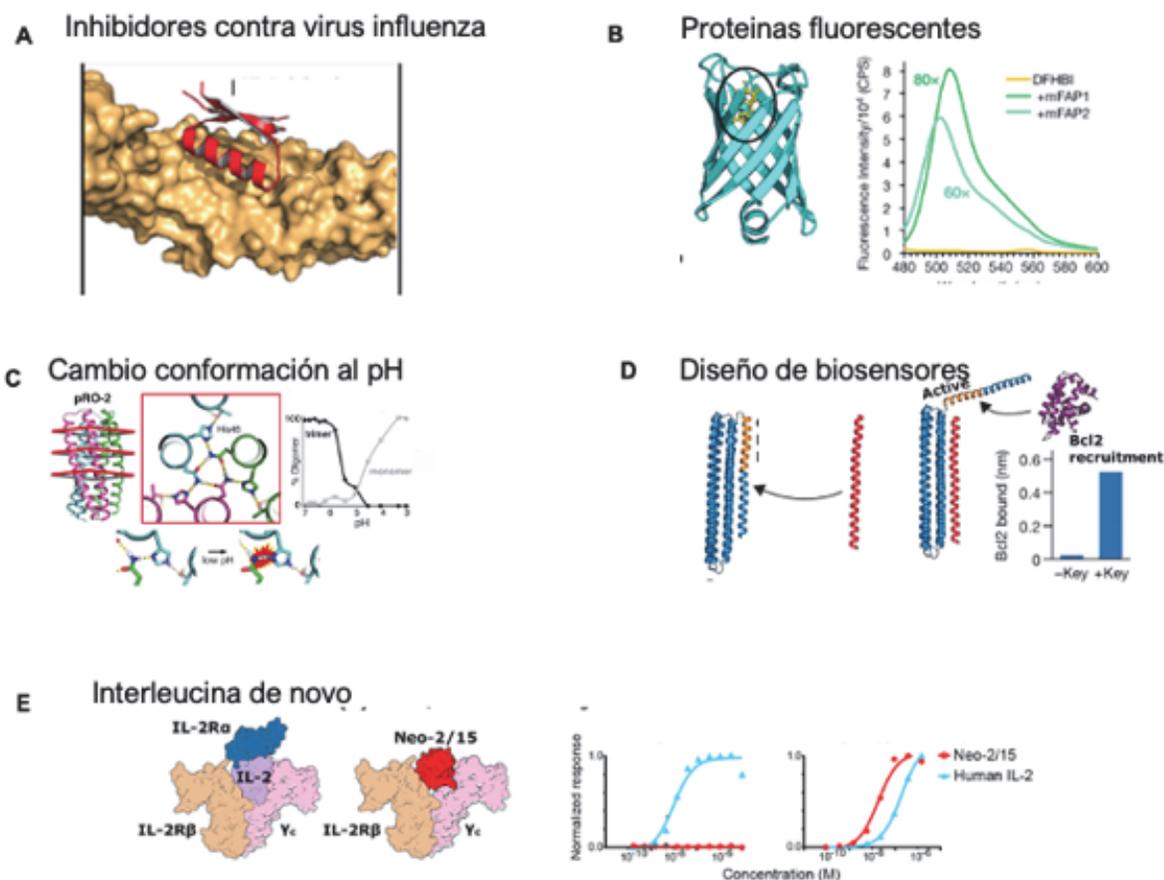
Uno de los casos más relevantes fue la creación de una interleucina *de novo* (capaz de regular la respuesta inmune), la cual fue la primera proteína *de novo* diseñada (25) para tener efectos inmunoterapéuticos (Neo-2/15), ya que en un sistema murino, esta proteína fue capaz de aumentar la respuesta inmunoterapéutica contra la proliferación de cáncer en comparación con las interleucinas nativas (IL2, IL15). Esto hace pensar que esta área de diseño de proteínas *de novo*, está aún lejos de alcanzar todo su potencial (26).

### Diseños de biosensores basados en proteínas *de novo* con capacidad modulares y ajustables a señales espectroscópicas de alta eficiencia

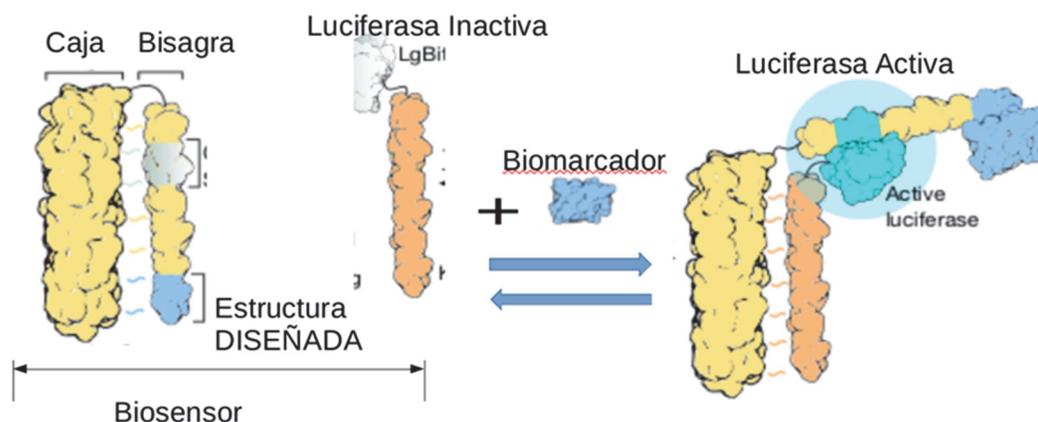
El grupo de diseño de proteínas del Dr. Baker (Universidad de Washington, Seattle, USA) lideró el diseño un biosensor (25) basado en la tecnología

llamada LOCKR, por las siglas en inglés de: *Latching Orthogonal Cage Key Protein*. Este enfoque está basado en una estructura estable (Cage) que está unida a una región denominada *latch* (bisagra) que cambia de conformación cuando interactúa con la proteína de interés. El “*latch*” es capaz de interactuar porque contiene el sitio de reconocimiento para una proteína de interés (obtenido por la metodología indicada de diseño de *proteína de novo*). El sistema biosensor diseñado permite cuantificar la concentración de una proteína biomarcadora de interés debido a la actividad de luciferasa que se activa con el cambio conformacional dependiente de la interacción, con la gran ventaja que el sistema es modulable y susceptible de ser rediseñado (Fig. 8), o bien introducir diferentes motivos estructurales para detectar otras proteínas biomarcadores de alguna patología.

## Proteínas de novo



**Figura 7. Casos de éxito en el diseño de proteínas *de novo*.** A) Inhibidor contra virus de la Influenza, B) proteínas fluorescentes, C) cambios de conformación por pH, D) Diseño de biosensores y E) Interleucina *de novo*.

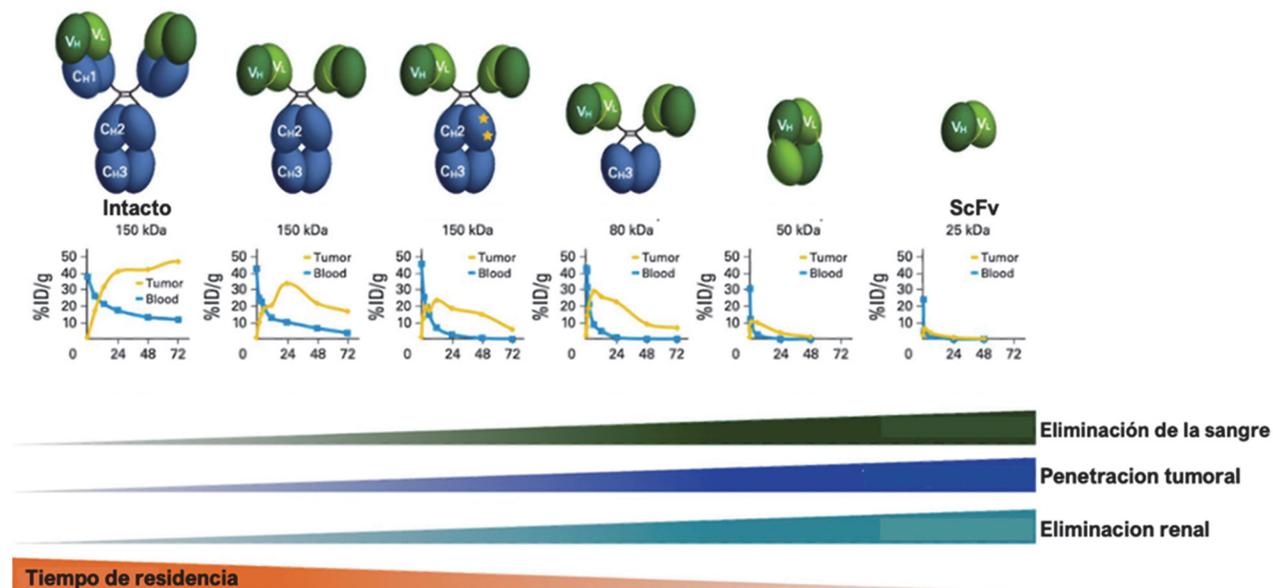


**Figura 8. Diseño de biosensor modular *de novo*.** El biosensor cambia de conformación debido a la interacción con su blanco molecular acoplado a la actividad de luciferasa. Figura modificada a partir de la publicada por Quijano-Rubio *et al.*, (24).

### AlphaFold2 en la inmunoterapia y la medicina de precisión

Los anticuerpos son capaces de interactuar con miles de blancos moleculares de manera específica, estas proteínas son parte del sistema inmune, y circulan en el torrente sanguíneo para detectar y neutralizar toxinas, virus, bacterias, e inclusive antígenos de superficie de células tumorales o procesos autoinmunes. Esta enorme capacidad de

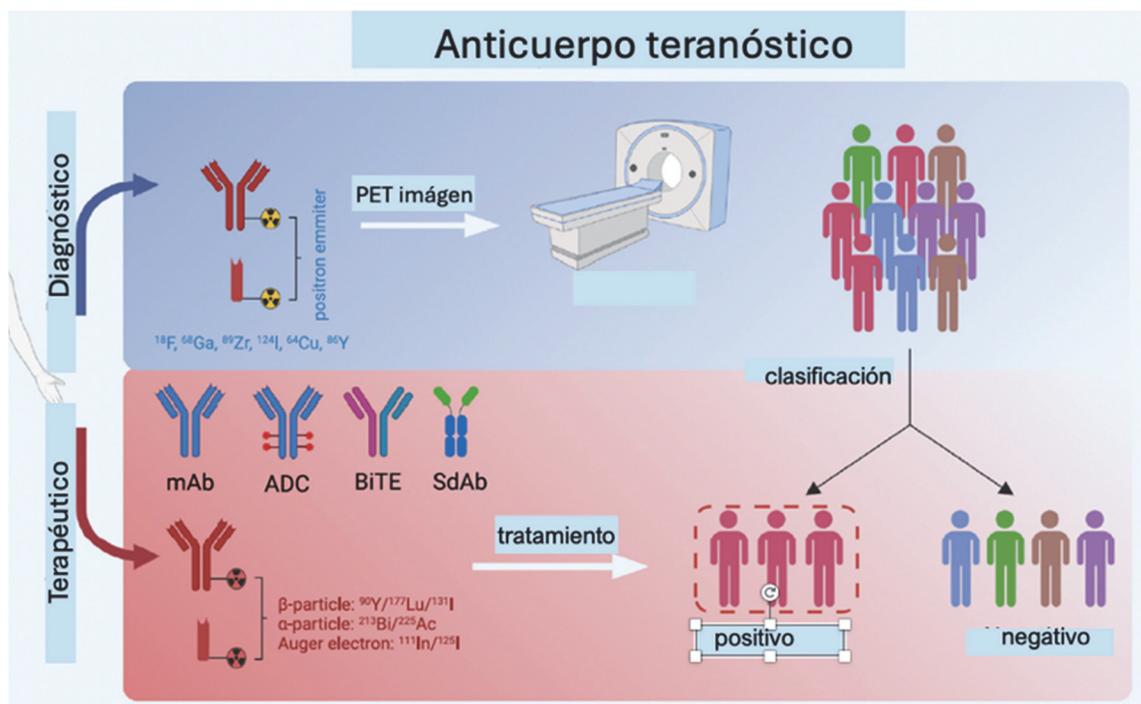
interacción selectiva se debe a la variabilidad en secuencia y conformación de las regiones “determinantes de la complementariedad” denominada CDR (por sus siglas en inglés, complementary-determining region). Esta región se encuentra en el extremo de la porción variable de la cadena ligera y de la cadena pesada de los anticuerpos (Figs. 9 y 10).



**Figura 9. Relación efectividad – penetración de anticuerpos en tejidos tumorales.** Las fracciones unidas de cadena variable y ligera ScFv, presentan mayor penetración al tejido tumoral, con rápida eliminación, lo cual ayuda a reducir los efectos tóxicos. Figura modificada de Carter, *et al.*, (30).

La enorme capacidad de inmunodetección se ha convertido en un arma terapéutica de gran valor para detectar biomarcadores (proteínas) que se presentan de manera específica durante diversas patologías, que van desde procesos inflamatorios crónicos, a enfermedades autoinmunes y diversos procesos de cáncer. En mayo del 2022 se habían aprobado 22 anticuerpos para uso teranóstico en investigación clínica (27). Por lo que ha surgido una gran oportunidad para la producción de anticuerpos de novo (26), con la gran ventaja de que no se requiere diseñar todo el anticuerpo sino solo los fragmentos de cadena variable de la cadena ligera y la cadena pesada (que contienen los sitios de reconocimiento específico), lo que genera una proteína con las bondades de las proteínas de novo (más solubles, termoestables, etc), y que además es más fácil de producir por métodos de tecnología de DNA recombinante, en vez de generar anticuerpos por métodos convencionales que incluyen la inmunización de organismos o el despliegue de fagos, para su detección por visualización en levaduras, que son consumidoras de tiempo, costosos y de mayor mantenimiento de un laboratorio especializado. Por lo que es posible utilizar estos fragmentos de anticuerpos como agentes teranósticos (28), es decir,

funcionan para el diagnóstico y/o la terapéutica. Durante el diagnóstico (Fig. 10), se unen radioisótopos nucleares de vida media baja que emiten positrones de rango corto, con otras moléculas biológicas con el fin de detectar por métodos de imagen molecular no invasiva, como la Tomografía de emisión de positrones, conocida como PET por sus siglas en inglés. Esta metodología permitirá diagnosticar y verificar el avance o eliminación de tumores presentes en individuos durante el tratamiento (29), con la ventaja de que los fragmentos de anticuerpos que no interactúan con sus blancos moleculares son eliminados rápidamente por vía renal, debido a su menor tamaño (25 kDa) con respecto al anticuerpo completo (150 kDa). De igual manera, estos mismos anticuerpos, en su modalidad terapéutica, pueden ser modificados con radiofármacos que emitan radiaciones tipo “ $\alpha$  o  $\beta$ ” para realizar la radioinmunoterapia, con la gran ventaja que se eliminan mucho más rápido del paciente las fracciones que no reaccionan (aproximadamente en media hora), por lo que la inmunoespecificidad que confiere el anticuerpo se combina con la radiación específica a tejidos tumorales, reduciendo daños colaterales en el resto del organismo.



**Figura 10. Anticuerpos teranósticos.** Un anticuerpo puede ser utilizado tanto para el diagnóstico como para la terapia, dependiendo de la unión de isótopos no radiactivos para imagen o radioisótopos radioactivos (Figura modificada a partir de la publicada por Wu *et al.*, (29).

Existe otra variación de los anticuerpos conjugados químicamente con fármacos citotóxicos, denominados anticuerpos conjugados a drogas (ACD), los cuales son específicos contra epítopos de células cancerosas, que inhiben procesos celulares mediados por microtúbulos (división celular), unión a DNA, o a topoisomerasas (que ayudan a remodelar la topología del DNA y son fundamentales para la expresión de los genes). A la fecha, estos anticuerpos conjugados están basados en anticuerpos completos IgG1 cuyas secuencias han sido humanizadas para evitar respuestas tóxicas (Fig. 10). Como estos anticuerpos reconocen receptores específicos a células tumorales, estos actúan en el interior de las células tumorales, por lo que minimizan daños colaterales. Por ejemplo, *Adcetris* es un anticuerpo conjugado aprobado por la FDA que es utilizado en el linfoma anaplásico de células grandes, presente en el linfoma de Hodgkin (29), este anticuerpo conjugado es específico para el receptor de necrosis CD30, el cual se sobreexpresa en este tipo de linfomas. Otro ejemplo es *Kadcyla*, un fármaco que es utilizado para tratar el cáncer metastásico de tejido mamario; en este tipo de patología se expresa notablemente el factor de crecimiento epidérmico tipo 2 (HER2) (sobreexpresión de más de un 20% en comparación con la expresión de las células normales), Este anticuerpo funciona impidiendo la dimerización de la tubulina, lo cual inhibe la proliferación tumoral (24). Estos anticuerpos podrán ser generados por la metodología *de novo*, lo que permitirá que sean más termoestables, más solubles, y mediante conjugación química, se pueden unir a una gran variedad de compuestos citotóxicos, como un primer paso para iniciar estudios clínicos. Esta metodología permitirá que estos diseños sean más específicos a las variaciones poblacionales de cada localidad, lo que sin lugar a dudas nos llevará a avanzar en la medicina a la medida, lo que se ha llamado como medicina de precisión (31).

## Referencias

1. Bustin, S. A., and Jellinger, K. A. (2023) Advances in Molecular Medicine: Unravelling Disease Complexity and Pioneering Precision Healthcare. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 14168
2. Paul, S., Konig, M. F., Pardoll, D. M., Bettegowda, C., Papadopoulos, N., Wright, K. M., Gabelli, S. B., Ho, M., Van Elsas, A., and Zhou, S. (2024) Cancer therapy with antibodies. *Nat. Rev. Cancer.* 10.1038/s41568-024-00690-x
3. Kortemme, T. (2024) De novo protein design—From new structures to programmable functions. *Cell.* **187**, 526–544
4. Anfinsen, C. B. (1972) The formation and stabilization of protein structure. *Biochem. J.* **128**, 737–749
5. Anfinsen, C. B. (1973) Principles that Govern the Folding of Protein Chains. *Science.* **181**, 223–230

## Consideraciones finales

Recientemente, el grupo DeepMind (compañía de Google) lanzó un servidor con la versión del AlphaFold3 (32), en donde se modificó el algoritmo para incluir las predicción estructurales de proteínas en interacción con DNA ó RNA (ácidos nucleicos), metales, azúcares, etc. También el grupo de RoseTTAFold (22) generó su versión “*para todos los átomos*”, lo que incluye interacciones con DNA, metales, moléculas pequeñas diversas y modificaciones covalentes. En ambos algoritmos se incluyó como paso final el proceso denominado RoseTTAFold diffusion (RFDifusion) que utiliza la reconstrucción de imágenes eliminando el ruido, en el sentido de teoría de la información, como en “de ruido a señal”. En ambas versiones de diseño computacional descritas es posible producir buenos modelos estructurales de las proteínas interactuando con una diversidad de moléculas (no proteicas), lo que seguramente será beneficiosa para el diseño de inhibidores o fármacos potenciales para diversos padecimientos. Sin duda esto ayudará a diseñar interacciones proteínas-DNA, o bien rediseñar el papel de las modificaciones químicas en las proteínas. Por todo lo anterior, el rediseño de proteínas basada en proteínas *de novo* (asistidos por redes neuronales) es una nueva tecnología que repercutirá tanto en el diseño de biosensores para el diagnóstico de enfermedades de manera temprana, así como en el diseño de proteínas con fines terapéuticos para ser puestas a prueba en diversos estudios clínicos, es decir permitirá avanzar en la medicina de precisión.

## Agradecimientos

Al proyecto Papiit IN222719 por financiación parcial y a los revisores y Comité Editorial del Taller de Educación Bioquímica, por sus valiosas sugerencias para mejorar la comprensión del manuscrito.

6. Degrado, W. F. (1988) Design of Peptides and Proteins. in *Advances in Protein Chemistry*, pp. 51–124, Elsevier, **39**, 51–124
7. Kuhlman, B., Dantas, G., Ireton, G. C., Varani, G., Stoddard, B. L., and Baker, D. (2003) Design of a Novel Globular Protein Fold with Atomic-Level Accuracy. *Science.* **302**, 1364–1368
8. Woolfson, D. N. (2021) A Brief History of De Novo Protein Design: Minimal, Rational, and Computational. *J. Mol. Biol.* **433**, 167160
9. Winnifrieth, A., Outeiral, C., and Hie, B. L. (2024) Generative artificial intelligence for de novo protein design. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **86**, 102794
10. Jing, H., Gao, Z., Xu, S., Shen, T., Peng, Z., He, S., You, T., Ye, S., Lin, W., and Sun, S. (2024) Accurate prediction of antibody function and structure using bio-

- inspired antibody language model. *Brief. Bioinform.* **25**, bbae245
11. Mirdita, M., Schütze, K., Moriwaki, Y., Heo, L., Ovchinnikov, S., and Steinegger, M. (2022) ColabFold: making protein folding accessible to all. *Nat. Methods.* **19**, 679–682
  12. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Židek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J., Back, T., Petersen, S., Reiman, D., Clancy, E., Zielinski, M., Steinegger, M., Pacholska, M., Berghammer, T., Bodenstein, S., Silver, D., Vinyals, O., Senior, A. W., Kavukcuoglu, K., Kohli, P., and Hassabis, D. (2021) Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature.* **596**, 583–589
  13. Xu, T., Xu, Q., and Li, J. (2023) Toward the appropriate interpretation of AlphaFold2. *Front. Artif. Intell.* **6**, 1149748
  14. Bertoline, L. M. F., Lima, A. N., Krieger, J. E., and Teixeira, S. K. (2023) Before and after AlphaFold2: An overview of protein structure prediction. *Front. Bioinforma.* **3**, 1120370
  15. Karelina, M., Noh, J. J., and Dror, R. O. (2023) How accurately can one predict drug binding modes using AlphaFold models? *eLife.* **12**, RP89386
  16. Marks, D. S., Colwell, L. J., Sheridan, R., Hopf, T. A., Pagnani, A., Zecchina, R., and Sander, C. (2011) Protein 3D Structure Computed from Evolutionary Sequence Variation. *PLoS ONE.* **6**, e28766
  17. Akdel, M., Pires, D. E. V., Pardo, E. P., Jänes, J., Zalevsky, A. O., Mészáros, B., Bryant, P., Good, L. L., Laskowski, R. A., Pozzati, G., Shenoy, A., Zhu, W., Kundrotas, P., Serra, V. R., Rodrigues, C. H. M., Dunham, A. S., Burke, D., Borkakoti, N., Velankar, S., Frost, A., Basquin, J., Lindorff-Larsen, K., Bateman, A., Kajava, A. V., Valencia, A., Ovchinnikov, S., Durairaj, J., Ascher, D. B., Thornton, J. M., Davey, N. E., Stein, A., Elofsson, A., Croll, T. I., and Beltrao, P. (2022) A structural biology community assessment of AlphaFold2 applications. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **29**, 1056–1067
  18. Ren, F., Ding, X., Zheng, M., Korzinkin, M., Cai, X., Zhu, W., Mantsyov, A., Aliper, A., Aladinskiy, V., Cao, Z., Kong, S., Long, X., Man Liu, B. H., Liu, Y., Naumov, V., Shneyderman, A., Ozerov, I. V., Wang, J., Pun, F. W., Polykovskiy, D. A., Sun, C., Levitt, M., Aspuru-Guzik, A., and Zhavoronkov, A. (2023) AlphaFold accelerates artificial intelligence powered drug discovery: efficient discovery of a novel CDK20 small molecule inhibitor. *Chem. Sci.* **14**, 1443–1452
  19. Varadi, M., Bertoni, D., Magana, P., Paramval, U., Pidruchna, I., Radhakrishnan, M., Tsenkov, M., Nair, S., Mirdita, M., Yeo, J., Kovalevskiy, O., Tunyasuvunakool, K., Laydon, A., Židek, A., Tomlinson, H., Hariharan, D., Abrahamson, J., Green, T., Jumper, J., Birney, E., Steinegger, M., Hassabis, D., and Velankar, S. (2024) AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences. *Nucleic Acids Res.* **52**, D368–D375
  20. Borkakoti, N., and Thornton, J. M. (2023) AlphaFold2 protein structure prediction: Implications for drug discovery. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **78**, 102526
  21. Varadi, M., Bertoni, D., Magana, P., Paramval, U., Pidruchna, I., Radhakrishnan, M., Tsenkov, M., Nair, S., Mirdita, M., Yeo, J., Kovalevskiy, O., Tunyasuvunakool, K., Laydon, A., Židek, A., Tomlinson, H., Hariharan, D., Abrahamson, J., Green, T., Jumper, J., Birney, E., Steinegger, M., Hassabis, D., and Velankar, S. (2024) AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences. *Nucleic Acids Res.* **52**, D368–D375
  22. Krishna, R., Wang, J., Ahern, W., Sturmfels, P., Venkatesh, P., Kalvet, I., Lee, G. R., Morey-Burrows, F. S., Anishchenko, I., Humphreys, I. R., McHugh, R., Vafeados, D., Li, X., Sutherland, G. A., Hitchcock, A., Hunter, C. N., Kang, A., Brackenbrough, E., Bera, A. K., Baek, M., DiMaio, F., and Baker, D. (2024) Generalized biomolecular modeling and design with RoseTTAFold All-Atom. *Science.* **384**, ead12528
  23. Yin, R., and Pierce, B. G. (2024) Evaluation of ALPHA FOLD antibody–antigen modeling with implications for improving predictive accuracy. *Protein Sci.* **33**, e4865
  24. Quijano-Rubio, A., Ulge, U. Y., Walkey, C. D., and Silva, D.-A. (2020) The advent of de novo proteins for cancer immunotherapy. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **56**, 119–128
  25. Quijano-Rubio, A., Yeh, H.-W., Park, J., Lee, H., Langan, R. A., Boyken, S. E., Lajoie, M. J., Cao, L., Chow, C. M., Miranda, M. C., Wi, J., Hong, H. J., Stewart, L., Oh, B.-H., and Baker, D. (2021) De novo design of modular and tunable protein biosensors. *Nature.* **591**, 482–487
  26. Fu, Z., Li, S., Han, S., Shi, C., and Zhang, Y. (2022) Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy. *Signal Transduct. Target. Ther.* **7**, 93
  27. Yang, Z., Zeng, X., Zhao, Y., and Chen, R. (2023) AlphaFold2 and its applications in the fields of biology and medicine. *Signal Transduct. Target. Ther.* **8**, 115
  28. Turner, J. H. (2024) Theranostics: Timing is Everything. *Cancer Biother. Radiopharm.* 10.1089/cbr.2024.0088
  29. Monroy-Iglesias, M. J., Crescioli, S., Beckmann, K., Le, N., Karagiannis, S. N., Van Hemelrijck, M., and Santaolalla, A. (2022) Antibodies as biomarkers for cancer risk: a systematic review. *Clin. Exp. Immunol.* **209**, 46–63
  30. Carter, L. M., Poty, S., Sharma, S. K., and Lewis, J. S. (2018) Preclinical optimization of antibody-based radiopharmaceuticals for cancer imaging and radionuclide therapy—Model, vector, and radionuclide selection. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **61**, 611–635
  31. Wu, Q., Yang, S., Liu, J., Jiang, D., and Wei, W. (2023) Antibody theranostics in precision medicine. *Med.* **4**, 69–74
  32. Abramson, J., Adler, J., Dunger, J., Evans, R., Green, T., Pritzel, A., Ronneberger, O., Willmore, L., Ballard, A. J., Bambrick, J., Bodenstein, S. W., Evans, D. A., Hung, C.-C., O’Neill, M., Reiman, D., Tunyasuvunakool, K., Wu, Z., Žemgulytė, A., Arvaniti, E., Beattie, C., Bertolli, O., Bridgland, A., Cherepanov, A., Congreve, M., Cowen-Rivers, A. I., Cowie, A., Figurnov, M., Fuchs, F. B., Gladman, H., Jain, R., Khan, Y. A., Low, C. M. R., Perlin,

K., Potapenko, A., Savy, P., Singh, S., Stecula, A., Thillaisundaram, A., Tong, C., Yakneen, S., Zhong, E. D., Zielinski, M., Žídek, A., Bapst, V., Kohli, P., Jaderberg, M., Hassabis, D., and Jumper, J. M. (2024) Accurate structure prediction of biomolecular

interactions with AlphaFold 3. *Nature*. 10.1038/s41586-024-07487-w



**Dr. Alejandro Sosa Peinado**  
**ORCID: 0000-0002-8280-0700**

Estudió biología en la Facultad de Ciencias de la UNAM y es doctor en Investigación Biomédica Básica por la UNAM. Realizó estancias postdoctorales en Chicago Medical School y en La Universidad de Chicago. Ha realizado estancias sabáticas en la universidad de Edimburgo, UK y en la compañía de diseños de proteínas Monod Bio Inc en Seattle, Washington, USA. El Dr. Sosa estudia las relaciones entre la estructura y la función de las proteínas por lo que estudia la dinámica conformacional de proteínas por métodos experimentales y teóricos. Como consecuencia, desarrolló un biosensor y actualmente se dedica el rediseño de proteínas por métodos de inteligencia artificial.



Facultad de Medicina



Versión electrónica en  
<http://biosensor.facmed.unam.mx/mensajebioquimico/>

**MENSAJE BIOQUÍMICO**

Mens. Bioquím. 48 (2024) 29-47



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Las mitocondrias, el sexo, las drogas y el rock

### Mitochondria, sex, drugs, and rock

Flores-Herrera, Oscar  ; Esparza-Perusquía, Mercedes; Cruz-Vilchis, Diana; López-Cervantes, Paola; Cruz-Cárdenas, Alejandro; García-Cruz, Giovanni; de Lira-Sánchez, Jaime; Martínez, Federico; Pardo, Juan Pablo.

Laboratorio 3<sup>o</sup>/4, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ Av. Universidad 3000, C.U., Coyoacán, 04360 Ciudad de México, CDMX.  
Tel: +52 (55) 56232510; [oflores@bq.unam.mx](mailto:oflores@bq.unam.mx)

Editor responsable: Noemi Meraz-Cruz  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.04>

Recibido: 10 de junio de 2024  
Revisado: 14 de junio de 2024  
Aceptado: 28 de junio de 2024

#### Resumen

Desde sus orígenes, la mitocondria ha adaptado su forma, número y metabolismo a los requerimientos de su célula huésped. Debido a que la mitocondria conserva parte de sus genes ancestrales, y a que su transferencia a la siguiente generación es exclusivamente por línea materna, su comunicación con el genoma nuclear es influenciada en gran medida por el sistema hormonal. El estrógeno desempeña un papel importante en el mantenimiento mitocondrial, el metabolismo energético y la producción de especies reactivas de oxígeno lo que posteriormente repercute en la patología de diversas enfermedades metabólicas, cardíacas o neuronales. Las enfermedades que involucran a las mitocondrias muestran un claro dimorfismo sexual. Existe la prescripción de diversas drogas terapéuticas que tienen como blanco a la mitocondria, particularmente su metabolismo respiratorio, la síntesis de ATP o la replicación y expresión de su material genético. Actualmente se ha desarrollado la terapia génica mitocondrial sobre la enfermedad de Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber (LHON).

*Palabras claves:* Mitocondria; miopatías; estrógeno; dimorfismo sexual mitocondrial; Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber (LHON).

#### Abstract

Since its origins, the mitochondria have adapted their shape, number and metabolism to the requirements of their host cell. Because the mitochondria retain some of their ancestral genes, and because their transfer to the next generation is exclusively through the maternal line, its communication with the nuclear genome is greatly influenced by the hormonal system. Estrogen plays an important role in mitochondrial maintenance, energy metabolism and ROS production, which subsequently impacts the pathology of various diseases such as metabolic, cardiac or neuronal diseases. Diseases involving the mitochondria show clear sexual dimorphism. There is the prescription of various therapeutic drugs that target the mitochondria, particularly its respiratory metabolism, the synthesis of ATP or the replication and expression of its genetic material. Currently, mitochondrial gene therapy has been developed for Leber's Hereditary Optic Neuropathy disease.

*Keywords:* Mitochondria; myopathies; estrogen; mitochondrial sexual dimorphism; LHON.

## Introducción

### Su descubrimiento y su papel celular

Llamadas blefaroblastos, condriocontos, condriomitas, condrioplastos, condriosomas, condriosferas, gránulos ficinofilicos, Korner, Fadenkorper, mitogel, cuerpos parabasales, plasmomas, plastocondria, plastosomas, vermículas, sarcosomas, cuerpos intersticiales o blioblastos, las mitocondrias fueron observadas en 1850 como estructuras intracelulares. Avances en la microscopía de luz y en la tinción de las células favorecieron su observación, lo que permitió su descripción morfológica más precisa como un entramado de filamentos (*mito*) y granos (*condria*) (1). En 1888, R.A. Kollicker microdisecionó algunas mitocondrias del músculo de insectos y observó que se hinchaban al colocarlos en agua, concluyendo que estos orgánulos tienen una membrana. Alrededor de 1890, R. Altmann en un derroche de inspiración descabellada o una idea adelantada a su tiempo, se refirió a las mitocondrias en su libro sobre los Organismos Elementales (*Elementarorganismen*) como unidades vivientes elementales y autónomas, que constituyen colonias tipo bacterias en el citoplasma de la célula huésped (2).

Ya en el siglo XX, Lehninger (1912) observó que las mitocondrias, estructuras subcelulares insolubles, estaban asociadas con la respiración (3). Pasaron más de diez años después de que Carl Lohmann (1931) descubriera el ATP para que se demostrara su papel en el funcionamiento celular; durante este tiempo, Otto Warburg y Otto Meyerhof describieron lo que ahora se conoce como fosforilación a nivel de sustrato (es decir, la síntesis enzimática de ATP a partir de compuestos fosforilados de alta energía); lo que contrasta con las observaciones que hizo Kalckar entre 1937 y 1941, en las que demostró la asociación entre la respiración con la fosforilación oxidativa.

La diferencia entre la síntesis de ATP por la fosforilación a nivel de sustrato y aquella que ocurre por la fosforilación oxidativa, es una pregunta clásica en los cursos de bioquímica. La primera se explica por la actividad enzimática que acopla reacciones químicas exergónicas y endergónicas. La segunda, un poco más interesante, incluye la participación de un grupo de deshidrogenasas especializadas como bombas de protones, una membrana impermeable, el concepto del gradiente electroquímico de protones y una ATP sintasa; todo reunido en la Teoría Quimiosmótica postulada por Peter Mitchell (4) que, aunque fue aceptada con renuencia por la comunidad científica de la época, provocó una revolución en la bioenergética, el papel de las membranas biológicas, el potencial de membrana, el transporte activo, las bombas de iones y el metabolismo vectorial. A partir de ese momento, todas las observaciones científicas

apuntalaron el papel de la mitocondria como la fuente de energía celular, ya que se determinó que produce alrededor del 95% del ATP necesario para mantener la vida eucarionte. De hecho, el cuerpo del lector está produciendo alrededor de 3 g de ATP cada segundo. Además, la mitocondria es un actor central en el mantenimiento del potencial redox, en la producción de especies reactivas de oxígeno, en el control del contenido de iones libres en el citosol (*i.e.*  $\text{Ca}^{2+}$ ), y es blanco de numerosas vías de señalización, cuya respuesta incluye la liberación de factores/proteínas que inician diversos procesos celulares, tales como la apoptosis.

Las mitocondrias contienen su propio DNA (mtDNA), y del análisis de todos los mtDNA conocidos se sabe que hay un conjunto de 69 genes que codifican para proteínas ancestrales (5). El mtDNA de *Homo sapiens* codifica para 13 subunidades de la cadena transportadora de electrones (CTE), 2 ribosomales y 22 RNAs de transferencia; en contraste, el proteoma mitocondrial cuenta con más de 1000 proteínas codificadas en el genoma nuclear (nDNA) (6). Debido a esto, las mitocondrias tienen una composición proteica, estructura y función específica que está exquisitamente adaptada a la fisiología de la célula hospedera.

La pertenencia de las mitocondrias a una estirpe celular específica se refleja en el tipo de vías metabólicas que contiene, cuyas enzimas se codifican en el nDNA. Se ha determinado la diferencia en el perfil de las proteínas que hay entre las mitocondrias aisladas del cerebro, del hígado, del riñón y del corazón de rata (7), lo que ayuda a explicar que las mitocondrias de las neuronas puedan participar en la síntesis de GABA; las de los hepatocitos en el ciclo de la urea; y las de los cardiomiocitos en la fosforilación oxidativa (8). Adicionalmente, hay que considerar la anisotropía subcelular de las mitocondrias, es decir, su ubicación subcelular como perinucleares, periplasmáticas, o asociadas al retículo endoplásmico, lo que hace que las mitocondrias de una misma célula se diferencien en su respuesta espaciotemporal (9).

La adaptación mitocondrial a cada tipo celular también se refleja en su tamaño y número (*i.e.* entre 7,000 y 10,000 en cardiomiocitos que ocupan cerca del 30% del volumen celular; alrededor de 800 en hepatocitos; más de 100,000 en los ovocitos) (10-12) y en sus requerimientos energéticos específicos para sostener la fisiología celular (13).

Debido a la estrecha relación entre el funcionamiento mitocondrial y la supervivencia celular, cualquier defecto en la mitocondria puede provocar alguna patología en cualquier tejido de nuestro cuerpo. Los defectos mitocondriales más conocidos son las mutaciones en el mtDNA. El genoma mitocondrial está representado por múltiples copias, por ejemplo,

hay alrededor de 1000 copias en las mitocondrias de las células somáticas, mientras que en los ovocitos las mitocondrias contienen casi 100,000. Gracias al número de copias del mtDNA que hay en cada célula, las mutaciones frecuentemente ocurren en un número menor al total de éste, lo que provoca que cohabiten copias de mtDNA mutado y sano. A esto se le llama "heteroplasmia". Sólo cuando las mutaciones ocurren en la línea germinal (*i.e.* en los ovocitos), éstas pueden ser heredadas. Estas mutaciones pueden tener serios efectos en la función mitocondrial, particularmente en la disminución de la actividad de los complejos respiratorios y la síntesis de ATP, lo que provoca enfermedades tales como la encefalomiopatía, acidosis láctica, accidente cerebrovascular (*i.e.* síndrome de MELAS), epilepsia mioclónica con fibras rojas rasgadas (*i.e.* síndrome de MERRF) y síndrome Kearns-Sayre (*i.e.* KSS) (14), para las que actualmente no hay tratamiento.

### Dimorfismo sexual

Además de la adaptación de la mitocondria a su célula hospedera, hay que considerar los factores genéticos, epigenéticos, hormonales y ambientales que determinan los rasgos fisiológicos, anatómicos y de comportamiento del dimorfismo sexual y su relación con la mitocondria. Es importante señalar que en la medicina clínica la definición más sencilla de sexo es la diferencia biológica entre los individuos (machos y hembras), y que la de género es la diferencia psicosocial y cultural entre hombres y mujeres (15); a lo largo del texto sólo consideraremos las diferencias biológicas del sexo.

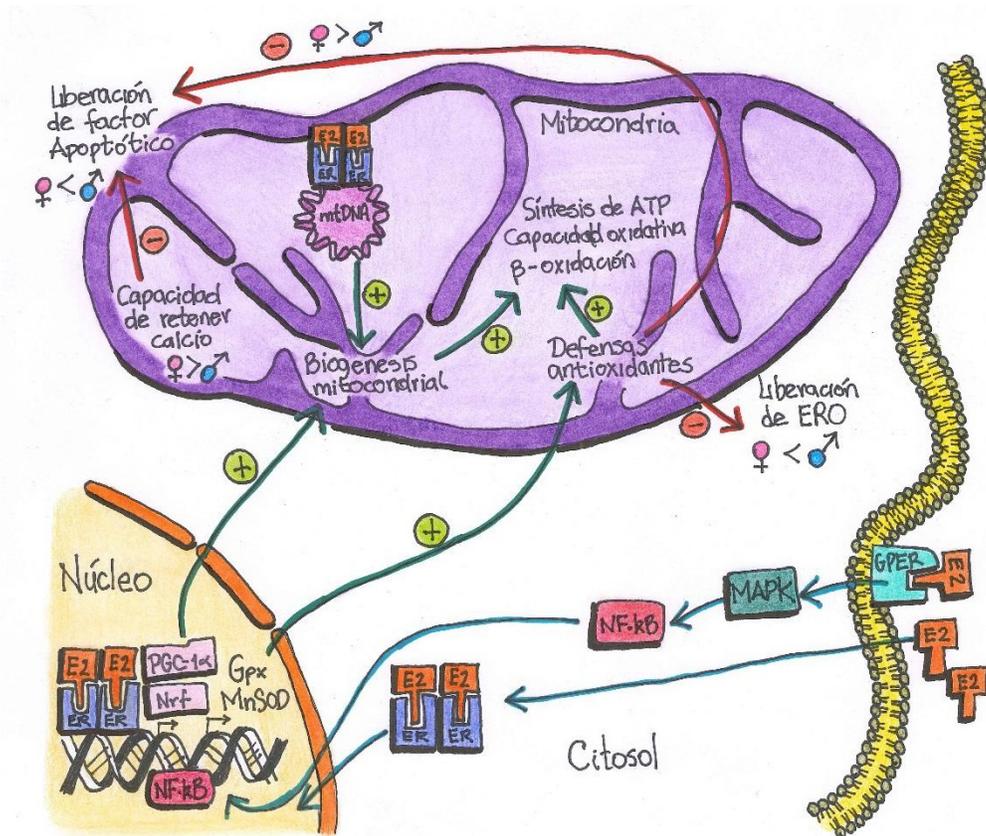
En este sentido, las mitocondrias desempeñan un papel importante en la esteroidogénesis de las hormonas sexuales, tales como el estrógeno (E2), la pregnenolona (P5), la progesterona (P4) y la testosterona, que a su vez regulan la función mitocondrial (16). Además de los receptores celulares a estas hormonas (*i.e.* RE-receptor a estrógeno; RA-receptor a andrógenos; RP-receptor a progesterona) que se localizan en el núcleo y en la membrana plasmática, también se encuentran en las mitocondrias de varios tipos celulares (17-19). En particular, se ha observado que los RE pueden estar unidos al mtDNA, lo que sugiere la participación de los estrógenos en la transcripción y replicación de este material genético (Figura 1). Adicionalmente, los estrógenos pueden aumentar la expresión de proteínas mitocondriales,

tanto codificadas en el núcleo como en la mitocondria, además de estimular la biogénesis mitocondrial (18, 19) y aumentar la función bioenergética durante el mantenimiento de tejidos como el vascular, cardíaco o neuronal (16, 20-22). El papel de los andrógenos sobre la función mitocondrial no es claro.

Una situación *suigeneris* en la relación de la mitocondria con la célula hospedera, es su propio origen. En los vertebrados, y en particular en los mamíferos, la mitocondria es de herencia materna, lo que hace que el mtDNA y el cromosoma X sean heredados asimétricamente, y sean sometidos a una diferente presión de selección entre sexos. Es por esto por lo que se cree que las mitocondrias están mejor optimizadas para su función en las mujeres que en los hombres (23), es decir, la interacción entre el sexo y la mitocondria significa que el sexo masculino está determinado por el nDNA heredado por el padre que regula la actividad de las mitocondrias heredadas por la madre (24).

En este sentido, se ha descrito la repercusión del dimorfismo sexual de las capacidades oxidativas de las mitocondrias en diferentes fuentes biológicas. Por ejemplo, las mitocondrias del hígado de roedores hembras presentan un mayor contenido de cardiolipina y proteínas (25), y una mayor relación mtDNA/nDNA que su contraparte masculina (12); además, fisiológicamente presentan un mayor consumo de oxígeno asociado a la presencia de ADP (*i.e.* estado 3 de la respiración mitocondrial) (25-27), y una mejor respuesta al consumo de una dieta alta en grasa (28).

Respecto al tejido nervioso, se ha descrito que en roedores hembras las mitocondrias de las arterias cerebrales tienen mayor capacidad respiratoria basal, máxima y de reserva que los machos, así como una mayor síntesis de ATP (29). En las neuronas femeninas, las mitocondrias presentan una mayor actividad respiratoria sostenida por el NADH (30), una mayor actividad de la CTE asociada a una mayor síntesis de ATP (31), y una mejor utilización de los ácidos grasos para la obtención de energía (32). A partir de muestras *post mortem* de cerebros de humanos se observó que las enzimas mitocondriales tales como la citrato sintasa, la succinato deshidrogenasa (*i.e.* complejo II de la CTE) y la reductasa mitocondrial (MTT) son más activas en hembras que en machos (33).



**Figura 1. Papel del estrógeno en el funcionamiento mitocondrial.** El complejo E2/ER se transloca al núcleo e induce la transcripción de PGC-1α y los elementos Nrf, los cuales promueven la biogénesis mitocondrial y la expresión de las defensas antioxidantes. El E2 puede interactuar con el ER asociado al mtDNA y promover la replicación y transcripción del mtDNA. La biogénesis mitocondrial promueve la β-oxidación, la respiración y la síntesis de ATP. El E2 también se puede unir al GPER en la membrana plasmática, activando al NF-κB a través de la MAPK, lo que promueve la transcripción de los genes nucleares para las enzimas antioxidantes, reforzando el sistema antioxidante de la mitocondria, preservando su integridad, disminuyendo la liberación de factores apoptóticos. La gran capacidad de la mitocondria de las hembras en retener calcio también contribuye a una menor liberación de los factores apoptóticos.

El dimorfismo sexual también se ha observado en la bioenergética mitocondrial del tejido adiposo blanco (34), y pardo de la rata (35, 36) y del músculo esquelético (37), donde las hembras presentan una mayor actividad que los machos. A partir del análisis del tejido adiposo de humano, se ha determinado que la expresión de los genes implicados en la función mitocondrial es mayor en las mujeres que en los hombres (38).

La fuente energética (*i.e.* carbohidratos, lípidos o proteínas) de las mitocondrias también responde a un dimorfismo sexual. Cuando se estudió el cerebro femenino se encontró que su bioenergética mitocondrial depende preferentemente de la oxidación de lípidos, mientras que las mitocondrias del cerebro masculino consumen más proteínas (32); de hecho, se ha demostrado que, en general, las mitocondrias femeninas pueden obtener la energía oxidando preferentemente lípidos.

De manera similar, se ha observado que los miocitos de roedores hembras contienen una mayor cantidad de lípidos intracelulares en forma de gotas lipídicas (39), lo que, aunado al alto contenido de mitocondrias/miocito, y a su alta capacidad para oxidar lípidos, puede ser una explicación para la mayor resistencia a la fatiga de las hembras que sus homólogos masculinos (40-42). En este sentido, se observó que, durante el ejercicio, los corazones de ratones hembra consumen preferencialmente a los ácidos grasos, en contraste con los machos (43). Todo lo anterior demuestra claramente un dimorfismo sexual de las mitocondrias del músculo, lo que podría estar relacionado con la capacidad de las hembras para adaptarse mejor a las alteraciones en el metabolismo energético.

Otro contraste mitocondrial asociado al dimorfismo sexual es la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO). La mitocondria es el punto final del metabolismo oxidativo de los

carbohidratos, los lípidos y las proteínas al consumir más del 90% del oxígeno celular. Se ha determinado que las mitocondrias del cerebro de ratas hembra presentan una menor producción de ERO que las de machos (44). Además, las mitocondrias del hígado de ratas hembra producen 50% menos peróxidos que aquellas de machos y tienen una mayor cantidad de enzimas antioxidantes (45, 46); en particular la expresión y actividad de la Mn-superóxido dismutasa (Mn-SOD) y de la glutatión peroxidasa es mayor en las mitocondrias de las hembras (46).

Al buscar una posible explicación a esta diferencia mitocondrial asociada al sexo, resalta la presencia de los receptores a estrógenos (RE) en la mitocondria. La biosíntesis del E2 se realiza en las gónadas, principalmente en los ovarios de las mujeres premenopáusicas. No obstante, en la postmenopausia su síntesis puede ocurrir en tejidos tales como el adiposo, el mamario, el adrenal, en el hueso, el corazón, el cerebro y la piel, gracias a que expresan a la enzima aromatasa. En los machos, la próstata y los testículos expresan a la aromatasa y pueden producir bajas cantidades de E2, a partir de los precursores androgénicos (47). El E2 que es transportado por el torrente sanguíneo difunde a través de la membrana plasmática del resto de los tejidos y se une a sus receptores intracelulares, tales como los RE $\alpha$ , RE $\beta$ , y a los receptores acoplados a las proteínas G (GPER). Debido a que las mitocondrias contienen a los RE $\beta$ , son los principales organelos que responden a los efectos inducidos por el E2 (48), regulando su metabolismo bioenergético (49, 50), la muerte celular (51, 52) y la mitofagia (53, 54).

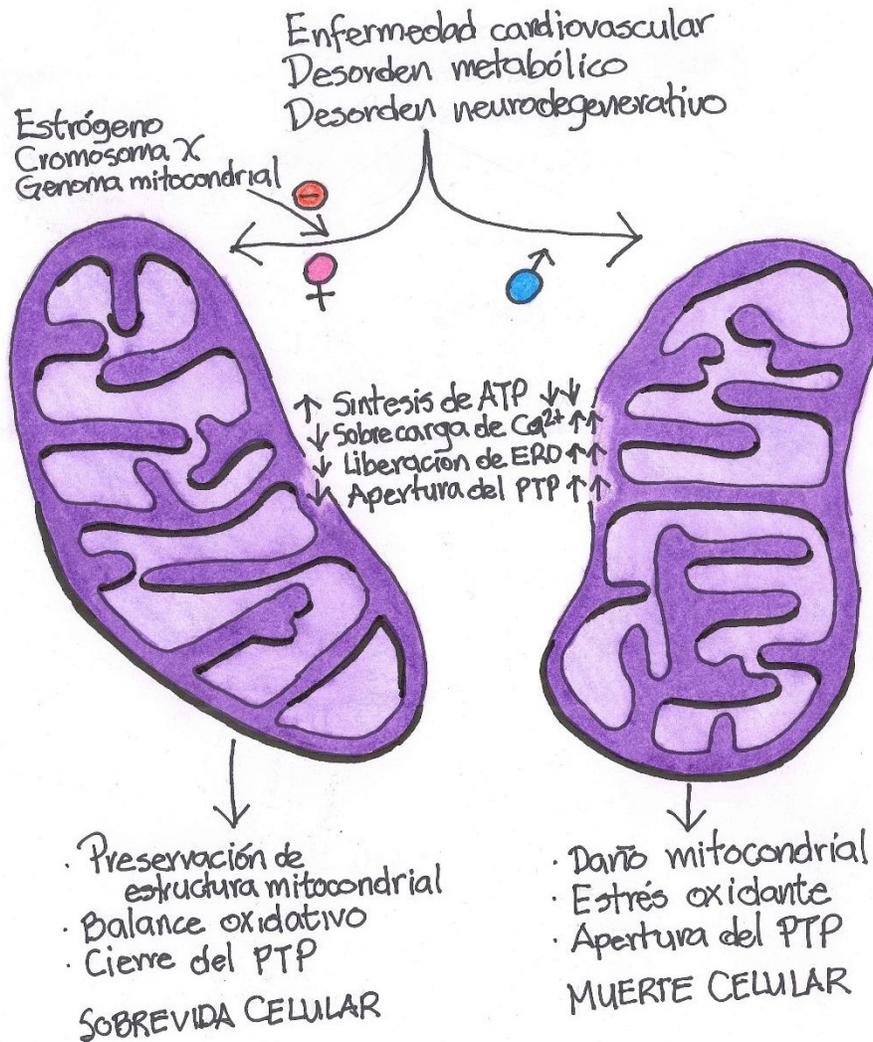
El efecto de la interacción entre el E2 con RE $\beta$  mitocondrial puede promover dos vías: 1) la activación de elementos de regulación que interactúan directamente con el mtDNA y 2) la activación indirecta de proteínas que coordinan al genoma nuclear y al mitocondrial, tales como el Nrf2 (del inglés *nuclear receptor factor 2*) que se une al factor de transcripción PGC-1 $\alpha$  (del inglés *peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , co-activators 1*) (55), el cual es reconocido como el regulador maestro de la biogénesis mitocondrial (56), ya que al unirse a el Nrf1 (del inglés *nuclear receptor factor 1*) promueve la expresión del TFAM (del inglés *mitochondrial transcription factor A*) que, finalmente regula la síntesis de proteínas, la respiración y la remodelación mitocondrial (57-59).

La cascada de señalización que responde a las demandas energéticas celulares y que involucra la participación de PGC-1 $\alpha$ , Nrf1, Nrf2 y TFAM regula la biogénesis y arquitectura mitocondrial (60) a través de su fusión y fisión. La fusión mitocondrial es necesaria para la reparación, estabilidad y replicación del mtDNA (61, 62), para la redistribución de la red mitocondrial, la salud celular y el desarrollo embrionario (63). La fisión es necesaria para segregar de la red mitocondrial a aquellas mitocondrias dañadas, evento vital para el control de calidad mitocondrial; también es importante en la dispersión o reacomodo intracelular, la división celular y la muerte (64-66). Poco se sabe sobre el efecto que las hormonas masculinas tienen sobre la función y estructura mitocondrial. Por ejemplo, la testosterona regula el crecimiento de las células del miocardio y la actividad de algunas proteínas asociadas a la membrana interna mitocondrial en el miocardio ventricular de roedores (67).

#### **Cardiopatías mitocondriales y el sexo.**

La importancia de la relación entre el E2 y la dinámica mitocondrial se aprecia en algunas patologías. La insuficiencia cardíaca (IC) es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad cardiovascular en la cultura occidental, y afecta a los hombres a edades más tempranas que a las mujeres (68). De hecho, las mujeres premenopáusicas presentan menos enfermedades cardiovasculares (ECV) que los hombres de su misma edad. Sin embargo, después de la menopausia la tasa de desarrollo y mortalidad por las ECV en mujeres excede a la de los hombres (69). En este sentido, el E2 induce la S-nitrosilación de la mitofusina 2 (Mfn2), lo que modifica la arquitectura mitocondrial y mejora la función vascular (70).

El análisis de la diferencia sexual en la IC ha permitido determinar que algunos de sus marcadores biológicos, como las alteraciones en el metabolismo y en la biogénesis y función mitocondrial, son menos importantes en hembras que en machos (71). Se ha propuesto que estas diferencias pueden contribuir a que las hembras muestren una mejor protección contra la IC que los machos (Figura 2). De hecho, la deficiencia experimental en la producción de E2 compromete el funcionamiento mitocondrial debido a la regulación negativa de la PGC-1 $\alpha$ , provocando la remodelación concéntrica del ventrículo izquierdo en los roedores hembra similar a lo observado posterior a la menopausia (72).



**Figura 2. Eventos fisiopatológicos sexo-dependientes que involucran a las mitocondrias.** Las enfermedades crónicas con un componente mitocondrial muestran un dimorfismo sexual, con una baja incidencia en las hembras antes de la menopausia. Los eventos fisiopatológicos involucran la disminución de la función mitocondrial, alteran la homeostasis del calcio y el incremento en la producción de ERO que provocan la apertura del PTP y la muerte celular en los machos, mientras que en las hembras todos estos eventos se preservan bajo control. El E2 parece que desempeña un papel importante, aunque la selección del cromosoma X y el mtDNA también puede estar involucrada.

Un evento interesante sobre la protección femenina contra la IC es el efecto cardioprotector de las antraciclinas usadas en la terapia anticancerígena. La doxorubicina, la antraciclina de mayor uso clínico, induce la toxicidad cardíaca a través del daño mitocondrial y aumento del estrés oxidante (73, 74). Las ratas hembra son menos sensibles a los efectos cardioprotectores de la doxorubicina que las ratas macho (75-77), probablemente debido al papel que desempeñan el metabolismo energético, la vía de señalización asociada a la AMPK, a las cardiolipinas y al funcionamiento mitocondrial de las hembras (75, 76). La cardiopatía isquémica es la principal causa de

mortalidad y morbilidad en ambos sexos, aunque las hembras premenopáusicas tienen un menor riesgo (78, 79). La isquemia y reperfusión causan una variedad de daños funcionales y estructurales en las mitocondrias, debido en parte al exceso en la producción de ERO y la sobrecarga de calcio intramitocondrial, lo que desemboca en la apertura del poro de la transición de la permeabilidad (PTP), la pérdida del gradiente electroquímico de protones, la disminución en la síntesis mitocondrial de ATP y la muerte celular (80). El corazón femenino es más resistente a la hipoxia (81, 82), y el tamaño del daño

por isquemia-reperfusión luego de un infarto es menor en las ratas hembra que en los machos (83).

Así pues, se ha determinado que en el sexo femenino el efecto protector contra la ECV está ligado al alto contenido de mitocondrias en el cardiomiocito y al papel del E2 en la protección mitocondrial contra la producción de ERO, el manejo del calcio y la mayor síntesis de ATP.

### Enfermedades metabólicas y el sexo

Otras patologías asociadas a la disfunción mitocondrial son las enfermedades metabólicas, en particular la obesidad y la diabetes tipo 2 (DT2). Aunque el estado nutricional, el estilo de vida y el ambiente desempeñan un papel significativo en estas patologías, los datos experimentales y clínicos sugieren que existen diferencias sexuales principalmente asociadas a las hormonas. Una de estas diferencias recae en la fuente energética empleada; mientras que los machos usan como principal combustible a los carbohidratos, las hembras emplean a los lípidos. Actualmente sabemos que el E2 y su vía de señalización regulan el metabolismo de los lípidos en el tejido hepático y cardíaco además de regular la respuesta a la hipoglucemia (84). En nuestro organismo, los estrógenos regulan la ingesta y el gasto energético, protegiendo así contra la adiposidad, la resistencia a la insulina y la DT2.

Se ha sugerido que la interacción E2/RE $\alpha$  induce mecanismos genómicos, no-genómicos y mitocondriales que regulan la señal de la insulina, la oxidación de los nutrientes y el metabolismo energético (85). De hecho, la disminución en la producción de E2, como en la menopausia, contribuye a elevar el riesgo de diabetes en las mujeres (85, 86). La hormona masculina también desempeña un papel. Individuos con niveles bajos de testosterona tienen tres veces más prevalencia de síndrome metabólico que las personas sanas. Además, la disminución en la síntesis de testosterona está asociada a un bajo perfil oxidativo y a la disfunción mitocondrial que promueve la resistencia de la insulina (87).

Clínicamente se ha observado que en pacientes diabéticos la incidencia de ECV es alta, con mayor incidencia en mujeres que en hombres (88). En ratas hembra, la respiración de las mitocondrias cardíacas es más afectada durante la diabetes inducida con estreptozotocina que en los machos, aunque el tratamiento con insulina restaura mejor su función mitocondrial (89).

El dimorfismo sexual también se ha observado en roedores alimentados con una dieta alta en grasa. Los adipocitos de la grasa parda de los machos alimentados con una dieta alta en grasa muestran un

incremento en la diferenciación mitocondrial, mientras que las hembras presentan un decremento en la función mitocondrial pero un aumento en la proliferación mitocondrial (90). En el hígado, la dieta alta en grasa aumenta los niveles de proteína mitocondrial e incrementa su capacidad oxidativa en las hembras (28). Así pues, el impacto del dimorfismo en el estado metabólico celular y las enfermedades metabólicas involucra la correlación entre las hormonas esteroideas y las mitocondrias.

### Neuropatías y mitocondrias

Las últimas patologías que discutiremos serán los desórdenes neurológicos, los cuales pueden ser la causa o consecuencia de la disfunción mitocondrial. De manera similar a lo observado en otras patologías, los machos son más susceptibles al daño del sistema nervioso central debido a la ausencia del papel protector de las hormonas (i.e. estrógeno) sobre las mitocondrias; de hecho, en los organismos femeninos la resistencia al daño cerebral puede estar relacionado a un menor estrés oxidante mitocondrial y a un mayor sistema antioxidante. Se ha determinado que la cascada de señalización asociada a los RE está implicada en la expresión del sistema antioxidante (46), en particular en las células endoteliales cerebrales, incrementando la síntesis de proteínas mitocondriales y reduciendo la producción de las ERO (91).

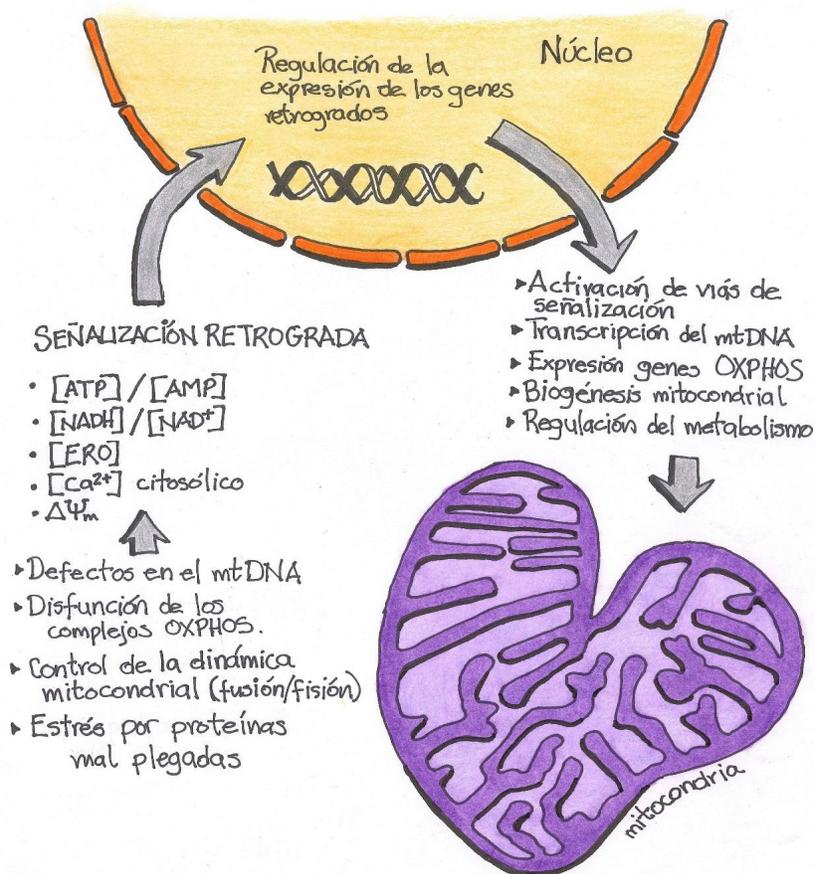
La enfermedad de Alzheimer (EA) es por mucho, la demencia neurodegenerativa más común en la población anciana, lo que representa el 60% de los casos de demencia (92). La incidencia de esta patología es menor en las hembras jóvenes que en los machos, aunque incrementa en las mujeres postmenopáusicas (92). El E2 desempeña un papel protector contra la EA por medio de conservar y promover la función mitocondrial (93, 94). Dentro de los efectos benéficos del E2 se incluyen el mantenimiento del potencial de membrana y la bioenergética mitocondrial, y la promoción de la defensa antioxidante contra los radicales libres (21).

Actualmente se sabe que las enfermedades neurodegenerativas involucran la disfunción mitocondrial que incluye la baja en la síntesis de ATP, el manejo de la concentración de calcio intramitocondrial, y la producción de ERO. Estas enfermedades tienen una alta prevalencia en hombres que en mujeres antes de la menopausia. Todo esto coloca a la mitocondria en un papel central en el dimorfismo sexual de las enfermedades neurodegenerativas y en el desarrollo de nuevas terapias clínicas.

### Comunicación retrograda entre la mitocondria y el núcleo

Para que la mitocondria responda a las necesidades celulares debe mantener una eficiente comunicación con el núcleo; esta comunicación se conoce como señalización retrógrada (95). La homeostasis mitocondrial, además de ser promovida por cambios en la síntesis de proteínas mitocondriales codificadas en genes nucleares, la señalización retrógrada también modifica la expresión global de los genes nucleares (Figura 3).

En las células de mamíferos, las proteínas Cox-Va,  $\beta$ -actina, myc, GAPDH y EF-1 fueron las primeras involucradas en la señalización retrógrada (96, 97). Esta regulación retrógrada está relacionada al cambio en el metabolismo energético y el tipo de combustible que emplea la célula, la dinámica y el control de calidad mitocondrial.



**Figura 3. Regulación retrógrada entre la mitocondria y el núcleo** Existen cuatro tipos de disfunción mitocondrial, los cuales provocan, al menos, cinco diferentes señales: las relaciones [ATP]/[AMP], [NADH]/[NAD<sup>+</sup>], producción de ERO, calcio libre y la reducción del potencial de membrana ( $\Delta\Psi_m$ ). Las señales mitocondriales disparan cambios en la expresión de genes nucleares que promueven diferentes respuestas sobre las mitocondrias.

### Compuestos xenobióticos y la mitocondria

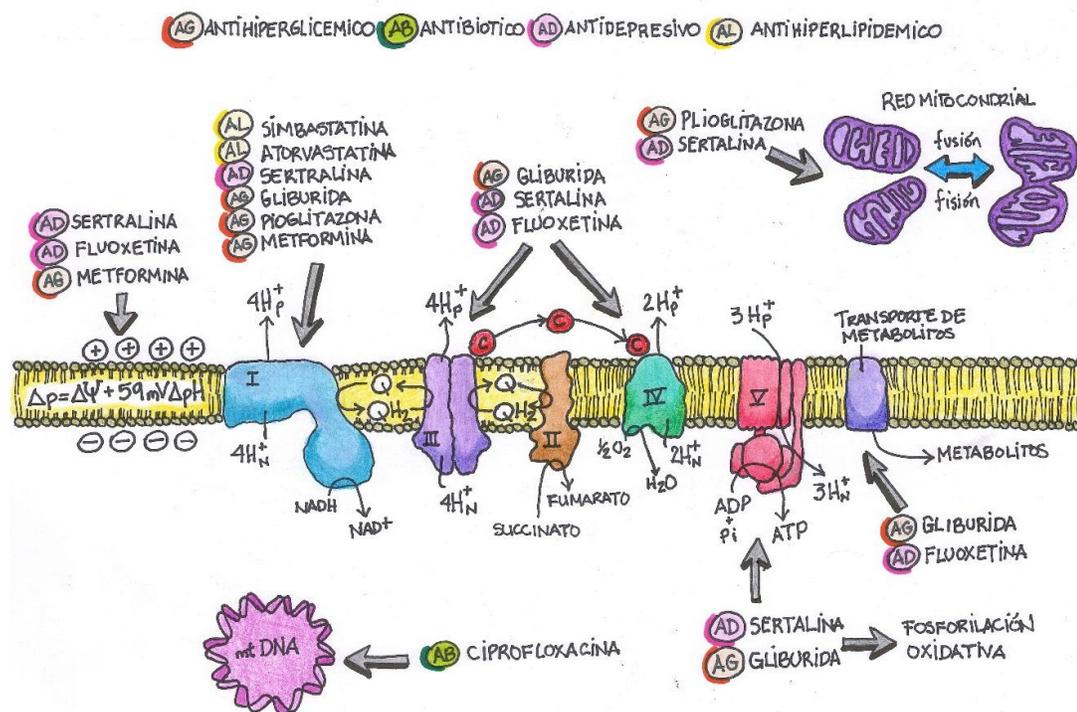
Hasta ahora hemos descrito la estrecha relación que hay entre el metabolismo de la mitocondria y el de su célula hospedera; y cómo la disfunción mitocondrial es la causa o consecuencia de diferentes patologías asociadas al dimorfismo sexual. Ahora revisaremos los resultados experimentales que se han obtenido al usar diferentes moléculas para modificar el metabolismo mitocondrial con intención de detener, atenuar o eliminar estas enfermedades (Figura 4).

Se ha demostrado que la exposición de las mitocondrias a los compuestos xenobióticos está sujeta a variables farmacocinéticas tales como la distribución de la droga en los tejidos, su metabolismo y su excreción; además, la anisotropía subcelular de la mitocondria compromete su exposición a la concentración adecuada del fármaco por el tiempo necesario para tener un efecto esperado, y disminuir los secundarios. Los compuestos xenobióticos se clasifican empíricamente según el elemento proteico con el que interactúan o el impacto que tienen en la

fisiología mitocondrial; así, hay xenobióticos que actúan sobre el sistema transductor de energía, aquellos que modifican el potencial de membrana o la producción de  $H_2O_2$ , entre otros (9).

El metabolismo mitocondrial y la generación de energía dependen del transporte de los diferentes

nutrientes desde el citosol hasta la matriz mitocondrial a través de la membrana interna (MI) que es impermeable. Este transporte es mediado por una familia de acarreadores de membrana (SLC25) constituida por al menos 53 miembros identificados en *H. sapiens* (98).



**Figura 4. Relación entre los compuestos xenobióticos y el metabolismo mitocondrial.** Abreviaturas: AG: Antihiperlipidémicos; AB: Antibióticos; AD: Antidepresivos; AL: Antihiperlipidémicos. I: NADH:CoQ oxido-reductasa; II: Succinato:CoQ oxido-reductasa; III: QH2:Citocromo c oxido-reductasa; IV: Citocromo c oxidasa; V: FIFO-ATP sintasa.

El funcionamiento de estos acarreadores involucra la exposición alternada en ambos lados de la MI del sitio de unión al sustrato (98). La interacción mejor estudiada entre un compuesto xenobiótico y un acarreador de membrana es la que ocurre entre el carboxiatractilósido o el ácido bongkreki con el translocador de ADP/ATP (99), los cuales inhiben el transporte debido a que se unen al sitio activo cuando está expuesto hacia el espacio intermembranal o a la matriz mitocondrial, respectivamente. La inhibición del translocador de ADP/ATP impide la síntesis de ATP e induce la producción de ERO. Sin embargo, los efectos provocados por la inhibición de los acarreadores de membrana son muy diversos debido a la amplia variedad de metabolitos que esta familia de acarreadores transporta.

Otro sitio de inhibición son las deshidrogenasas mitocondriales. La cadena de transporte de electrones es alimentada por el NADH o por la oxidación de metabolitos (*i.e.* succinato) a través de grupos

prostéticos (*i.e.* FAD). La producción de NADH es llevada a cabo por diferentes enzimas, tales como la piruvato deshidrogenasa (PDH) o la  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa, por ejemplo. La PDH es inhibida por análogos del piruvato (*i.e.* los acil-fosfonatos) (100, 101); mientras que la oxidación de metabolitos empleando al FAD lo realizan la succinato deshidrogenasa o la  $\alpha$ -glicerofosfato deshidrogenasa. Esta última es inhibida por la benzimidazol-fenil-succinimida, aunque el sitio de unión a la enzima aún no está definido (102).

La CTE está constituida por deshidrogenasas integrales de la membrana interna mitocondrial, algunas de las cuales funcionan como bombas de protones. La NADH:CoQ oxido-reductasa o complejo I es el primer sitio de bombeo de protones y es inhibida por diversos compuestos xenobióticos que se agrupan en tres categorías: 1) antagonistas de la quinona (*i.e.* piericidina), 2) antagonistas de la semiquinona (*i.e.*

rotenona), y 3) antagonistas del quinol (*i.e.* stigmatelina) (103).

La succinato: CoQ oxido-reductasa o complejo II contiene al FAD como grupo prostético y oxida al succinato reduciendo a la quinona. Esta enzima no bombea protones y es inhibida por un grupo de carboxamidas, moléculas antifúngicas que se fijan al sitio de unión para la quinona (104, 105). El malonato es un inhibidor competitivo del complejo II, y ha sido esterificado o acilado para ser usado como prodrogas que pueden atravesar las membranas biológicas (106).

La QH<sub>2</sub>: citocromo c oxido-reductasa o complejo III<sub>2</sub> es una bomba de protones que funciona exclusivamente como un dímero. La reacción neta es un proceso de dos pasos que involucra dos sitios de unión a la quinona (Q<sub>o</sub> y Q<sub>i</sub>). Los compuestos xenobióticos tienen como blancos estos dos sitios. La antimicina A es una bis-lactona producida por la bacteria *Streptomyces* que se une al sitio Q<sub>i</sub>, evitando la oxidación del ubiquinol durante el ciclo Q (107). El mixotiazol y la stigmatelina también previene la oxidación del quinol en el sitio Q<sub>o</sub> (108, 109). Estos compuestos también pueden inhibir al complejo I al unirse al sitio de unión para la quinona (103).

El complejo IV o citocromo c oxidasa, es una bomba de protones y utiliza al oxígeno como aceptor final de los electrones, reduciéndolo en agua. Su ciclo catalítico involucra tres estados conformacionales que se determinan por el grado de oxidación de sus centros redox: 1) totalmente oxidado, 2) parcialmente reducidos y 3) totalmente reducidos (110). El cianuro es el compuesto xenobiótico mejor estudiado que se une al centro binuclear hemo-cobre cuando está parcialmente reducido (111). El cianuro puede ser liberado por sustancias sintetizadas por las plantas, tales como los glicósidos cianogénicos; aunque también puede ser directamente suministrado como la forma de la sal de potasio o sodio. La azida es otro compuesto xenobiótico que inhibe al complejo IV al unirse al CuB en su estado totalmente oxidado (112, 113).

El complejo V o F<sub>1</sub>F<sub>0</sub> -ATP sintasa emplea el gradiente electroquímico de protones para sintetizar ATP a partir del ADP y el fosfato inorgánico (114). Este complejo es una bomba de protones que está dirigida hacia la matriz mitocondrial. En ciertas condiciones (*i.e.* células cancerosas) la actividad de este complejo es la hidrólisis de ATP (ATPasa) generando el gradiente electroquímico de protones (115). La F<sub>1</sub>F<sub>0</sub> -ATP sintasa está constituida por dos sectores, uno soluble y globular denominado F<sub>1</sub>, y uno integral de membrana llamado F<sub>0</sub> porque es inhibido por el antibiótico oligomicina A. Aunque la oligomicina A es el inhibidor más usado para el estudio de la síntesis mitocondrial de ATP, existen

cientos de pequeñas moléculas que interaccionan con la ATP sintasa (116). Los inhibidores del sector catalítico F<sub>1</sub> incluyen a las micotoxinas tales como la aurovertina B y la citreoviridina así como los polifenoles de origen vegetal como la curcumina. Los inhibidores del sector F<sub>0</sub> incluyen a los antibióticos policétidos tales como la oligomicina, la ossamicina y la apopoptolidina (117). Cualquier inhibidor del complejo V reduce la respiración mitocondrial y la síntesis de ATP.

El flujo de los electrones desde el NADH hasta el oxígeno involucra más de una docena de reacciones y mantiene un estado estacionario del potencial redox de aproximadamente 1.1 Volts (118). El estado estacionario del potencial redox depende del flujo de los electrones a través de los complejos respiratorios, sin embargo, la fuga de los electrones puede ocurrir en diferentes circunstancias, lo que favorece la producción de ERO tales como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo, entre otros. Los ERO pueden ser reducidos de manera controlada por el sistema glutatión/disulfuro de glutatión, o por reacciones incontroladas que dañan a los lípidos, las proteínas, o al mtDNA (119, 120).

La producción de las ERO puede incrementarse con el uso de compuestos xenobióticos que contienen un núcleo de quinona, tales como el paracuat y la menadiona (121-123). Hay cuatro observaciones que confirman la producción de las ERO: 1) la velocidad de oxidación del NADPH; 2) aumento del consumo de oxígeno; 3) detección de la semiquinona y 4) aumento de la producción de ERO (124). La administración específica de los pro-oxidantes permite deteriorar a las mitocondrias de las células blanco y controlar patologías como el cáncer.

Se ha demostrado que la respiración mitocondrial está estrechamente asociada a la masa mitocondrial (125, 126). La masa mitocondrial está regulada por la biogénesis mitocondrial y la mitofagia, ambas estrechamente asociadas con la fusión y fisión de la red mitocondrial (127-129). Si se modificara la actividad de las enzimas involucradas en este proceso, se podría modular la función mitocondrial de manera independiente a la inhibición de su metabolismo. Actualmente se conocen compuestos xenobióticos que modifican la actividad de PGC-1 $\alpha$  (*i.e.* ZLN-005 y SR18292) y AMPK (*i.e.* 5-hidroxiataurosporina) (130-132), así como inhibidores de la actividad de GTPasas de las enzimas de la fisión mitocondrial: la dinamina y DRP-1 (*i.e.* Dinastora y mdivi-1) (133-134).

### Prescripción de drogas y las mitocondrias *Antihiperlipémicos*

Existen diferentes drogas usadas sobre la mitocondria que se pueden clasificar respecto a su

efecto tisular. Así, tenemos a las biguanidas, compuestos antihiper glucémicos usados para tratar la diabetes tipo II. La metformina es la biguanida de más uso clínico en el mundo. Estimula el transporte celular de la glucosa, inhibe la gluconeogénesis hepática y reduce la producción de insulina (135). La administración de metformina en el intervalo  $\mu\text{M}$  inhibe la producción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (136), mientras que en el intervalo mM es un inhibidor no-competitivo del complejo I de mitocondrias aisladas del corazón de humano o de bovino, y de cultivo primario de hepatocitos humanos (137-139). La metformina y otras biguanidas son cationes a pH fisiológico, y el valor de su  $\text{IC}_{50}$  disminuye linealmente con respecto a su carácter lipofílico (137), lo que puede explicar que en los roedores se acumule en los riñones, las glándulas adrenales, el páncreas y el hígado (140).

Datos preliminares sugieren que el complejo I de mitocondrias de riñón de rata hembra son más sensibles a la metformina que el complejo I de machos (Cruz-Vilchis, D.E. manuscrito en preparación). La  $\text{IC}_{50}$  calculada para el complejo I de las hembras es alrededor de  $10 \mu\text{M}$ , mientras que en los machos la  $\text{IC}_{50}$  es de 50 mM. Esta es una nueva evidencia de la repercusión del dimorfismo sexual en la fisiología mitocondrial, esta vez en relación con el uso de compuestos xenobióticos en el tratamiento clínico.

La pioglitazona, una tiazolidinediona común, es otro xenobiótico usado para tratar la diabetes tipo II en humanos. La pioglitazona inhibe la actividad del complejo I ( $1-10 \mu\text{M}$ ) y estimula la transcripción de genes mitocondriales codificados en el núcleo (141).

### Antibióticos

Los antibióticos son una categoría de compuestos xenobióticos de uso generalizado, que se clasifican como bacteriostáticos o bactericidas. Debido al origen procarionte de la mitocondria, algunos de los antibióticos pueden modificar el metabolismo mitocondrial. Los antibióticos como las quinolonas, las  $\beta$ -lactamas y los aminoglicósidos inhiben la respiración, inducen un estado pro-fisión y estimulan la producción de ERO en las células de mamíferos ( $10-25 \mu\text{g/mL}$ ) y en ratón ( $12-28 \text{ mg/kg/día}$ ) (142).

El ciprofloxacina, un fluoroquinolone bactericida, es uno de los antibióticos más usados en el mundo. La ciprofloxacina inhibe a la topoisomerasa y a la girasa del DNA lo que provoca una alteración de la actividad de ligasa, provocando la ruptura de la doble cadena del DNA y la muerte celular. En los mioblastos de roedores, la ciprofloxacina inhibe la replicación del mtDNA dependiente de la topoisomerasa II (143). En las células T de humano, el tratamiento prolongado con ciprofloxacina reduce la expresión de las subunidades catalíticas del complejo I (144). Sin

embargo, aún no hay una evidencia directa de que la ciprofloxacina inhibe la respiración mitocondrial o su metabolismo.

### Antidepresivos

Los compuestos que impiden la recaptura de serotonina (SSRI, del inglés *Selective serotonin reuptake inhibitors*) son prescritos para muchos desordenes depresivos y de ansiedad. Los SSRI son benzenoides tales como las tametralinas (*i.e.* sertralina) y trifluorometilbenzenos (*i.e.* fluoxetine). Aunque no se tiene claro su efecto sobre la mitocondria, ambos compuestos se comportan como cationes orgánicos a pH fisiológico, lo que sugiere que pueden acumularse en la matriz mitocondrial a expensas del gradiente electroquímico de protones.

En roedores que han desarrollado los síntomas de la enfermedad de Huntington por la administración experimental del ácido 3-nitropropionico, pueden ser tratados con sertralina ( $10 \text{ mg/kg/día}$ ) para atenuar la disfunción motora y preservar las actividades de las enzimas mitocondriales (145). Sin embargo, la sertralina puede ser tóxica en hepatocitos primarios pues inhibe a los complejos I y IV, desacopla la respiración mitocondrial, estimula la transición de la permeabilidad e induce la muerte celular (146).

La fluoxetina es otro SSRI que está siendo investigado como un agente antineoplásico. La fluoxetina inhibe los complejos OXPHOS, incrementa el calcio citosólico, y estimula la necrosis en varias líneas celulares cancerosas (147). En el córtex frontal de ratón la fluoxetina inhibe los complejos III y IV e induce cambios en el perfil metabólico que son asociados con la restricción energética (148).

### Antihiperlipidémicos

Las estatinas (*i.e.* simvastatina y atorvastatina) son los inhibidores de la HMG-CoA reductasa más prescritos clínicamente a nivel mundial para eliminar la hiperlipidemia. La simvastatina es una  $\delta$ -valerolactona derivada del metabolismo fermentativo de *Aspergillus terreus*, mientras que la atorvastatina es una difenilpirrola sintética. La atorvastatina ( $50-100 \mu\text{M}$ ) inhibe la respiración mitocondrial de la línea celular derivada del endotelio venoso umbilical de *H. sapiens* (149). Tanto la atorvastatina como la simvastatina inducen la desdiferenciación e incrementan la relación ADP/ATP en miofibroblastos humanos (150). En ratas la administración de atorvastatina durante 20 días ( $10 \text{ mg/kg/día}$ ) disminuye la síntesis mitocondrial de ATP y reduce la actividad del complejo I en el tejido renal y cardiaco (151). Las mitocondrias aisladas del páncreas de las ratas se hinchan en presencia de atorvastatina (152), además de presentar la

disminución en la síntesis de ATP y en la concentración de los I, II, III<sub>2</sub>, IV y V (153). No obstante, la pravastatina no impacta la secreción de insulina o la expresión de los complejos respiratorios en el páncreas (153), ni altera la función respiratoria de las mitocondrias aisladas de las células del endotelio (149). El análisis de las diferencias estructurales entre la pravastatina y las demás estatinas podría ayudar a definir las interacciones que ocurren con las mitocondrias y modifican su fisiología.

### Terapia génica y mitocondrias

Las enfermedades son el producto del desajuste o falla de un órgano específico. Conocemos las fallas renales, los infartos al miocardio o los problemas cognitivos, por ejemplo. Sin embargo ¿qué ocurre cuando un orgánulo celular funciona de manera defectuosa debido a una mutación? Actualmente, conocemos algunas enfermedades mitocondriales con su origen en mutaciones del mtDNA: la encefalomiopatía como el síndrome de MELAS, la epilepsia mioclónica con fibras rojas rasgadas del síndrome de MERRF y el síndrome Kearns-Sayre (14) para las cuales aún no tenemos tratamiento. Sin embargo, hay otra enfermedad mitocondrial cuya mutación reside en el gen mtND4 que codifica para una de las 42 subunidades del complejo I. Este gen se descubrió y mapeó en 1988, poco antes de que iniciáramos el Proyecto del Genoma Humano. La enfermedad se conoce como neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON, del inglés *Leber Hereditary Optic Neuropathy*). Esta enfermedad, por razones que aun desconocemos, afecta específicamente a las células ganglionares de la retina, conductoras de la información de la retina al nervio óptico y éste al cerebro. Las fibras nerviosas de la papila óptica se engrosan, se atrofia el nervio óptico y los nervios de la retina se adelgazan, provocando ceguera.

En 2011, un grupo oftalmológico de China modificó al virus AAV2 para incluirle la versión normal del gen ND4 (154). Este virus infecta a las

células humanas y de primates, pero no causa ninguna enfermedad evidente o aguda. Experimentalmente se perforó el borde de la córnea de ocho pacientes humanos y se depositó una gota con millones de partículas del virus modificado (155). Una característica sorprendente de la retina es que no cuenta con una respuesta inmunitaria y por lo tanto, es poco probable que genere una reacción grave al agente infeccioso. El virus introdujo el gen en las células ganglionares de la retina que lograron sintetizar la proteína ND4 correcta en la mitocondria. Después de seis meses, cinco de los ocho pacientes mostraron una mejora de la agudeza visual.

Este producto vírico, llamado Lumevoq, se encuentra actualmente en la última fase de los ensayos clínico. En el 2021 se anunciaron los resultados del ensayo RESCUE, en el que se realizó la terapia génica en pacientes con la mutación G11778A en el gen ND4 (156). Este estudio incluyó a treinta y nueve pacientes, a quienes les inocularon el tratamiento en uno de los ojos, mientras que en el otro se aplicó un placebo. Al final del estudio, tanto los ojos tratados como los no tratados mostraron mejoras significativas en la agudeza visual. A partir de estos resultados, se generó una nueva pregunta: ¿por qué mejoró el ojo no tratado? ¿hay alguna conexión entre las células ganglionares de la retina? Al parecer, existen muchas preguntas que aún se deben de investigar.

Si se continúan los ensayos clínicos con Lumevoq, pronto podría encontrarse en la farmacoepia médica, y será un primer paso en la terapia génica de las células con la intención de modificar el funcionamiento mitocondrial. Esto representa la culminación de décadas de estudio de la fisiología celular, de los compartimentos subcelulares y las características de sus disfunciones en la enfermedad. Esta puede considerarse una terapia celular *in situ*, es decir, la rehabilitación de la función de una célula enferma en su localización anatómica natural dentro del cuerpo humano.

### Referencias

1. Scheffler, I. E., (2007). *Mitochondria*, 2ed. A John Wiley & Sons, Inc., Publication, ISBN 978-0-470-04073-7, 2008, p. 495.
2. Altmann, R. (1980) *Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen*, Leipzig (alemanis), Verlag von Veit, p.125.
3. Lehninger, A.L. (1965) *The Mitochondrion — Molecular Basis of Structure and Function*, W. A. Benjamin, New York (Hess, B. (1965). *The Mitochondrion*. VonA. L. Lehninger. *Molecular Basis of Structure and Function*. Verlag W. A. Benjamin, Inc., New York-Amsterdam 1964. 1. Aufl., XX, 263 S., zahlr. Abb., einige Tab., Ln. \$ 9.90. *Angewandte Chemie*, 77(8), 390–390.
4. Mitchell, P. (1961) Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*. 191, 144-148.
5. Sloan, D.B., Warren, J.M., Williams, A.M., Wu, Z., Abdel-Ghany, S.E., Chicco, A.J., and Havird, J.C. (2018) Cytonuclear integration and co-evolution. *Nat. Rev. Genet.* 19(10), 635–648.
6. Calvo, S.E. and Mootha, V.K. (2010) The mitochondrial proteome and human disease. *Annu. Rev. Genomics. Hum. Genet.* 11, 25-44.
7. Johnson, D.T., Harris, R.A., French, S., Blair, P.V. You, J., Bemis, K.G., Wang, M., and Balaban, R.S. (2007)

- Tissue heterogeneity of the mammalian mitochondrial proteome. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 292(2), C689-697.
8. Johnson, D.T., Harris, R.A., Blair, P.V., and Balaban, R.S. (2007) Functional consequences of mitochondrial proteome heterogeneity. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 292(2), C698-707.
  9. Schmidt, C.A. (2022) Prescription drugs and mitochondrial metabolism. *Biosci. Rep.* 42(4), BSR20211813.
  10. Gustafsson, A.B. and Gottlieb, R.A. (2008) Heart mitochondria: Gates of life and death. *Cardiovasc. Res.* 77(2), 334-343.
  11. Rossignol, R., Malgat, M., Mazat, J.P., and Letellier, T. (1999) Threshold effect and tissue specificity – implication for mitochondrial cytopathies. *J. Biol. Chem.* 274(47), 33426-33432.
  12. Fernandez-Vizarrá, E., Enriquez, J.A., Perez-Martos, A., Montoya, J., and Fernandez-Silva, P. (2011) Tissue-specific differences in mitochondrial activity and biogenesis. *Mitochondrion.* 11(1), 207–213.
  13. Fisher-Wellman, K.H., Davidson, M.T., Narowski, T.M., Lin, C-T., Koves, T.R., and Muoio, D.M. (2018) Mitochondrial diagnostics: a multiplexed assay platform for comprehensive assessment of mitochondrial energy fluxes. *Cell. Rep.* 24(13), 3593-3606.
  14. Schon, E.A., DiMauro, S., Hirano, M., and Gilkerson, R.W. (2010) Therapeutic prospects for mitochondrial disease. *Trends Mol. Med.* 16(6), 268-276.
  15. Regitz-Zagrosek, V. (2012) Sex and Gender Aspects in Clinical Medicine (Oertelt-Prigione, S. and Regitz-Zagrosek, V.E., eds), Springer-Verlag Limited, London (<https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-85729-832-4>)
  16. Velarde, M.C. (2014) Mitochondrial and sex steroid hormone crosstalk during aging. *Longev. Healthspan.* 3(1), 2.
  17. Vasconsuelo, A., Milanesi, L., and Boland, R. (2013) Actions of 17beta-estradiol and testosterone in the mitochondria and their implications in aging. *Ageing Res. Rev.* 12(4), 907-17.
  18. Chen, J-Q., Cammarata, P.R., Baines, C.P., and Yager, J.D. (2009) Regulation of mitochondrial respiratory chain biogenesis by estrogens/estrogen receptors and physiological, pathological and pharmacological implications. *Biochim. Biophys. Acta.* 1793(10), 1540-1570.
  19. Yang, S-H., Liu, R., Perez, E.J., Wen, Y., Stevens Jr, S.M., Valencia, T., Brun-Zinkernagel, A-M., Prokai, L., Will, Y., Dykens, J., Koulen, P., and Simpkins, J.W. (2004) Mitochondrial localization of estrogen receptor beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101(12), 4130–4135.
  20. Duckles, S.P., Krause, D.N., Stirone, C., and Procaccio, V. (2006) Estrogen and mitochondria: a new paradigm for vascular protection? *Mol. Interv.* 6(1), 26-35.
  21. Yao, J. and Brinton, R.D. (2012) Estrogen regulation of mitochondrial bioenergetics: implications for prevention of Alzheimer’s disease. *Adv. Pharmacol.* 64, 327-371.
  22. Rattanasopa, C., Phungphong, S., Wattanapernpool, J., and Bupha-Intr, T. (2015) Significant role of estrogen in maintaining cardiac mitochondrial functions. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 147, 1-9.
  23. Tower, J. (2006) Sex-specific regulation of aging and apoptosis. *Mech. Ageing Dev.* 127(9), 705-718.
  24. Mittwoch, U. (2004) The elusive action of sex-determining genes: mitochondria to the rescue? *J. Theor. Biol.* 228(3), 359-365.
  25. Justo, R., Boada, J., Frontera, M., Oliver, J., Bermudez, J., and Gianotti, M. (2005) Gender dimorphism in rat liver mitochondrial oxidative metabolism and biogenesis. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 289(2), C372-378.
  26. Valle, A., Guevara, R., Garcia-Palmer, F.J., Roca, P., and Oliver, J. (2007) Sexual dimorphism in liver mitochondrial oxidative capacity is conserved under caloric restriction conditions. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 293(4), C1302-1308.
  27. Chweih, H., Castilho, R.F., and Figueira, T.R. (2015) Tissue and sex specificities in Ca<sup>2+</sup> handling by isolated mitochondria in conditions avoiding the permeability transition. *Exp. Physiol.* 100(9), 1073-1092.
  28. Nadal-Casellas, A., Amengual-Cladera, E., Proenza, A.M., Llado, I., and Gianotti, M. (2010) Long-term high-fat-diet feeding impairs mitochondrial biogenesis in liver of male and female rats. *Cell. Physiol. Biochem.* 26(3), 291-302.
  29. Rutkai, I., Dutta, S., Katakam, P.V., and Busija, D.W. (2015) Dynamics of enhanced mitochondrial respiration in female compared with male rat cerebral arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Phys.* 309(9), H1490–1500.
  30. Gaignard, P., Saviouroux, S., Liere, P., Pianos, A., Thérond, P., Schumacher, M., Slama, A., and Guennoun, R. (2015) Effect of sex differences on brain mitochondrial function and its suppression by ovariectomy and in aged mice. *Endocrinology.* 156(8), 2893–2904.
  31. Escames, G., Diaz-Casado, M.E., Doerrier, C., Luna-Sanchez, M., Lopez, L.C., and Acuna-Castroviejo, D. (2013) Early gender differences in the redox status of the brain mitochondria with age: effects of melatonin therapy. *Horm. Mol. Biol. Clin. Invest.* 16(2), 91-100.
  32. Demarest, T.G. and McCarthy, M.M. (2015) Sex differences in mitochondrial (dys)function: implications for neuroprotection. *J. Bioenerg. Biomembr.* 47(1-2), 173–188.
  33. Harish, G., Venkateshappa, C., Mahadevan, A., Pruthi, N., Bharath, M.M., and Shankar, S.K. (2013) Mitochondrial function in human brains is affected by pre- and post mortem factors. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 39(3), 298-315.
  34. Capllonch-Amer, G., Llado, I., Proenza, A.M., Garcia-Palmer, F.J., and Gianotti, M. (2014) Opposite effects of 17-beta estradiol and testosterone on mitochondrial biogenesis and adiponectin synthesis in white adipocytes. *J. Mol. Endocrinol.* 52(2), 203-214.
  35. Nadal-Casellas, A., Proenza, A.M., Llado, I., and Gianotti, M. (2011) Effects of ovariectomy and 17-beta estradiol replacement on rat brown adipose tissue mitochondrial function. *Steroids.* 76(10-11), 1051–1056.
  36. Rodriguez-Cuenca, S., Pujol, E., Justo, R., Frontera, M., Oliver, J., Gianotti, M., and Roca, P. (2002) Sex-

- dependent thermogenesis, differences in mitochondrial morphology and function, and adrenergic response in brown adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 277(45), 42958–42963.
37. Gomez-Perez, Y., Capllonch-Amer, G., Gianotti, M., Llado, I., and Proenza, A.M. (2012) Long-term high-fat-diet feeding induces skeletal muscle mitochondrial biogenesis in rats in a sex-dependent and muscle-type specific manner. *Nutr. Metab. (Lond)*. 9, 15.
  38. Nookaew, I., Svensson, P.-A., Jacobson, P., Jernås, M., Taube, M., Larsson, I., Andersson-Assarsson, J.C., Sjöström, L., Froguel, P., Walley, A., Nielsen, J., and Carlsson, L.M.S. (2013) Adipose tissue resting energy expenditure and expression of genes involved in mitochondrial function are higher in women than in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98(2), E370–378.
  39. Tarnopolsky, M.A., Rennie, C.D., Robertshaw, H.A., Fedak-Tarnopolsky, S.N., Devries, M.C., and Hamadeh, M.J. (2006) The influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and mitochondrial enzyme activity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292(3), R1271–1278.
  40. De Bono, J.P., Adlam, D., Paterson, D.J., and Channon, K.M. (2006) Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 290(4), R926-934.
  41. Ventura-Clapier, R., Mettauer, B., and Bigard, X. (2007) Beneficial effects of endurance training on cardiac and skeletal muscle energy metabolism in heart failure. *Cardiovasc. Res.* 73(1), 10-18.
  42. Colom, B., Alcolea, M.P., Valle, A., Oliver, J., Roca, P., and Garcia-Palmer, F.J. (2007) Skeletal muscle of female rats exhibit higher mitochondrial mass and oxidative-phosphorylative capacities compared to males. *Cell. Physiol. Biochem.* 19(1-4), 205-212.
  43. Foryst-Ludwig, A., Kreissl, M.C., Sprang, C., Thalke, B., Böhm, C., Benz, V., Gürgen, D., Dragun, D., Schubert, C., Mai, K., Stawowy, P., Spranger, J., Regitz-Zagrosek, V., Unger, T., and Kintscher, U., (2011) Sex differences in physiological cardiac hypertrophy are associated with exercise-mediated changes in energy substrate availability. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 301(1), H115-122.
  44. Guevara, R., Gianotti, M., Oliver, J., and Roca, P. (2011) Age and sex-related changes in rat brain mitochondrial oxidative status. *Exp. Gerontol.* 46(11), 923-928.
  45. Borrás, C., Sastre, J., Garcia-Sala, D., Lloret, A., Pallardo, F.V., and Viña, J. (2003) Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic. Biol. Med.* 34(5), 546–552.
  46. Viña, J., Borrás, C., Gambini, J., Sastre, J., and Pallardo, F.V. (2005) Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds. *FEBS Lett.* 579(12), 2541-2545.
  47. Kararigas, G. (2021) Oestrogenic contribution to sex-biased left ventricular remodelling: The male implication. *Int. J. Cardiol.* 343, 83-84.
  48. Klinge, C.M. (2020) Estrogenic control of mitochondrial function. *Redox Biol.* 31, 101435.
  49. Mahmoodzadeh, S. and Dworatzek, E. (2019) The Role of 17beta-Estradiol and Estrogen Receptors in Regulation of Ca<sup>2+</sup> Channels and Mitochondrial Function in Cardiomyocytes. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 10, 310.
  50. Luo, T., Liu, H., and Kim, J.K. (2016) Estrogen Protects the Female Heart from Ischemia/Reperfusion Injury through Manganese Superoxide Dismutase Phosphorylation by Mitochondrial p38beta at Threonine 79 and Serine 106. *PLoS One.* 11(12), e0167761.
  51. Tsialtas, I., Georgantopoulos, A., Karipidou, M.E., Kalousi, F.D., Karra, A.G., Leonidas, D.D., and Psarra, A.-M.G. (2021) Anti-Apoptotic and Antioxidant Activities of the Mitochondrial Estrogen Receptor Beta in N2A Neuroblastoma Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 22(14), 7620.
  52. Zhai, P., Eurell, T.E., Cotthaus, R., Jeffery, E.H., Bahr, J.M., and Gross, D.R. (2000) Effect of estrogen on global myocardial ischemia-reperfusion injury in female rats. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 279(6), H2766-2775.
  53. Sasaki, Y., Ikeda, Y., Uchikado, Y., Akasaki, Y., Sadoshima, J., and Ohishi, M. (2021) Estrogen Plays a Crucial Role in Rab9-Dependent Mitochondrial Autophagy, Delaying Arterial Senescence. *J. Am. Heart. Assoc.* 10(7), e019310.
  54. Zhao, W., Hou, Y., Song, X., Wang, L., Zhang, F., Zhang, H., Yu, H., and Zhou, Y. (2021) Estrogen Deficiency Induces Mitochondrial Damage Prior to Emergence of Cognitive Deficits in a Postmenopausal Mouse Model. *Front. Aging Neurosci.* 13, 713819.
  55. He, F., Ru, X., and Wen, T. (2020) NRF2, a Transcription Factor for Stress Response and Beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 21(13), 4777.
  56. Ventura-Clapier, R., Garnier, A., and Veksler, V. (2008) Transcriptional control of mitochondrial biogenesis. The central role of PGC-1 $\alpha$ . *Cardiovasc. Res.* 79(2), 208-217.
  57. Maher, A.C., Akhtar, M., and Tarnopolsky, M.A. (2010) Men supplemented with 17beta-estradiol have increased beta-oxidation capacity in skeletal muscle. *Physiol. Genomics.* 42(3), 342-347.
  58. Wu, Z., Puigservet, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C., and Spiegelman, B.M. (1999) Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell.* 98(1), 115-124.
  59. Rius-Perez, S., Torres-Cuevas, I., Millan, I., Ortega, A.L., and Perez, S. (2020) PGC-1 $\alpha$ , Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020, 1452696.
  60. Gureev, A.P., Shaforostova, E.A., and Popov, V.N. (2019) Regulation of Mitochondrial Biogenesis as a Way for Active Longevity: Interaction Between the Nrf2 and PGC-1 $\alpha$  Signaling Pathways. *Front. Genet.* 10, 435.
  61. Chen, H., Vermulst, M., Wang, Y.E., Chomyn, A., Prolla, T.A., McCaffery, J.M., and Chan, D.C. (2010) Mitochondrial fusion is required for mtDNA stability in

- skeletal muscle and tolerance of mtDNA mutations. *Cell.* 141(2), 280-289.
62. Silva Ramos, E., Motori, E., Brüser, C., Kühl, I., Yeroslaviz, A., Ruzzenente, B., Kauppila, J.H.K., Busch, J.D., Hultenby, K., Habermann, B.H., Jakobs, S., Larsson, N-G., and Mourier, A. (2019) Mitochondrial fusion is required for regulation of mitochondrial DNA replication. *PLoS Genet.* 15(6), e1008085.
  63. Chen, H., Detmer, S.A., Ewald, A.J., Griffin, E.E., Fraser, S.E., and Chan, D.C. (2003) Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J. Cell Biol.* 160(2), 189-200.
  64. Zhang, H., Sheu, S.S., and Wang, W. (2014). Fission Promotes Respiration and ROS Production in Individual Mitochondria. *Biophysical Journal.* 106(2), 28a.
  65. Smirnova, E., Griparic, L., Shurland, D.L., and van der Bliek, A.M. (2001) Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol. Biol. Cell.* 12(8), 2245-2256.
  66. Smirnova, E., Shurland, D.L., Ryazantsev, S.N., and van der Bliek, A.M. (1998) A human dynamin-related protein controls the distribution of mitochondria. *J. Cell Biol.* 1998, 143(2), 351-358.
  67. Koenig, H., Goldstone, A., and Lu, C.Y. (1982) Testosterone-mediated sexual dimorphism of the rodent heart. Ventricular lysosomes, mitochondria, and cell growth are modulated by androgens. *Circ. Res.* 50(6), 782-787.
  68. Regitz-Zagrosek, V., Oertelt-Prigione, S., Seeland, U., and Hetzer, R. (2010) Sex and gender differences in myocardial hypertrophy and heart failure. *Circ. J.* 74(7), 1265-1273.
  69. Regitz-Zagrosek, V. (2012) Sex and gender differences in health. *Science & Society Series on Sex and Science.* EMBO Rep. 13(7), 596-603.
  70. Satohisa, S., Zhang, H-H., Feng, L., Yang, Y-Y., Huang, L., and Chen, D-B. (2014) Endogenous NO upon estradiol-17beta stimulation and NO donor differentially regulate mitochondrial S-nitrosylation in endothelial cells. *Endocrinology.* 155(8), 3005-3016.
  71. Witt, H., Schubert, C., Jaekel, J., Flegner, D., Penkalla, A., Tiemann, K., Stypmann, J., Roepcke, S., Brokat, S., Mahmoodzadeh, S., Brozova, E., Davidson, M.M., Ruiz Noppinger, P., Grohé, C., and Regitz-Zagrosek, V. (2008) Sex-specific pathways in early cardiac response to pressure overload in mice. *J. Mol. Med. (Berl).* 86(9), 1013-1024.
  72. Sun, L-Y., Wang, N., Ban, T., Sun, Y-H., Han, Y., Sun, L-L., Yan, Y., Kang, X-H., Chen, S., Sun, L-H., Zhang, R., Zhao, Y-J., Zhang, H., Ai, J., and Yang, B-F., (2014) MicroRNA-23a mediates mitochondrial compromise in estrogen deficiency-induced concentric remodeling via targeting PGC-1alpha. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 75, 1-11.
  73. Tokarska-Schlattner, M., Zaugg, M., Zuppinger, C., Wallimann, T., and Schlattner, U. (2006) New insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: the critical role of cellular energetics. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 41(3), 389-405.
  74. Stërba, M., Popelová, O., Lenčo, J., Fučíková, A., Brčáková, E., Mazurová, Y., Jirkovský, E., Simůnek, T., Adamcová, M., Mičuda, S., Stulík, J., and Geršl, V. (2011) Proteomic insights into chronic anthracycline cardiotoxicity. *J. Mol. Cell Cardiol.* 50(5), 849-862.
  75. Moulin, M., Piquereau, J., Mateo, P., Fortin, D., Rucker-Martin, C., Gressette, M., Lefebvre, F., Gresikova, M., Solgadi, A., Veksler, V., Garnier, A., and Ventura-Clapier, R. (2015) Sexual dimorphism of doxorubicin-mediated cardiotoxicity: potential role of energy metabolism remodeling. *Circ. Heart. Fail.* 8(1), 98-108.
  76. Moulin, M., Solgadi, A., Veksler, V., Garnier, A., Ventura-Clapier, R., and Chaminade, P. (2015) Sex-specific cardiac cardioliipin remodelling after doxorubicin treatment. *Biol. Sex. Differ.* 6, 20.
  77. Gonzalez, Y., Pokrzywinski, K.L., Rosen, E.T., Mog, S., Aryal, B., Chehab, L.M. Vijay, V., Moland, C.L., Desai, V.G., Dickey, J.S., and Rao, V.A. (2015) Reproductive hormone levels and differential mitochondria-related oxidative gene expression as potential mechanisms for gender differences in cardiosensitivity to Doxorubicin in tumor-bearing spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 76(3), 447-459.
  78. Ostadal, B., Netuka, I., Maly, J., Besik, J., and Ostadalova, I. (2009) Gender differences in cardiac ischemic injury and protection – experimental aspects. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 234(9), 1011-1019.
  79. Regitz-Zagrosek, V. (2011) Sex and gender differences in symptoms of myocardial ischaemia. *Eur. Heart J.* 32(24), 3064-3066.
  80. Bernardi, P. and Di Lisa, F. (2015) The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 78, 100-106.
  81. Besik, J., Szárszoi, O., Kunes, J., Netuka, I., Malý, J., Kolár, F., Pirk, J., and Ostádal, B. (2007) Tolerance to acute ischemia in adult male and female spontaneously hypertensive rats. *Physiol. Res.* 56(3), 267-274.
  82. Ostadal, B. and Kolar, F. (2007) Cardiac adaptation to chronic high-altitude hypoxia: beneficial and adverse effects. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 158(2-3), 224-236.
  83. Johnson, M.S., Moore, R.L., and Brown, D.A. (2006) Sex differences in myocardial infarct size are abolished by sarcolemmal KATP channel blockade in rat. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 290(6), H2644-2347.
  84. Djouadi, F., Weinheimer, C.J., Saffitz, J.E., Pitchford, C., Bastin, J., Gonzalez, F.J., and Kelly, D.P. (1998) A gender-related defect in lipid metabolism and glucose homeostasis in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-deficient mice. *J. Clin. Invest.* 102(6), 1083-1091
  85. Gupte, A.A., Pownall, H.J., and Hamilton, D.J. (2015) Estrogen: an emerging regulator of insulin action and mitochondrial function. *J. Diabetes Res.* 2015, 916585.
  86. Franconi, F., Seghieri, G., Canu, S., Straface, E., Campesi, I., and Malorni, W. (2008) Are the available experimental models of type 2 diabetes appropriate for a gender perspective? *Pharmacol. Res.* 57(1), 6-18.
  87. Pitteloud, N., Mootha, V.K., Dwyer, A.A., Hardin, M., Lee, H., Eriksson, K-F., Tripathy, D., Yialamas, M., Groop, L., Elahi, D., and Hayes, F.J. (2005) Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care.* 28(7), 1636-1642.

88. Regitz-Zagrosek, V., Lehmkühl, E., and Weickert, M.O. (2006) Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clin. Res. Cardiol.* 95(3), 136-147.
89. Billimoria, F.R., Katyare, S.S., and Patel, S.P. (2006) Insulin status differentially affects energy transduction in cardiac mitochondria from male and female rats. *Diabetes Obes. Metab.* 8(1), 67-74.
90. Nadal-Casellas, A., Bauza-Thorbrugge, M., Proenza, A.M., Gianotti, M., and Llado, I. (2013) Sex-dependent differences in rat brown adipose tissue mitochondrial biogenesis and insulin signaling parameters in response to an obesogenic diet. *Mol. Cell. Biochem.* 373(1-2), 125-135.
91. Razmara, A., Sunday, L., Stirone, C., Wang, X.B., Krause, D.N., Duckles, S.P., and Procaccio, V. (2008) Mitochondrial effects of estrogen are mediated by estrogen receptor alpha in brain endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 325(3), 782-790.
92. Mielke, M.M., Vemuri, P., and Rocca, W.A. (2014) Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. *Clin. Epidemiol.* 6, 37-48.
93. Simpkins, J.W., Yi, K.D., Yang, S.H., and Dykens, J.A. (2010) Mitochondrial mechanisms of estrogen neuroprotection. *Biochim. Biophys. Acta.* 1800(10), 1113-1120.
94. Viña, J. and Lloret, A. (2010) Why women have more Alzheimer's disease than men: gender and mitochondrial toxicity of amyloid-beta peptide. *J. Alzheimers Dis.* 20 Suppl 2, S527-533.
95. Cagin, U. and Enriquez, J.A. (2015) The complex crosstalk between mitochondria and the nucleus: What goes in between? *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 63, 10-15.
96. Marusich, M.F., Robinson, B.H., Taanman, J.W., Kim, J.S., Schillace, R., Smith, J.L., and Capaldi, R.A. (1997) Expression of mtDNA and nDNA encoded respiratory chain proteins in chemically and genetically-derived Rho0 human fibroblasts: a comparison of subunit proteins in normal fibroblasts treated with ethidium bromide and fibroblasts from a patient with mtDNA depletion syndrome. *Biochim. Biophys. Acta.* 1362(2-3), 145-159.
97. Wang H. and Morais, R. (1997) Up-regulation of nuclear genes in response to inhibition of mitochondrial DNA expression in chicken cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1352(3), 325-334.
98. Ruprecht, J.J. and Kunji, E.R.S. (2020) The SLC25 Mitochondrial carrier family: structure and mechanism. *Trends Biochem. Sci.* 45(3), 244-258.
99. Ruprecht, J.J., King, M.S., Zögg, T., Aleksandrova, A.A., Pardon, E., Crichton, P.G., Steyaert, J., and Kunji, E.R.S. (2019) The Molecular mechanism of transport by the mitochondrial ADP/ATP carrier. *Cell* 176(3), 435-447.
100. Baillie, A.C., Wright, K., Wright, B.J., and Earnshaw, C.G. (1988) Inhibitors of pyruvate dehydrogenase as herbicides. *Pestic. Biochem. and Physiol.* 30(2), 103-112.
101. Mootha, V.K., Bunkenborg, J., Olsen, J.V., Hjerrild, M., Wisniewski, J.R., Stahl, E., Bolouri, M.S., Ray, H.N., Sihag, S., Kamal, M., Patterson, N., Lander, E.S., and Mann, M. (2003) Integrated analysis of protein composition, tissue diversity, and gene regulation in mouse mitochondria. *Cell.* 115(5), 629-640.
102. Orr, A.L., Ashok, D., Sarantos, M.R., Ng, R., Shi, T., Gerencser, A.A., Hughes, R.E., and Brand, M.D. (2014) Novel inhibitors of mitochondrial sn-glycerol 3-phosphate dehydrogenase. *PLoS ONE.* 9(2), e89938.
103. Degli Esposti, M. (1998) Inhibitors of NADH-ubiquinone reductase: an overview. *Biochim. Biophys. Acta.* 1364(2), 222-235.
104. Mowery, P.C., Steenkamp, D.J., Ackrell, B.A.C., Singer, T.P., and White, G.A. (1977) Inhibition of mammalian succinate dehydrogenase by carboxins. *Arch. Biochem. Biophys.* 178(2), 495-506.
105. Sierotzki, H. and Scalliet, G. (2013) A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology.* 103(9), 880-887.
106. Ehinger, J.K., Piel, S., Ford, R., Karlsson, M., Sjövall, F., Frostner, E.A., Morota, S., Taylor, R.W., Turnbull, D.M., Cornell, C., Moss, S.J., Metzsch, C., Hansson, M.J., Fliri, H., and Elmér, E. (2016) Cell-permeable succinate prodrugs bypass mitochondrial complex I deficiency. *Nat. Commun.* 7, 12317.
107. Slater, E.C. (1973) The Mechanism of Action of the respiratory inhibitor antimycin. *Biochim. Biophys. Acta.* 301(2), 129-154.
108. Von Jagow, G. and Engel, W.D. (1981) Complete inhibition of electron transfer from ubiquinol to cytochrome b by the combined action of antimycin and myxothiazol. *FEBS Lett.* 136(1), 19-24.
109. Von Jagow, G. and Ohnishi, T. (1985) The chromone inhibitor stigmatellin - binding to the ubiquinol oxidation center at the C-side of the mitochondrial membrane. *FEBS Lett.* 185(2), 311-315.
110. Nicholls, P. and Soulimane, T. (2004) The mixed valence state of the oxidase binuclear centre: how *Thermus thermophilus* cytochrome ba3 differs from classical aa3 in the aerobic steady state and when inhibited by cyanide. *Biochim. Biophys. Acta.* 1655(1-3), 381-387.
111. Jones, M.G., Bickar, D., Wilson, M.T., Brunori, M., Colosimo, A., and Sarti, P. (1984) A re-examination of the reactions of cyanide with cytochrome c oxidase. *Biochem. J.* 220(1), 57-66.
112. Yoshikawa, S. and Caughey, W.S. (1992) Infrared evidence of azide binding to iron, copper, and non-metal sites in heart cytochrome c oxidase. *J. Biol. Chem.* 267(14), 9757-9766.
113. Bennett, M.C., Mlady, G.W., Kwon, Y.H., and Rose, G.M. (1996) Chronic in vivo sodium azide infusion induces selective and stable inhibition of cytochrome c oxidase. *J. Neurochem.* 66(6), 2606-2611.
114. Jonckheere, A.I., Smeitink, J.A.M., and Rodenburg, R.J.T. (2012) Mitochondrial ATP synthase: architecture, function and pathology. *J. Inherit. Metab. Di.* 35(2), 211-225.
115. Maldonado, E.N., DeHart, D.N., Patnaik, J., Klatt, S.C., Gooz, M.B., and Lemasters, J.J. (2016) ATP/ADP turnover and import of glycolytic ATP into mitochondria in cancer cells is independent of the adenine nucleotide translocator. *J. Biol. Chem.* 291(37), 19642-19650.

116. Hong, S. and Pedersen, P.L. (2008) ATP synthase and the actions of inhibitors utilized to study its roles in human health, disease, and other scientific areas. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 72(4), 590-641.
117. Salomon, A.R., Voehringer, D.W., Herzenberg, L.A., and Khosla, C. (2000) Understanding and exploiting the mechanistic basis for selectivity of polyketide inhibitors of F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97(26), 14766-14771.
118. Nicholls, D.G. and Ferguson, S.J. (2013) *Mitochondria in Physiology and Pathology*, Editor(s): David G. Nicholls, Stuart J. Ferguson, Bioenergetics (4th Edition), Academic Press, ISBN 9780123884251. Chapter 3, p 27-51.
119. Sheu, S-S., Nauduri, D., and Anders, M.W. (2006) Targeting antioxidants to mitochondria: a new therapeutic direction. *Biochim. Biophys. Acta.* 1762(2), 256-265.
120. Mailloux, R.J. (2018) Mitochondrial antioxidants and the maintenance of cellular hydrogen peroxide levels. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018, 7857251.
121. Frei, B., Winterhalter, K.H., and Richter, C. (1986) Menadione-(2-Methyl-1,4-naphthoquinone-) Dependent Enzymatic Redox Cycling and Calcium Release by Mitochondria. *Biochemistry.* 25(15), 4438-4443.
122. Cochemé, H.M. and Murphy, M.P. (2008) Complex I is the major site of mitochondrial superoxide production by paraquat. *J. Biol. Chem.* 283(4), 1786-1798.
123. Siegel, M.P., Kruse, S.E., Knowels, G., Salmon, A., Beyer, R., Xie, H., Van Remmen, H., Smith, S.R., and Marcinek, D.J. (2011) Reduced coupling of oxidative phosphorylation in vivo precedes electron transport chain defects due to mild oxidative stress in mice. *PLoS One.* 6(11), e26963.
124. Gutierrez, P.L. (2000) The metabolism of quinone-containing alkylating agents: free radical production and measurement. *Front. Biosci.* 5, D629-638.
125. Glancy, B., Barstow, T., and Willis, W.T. (2008) Linear relation between time constant of oxygen uptake kinetics, total creatine, and mitochondrial content in vitro. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 294(1), C79-87.
126. Mathieu, O., Krauer, R., Hoppeler, H., Gehr, P., Lindstedt, S.L., Alexander, R.L., Taylor, C.R., and Weibel, E.R. (1981) Design of the mammalian respiratory system. VII. Scaling mitochondrial volume in skeletal muscle to body mass. *Respir. Physiol.* 44(1), 113-128.
127. Popov, L-D. (2020) Mitochondrial biogenesis: an update. *J. Cell. Mol. Med.* 24(9), 4892-4899.
128. Onishi, M., Yamano, K., Sato, M., Matsuda, N., and Okamoto, K. (2021) Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy. *EMBO J.* 40(3), e104705.
129. Shirihai, O.S., Song, M., and Dorn, G.W. (2015) How mitochondrial dynamism orchestrates mitophagy. *Circ. Res.* 116(11), 1835-1849.
130. Das, B., Neilsen, B.K., Fisher, K.W., Gehring, D., Hu, Y., Volle, D.J., Kim, H.S., McCall, J.L., Kelly, D.L., MacMillan, J.B., White, M.A., and Lewis, R.E. (2018) A Functional Signature Ontology (FUSION) screen detects an AMPK inhibitor with selective toxicity toward human colon tumor cells. *Sci. Rep.* 8(1), 3770.
131. Sharabi, K., Lin, H., Tavares, C.D.J., Dominy, J.E., Camporez, J.P., Perry, R.J., Schilling, R., Rines, A.K., Lee, J., Hickey, M., Bennion, M., Palmer, M., Nag, P.P., Bittker, J.A., Perez, J., Jedrychowski, M.P., Ozcan, U., Gygi, S.P., Kamenecka, T.M., Shulman, G.I., Schreiber, S.L., Griffin, P.R., and Puigserver, P. (2017) Selective Chemical Inhibition of PGC-1 $\alpha$  Gluconeogenic Activity Ameliorates Type 2 Diabetes. *Cell.* 169(1):148-160.
132. Zhang, L-N., Zhou, H-Y., Fu, Y-Y., Li, Y-Y., Wu, F., Gu, M., Wu, L-Y., Xia, C-M., Dong, T-C., Li, J-Y., Shen, J-K., and Li, J. (2013) Novel small-molecule PGC-1 $\alpha$  transcriptional regulator with beneficial effects on diabetic db/db mice. *Diabetes.* 62(4), 1297-1307.
133. Cassidy-Stone, A., Chipuk, J.E., Ingeman, E., Song, C., Yoo, C., Kuwana, T., Kurth, M.J., Shaw, J.T., Hinshaw, J.E., Green, D.R., and Nunnari, J. (2008) Chemical inhibition of the mitochondrial division dynamin reveals its role in Bax/Bak-dependent mitochondrial outer membrane permeabilization. *Dev. Cell.* 14(2), 193-204.
134. Macia, E., Ehrlich, M., Massol, R., Boucrot, E., Brunner, C., and Kirchhausen, T. (2006) Dynasore, a cell-permeable inhibitor of dynamin. *Dev. Cell.* 10(6), 839-850.
135. Wishart, D.S., Knox, C., Guo, A.C., Shrivastava, S., Hassanali, M., Stothard, P., Chang, Z., and Woolsey, J. (2006) DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Res.* 34(Database issue), D668-672.
136. Kane, D.A., Anderson, E.J., Price 3rd, J.W., Woodlief, T.L., Lin, C-T., Bikman, B.T., Cortright, R.N., and Neuffer, P.D. (2010) Metformin selectively attenuates mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission without affecting respiratory capacity in skeletal muscle of obese rats. *Free Radic. Biol. Med.* 49(6), 1082-1087.
137. Bridges, H.R., Jones, A.J.Y., Pollak, M.N., and Hirst, J. (2014) Effects of metformin and other biguanides on oxidative phosphorylation in mitochondria. *Biochem. J.* 462(3), 475-487.
138. Emelyanova, L., Bai, X., Yan, Y., Bosnjak, Z.J., Kress, D., Warner, C., Kroboth, S., Rudic, T., Kaushik, S., Stoeckl, E., Ross, G.R., Rizvi, F., Tajik, J., and Jahangir, A. (2021) Biphasic effect of metformin on human cardiac energetics. *Transl. Res.* 229, 5-23.
139. Stephenne, X., Foretz, M., Taleux, N., van der Zon, G.C., Sokal, E., Hue, L., Viollet, B., and Guigas, B. (2011) Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status. *Diabetologia.* 54(12), 3101-3110.
140. Wilcock, C. and Bailey, C.J. (1994) Accumulation of metformin by tissues of the normal and diabetic mouse. *Xenobiotica.* 24(1), 49-57.
141. García-Ruiz, I., Solís-Muñoz, P., Fernández-Moreira, D., Muñoz-Yagüe, T., and Solís-Herruzo, J.A. (2013) Pioglitazone leads to an inactivation and disassembly of complex I of the mitochondrial respiratory chain. *BMC Biol.* 11, 88.
142. Kalghatgi, S., Spina, C.S., Costello, J.C., Liesa, M., Morones-Ramirez, J.R., Slomovic, S., Molina, A., Shirihai, O.S., and Collins, J.J. (2013) Bactericidal

- antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in mammalian cells. *Sci. Transl. Med.* 5(192), 192ra85.
143. Hangas, A., Aasumets, K., Kekäläinen, N.J., Paloheinä, M., Pohjoismäki, J.L., Gerhold, J.M., and Goffart, S. (2018) Ciprofloxacin impairs mitochondrial DNA replication initiation through inhibition of Topoisomerase 2. *Nucleic Acids Res.* 46(18), 9625-9636.
  144. Kaminski, M.M., Sauer, S.W., Klemke, C.D., Süß, D., Okun, J.G., Krammer, P.H., and Gülow, K. (2010) Mitochondrial reactive oxygen species control T cell activation by regulating IL-2 and IL-4 expression: mechanism of ciprofloxacin-mediated immunosuppression. *J. Immunol.* 184(9), 4827-4841.
  145. Kumar, P. and Kumar, A. (2009) Possible role of sertraline against 3-nitropropionic acid induced behavioral, oxidative stress and mitochondrial dysfunctions in rat brain. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 33(1), 100-108.
  146. Li, Y., Couch, L., Higuchi, M., Fang, J-L., and Guo, L. (2012) Mitochondrial dysfunction induced by sertraline, an antidepressant agent. *Toxicol. Sci.* 127(2), 582-591.
  147. Charles, E., Hammadi, M., Kischel, P., Delcroix, V., Demareux, N., Castelbou, C., Vacher, A-M., Devin, A., Ducret, T., Nunes, P., and Vacher, P. (2017) The antidepressant fluoxetine induces necrosis by energy depletion and mitochondrial calcium overload. *Oncotarget.* 8(2), 3181-3196.
  148. Emmerzaal, T.L., Jacobs, L., Geenen, B., Verweij, V., Morava, E., Rodenburg, R.J., and Kozicz, T. (2021) Chronic fluoxetine or ketamine treatment differentially affects brain energy homeostasis which is not exacerbated in mice with trait suboptimal mitochondrial function. *Eur. J. Neurosci.* 53(9), 2986-3001.
  149. Broniarek, I. and Jarmuszkiewicz, W. (2018) Atorvastatin affects negatively respiratory function of isolated endothelial mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 637, 64-72.
  150. Emelyanova, L., Sra, A., Schmuck, E.G., Raval, A.N., Downey, F.X., Jahangir, A., Rizvi, F., and Ross, G.R. (2019) Impact of statins on cellular respiration and de-differentiation of myofibroblasts in human failing hearts. *ESC Heart Fail.* 6(5), 1027-1040.
  151. Faki, E.H., Tras, B., and Uney, K. (2020) Alpha lipoic acid and vitamin E improve atorvastatin-induced mitochondrial dysfunctions in rats. *Mitochondrion.* 52, 83-88.
  152. Sadighara, M., Amirshardost, Z., Minaiyan, M., Hajhashemi, V., Naserzadeh, P., Salimi, A., Seydi, E., and Pourahmad, J. (2017) Toxicity of Atorvastatin on pancreas mitochondria: a justification for increased risk of diabetes mellitus. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 120(2), 131-137.
  153. Urbano, F., Bugliani, M., Filippello, A., Scamporrino, A., Di Mauro, S., Di Pino, A., Scicali, R., Noto, D., Rabuazzo, A.M., Averna, M., Marchetti, P., Purrello, F., and Piro, S., (2017) Atorvastatin but not pravastatin impairs mitochondrial function in human pancreatic islets and rat  $\beta$ -cells. Direct effect of oxidative stress. *Sci. Rep.* 7(1), 11863.
  154. Lam, B.L., Feuer, W.J., Schiffman, J.C., Porciatti, V., Vandenbroucke, R., Rosa, P.R., Gregori, G., and Guy, J. (2014) Trial end points and natural history in patients with G11778A Leber hereditary optic neuropathy: preparation for gene therapy clinical trial. *JAMA Ophthalmol.* 132(4), 428-436.
  155. Yang, S., Ma, S-Q., Wan, X., He, H., Pei, H., Zhao, M.J., Chen, C., Wang, D-W., Dong, X-Y., Yuan, J-J., and Li, B. (2016) Long-term outcomes of gene therapy for the treatment of Leber's hereditary optic neuropathy. *EBioMedicine.* 10, 258-268.
  156. Newman, N.J., Yu-Wai-Man, P., Carelli, V., Moster, M.L., Biousse, V., Vignal-Clermont, C., Sergott, R.C., Klopstock, T., Sadun, A.A., Barboni, P., DeBusk, A.A., Girmens, J.F., Rudolph, G., Karanjia, R., Taiel, M., Blouin, L., Smits, G., Katz, B., Sahel, J-A., and LHON Study Group. (2021) Efficacy and safety of intravitreal gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy treated within 6 months of disease onset. *Ophthalmology.* 128(5), 649-660.
-



**Dr. Oscar Flores Herrera**  
**ORCID: 0000-0002-1034-9009**

Es profesor de Carrera Titular B, TC. PRIDE D, SNII 2, y el responsable del Laboratorio 3 <sup>6</sup>/<sub>4</sub> “Bioenergética Mitocondrial” en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM. Se hizo biólogo por la Facultad de Ciencias, UNAM (1992), y después obtuvo la Maestría (1996) y el Doctorado (2001) en Investigación Biomédica Básica ambos en la UNAM. Desde el 1990 es profesor de la asignatura de Bioquímica y Biología Molecular de la Carrera de Médico Cirujano, de la Facultad de Medicina de la UNAM. También participa como profesor del posgrado en Ciencias Bioquímicas de la

UNAM, en la asignatura de Bioquímica, impartiendo el tópico de cinética enzimática; y en los posgrados de Ciencias Biomédicas, Bioquímicas y Biológicas en donde coordina la asignatura de “Bioenergética Mitocondrial” enseñando la Termodinámica del gradiente electroquímico de protones. Ha sido tutor de 6 alumnos de Licenciatura, 3 de Maestría y 5 de Doctorado.

Desde su tesis de licenciatura, trabajó en la bioenergética mitocondrial del transporte de calcio en la placenta de *Homo sapiens*. Luego, en el posgrado estudió los mecanismos de regulación de la síntesis mitocondrial de progesterona en la placenta de *H. sapiens*. Actualmente, define su línea de investigación como la diversión de estudiar los complejos y supercomplejos mitocondriales, particularmente de *Ustilago maydis* (el huitlacoche que sirve para hacer quesadillas), *Yarrowia lipolytica*, *Debariomyces hansenii*, *Paracoccus denitrificans* y la rata Wistar. Él y su grupo de alumnos y amigos han sido los primeros en aislar y caracterizar cinéticamente a los dímeros de la F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP sintasa y a los respirasomas constituidos por los complejos I, III<sub>2</sub> y IV; demostrando lo importante de las interfases entre los complejos en la actividad de estos supercomplejos. Actualmente están estudiando los mecanismos de regulación del respirasoma y el dímero del complejo V, así como su repercusión en la bioenergética mitocondrial. Su trabajo experimental se ha publicado en 52 artículos internacionales con más de 600 citas, y ha sido financiado por la DGAPA-PAPIIT, el CONAHCyT y el programa MEXUS-Universidad de California. En el 2017, la Rama de Bioenergética y Biomembranas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica A.C. le otorgó la Medalla “Dr. José Laguna García” por su contribución científica y académica en el área (Aún se emociona de este premio).





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Desde la diabetes hasta la insuficiencia cardíaca: los silenciadores de mRNA como alternativa terapéutica

### From diabetes to heart failure: mRNA silencers as a therapeutic alternative

Rodríguez, Jessica E.<sup>1</sup> ; Sigrist-Flores, Santiago<sup>2</sup>; Villalobos-Molina, Rafael<sup>3</sup>; Gallardo-Ortíz, Itzell A<sup>3</sup>.

1. Bioquímica Clínica, Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
2. Carrera de Médico Cirujano, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
3. Unidad de Investigación en Biomedicina y Carrera de Enfermería, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

✉ Av. Guelatao 66, Col. Ejército de Oriente Indeco II ISSSTE, Alcaldía Iztapalapa, Cd. de México, C.P. 09230, México. Tel: +52 (55) 5623 1333, Ext. 39795; [jessica.rodriguez@zaragoza.unam.mx](mailto:jessica.rodriguez@zaragoza.unam.mx)

Editor responsable: Omar Echeverría Rodríguez  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.05>

Recibido: 29 de mayo de 2024  
Revisado: 9 de junio de 2024  
Aceptado: 19 de junio de 2024

#### Resumen

La diabetes y la hipertensión son comorbilidades en la población, ambas patologías predisponen al riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV), que producen de forma crónica hipertrofia del ventrículo izquierdo (HVI) e insuficiencia cardíaca (IC). Aunque existen diversos tratamientos para la prevención de las ECV, la IC afecta a más de 64 millones de personas en todo el mundo. La diabetes produce hiperglucemia y esta alta concentración de glucosa en sangre forma enlaces con proteínas, lípidos y ácidos nucleicos para sintetizar productos finales de glicación avanzada (AGEs, por sus siglas en inglés) que, al activar a sus receptores (RAGEs), modifica vías de señalización generando especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y estrés oxidativo. Las ROS producen daño endotelial en los vasos sanguíneos incrementando la presión arterial sistémica, y también modifican la actividad de sistemas neurohumorales como el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) que, a su vez, produce hiperactivación del sistema nervioso simpático (SNS), probablemente a través de estimular el receptor adrenérgico  $\alpha_{1D}$  ( $\alpha_{1D}$ -AR),

#### Abstract

Diabetes and hypertension are comorbidities in the population; both pathologies predispose to the risk of cardiovascular disease (CVD), which chronically produce left ventricular hypertrophy (LVH) and heart failure (HF). Although there are several treatments for the prevention of CVD, HF affects more than 64 million people worldwide. Diabetes generates hyperglycemia and this high concentration of glucose in the blood forms bonds with proteins, lipids and nucleic acids to synthesize advanced glycation end products (AGEs) that, by activating their receptors (RAGEs), modify signaling pathways generating reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress. ROS produce endothelial damage in blood vessels, increasing systemic blood pressure, and also modify the activity of neurohumoral systems such as the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), which, in turn, produces hyperactivation of the sympathetic nervous system (SNS), probably through the activation of the  $\alpha_{1D}$  adrenergic receptor ( $\alpha_{1D}$ -AR), a receptor importantly involved in the development of hypertension, LVH and HF. Antagonism of  $\alpha_{1D}$ -

un receptor involucrado de manera importante en el desarrollo de la hipertensión, la HVI y la IC. El antagonismo del  $\alpha_{1D}$ -AR con el fármaco BMY 7378, en ratas espontáneamente hipertensas (SHR), de edad avanzada y con IC, disminuyó la presión arterial, revirtió la HVI y mejoró la función cardíaca; por lo tanto, este receptor representa un blanco terapéutico novedoso para el tratamiento de la ECV. En este artículo describimos algunas de las rutas metabólicas que se modifican por la diabetes y su conexión con la hipertensión e IC, a través del incremento en la actividad del  $\alpha_{1D}$ -AR. Además, proponemos el uso de silenciadores de RNAm para el  $\alpha_{1D}$ -AR como una alternativa terapéutica, diferente a las utilizadas actualmente, para el tratamiento de complicaciones cardiovasculares.

*Palabras claves:* diabetes, hipertensión, insuficiencia cardíaca, receptor adrenérgico  $\alpha_{1D}$ , silenciamiento de mRNA.

AR with BMY 7378, in spontaneously hypertensive rats (SHR), aged and with HF, decreased blood pressure, reverted LVH and improved cardiac function; therefore, this receptor represents a novel therapeutic target for the treatment of CVD. In this article we describe some of the metabolic pathways that are modified by diabetes and their relationship with hypertension and HF, through increased  $\alpha_{1D}$ -AR activity. Furthermore, we propose the use of RNAm silencers for  $\alpha_{1D}$ -AR as a therapeutic alternative, different from those currently used, for the treatment of cardiovascular complications.

*Keywords:* diabetes, hypertension, heart failure,  $\alpha_{1D}$ -adrenoreceptor, mRNA silencing.

## Introducción

La diabetes y la hipertensión son las principales enfermedades crónicas, no transmisibles, que incrementan la morbimortalidad por el desarrollo de eventos cardiovasculares (1, 2). Aunque la fisiopatología de ambas enfermedades no es clara, se sabe que la hiperglucemia crónica forma AGEs, ROS y estrés oxidativo, ya que los mecanismos endógenos antioxidantes no son suficientes para contrabalancearlo y desencadena procesos inflamatorios y neurohumorales importantes (3). En este contexto, aunque las interacciones entre el SRAA y el sistema nervioso autónomo (SNA) regulan la función cardíaca en condiciones fisiológicas, el estrés oxidativo cambia su funcionalidad contribuyendo, en gran medida, con el desarrollo de patologías. La hiperactividad del SRAA, el SNS y la disminución de la actividad parasimpática, como sucede en la hipertensión, produce remodelación cardíaca adaptativa que genera la pérdida súbita de tejido viable formando tejido fibrótico y engrosando la pared ventricular, lo que modifica la funcionalidad del corazón (4-6). Estos cambios producen el desarrollo de insuficiencia cardíaca. Por lo tanto, el SRAA y el SNA representan blancos terapéuticos cuya modulación permitiría disminuir la morbimortalidad de los padecimientos cardíacos.

## La diabetes y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)

La diabetes es una enfermedad crónica que ocurre cuando el páncreas no produce suficiente insulina (Diabetes tipo 1), o bien, porque el organismo no la utiliza adecuadamente (Diabetes tipo 2, DT2) (7). Ambos tipos de diabetes cuando no se controlan producen hiperglucemia, la cual, si es crónica, causa daños serios en el organismo, principalmente en las terminales nerviosas y en los vasos sanguíneos (8).

La DT2 es la más frecuente y representa el 90 % de los casos en el mundo (9). En 2021, México ocupó el 7° lugar con mayor número de casos, 14.1 millones de adultos entre 20-79 años de edad; y se proyecta que para 2045 este número se incremente a 21.2 millones (9). Mientras que, entre niños y adolescentes hubo 41,600 nuevos casos de DT2 en ese mismo año en México, que ocupó el 4° lugar mundial (9, 10).

La falta del diagnóstico oportuno de la diabetes genera glucotoxicidad hiperglucémica, un proceso irreversible que altera rutas metabólicas, procesos neurohumorales y el estrés oxidativo (11). Cabe mencionar que, de manera dependiente al tiempo de hiperglucemia, la glucosa sanguínea reacciona con proteínas, lípidos y ácidos nucleicos para formar enlaces de menos a más estables; es decir, en etapas tempranas hay procesos reversibles como las reacciones de nitrosilación, acetilación, ADP-ribosilación y succinación; mientras que, en etapas posteriores se desarrollan reacciones de glicación, carbonilación y nitración, que son reacciones irreversibles (3), y que son la principal causa de

estrés oxidativo, daño endotelial y enfermedad cardiovascular.

A causa de que la glucosa, en su forma reducida, reacciona espontáneamente con las proteínas, ocurre la reacción de Maillard en tres fases: en primer lugar, la glucosa se une a los aminoácidos terminales de las proteínas, principalmente lisina y arginina, para formar una base de Schiff, el cual es un compuesto que por doble enlace une un carbono con un nitrógeno, ya que no forma enlaces con hidrógenos. Para que esta reacción ocurra las concentraciones de glucosa o fructosa en sangre deben ser muy altas y solo es cuestión de pocas horas para formar las bases de Schiff; si la glucemia disminuye, esta reacción se revierte. Por el contrario, si la glucemia se mantiene alta, estas bases de Schiff, en cuestión de días, formarán enlaces estables conocidos como productos de Amadori o productos tempranos de glicación, una reacción también reversible. Sin embargo, el rearrreglo molecular y la interacción entre grandes cantidades de productos de Amadori genera reacciones de hidratación, oxidación y reducción formando uniones entre estas proteínas con enlaces covalentes, irreversibles. Se requieren semanas o meses para la formación de estos arreglos moleculares, conocidos como los productos finales de glicación avanzada (AGEs). Además de la reacción de Maillard, se han reportado, otros dos mecanismos para la formación de AGEs: la oxidación de la glucosa y la peroxidación de lípidos a través de la vía de señalización del poliol (3, 12).

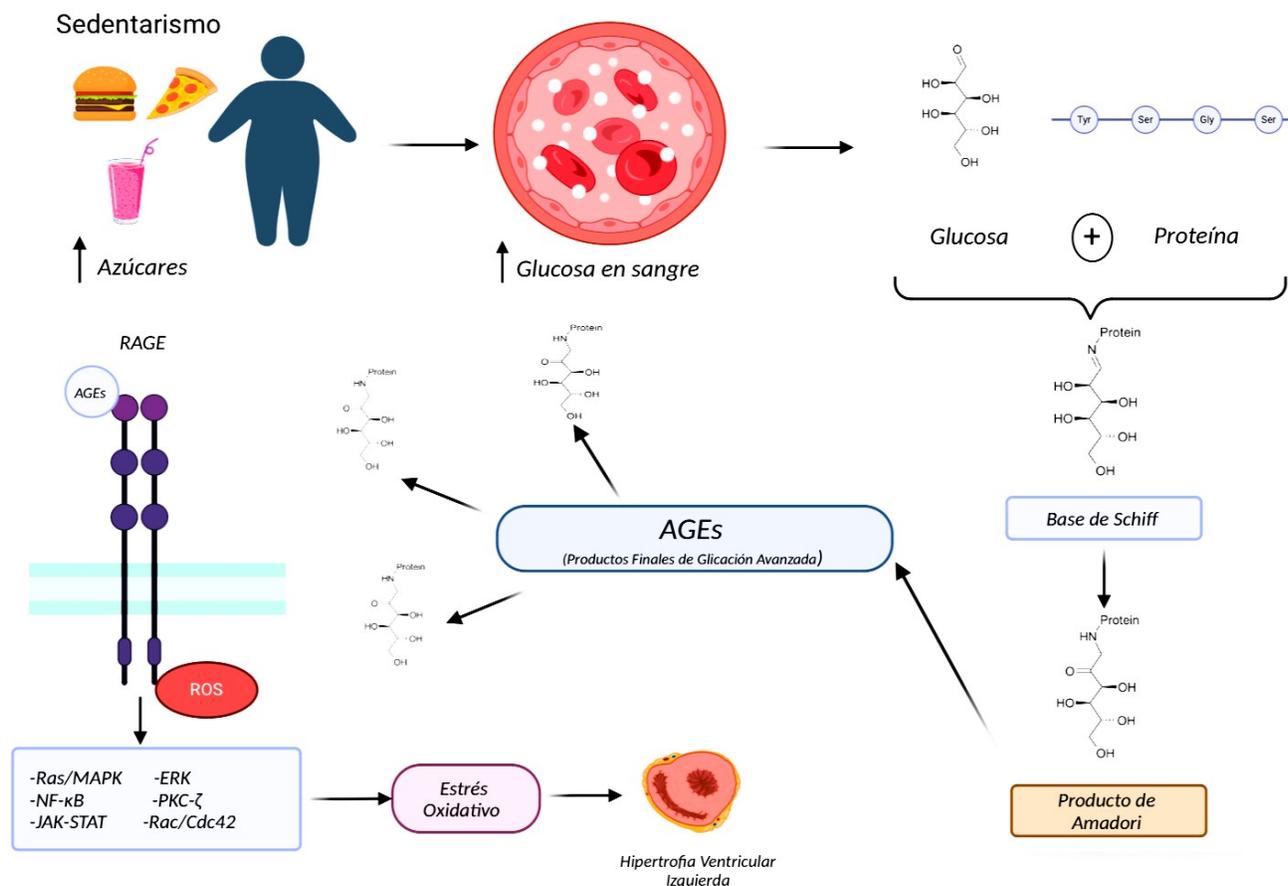
La formación de AGEs activa a sus receptores (RAGEs), los cuales estimulan cascadas de señalización que forman ROS y generan estrés oxidativo. Los RAGEs son receptores multiligando de 394 aminoácidos de longitud y pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas; estos receptores se expresan abundantemente en diversas células y tejidos, incluyendo vasos sanguíneos, músculo liso vascular, cardiomiocitos, etc. (2). La activación de estos RAGEs desencadena las vías de señalización de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), cinasas reguladoras de señales extracelulares (ERK) y Janus (JAK), que son enzimas que promueven procesos inflamatorios, proliferativos y apoptóticos (13). Estas vías de señalización activan al factor de crecimiento transformante alfa (TGF- $\alpha$ ) y a la NADPH oxidasa 1 (NOX-1) formando ROS (14). A concentraciones fisiológicas las ROS actúan como segundos mensajeros que traducen señales intracelulares en diferentes procesos; sin embargo, cuando hay formación excesiva de ROS que sobrepasa la capacidad de la defensa antioxidante ocurre el estrés oxidativo, el cual contribuye con el desarrollo de procesos patológicos como los neurodegenerativos,

cáncer, enfermedad renal, enfermedades metabólicas, disfunción endotelial e hipertensión (15) (Figura 1).

### Estrés oxidativo e Hipertensión

La hipertensión es la principal comorbilidad de la diabetes. En México, alrededor de 25.5 millones de personas tienen hipertensión, en donde el 60 % está diagnosticado y el 40 % restante ignora su padecimiento (16). Algunos estudios epidemiológicos han determinado que las personas con DT2 tienen de 2 a 4 veces mayor riesgo de desarrollar hipertensión, enfermedad arterial periférica e infarto al miocardio, en comparación con personas que no la padecen (17).

La fisiopatología de la hipertensión involucra el desbalance de la homeostasis de diferentes órganos y sistemas, como el cardiovascular, el renal, el sistema inmunológico y el neurológico, entre otros. Sin embargo, un factor en común que contribuye con este desequilibrio es el estrés oxidativo. Así, en el sistema cardiovascular, el estrés oxidativo causa disfunción endotelial (15). El endotelio es una monocapa de células en el interior de los vasos sanguíneos, que libera diversas sustancias para mantener la homeostasis vascular con funciones autocrinas, paracrinas y endócrinas (18). En condiciones homeostáticas el endotelio ayuda a mantener el tono muscular liberando moléculas vasoconstrictoras, proliferativas y protrombóticas (p.ej. endotelina-1 y tromboxano A<sub>2</sub>), y para regular estos procesos también libera sustancias vasodilatadoras, anti-proliferativas y antitrombóticas (p.ej. óxido nítrico y prostaciclina) (18). La disfunción endotelial es un desbalance entre la liberación de sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras, particularmente disminuye la producción de óxido nítrico (NO), quien no solo actúa como vasodilatador potente, sino también reduce las ROS, incluyendo el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) que, además de inactivar el NO, causa disrupción oxidativa de los mecanismos de señalización en el endotelio y en el músculo liso vascular (MLV), alterando los procesos de crecimiento y remodelación vascular (19, 20). En el MLV la NOX-1, es un complejo enzimático unido a la membrana plasmática que transfiere electrones del NADPH al oxígeno, y en condiciones fisiológicas cataliza diversas funciones vasculares por vías de señalización que incluyen reacciones redox; sin embargo, son una de las fuentes más importantes en la formación de ROS y contribuyen importantemente con el estrés oxidativo (21). En este sentido, la angiotensina II (Ang-II), el principal péptido vasoactivo involucrado en la regulación y la activación de la NOX-1, al activar su receptor AT<sub>1</sub>, aumenta la generación de ROS intracelulares, que



**Figura 1. Formación de AGEs y estrés oxidativo por el alto consumo de azúcares.** Las altas concentraciones de glucosa sanguínea reaccionan con las proteínas plasmáticas y/o membranales mediante la reacción de Maillard, para formar bases de Schiff, productos de Amadori y AGEs, lo que causa la formación de ROS y estrés oxidativo que producen daño cardiovascular. Imagen elaborada en Biorender.

junto con algunas citocinas y factores de crecimiento, regulan la expresión del receptor  $AT_1$ , formando un bucle, en donde ambas vías activan la una a la otra (22). Aunque aún no se ha determinado si este proceso autorregulador es fundamental en el incremento de la presión arterial, se conocen modelos de hipertensión donde la actividad de la NOX-1 y del SRAA está incrementada (23).

### El sistema renina angiotensina aldosterona y la activación del sistema nervioso simpático en la hipertensión

El SRAA es un sistema ubicuo en el organismo, tiene funciones vitales en la regulación de la presión arterial y el mantenimiento de los volúmenes de agua y sodio (24). La Ang II, la principal molécula efectora, es muy versátil y tiene actividades intracinas, paracinas y autocrinas con función prominente en los vasos sanguíneos activando sus

receptores en el músculo liso ( $AT_1$  o  $AT_2$ ), o bien, favoreciendo la liberación de  $PGE_2$  (prostaglandina vasoconstrictora) (25). La Ang II actúa sobre su receptor  $AT_1$  en el MLV, y estimula a la proteína heterotrimérica  $G_q$ , para activar a la fosfolipasa C que vía  $IP_3$  incrementa el calcio intracelular y la vasoconstricción (26). Sin embargo, la función de Ang II no se limita a este efecto, sino que también por diversas vías de señalización activadas en diferentes órganos estimulan enzimas tirosina cinasas como la MAPK, cinasas de adhesión focal (FAK) y JAK cinasas, entre otras, por lo que es comprensible que la Ang II tenga efectos proliferativos, fibróticos y apoptóticos (27, 28). Aunque la activación del SRAA puede ser compensatoria en etapas tempranas del daño cardiovascular, su activación a largo plazo tiende a ser maladaptativa. En el modelo de hipertensión esencial, de las ratas espontáneamente hipertensas (SHR), se ha encontrado actividad incrementada del SRAA, con concentraciones altas

de Ang II circulante e hiperactividad en los tejidos con SRAA local (29); por ejemplo, en el cerebro, el SRAA contribuye con la regulación de la presión arterial a través de vías hipotalámicas y medulares para incrementar el flujo simpático, disminuir la sensibilidad barorrefleja y estimular la secreción de vasopresina (30). En las SHR se ha encontrado múltiple evidencia que sugiere la hiperactivación del SRAA en el cerebro, que precede el incremento de la presión arterial en este tipo de ratas; por ejemplo, el aumento de la síntesis del angiotensinógeno (precursor del SRAA) en el área preóptica en ratas de 4 semanas de edad (31), o bien, el incremento de la expresión del receptor  $AT_1$  en la médula rostral ventrolateral (MRVL) en SHR, en comparación con su control normotenso (ratas Wistar Kyoto, WKY) (32). Además, con microinyecciones de candesartán (antagonista del  $AT_1$ ) en el área hipotalámica anterior, disminuye la presión arterial de las SHR (33). Interesantemente, el efecto depresor por inhibición del SRAA cerebral de las SHR parece ser debido a la disminución de la actividad simpática (33). Esto es, hay expresión de  $AT_1$  en neuronas vasomotoras presimpáticas en la MRVL, que son la fuente de estímulos excitatorios a las neuronas preganglionares simpáticas, en la columna celular intermediolateral de la espina dorsal (34). Del mismo modo, algunos autores han descrito que los efectos presores de Ang II también son mediados por la neurotransmisión noradrenérgica (35).

De manera similar, en la vasoconstricción periférica inducida por infusión de Ang II se encontró que, la respuesta contráctil a fenilefrina, agonista de los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos ( $\alpha_1$ -AR), en anillos de aorta, fue mayor en las ratas tratadas con Ang II en comparación con anillos aórticos de ratas controles, en los cuales la expresión del  $\alpha_{1D}$ -AR disminuyó, mientras que la abundancia de los  $\alpha_{1A}$ -AR y  $\alpha_{1B}$ -AR no se modificó. También se observó hipertrofia vascular de la aorta, donde predomina el receptor  $\alpha_{1D}$ -AR, pero no en la arteria caudal donde predomina el  $\alpha_{1A}$ -AR. Este efecto se revirtió después de administrar el fármaco BMY 7378, antagonista selectivo del  $\alpha_{1D}$ -AR; estos resultados sugieren que en el proceso hipertrofico inducido por Ang II participan de manera conjunta el  $AT_1$  y el  $\alpha_{1D}$ -AR (36).

### **El sistema nervioso simpático y la insuficiencia cardíaca**

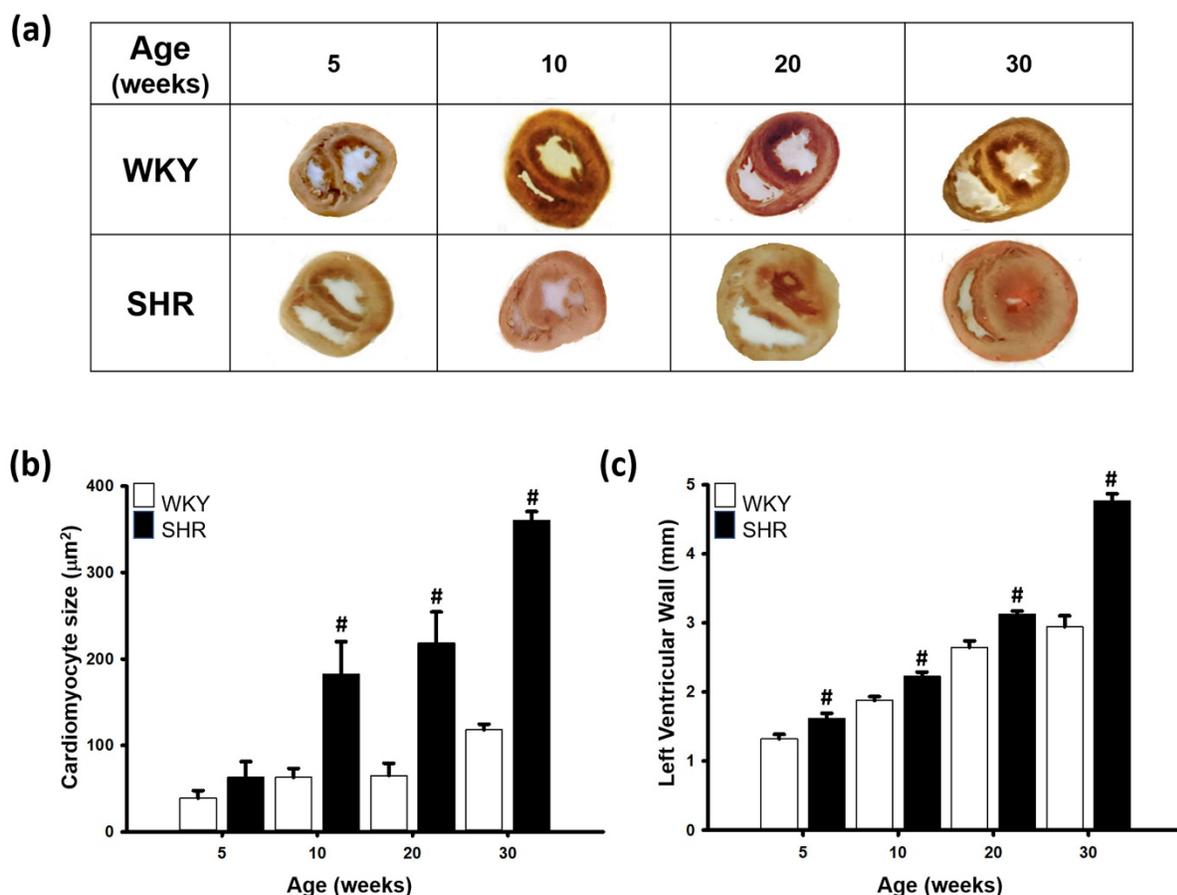
La morbimortalidad de la hipertensión está fuertemente asociada con la remodelación patológica de los vasos sanguíneos y del miocardio. Durante este proceso se ha observado que el SRAA favorece el crecimiento y la proliferación del músculo liso, la

disfunción endotelial y el daño celular (37). Por otro lado, en el miocardio bajo condiciones patológicas, el SRAA inicia una cascada de señalización que resulta en aumento de la síntesis de colágeno por los fibroblastos cardíacos, causando fibrosis e hipertrofia de los miocitos, lo cual genera insuficiencia cardíaca (38). Uno de los mecanismos por los cuales la Ang II produce hipertrofia es por el incremento en la liberación de noradrenalina (NA), la cual, también produce cambios morfológicos y funcionales cardiovasculares (39).

La NA al interactuar con sus receptores  $\alpha_1$ -AR regula la función cardiovascular, como la contracción arterial y los efectos inotrópicos positivos en el miocardio (40). Estos receptores, además de estar involucrados en el incremento de la presión arterial, principalmente el  $\alpha_{1D}$ -AR (41) han sido implicados en procesos patológicos como la isquemia y la hipertrofia cardíaca, produciendo arritmias (42). Algunos estudios muestran que la incubación de miocitos con catecolaminas causa hipertrofia celular por la activación de estos receptores, generando eventos que modifican la expresión de genes embrionarios e incrementan la producción de proteínas contráctiles que aumentan el tamaño del miocito (43, 44). La hipertrofia cardíaca inicialmente tiene efectos benéficos en términos de economía muscular, conocida como hipertrofia adaptativa; sin embargo, a la hipertrofia crónica que conlleva a la isquemia y la insuficiencia cardíaca con apoptosis, se le conoce como hipertrofia maladaptativa (45). Se ha sugerido que de manera dependiente al  $\alpha_1$ -AR, se presenta uno u otro tipo de hipertrofia en el miocardio; es decir, cuando se trata del  $\alpha_{1A}$ -AR se desarrolla hipertrofia compensatoria y adaptativa; mientras que, si se trata del  $\alpha_{1B}$ -AR, se presenta hipertrofia maladaptativa que produce insuficiencia cardíaca (45). Sin embargo, recientemente se estudió el efecto que tiene la activación del  $\alpha_{1D}$ -AR en el proceso de remodelación cardíaca.

El  $\alpha_{1D}$ -AR es funcional en diversas arterias como aorta, carótida, mesentérica, iliaca y femoral, mediando la contracción por estímulo noradrenérgico, y su expresión funcional *in vivo* regula importantemente la presión arterial (46). Este receptor ha sido relacionado con el desarrollo de la hipertensión (41), y su activación constitutiva y el incremento en el tono simpatoadrenal en las SHR (47).

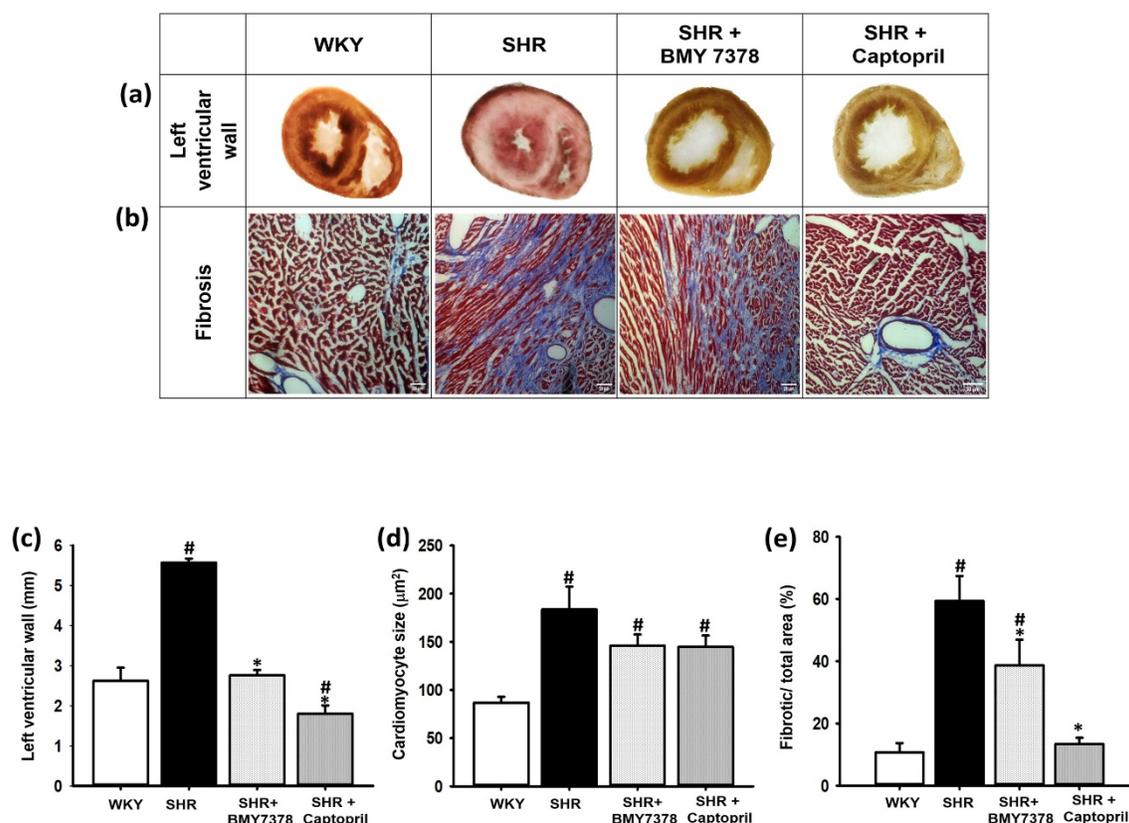
Interesantemente, en las SHR la expresión proteica del  $\alpha_{1D}$ -AR está incrementada; por lo que decidimos investigar su participación en la HVI en SHR con terapia crónica por antagonismo específico de este receptor. Usamos SHR macho prehipertensas (5 y 10 semanas de edad) e hipertensas (20 y 30 semanas de edad), para observar el desarrollo de la



**Figura 2. Curso temporal del desarrollo de la HVI en las SHR.** (a) Curso temporal de la evolución de la hipertrofia ventricular izquierda en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) a diferentes edades. Se realizó la medición de los cardiomiocitos (b) y la pared del ventrículo izquierdo (c), en donde se observó un proceso hipertrófico cardíaco avanzado a las 30 semanas de edad. Los datos representan la media  $\pm$  el error estándar de 3-4 ratas por grupo ( $^{\#}p < 0.05$  vs. WKY). Imagen tomada de Rodríguez, *et al.*, 2020, (48).

HVI y se compararon con ratas WKY, su control normotenso, en edades iguales. Algunas SHR (30 semanas) se trataron crónicamente con BMY 7378, antagonista del  $\alpha_{1D}$ -AR, (10 mg/kg/día, v.o.) o con captopril, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (40 mg/kg/día, v.o.) como control positivo, durante 4 semanas. Se midió la presión arterial (por pletismografía), la función cardíaca *in vivo* (por registro de la presión sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo, así como las tasas máximas de aumento y caída de la presión del ventrículo izquierdo) y la hipertrofia cardíaca (por histología). La masa cardíaca aumentó con la edad en ratas WKY y SHR, determinada por el tamaño de los cardiomiocitos y el espesor de la pared ventricular (Figura 2). En las SHR de 30 semanas de edad la función cardíaca disminuyó y no respondieron a la estimulación con isoproterenol (agonista  $\beta$ -AR). El

BMY 7378 y el captopril disminuyeron la presión arterial sistólica y la diastólica, sin cambios en la frecuencia cardíaca, además redujeron el tamaño de los cardiomiocitos, la fibrosis y restauraron la respuesta cardíaca al isoproterenol. Con estos resultados concluimos que el BMY 7378 revirtió la HVI y mejoró la función cardíaca de las SHR, por el antagonismo del  $\alpha_{1D}$ -AR (48) (Figura 3). Sin embargo, encontramos que el BMY 7378 también tiene otros blancos farmacológicos (p.ej. antagonista de los receptores 5HT<sub>1A</sub>) que, de manera indirecta, contribuirían con la reversión de la hipertrofia cardíaca, razón por la cual, diseñamos otro fármaco como los RNA pequeños de interferencia (siRNA), con un mecanismo de acción selectivo para inhibir el  $\alpha_{1D}$ -AR y de esta manera determinar su relevancia en la farmacología cardiovascular.

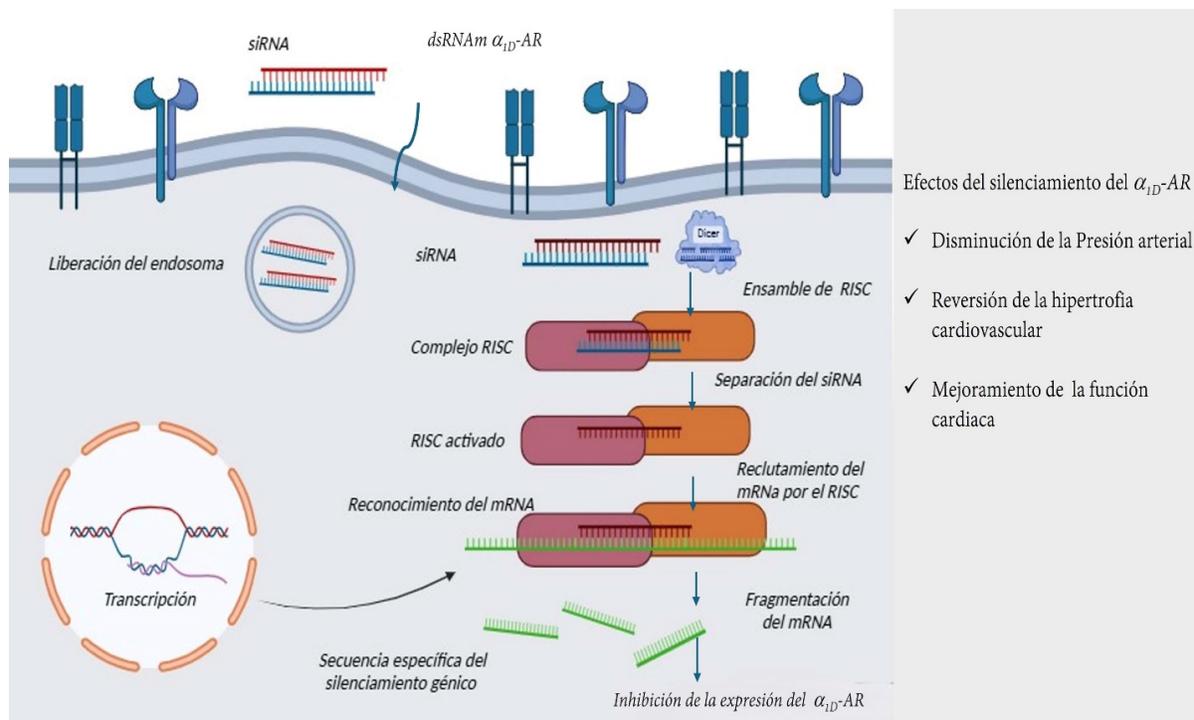


**Figura 3. Reversión de la HVI en SHR.** La administración de captopril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina) o BMY 7378 (antagonista selectivo del  $\alpha_1$ -AR) revirtieron la HVI (a y c), el tamaño de los cardiomiocitos (d) y la fibrosis (b y e) en SHR de edad avanzada y con insuficiencia cardíaca. Los datos representan la media  $\pm$  el error estándar de 3-4 ratas por grupo (<sup>#</sup> $p < 0.05$  vs. WKY y <sup>\*</sup> $p < 0.05$  vs. SHR). Imagen tomada de Rodríguez, *et al.*, 2020, (48).

### Silenciadores de RNAm como alternativa terapéutica en el tratamiento de la hipertensión y la insuficiencia cardíaca

El RNA de interferencia (RNAi) es un mecanismo endógeno que el organismo usa para defenderse ante invasiones de genomas externos que pueden alterar su homeostasis (p.ej. virus) (49). En 1998, Fire y Mello encontraron que silenciar genes en *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) a través de RNA de doble cadena (dsRNA), revolucionó la idea de la modulación en la transcripción genética con fines terapéuticos (49). Algunas de las formas de RNAi que han resultado útiles en el silenciamiento de genes son los microRNA (miRNA) y los RNA pequeños de interferencia (siRNA), ambos convergen en la inducción de complejos de silenciamiento de RNA mensajero para inhibir la expresión postranscripcional de las proteínas de manera específica (50).

El mecanismo de acción de los siRNA consiste en introducir una molécula de dsRNA de 21 a 23 nucleótidos de longitud, de la secuencia del RNAm que codifica para la proteína que se busca inhibir, es imprescindible este tamaño del dsRNA para no desencadenar reacciones inmunológicas, principalmente de respuesta para los interferones (51). Para que el siRNA pueda entrar a la célula, este debe estar protegido por un acarreador que disminuya su degradación por endonucleasas y que sea suficientemente liposoluble para atravesar con facilidad la membrana fosfolipídica (liposomas, nanopartículas, etc.). Una vez que la molécula atraviesa la membrana, se libera del acarreador y el dsRNA es escindido por Dicer, un miembro de la familia de las RNAsas III, de esta manera se forman 2 secuencias, a una de ellas se le llama hebra pasajera (secuencia sentido) y la otra es la hebra guía (secuencia antisentido). Después, el siRNA se incorpora a un complejo multiprotéico conocido



**Figura 4. Mecanismo de acción de los siRNA del  $\alpha_{1D}$ -AR.** Con la introducción de la secuencia de mRNA de doble cadena del  $\alpha_{1D}$ -AR se inhibirá la traducción proteica, teniendo efectos cardiovasculares benéficos. Imagen elaborada con Biorender.

como RISC (RNA-induced silencing complex), donde interactúa con la proteína Argonata 2 (Ago 2) que resulta en el desdoblamiento, separación y degradación de la hebra pasajera; mientras que la hebra guía, que es complementaria al RNAm blanco, conduce al complejo RISC hasta esta secuencia para ser destruida y por ende no se traduce la proteína (52, 53).

La ventaja más importante que tiene la terapia con RNAi es la selectividad. La selección y el diseño correcto de los siRNA asegura que no haya interacción con secuencias homólogas que inhiban genes no específicos. Esta terapia ya se utiliza en tratamientos anticancerígenos, en donde la terapia génica en combinación con fármacos potencia el efecto terapéutico; por ejemplo, el tratamiento con doxorubicina se incrementa si se administra en conjunto con un siRNAm de las proteínas MDR1 (multidrug resistance 1), que son proteínas que causan resistencia a los fármacos (54).

Aunque hay pocos estudios en donde se utilicen los siRNA para tratar padecimientos cardiovasculares, el silenciamiento génico del  $\alpha_{1D}$ -AR en células de MLV de aorta de rata ya se ha reportado, y se encontró que la inhibición máxima del  $\alpha_{1D}$ -AR fue 72 horas después de la transfección de los siRNA, con reducción en la expresión proteica

del 75 %; este efecto se comprobó molecularmente por Q-RT-PCR y Western blot, donde se observó una reducción en la proteína, con incremento en la expresión del RNAm que codifica para el  $\alpha_{1D}$ -AR, lo cual es común cuando hay procesos regulatorios que compensan la inhibición del gen (55).

Aunque ha habido dificultades para el silenciamiento génico en pruebas *in vivo*, es importante destacar que con otras técnicas menos específicas se ha comprobado que la inhibición de la expresión del  $\alpha_{1D}$ -AR es relevante en la función y la remodelación cardíaca. En estudios con animales íntegros se verificó la eficacia de la vacuna anti  $\alpha_{1D}$ -AR, ADRQB-004, que disminuyó la presión arterial, la hipertrofia cardíaca y la fibrosis en las SHR (56). Estos estudios se verificaron con el antagonismo del  $\alpha_{1D}$ -AR con BMY 7378, con el que hubo efectos similares (48). Por lo tanto, con estos resultados se sugiere que el  $\alpha_{1D}$ -AR participa en el daño cardiovascular generado por la hipertensión, y es un potencial blanco farmacológico para desarrollar nuevas estrategias terapéuticas, como los siRNA que disminuirían la incidencia de ECV a causa de la diabetes y la hipertensión (Figura 4).

#### Agradecimientos

JERR agradece a DGAPA por la beca otorgada en el periodo 2018-2020. Este trabajo fue realizado con el financiamiento de los proyectos PAPIIT IN221123

IAGO (2023-2025) y PAPIIT IN210222 RVM (2022-2024).

## Referencias

- Geraghty, L., Figtree, G. A., Schutte, A. E., Patel, S., Woodward, M. & Arnott, C. (2021). Cardiovascular Disease in Women: From Pathophysiology to Novel and Emerging Risk Factors. *Heart Lung Circ.* 30, 9-17.
- Pal, R. & Bhadada, S. K. (2023). AGEs accumulation with vascular complications, glycemic control and metabolic syndrome: A narrative review. *Bone.* 176, 116884.
- Zheng, H., Wu, J., Jin, Z. & Yan, L.-J. (2016). Protein Modifications as Manifestations of Hyperglycemic Glucotoxicity in Diabetes and Its Complications. *Biochem. insights.* 9, 1-9.
- Saragoca, M. A. & Tarazi, R. C. (1980) Cardiac contractile reserve in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Sci. (Lond).* 59, 365s-8s.
- Cotecchia, S., del Vescovo, C. D., Colella, M., Caso, S. & Diviani, D. (2015). The alpha1-adrenergic receptors in cardiac hypertrophy: signaling mechanisms and functional implications. *Cell. Signal.* 27, 1984-93.
- Wynn, T. A. (2008). Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* 214, 199-210.
- Diabetes [online] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
- Wu, H., Norton, V., Cui, K., Zhu, B., Bhattacharjee, S., Lu, Y. W., Wang, B., Shan, D., Wong, S., Dong, Y., Chan, S. L., Cowan, D., Xu, J., Bielenberg, D. R., Zhou, C. & Chen, H. (2022). Diabetes and Its Cardiovascular Complications: Comprehensive Network and Systematic Analyses. *Front. Cardiovasc. Med.* 9, 841928.
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas*, 10th ed.
- Wu, H., Patterson, C. C., Zhang, X., Ghani, R. B. A., Magliano, D. J., Boyko, E. J., Ogle, G. D. & Luk, A. O. Y. (2022). Worldwide estimates of incidence of type 2 diabetes in children and adolescents in 2021. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 185, 109785.
- Luo, X., Wu, J., Jing, S. & Yan, L. J. (2016). Hyperglycemic Stress and Carbon Stress in Diabetic Glucotoxicity. *Aging Dis.* 7, 90-110.
- Luevano-Contreras, C. & Chapman-Novakofski, K. (2010). Dietary Advanced Glycation End Products and Aging. *Nutrients.* 2, 1247.
- Chawla, D. & Tripathi A. K. (2019). Role of advanced glycation end products (AGEs) and its receptor (RAGE)-mediated diabetic vascular complications. *Integr. Food Nutr. Metab.* 6, 1-6.
- Mengstie, M. A., Chekol Abebe, E., Behaile Teklemariam, A., Tilahun Mulu, A., Agidew, M. M., Teshome Azezew, M., Zewde, E. A. & Agegnehu Teshome, A. (2022). Endogenous advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic diabetic complications. *Front. Mol. Biosci.* 9, 1002710.
- Incalza, M. A., D'Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L. & Giorgino, F. (2018). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul. Pharmacol.* 100, 1-19.
- Rosas, M., Palomo, S., Borrayo, G., Madrid, A., Almeida, E. & G.-O. H. (2016). Consenso de Hipertensión arterial Sistémica en México. *Rev Med Ins Mex Seguro Soc.* 54 Suppl 1, s6-s51.
- Fox, C. S. (2010). Cardiovascular Disease Risk Factors, Type 2 Diabetes Mellitus, and the Framingham Heart Study. *Trends Cardiovasc. Med.* 20(3), 90-5.
- Verma, S. & Anderson, T. J. (2002). Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation.* 105, 546-9.
- Boegehold, M. A., Drenjancevic, I. & Lombard, J. H. (2015). Salt, Angiotensin II, Superoxide, and Endothelial Function. *Compr. Physiol.* 6, 215-54.
- Pinheiro, L. C. & Oliveira-Paula, G. H. (2019). Sources and Effects of Oxidative Stress in Hypertension. *Curr. Hypertens. Rev.* 16, 166-80.
- Konior, A., Schramm, A., Czesnikiewicz-Guzik, M. & Guzik, T. J. (2014). NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxid. Redox Signal.* 20, 2794-814.
- Masi, S., Uliana, M. & Viridis, A. (2019). Angiotensin II and vascular damage in hypertension: Role of oxidative stress and sympathetic activation. *Vascul. Pharmacol.* 115, 13-17.
- Hsueh, W. A. & Wyne, K. (2011). Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Diabetes and Hypertension. *J. Clin. Hypertens.* 13, 224-37.
- Patel, S., Rauf, A., Khan, H. & Abu-Izneid, T. (2017). Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. *Biomed. Pharmacother.* 94, 317-
- Cao, X., Peterson, J. R., Wang, G., Anrather, J., Young, C. N., Guraju, M. R., Burmeister, M. A., Iadecola, C. & Davisson, R. L. (2012). Angiotensin II-dependent hypertension requires cyclooxygenase 1-derived prostaglandin E2 and EP1 receptor signaling in the subfornical organ of the brain. *Hypertension* 59, 869-76.
- Berk, B. C. & Corson, M. A. (1997). Angiotensin II signal transduction in vascular smooth muscle: Role of tyrosine kinases. *Circ Res.* 80, 607-16.
- Zhuo, J. L. & Li, X. C. (2011). New insights and perspectives on intrarenal renin-angiotensin system: focus on intracrine/intracellular angiotensin II. *Peptides* 32, 1551-65.
- Bali, A. & Jaggi, A. S. (2016). Angiotensin II-triggered kinase signaling cascade in the central nervous system. *Rev. Neurosci.* 27, 301-15.
- Lenkei, Z., Corvol, P. & Llorens-Cortes, C. (1995). The angiotensin receptor subtype AT1A predominates in rat forebrain areas involved in blood pressure, body fluid homeostasis and neuroendocrine control. *Mol. Brain Res.* 30, 53-60.
- Averill, D. B. & Diz, D. I. (2000). Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Res. Bull.* 51, 119-28.

31. Homma, N., Hirasawa, A., Shibata, K., Hashimoto, K. & Tsujimoto, G. (2000). Both  $\alpha$ (1A)- and  $\alpha$ (1B)-adrenergic receptor subtypes couple to the transient outward current (I<sub>To</sub>) in rat ventricular myocytes. *Br. J. Pharmacol.* 129, 1113-20.
32. Hu, L., Zhu, D. N., Yu, Z., Wang, J. Q., Sun, Z. J. & Yao, T. (2002). Expression of angiotensin II type 1 (AT<sub>1</sub>) receptor in the rostral ventrolateral medulla in rats. *J. Appl. Physiol.* 92, 2153-61.
33. Allen, A. M. (2001). Blockade of angiotensin AT<sub>1</sub>-receptors in the rostral ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure and sympathetic nerve discharge. *J. Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst.* 2, S120-24.
34. Sumners, C., Alleyne, A., Rodríguez, V., Pioquinto, D. J., Ludin, J. A., Kar, S., Winder, Z., Ortiz, Y., Liu, M., Krause, E. G. & de Kloet, A. D. (2020). Brain angiotensin type-1 and type-2 receptors: cellular location under normal- and hypertensive conditions. *Hypertens. Res.* 43, 281-95.
35. Rodríguez-Campos, M., Kadarian, C., Rodano, V., Bianciotti, L., Fernandez, B. & Vatta, M. (2000). AT-1 receptor and phospholipase C are involved in angiotensin III modulation of hypothalamic noradrenergic transmission. *Cell. Mol. Neurobiol.* 20, 747-62.
36. Gallardo-Ortiz, I. A., Rodríguez-Hernández, S. N., López-Guerrero, J. J., Del Valle-Mondragón, L., López-Sánchez, P., Touyz, R. M. & Villalobos-Molina, R. (2015). Role of  $\alpha$ 1D-adrenoceptors in vascular wall hypertrophy during angiotensin II-induced hypertension. *Auton. Autacoid Pharmacol.* 35, 17-31.
37. Weber, K. T. & Brilla, C. G. (1991). Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation.* 83, 1849-65.
38. Krenning, G., Zeisberg, E. M. & Kalluri, R. (2010). The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis. *J. Cell. Physiol.* 225, 631-7.
39. C. Reid, A., A. Brazin, J., Morrey, C., B. Silver, R. & Levi, R. (2011). Targeting cardiac mast cells: pharmacological modulation of the local renin-angiotensin system. *Curr. Pharm. Des.* 17, 3744-52.
40. Woodcock, E. A., Du, X. J., Reichelt, M. E. & Graham, R. M. (2008). Cardiac  $\alpha$ 1-adrenergic drive in pathological remodeling. *Cardiovasc. Res.* 77, 452-62.
41. Villalobos-Molina, R. & Ibarra, M. (1996). Alpha 1-adrenoceptors mediating contraction in arteries of normotensive and spontaneously hypertensive rats are of the alpha 1D or alpha 1A subtypes. *Eur. J. Pharmacol.* 298, 257-63.
42. Perez, D. M. & Doze, V. A. (2011). Cardiac and neuroprotection regulated by  $\alpha$ 1-adrenergic receptor subtypes. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 31, 98-110.
43. Simpson, P. (1985). Stimulation of hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells through an alpha 1-adrenergic receptor and induction of beating through an alpha 1- and beta 1-adrenergic receptor interaction. Evidence for independent regulation of growth and beating. *Circ. Res.* 56, 884-94.
44. Li, H. T., Long, C. S., Rokosh, G., Honbo, N. Y. & Karliner, J. S. (1995). Chronic Hypoxia Differentially Regulates  $\alpha$ 1-Adrenergic Receptor Subtype mRNAs and Inhibits  $\alpha$ 1-Adrenergic Receptor-Stimulated Cardiac Hypertrophy and Signaling. *Circulation.* 92, 918-25.
45. Selvetella, G., Hirsch, E., Notte, A., Tarone, G. & Lembo, G. (2004). Adaptive and maladaptive hypertrophic pathways: Points of convergence and divergence. *Cardiovasc. Res.* 63, 373-80.
46. Lyssand, J. S., DeFino, M. C., Tang, X. B., Hertz, A. L., Feller, D. B., Wacker, J. L., Adams, M. E. & Hague, C. (2008). Blood pressure is regulated by an alpha1D-adrenergic receptor/dystrophin signalosome. *J. Biol. Chem.* 283, 18792-800.
47. Shanks, J. & Herring, N. (2013). Peripheral cardiac sympathetic hyperactivity in cardiovascular disease: Role of neuropeptides. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 305, 1411-20.
48. Rodríguez, J. E., Saucedo-Campos, A. D., Vega, A. V., Ramírez-Hernández, D., Martínez-Aguilar, L., Jiménez-Flores, J. R., Andrade-Jorge, E., Estrada-Soto, S. E., Villalobos-Molina, R., Touyz, R. M. & Gallardo-Ortiz, I. A. (2020). The  $\alpha$ 1D-adrenoceptor antagonist BMY 7378 reverses cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 38, 1496-1503.
49. Sen, G. L. & Blau, H. M. (2006). A brief history of RNAi: the silence of the genes. *FASEB J.* 20, 1293-9.
50. Hu, B., Zhong, L., Weng, Y., Peng, L., Huang, Y., Zhao, Y. & Liang, X. J. (2020). Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal Transduct. Target. Ther.* 5, 101.
51. Alshaer, W., Zureigat, H., Al Karaki, A., Al-Kadash, A., Gharaibeh, L., Hatmal, M. M., Aljabali, A. A. A. & Awidi, A. (2021). siRNA: Mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches. *Eur. J. Pharmacol.* 905, 174178.
52. Traber, G. M. & Yu, A. M. (2023). RNAi-Based Therapeutics and Novel RNA Bioengineering Technologies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 384, 133-54.
53. Mainini, F. & Eccles, M. R. (2020). Lipid and Polymer-Based Nanoparticle siRNA Delivery Systems for Cancer Therapy. *Molecules* 25, 2692.
54. Butt, A. M., Amin, M. C. I. M., Katas, H., Abdul Murad, N. A., Jamal, R. & Kesharwani, P. (2016). Doxorubicin and siRNA Codelivery via Chitosan-Coated pH-Responsive Mixed Micellar Polyplexes for Enhanced Cancer Therapy in Multidrug-Resistant Tumors. *Mol. Pharm.* 13, 4179-90.
55. Sun, B., Kintsurashvili, E., Ona, D., Ignjacev-Lazich, I., Gavras, I. & Gavras, H. (2007). Inhibition of the  $\alpha$ 1D-adrenergic receptor gene by RNA interference (RNAi) in rat vascular smooth muscle cells and its effects on other adrenergic receptors. *Vascul. Pharmacol.* 46, 367-72.
56. Li, C., Yan, X., Wu, D., Zhang, K., Liang, X., Pan, Y., Zhou, Y., Chen, F., Chen, X., Yang, S., Zhou, Z., Wei, Y., Liao, Y. & Qiu, Z. (2019). Vaccine Targeted Alpha 1D-Adrenergic Receptor for Hypertension. *Hypertens.* 74, 1551-62.



**Dra. Jessica E. Rodríguez Rodríguez**  
**ORCID: 0000-0002-3996-0514**

Química Farmacobióloga por parte de la Facultad de

---

Estudios Superiores Zaragoza. Maestra en Farmacología y Doctora en Investigación en Medicina con especialidad en Farmacología Cardiovascular, por parte de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Realizó 2 estancias posdoctorales: una en la Unidad de Biomedicina de la FES Iztacala y otra en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Actualmente es profesora de asignatura de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza e Investigadora Nacional Nivel I (SNI I). Realiza investigación enfocada en la participación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y su interacción con el sistema nervioso autónomo en el desarrollo de la hipertensión y la insuficiencia cardíaca en modelos animales, para contribuir con el diseño, desarrollo de fármacos y nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de estas enfermedades; su trabajo ha sido publicado en revistas internacionales con factor de impacto.





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Enfermedades Crónicas No Transmisibles y COVID-19 en México: un enfoque desde la vigilancia epidemiológica

### Chronic Non-Communicable Diseases and COVID-19 in Mexico: a surveillance epidemiological approach

Oliva Sánchez, Pablo Francisco<sup>1,2</sup> ; Velázquez Trejo, Diego Arturo<sup>2</sup>; Abarca Acha, Luis Fernando<sup>1,2</sup>; Rojo Román, Ricardo Adonay<sup>3</sup>; Anizar Garibay, Aldo<sup>2</sup>; Coronado Parra, Sergio<sup>2</sup>; Miranda Abad, Cristel Samir<sup>2</sup>; Grobeisen Levin, Samuel<sup>2</sup>; Martínez-Kobeh, Juan Pablo<sup>4</sup>; Vadillo-Ortega, Felipe<sup>1</sup>.

1. Unidad de Vinculación Científica Facultad de Medicina, Instituto Nacional de Medicina Genómica.
2. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana.
3. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.
4. Fundación Clínica Médica Sur.

Periférico Sur 4809, Arenal Tepepan, Tlalpan, 04739 Ciudad de México, CDMX,  
55 5350-1900 ext.1124; [pfoliva@inmegen.gob.mx](mailto:pfoliva@inmegen.gob.mx)

Editor responsable: Héctor Vazquez-Meza  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.06>

Recibido: 28 de febrero de 2024  
Revisado: 24 de abril de 2024  
Aceptado: 27 de mayo de 2024

#### Resumen

En México, la pandemia de COVID-19 ha tenido un impacto significativo en la salud pública y ha puesto de relieve la interrelación entre el virus SARS-CoV-2, las enfermedades crónicas no transmisibles y la respuesta inmunitaria ante una enfermedad emergente. Desde el inicio de la pandemia en 2020, nuestro país ha experimentado múltiples oleadas de casos de COVID-19, cada una con su propio conjunto de desafíos y consecuencias. Durante estas oleadas, se ha observado un aumento significativo en el número de casos y muertes relacionadas con COVID-19, especialmente durante la segunda y tercera olas, que ejercieron una presión considerable sobre el sistema de salud mexicano. Se ha demostrado que una respuesta inmunitaria excesiva o desregulada puede contribuir a complicaciones graves de COVID-19, especialmente en individuos

#### Abstract

In Mexico, the COVID-19 pandemic has had a significant impact on public health, highlighting the interrelation between the SARS-CoV-2 virus, chronic diseases, and the immune response to an emerging disease. Since the onset of the pandemic in 2020, our country has witnessed multiple waves of COVID-19 cases, each with its own set of challenges and consequences. These waves have seen a notable increase in COVID-19 cases and related deaths, especially during the second and third waves, imposing considerable pressure on the Mexican healthcare system. It has been demonstrated that an excessive or dysregulated immune response can contribute to severe COVID-19 complications, particularly in individuals with pre-existing conditions such as diabetes, systemic arterial hypertension, overweight, and obesity. These

con enfermedades crónicas no transmisibles preexistentes como la diabetes, la hipertensión arterial sistémica, el sobrepeso y la obesidad; estas condiciones subyacentes no solo aumentan el riesgo de complicaciones graves, sino que también pueden afectar la capacidad del cuerpo para combatir la infección viral, lo que lleva a una mayor susceptibilidad y peores desenlaces clínicos. Además, la pandemia de COVID-19 ha tenido un impacto significativo en el control y la atención de las enfermedades crónicas no transmisibles en México. La interrupción de los servicios de salud no relacionados con COVID-19, la falta de acceso a medicamentos y la disminución de la actividad física debido a las medidas de distanciamiento social han contribuido a un deterioro en el control de las enfermedades crónicas no transmisibles en muchas personas. Además, la situación económica ha exacerbado las desigualdades socioeconómicas en el control de las enfermedades crónicas no transmisibles, con un impacto desproporcionado en las comunidades marginadas y vulnerables. La pandemia de COVID-19 ha destacado la interconexión entre el SARS-CoV-2, las enfermedades crónicas no transmisibles y la respuesta inmunitaria del cuerpo en México. Comprender esta relación es fundamental para identificar a los pacientes con mayor riesgo de complicaciones graves y desarrollar estrategias de prevención y tratamiento efectivas. Además, es necesario abordar las disparidades socioeconómicas y mejorar el acceso a la atención médica para garantizar una respuesta integral y equitativa a la pandemia y sus efectos en la salud pública. El objetivo de este análisis es describir la relación entre las enfermedades crónicas no transmisibles con la hospitalización, desenlaces clínicos graves y la defunción por COVID-19 en los casos confirmados en población mexicana, comparando las tres primeras olas epidemiológicas de la pandemia. Se realizó una revisión general sobre la interacción entre enfermedades crónicas no transmisibles y su papel en la respuesta inmunitaria a la infección por SARS-CoV-2 desde la perspectiva de la salud pública.

*Palabras claves:* COVID-19, Vigilancia Epidemiológica, SARS-CoV-2, enfermedades crónicas no transmisibles, respuesta inmunitaria.

underlying conditions not only heighten the risk of severe complications but can also impact the body's ability to combat viral infection, leading to increased susceptibility and worse clinical outcomes. Furthermore, the COVID-19 pandemic has significantly affected the control and management of chronic diseases in Mexico. Disruption of non-COVID-19-related healthcare services, lack of access to medications, and reduced physical activity due to social distancing measures have contributed to a deterioration in chronic disease control for many individuals. Additionally, the economic situation has exacerbated socio-economic inequalities in chronic disease control, disproportionately impacting marginalized and vulnerable communities. The COVID-19 pandemic has underscored the relation between the SARS-CoV-2 virus, chronic diseases, and the body's immune response in Mexico. Understanding this relationship is crucial for identifying patients at higher risk of severe complications and developing effective prevention and treatment strategies. Addressing socio-economic disparities and improving access to healthcare are essential for ensuring a comprehensive and equitable response to the pandemic and its impact on public health. The objective of this analysis is to describe the relationship between chronic diseases, hospitalization, severe clinical outcomes, and death from COVID-19 in confirmed cases within the Mexican population, comparing the first three epidemiological waves of the pandemic. A comprehensive review was conducted on the interaction between chronic diseases and their role in the immune response to SARS-CoV-2 infection from a public health perspective.

*Keywords:* COVID-19, epidemiological surveillance, SARS-CoV-2, chronic disease, immune response.

### **Introducción: la intersección entre COVID-19 y las enfermedades crónicas no transmisibles.**

La pandemia de COVID-19 ha puesto al descubierto una serie de interacciones complejas entre el virus SARS-CoV-2 y las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), tales como la diabetes (DT), la

hipertensión arterial sistémica (HAS), las enfermedades cardiovasculares (EC), enfermedad renal crónica (ERC) y la obesidad [1]. Estas condiciones de salud preexistentes han demostrado aumentar significativamente el riesgo de complicaciones graves y muerte por COVID-19 [2].

Las ECNT representan una carga de enfermedad significativa para la salud pública en todo el mundo, siendo responsables de la mayoría de las muertes a nivel global [3]. Estas condiciones, caracterizadas por su curso prolongado y progresivo, son influenciadas por una combinación de factores genéticos, ambientales y de estilo de vida [4]. La obesidad, por ejemplo, no solo aumenta el riesgo de desarrollar DT tipo 2 y EC, sino que también compromete la función inmunitaria, lo cual, puede aumentar la vulnerabilidad frente a infecciones virales como la COVID-19 [5].

La interacción entre la COVID-19 y las ECNT se manifiesta de varias maneras. En primer lugar, las personas con ECNT tienen un mayor riesgo de contraer COVID-19 debido a la disfunción inmunitaria que manifiestan ante la presencia del SARS-CoV-2 y de comorbilidades que afectan negativamente la salud pulmonar y cardiovascular [6]. Una vez infectadas, estas personas enfrentan un mayor riesgo de desarrollar complicaciones graves, como neumonía, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), efectos deletéreos en el sistema cardiovascular y trombosis, debido a la inflamación sistémica y la respuesta inmune alterada [7].

Además, la pandemia a nivel mundial exacerbó las disparidades existentes en el acceso a la atención médica y en los determinantes sociales de la salud, lo que ha impactado de manera desproporcionada a las personas con ECNT, especialmente a aquellas de comunidades marginadas o con recursos limitados [8]. Las medidas de distanciamiento social, si bien son cruciales para contener la propagación del virus, también han interrumpido los servicios de atención médica preventiva y de seguimiento para las personas con ECNT, lo que ha llevado a un control deficiente de estas enfermedades y a un mayor riesgo de complicaciones relacionadas con la COVID-19 [9].

La relación entre la COVID-19 y las ECNT es compleja y multifacética, con implicaciones significativas para la salud pública y la atención médica [10]. Abordar esta intersección requiere un enfoque integral que combine la vigilancia epidemiológica, el manejo y el tratamiento de las ECNT, así como medidas específicas para proteger a las poblaciones vulnerables [11]. Solo mediante una respuesta coordinada y colaborativa, se pueden mitigar los impactos negativos de la pandemia en las personas con ECNT y trabajar hacia un futuro más saludable y resiliente. Estudios clínicos realizados durante la pandemia, han descrito la asociación de las ECNT con aumento en la severidad clínica y la mortalidad, en población mexicana confirmada con SARS-CoV-2, sin embargo, aún falta información acerca de los factores que se asocian con la hospitalización por COVID-19 a nivel poblacional durante la etapa pandémica en México y en el mundo

[5-9]. El objetivo de este documento es describir la relación entre las ECNT con la hospitalización, desenlaces clínicos graves y la defunción por COVID-19 en los casos confirmados en población mexicana, comparando las tres primeras olas epidemiológicas de la pandemia.

El presente análisis se enfoca en las primeras olas epidemiológicas en México durante la pandemia de COVID-19, ya que son consideradas las más importantes desde el punto de vista de los determinantes de la salud [12] por las siguientes razones:

1. Impacto en la Salud Pública: estas oleadas representaron los períodos de mayor aumento en el número de casos confirmados y muertes relacionadas con COVID-19 en el país. La magnitud del impacto en la salud pública durante estas oleadas resaltó la gravedad de la situación y la necesidad de una respuesta urgente por parte de las autoridades sanitarias.
2. Presión sobre el Sistema de Salud: las primeras tres oleadas ejercieron una presión significativa sobre el sistema de salud mexicano, especialmente en términos de capacidad hospitalaria y recursos médicos. La alta demanda de atención médica, incluyendo camas de hospital y unidades de cuidados intensivos, llevó a una saturación en algunos hospitales y dificultades para proporcionar atención adecuada a todos los pacientes.
3. Desafíos logísticos y de coordinación: la gestión de la respuesta a la pandemia durante estas oleadas implicó desafíos logísticos y de coordinación, incluyendo la distribución de equipos de protección personal, pruebas de diagnóstico, y la implementación de medidas de prevención y control en todo el país. Estos desafíos destacaron la necesidad de una coordinación efectiva entre los diferentes niveles de gobierno y las instituciones de salud.
4. Impacto social y económico: las primeras tres oleadas también tuvieron un impacto significativo en la sociedad y la economía mexicana. Las medidas de distanciamiento social y cierres de negocios para contener la propagación del virus afectaron a millones de personas, especialmente a aquellas en situaciones vulnerables o con empleos informales. Esto subrayó la importancia de encontrar un equilibrio entre la protección de la salud pública y la mitigación de los impactos socioeconómicos.

Las tres primeras oleadas epidemiológicas en México durante la pandemia de COVID-19 son consideradas las más importantes debido a su impacto significativo en la salud pública, la presión sobre el sistema de salud, los desafíos logísticos y de

coordinación, y su impacto social y económico en el país. Estas oleadas han sido fundamentales para comprender la evolución de la pandemia en México y para informar las estrategias de respuesta en curso.

### **Evolución Epidemiológica de COVID-19 en México: Un Análisis Histórico**

El impacto que tuvo México desde el inicio de la pandemia de COVID-19 en el año 2020, fue profundo y complicado. Desde entonces, el país ha experimentado una serie de altibajos en su situación epidemiológica, reflejando los desafíos únicos que enfrenta en la lucha contra esta enfermedad altamente transmisible.

El 28 de febrero de 2020, México confirmó su primer caso de COVID-19, iniciando una pandemia que marcó un antes y un después en la historia del país. Desde entonces, la enfermedad ha impactado profundamente en la salud pública, la economía y la vida social de la población mexicana. En un esfuerzo por contener la propagación del virus, se implementaron medidas como el distanciamiento social, el cierre de escuelas y la promoción del lavado de manos y posteriormente el uso de cubrebocas [15]. Sin embargo, a medida que el virus se propagaba rápidamente, el sistema de salud mexicano enfrentó desafíos significativos en términos de capacidad y recursos para hacer frente a la creciente demanda de atención médica.

A lo largo de 2020, México experimentó varias oleadas de casos de COVID-19, cada una con su propio conjunto de desafíos y consecuencias. La primera ola, que alcanzó su punto máximo en el verano de 2020, ejerció una presión considerable sobre los hospitales y el personal médico, destacando deficiencias en la infraestructura de salud del país [16]. Según datos de la Secretaría de Salud [16], durante esta primera ola se reportaron más de 300,000 casos confirmados y más de 30,000 muertes.

La segunda ola epidemiológica, que se produjo a finales de 2020 y principios de 2021, fue aún más devastadora, con un aumento significativo en el número de casos y muertes. Según estadísticas oficiales [17], esta segunda ola superó los 1.5 millones de casos confirmados y provocó más de 150,000 muertes en todo el país, lo que llevó a una saturación de los hospitales y a una escasez de recursos médicos. La llegada de la vacuna contra la COVID-19 a finales de 2020 marcó un hito importante en la respuesta de México a la pandemia. Sin embargo, la distribución y administración de la vacuna enfrentaron desafíos logísticos y de coordinación, lo que resultó en una implementación lenta y desigual en todo el país [17]. A pesar de los esfuerzos para acelerar la vacunación en 2021, México continuó enfrentando dificultades en

la contención de la enfermedad, especialmente con la aparición de variantes más contagiosas del virus.

La situación epidemiológica en México ha sido objeto de debate y crítica, por un lado elogiando los esfuerzos del gobierno para contener la propagación del virus y proteger a la población, por otro lado se ha expresado preocupación por la falta de transparencia y la respuesta fragmentada [18]. La pandemia ha puesto al descubierto las profundas desigualdades sociales y económicas en el país, con comunidades marginadas y vulnerables enfrentando un mayor riesgo de infección y un acceso limitado a la atención médica.

Durante la tercera ola epidemiológica en México, que tuvo lugar a finales de 2021 y principios de 2022, el país experimentó un aumento significativo en el número de casos y muertes relacionadas con COVID-19 [16, 17]. Según estadísticas oficiales, esta ola alcanzó su punto máximo en diciembre de 2021, con un promedio diario de más de 25,000 nuevos casos confirmados y más de 1,000 muertes reportadas.

El aumento en los casos de COVID-19 durante esta tercera ola se atribuyó en parte a la propagación de variantes más contagiosas del virus, como la variante Delta [16]. Además, se observó un aumento en la ocupación de camas de hospital y de unidades de cuidados intensivos (UCI), lo que ejerció una presión adicional sobre el sistema de salud del país [15, 17].

Esta tercera ola también coincidió con un periodo de festividades y reuniones sociales, lo que contribuyó a la propagación acelerada del virus [16]. A pesar de los esfuerzos para promover medidas de prevención, como el uso de mascarillas y el distanciamiento social, la transmisión comunitaria del virus continuó siendo un desafío significativo.

La tercera ola epidemiológica en México puso de relieve la importancia de mantener la vigilancia epidemiológica y de continuar con los esfuerzos de vacunación para contener la propagación del virus y proteger a la población vulnerable. Si bien se observaron mejoras en la situación epidemiológica hacia principios de 2022, sigue siendo crucial mantener cautela y seguir las recomendaciones de las autoridades de salud para prevenir futuros brotes de COVID-19 [16].

A finales del 2022 se entró en una etapa de disminución significativa del número de casos y defunciones, además de tener una alta cobertura de vacunación en la población mayor de edad (más del 80% con esquema completo). Así mismo, se implementaron estrategias de vacunación para rezagados y población infantil. Para finales del año 2023 se consideró una etapa epidemiológica de baja transmisión del SARS-CoV-2. La mayoría de los casos que se presentaron fueron casos ambulatorios con cuadros clínicos leves que no requirieron

hospitalización [19]. Sin embargo, seguimos con algunos desafíos incluso para el 2024, tales como:

- Persistencia baja (pero intensa) de la transmisión del virus.
- Desigualdades en el acceso a la salud, especialmente en zonas rurales y marginadas, relacionadas con el acceso a la vacunación Anti-SARS-CoV-2 y otros servicios relacionados.
- Fatiga pandémica: conjunto de sensaciones y emociones derivadas de la crisis sanitaria por la COVID-19, que se caracteriza por una percepción de agotamiento, desmotivación y apatía frente a las medidas de prevención y la situación actual [20].
- Necesidad de mantener la vigilancia epidemiológica de COVID-19 en aspectos como los efectos por vacunación, COVID-19 persistente (LONG COVID-19), complicaciones cardiovasculares, respiratorias y metabólicas relacionadas con la exposición al SARS-CoV-2 [21].
- Investigación científica ante nuevas variantes del coronavirus y la capacidad de respuesta ante posibles rebrotes por esta enfermedad [21].

#### **Las enfermedades crónicas no transmisibles en México durante la pandemia**

Las ECNT, como la DT, la HAS, las EC y el cáncer, representan una carga significativa para el sistema de salud de México y son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el país. En los últimos dos años, la situación de las ECNT en México ha sido objeto de atención y preocupación, especialmente en el contexto de la pandemia de COVID-19.

Como se describió previamente durante la pandemia de COVID-19, se observó un impacto significativo en la atención y el control de las ECNT en México. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que el control deficiente de las ECNT contribuyó al 72% de todas las muertes en México durante el último año [22]. La interrupción de los servicios de salud no relacionados con COVID-19, la falta de acceso a medicamentos y la disminución de la actividad física debido a las medidas de distanciamiento social han contribuido a un deterioro en el control de las ECNT en muchas personas.

El panorama económico también ha desempeñado un papel importante en el control de las ECNT en México en los últimos dos años. Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), se estima que el 40% de la población mexicana experimentó dificultades económicas durante la pandemia, lo que afectó su capacidad para disponer de alimentos saludables y tratamientos para las ECNT [23]. Esto ha exacerbado las desigualdades socioeconómicas en el control de las ECNT y ha

puesto de relieve la necesidad de políticas y programas que aborden estas disparidades. A pesar de estos desafíos, también ha habido avances en la prevención y el control de las ECNT en México en los últimos dos años. Según datos de la Secretaría de Salud, se estima que el acceso a la atención médica para las ECNT ha mejorado en un 15% en comparación con el año anterior, especialmente a través de la expansión de la cobertura de salud universal [24]. Además, se ha trabajado en mejorar el acceso a los medicamentos para las personas con ECNT, lo que ha contribuido en una reducción del 10% en la tasa de mortalidad por EC.

La situación de las ECNT en México en los últimos dos años ha sido compleja y multifacética. Si bien la pandemia de COVID-19 ha planteado importantes desafíos para la prevención y el control de las ECNT, también ha destacado la necesidad de abordar las desigualdades socioeconómicas y mejorar el acceso a la atención médica. Con un enfoque integral y coordinado, México puede avanzar hacia la prevención y el control efectivo de las ECNT, mejorando así la salud y el bienestar de su población.

#### **SARS-CoV-2 y enfermedades crónicas no transmisibles: aspectos fisiopatológicos de importancia en salud pública.**

La relación entre el SARS-CoV-2, su respuesta inmunitaria y las ECNT es compleja y multifacética. El SARS-CoV-2 infecta las células humanas a través de la interacción de su proteína de espiga con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA-2) en la superficie celular. Una vez dentro del organismo, desencadena una respuesta inmunitaria que puede tener consecuencias significativas, especialmente en individuos con ECNT preexistentes [25]. La infección por SARS-CoV-2 desencadena una respuesta inmunitaria en el cuerpo, que incluye la activación de células del sistema inmunitario como los linfocitos T y B, así como la liberación de citocinas proinflamatorias. En algunos casos, esta respuesta inmunitaria puede ser excesiva o desregulada, lo que lleva a una condición conocida como "tormenta de citocinas". Esta tormenta de citocinas puede causar daño en múltiples órganos y tejidos, exacerbando las complicaciones de COVID-19, especialmente en individuos con ECNT como la DT, la obesidad, la HAS y las EC. [25]

Las ECNT pueden aumentar la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 y agravar los efectos de la enfermedad de varias maneras. Por ejemplo, la DT y la obesidad pueden alterar la función del sistema inmunológico, reduciendo la capacidad del cuerpo para combatir la infección viral y aumentando el riesgo de complicaciones graves de COVID-19. Además, las ECNT como la HAS y las EC pueden

provocar daño en los vasos sanguíneos y el sistema cardiovascular, lo que aumenta el riesgo de complicaciones como la trombosis y el accidente cerebrovascular en pacientes con COVID-19.

La relación entre SARS-CoV-2, la respuesta inmunitaria y las ECNT también puede tener implicaciones a largo plazo para la salud. Se ha observado que algunos pacientes que han superado la infección por COVID-19 desarrollan síntomas persistentes, conocidos como "COVID-19 prolongado" o "COVID-19 crónico", que pueden afectar diversos sistemas del cuerpo, incluyendo el sistema cardiovascular, el sistema respiratorio y el sistema nervioso. Estos síntomas pueden ser especialmente graves en individuos con ECNT preexistentes [26].

La DT, por ejemplo, puede afectar la función del sistema inmunológico y la capacidad del cuerpo para combatir la infección viral. Además, la hiperglucemia asociada con la DT puede proporcionar un ambiente favorable para la replicación del virus y aumentar el riesgo de complicaciones como la neumonía y el SDRA [25]. La HAS también puede contribuir al daño vascular y al estrés oxidativo, aumentando el riesgo de complicaciones cardiovasculares en pacientes con COVID-19 [25]. En cuanto a la obesidad, se ha demostrado que está asociada a un componente inflamatorio crónico de bajo grado y disfunción del sistema inmunológico, lo que puede aumentar el riesgo de complicaciones graves de COVID-19, como la insuficiencia respiratoria y la trombosis [25,26].

Además de aumentar el riesgo de complicaciones graves, estas condiciones subyacentes también pueden afectar la respuesta inmunitaria del cuerpo a la infección por SARS-CoV-2. Se ha demostrado que la DT, la HAS y la obesidad están asociadas con niveles elevados de ciertas citocinas proinflamatorias, que pueden contribuir a la "tormenta de citocinas" observada en algunos pacientes con COVID-19 [27]. Esta respuesta inmunitaria excesiva puede causar daño en múltiples órganos y tejidos, exacerbando las complicaciones de la enfermedad.

La interacción entre el SARS-CoV-2 y las ECNT como la DT, la HAS y la obesidad es compleja y multifacética. Estas condiciones subyacentes aumentan el riesgo de complicaciones graves de COVID-19 y pueden afectar la respuesta inmunitaria del cuerpo a la infección viral. La descripción epidemiológica es fundamental para identificar a las personas con mayor riesgo de complicaciones graves y desarrollar estrategias de prevención y tratamiento efectivas para mitigar el impacto de la pandemia en la salud pública

## Métodos

Se realizó un análisis transversal usando los datos del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedad Respiratoria Viral (SISVER) [28], generado por la Secretaría de Salud de México. Se utilizó la base de datos hasta el 18 de septiembre de 2021, que incluía 10,347,746 individuos. Para el análisis, usamos la información correspondiente a las tres grandes olas epidemiológicas, la primera entre el 28 de marzo y el 2 de julio del 2020, la segunda entre el 14 de septiembre del 2020 y el 21 de febrero del 2021, y la tercera entre el 25 de junio y el 18 de septiembre del 2021. Es importante mencionar que el periodo en que duraron las tres olas antes descritas fue la etapa de mayor tasa de hospitalización por COVID-19 en México.

## Análisis estadístico y desenlaces clínicos

Se realizó un análisis de prevalencia en la población mexicana y en los casos confirmados de COVID-19. Los desenlaces clínicos fueron hospitalización, neumonía por COVID-19, casos confirmados que requirieron ventilación mecánica invasiva (VMI), y defunción confirmada por COVID-19. Se compararon las tres primeras olas epidemiológicas. Se analizó la prevalencia de las ECNT entre los diferentes desenlaces clínicos en casos confirmados de COVID-19. No fue necesaria la aprobación de un Comité de Ética e Investigación para este estudio, ya que es un análisis secundario de base de datos y está públicamente disponible en la Secretaría de Salud de México.

La pandemia de COVID-19 ha impuesto desafíos significativos al sistema de salud en México, particularmente en el manejo y tratamiento de pacientes con comorbilidades preexistentes. Mediante el análisis de datos disponibles, hemos identificado patrones y variaciones en la incidencia de COVID-19 entre pacientes con enfermedades específicas a lo largo de tres olas epidemiológicas. Estas olas se definieron como sigue: la primera del 28 de marzo al 2 de julio de 2020, la segunda del 14 de septiembre de 2020 al 21 de febrero de 2021, y la tercera del 25 de junio al 18 de septiembre de 2021. Durante estas fases, se registró una alta tasa de hospitalizaciones por COVID-19, la mayor hasta la fecha en México, destacando la gravedad de la situación [29].

La interacción entre el SARS-CoV-2 y ECNT es crucial para entender la dinámica de la pandemia, ya que estas condiciones afectan la respuesta inmunitaria del individuo, alterando así el curso de la enfermedad [30]. Este estudio se enfoca en analizar las primeras tres olas de manera independiente para explorar cómo las ECNT influyen en la incidencia y desenlace de la COVID-19 en México, con el fin de comprender

mejor el impacto de estas comorbilidades en la carga poblacional de la enfermedad. El Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Respiratorias (SISVER) establece criterios para clasificar un caso como sospechoso de COVID-19, considerando síntomas como tos, fiebre, cefalea, entre otros. Los casos con dificultades respiratorias fueron confirmados mediante prueba PCR para SARS-CoV-2, y estos constituyen la base de nuestro análisis. Se analizaron datos de 123,446 pacientes en la primera ola, 5,277,696 en la segunda, y 3,295,846 en la tercera, proporcionando un amplio espectro para evaluar el impacto de la pandemia. [28]

## Resultados

Durante la primera ola epidemiológica que toma lugar desde el 28 de marzo del 2020 al 02 de julio del

mismo año, se puede observar que el porcentaje más alto de casos positivos confirmados se encontraron en el rango de edad de 35 a 39 años y de 45 a 49 años, siendo idénticos, en esta primera ola se encontró una mayor proporción del sexo masculino con un 54.,54% en comparación con el sexo femenino que fue (45.46%); además, fue la más alta de las tres olas dentro de la población fumadora (7.71%). Se logró identificar que las comorbilidades crónicas más prevalentes fueron HAS (20.11%), seguida de la obesidad (19.51%), y ocupando el tercer lugar se encuentra la DT (16.42%); tomando en cuenta los desenlaces clínicos se observó un mayor porcentaje en pacientes ambulatorios (69.48%), siendo esta ola la que tuvo menor número de defunciones (3.,89%), en comparación con las otras dos. (Cuadro 1)

**Cuadro 1. Características y desenlaces clínicos de la población confirmada con COVID-19**

	Casos positivos confirmados de COVID-19 Marzo 28, 2020-julio 02, 2020 (n = 238,511)	Casos positivos confirmados de COVID-19 Septiembre 14, 2020- febrero 21, 2021 (n = 864,033)	Casos positivos confirmados de COVID-19 Junio 25, 2021- septiembre 18, 2021 (n = 252,755)
	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Edad, años (categorías de cinco años)</b>			
0-19	7,479 (3.14)	39,656 (4.59)	26,934 (10.66)
20-24	10,168 (4.26)	60,881 (7.05)	22,970 (9.09)
25-29	21,602 (9.06)	91,128 (10.55)	28,777 (11.39)
30-34	25,948 (10.88)	92,381 (10.69)	26,594 (10.52)
35-39	27,069 (11.35)	88,737 (10.27)	27,302 (10.80)
40-44	26,630 (11.17)	84,253 (9.75)	22,513 (8.91)
45-49	27,069 (11.35)	88,299 (10.22)	22,999 (9.10)
50-54	24,068 (10.09)	78,449 (9.08)	17,196 (6.80)
55-59	20,491 (8.9)	67,265 (7.79)	14,645 (5.79)
60-64	15,593 (6.54)	53,775 (6.22)	12,782 (5.06)
65-69	11,952 (5.01)	41,560 (4.81)	10,206 (4.04)
70-74	8,376 (3.51)	31,423 (3.64)	7,552 (2.99)
75-79	5,797 (2.43)	21,985 (2.54)	5,446 (2.15)
≥ 80	6,269 (2.63)	24,241 (2.81)	6,839 (2.71)
<b>Sexo</b>			
Masculino	130,087 (54.54)	437,118 (50.59)	127,506 (50.45)
Femenino	108,424 (45.46)	426,915 (49.41)	125,249 (49.55)
<b>Tabaquismo actual (Si)</b>			
	18,321 (7.71)	61,870 (7.18)	13,553 (5.37)
<b>Comorbilidades crónicas</b>			
DT	39,020 (16.42)	120,580 (13.99)	30,796 (12.20)
HAS	47,796 (20.11)	159,774 (18.54)	36,983 (14.65)

Asma	6,512 (2.74)	18,859 (2.19)	4,838 (1.92)
ERC	5,132 (2.16)	13,557 (1.57)	3,800 (1.51)
EC	5,496 (2.31)	13,685 (1.59)	3,125 (1.24)
Obesidad	46,355 (19.51)	124,718 (14.47)	28,499 (11.29)
Inmunosupresión	3,229 (1.36)	7,108 (0.82)	1,696 (0.67)
EPOC	4,097 (1.72)	9,852 (1.14)	2,308 (0.91)
<b>Desenlaces clínicos</b>			
Ambulatorios	165,728 (69.48)	688,239 (79.65)	187,642 (74.24)
Hospitalizados	72,783 (30.52)	175,797 (20.35)	65,113 (25.76)
Neumonía	56,294 (23.60)	128,717 (14.90)	43,182 (17.08)
VMI	7,080 (9.74)	14,642 (8.34)	6,319 (9.75)
Ingreso a la UCI	6,214 (8.55)	12,575 (7.17)	4,764 (7.35)
Defunción	4,803 (3.89)	21,365 (4.57)	23,789 (8.64)
Tomando en cuenta las defunciones de la población total, no sólo casos confirmados. UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.			
*Tomado de Oliva-Sánchez P, 2022 DOI <a href="https://doi.org/10.1016/j.aprim.2022.102469">https://doi.org/10.1016/j.aprim.2022.102469</a> ,69			

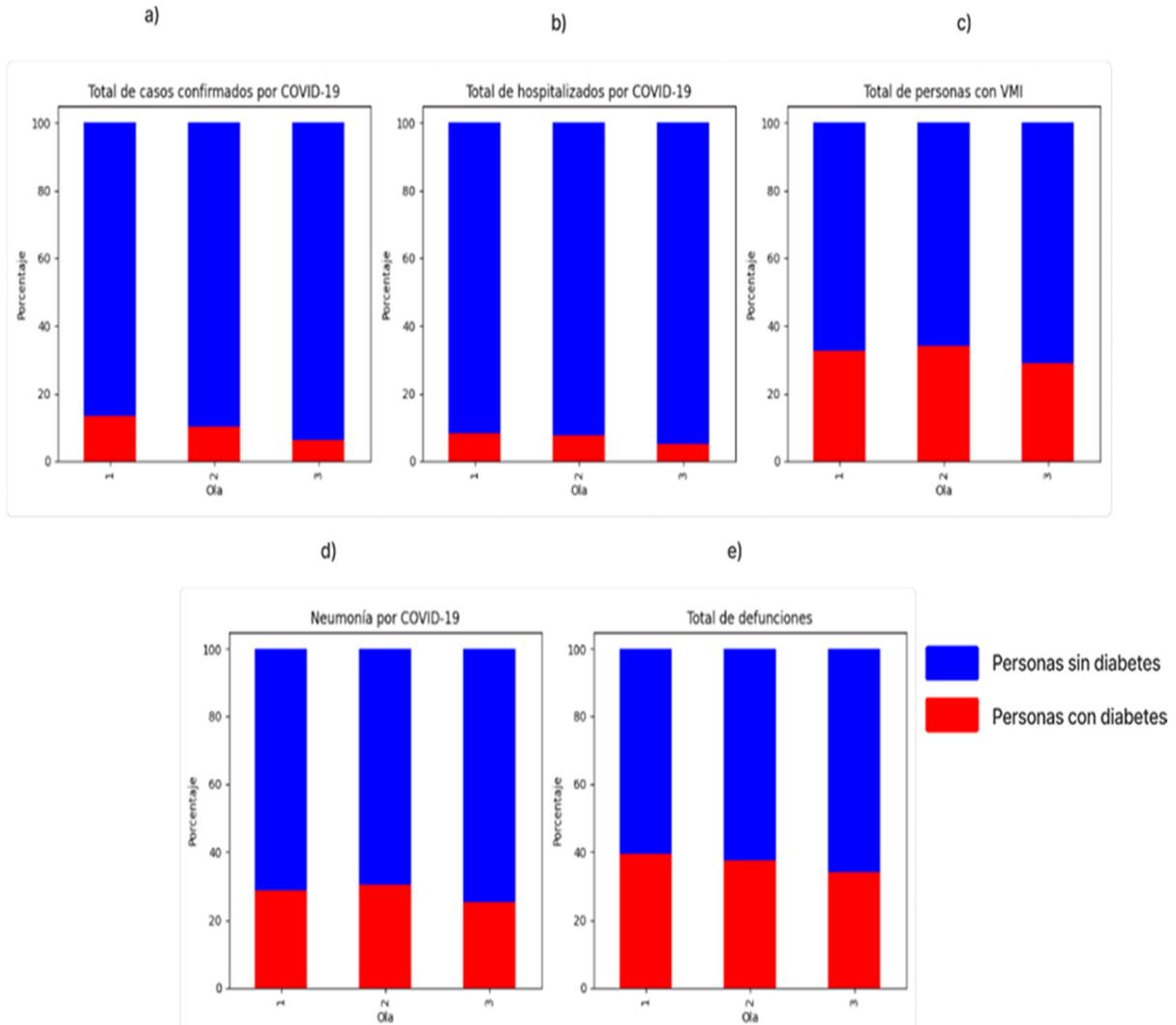
Desde el 14 de septiembre de 2020 al 21 de febrero del siguiente año ocurrió la segunda ola epidemiológica, en la cual el rango de edad más vulnerable fue de los 30 a los 34 años (10.69%) solo por encima del rango de 25 a 29 años (10.55%) el cual ocupó el segundo puesto predominando nuevamente el sexo masculino (50.59%). Un hallazgo significativamente importante es que durante esta segunda ola se encontró un porcentaje de población fumadora similar al de la primera (7.18%); la HAS volvió a ocupar el primer lugar en las comorbilidades crónicas encontradas en estas personas (18.54%), y al igual que la primera ola, el segundo puesto lo ocupó la obesidad (14.47%) y el tercero la DT (13.99%), enfatizando que la segunda ola fue la que tuvo mayor porcentaje de pacientes ambulatorios (79.65%) y con un 4.57% del total de defunciones confirmadas (Cuadro 1).

Por último, la tercera ola epidemiológica se presentó del 25 de junio del 2021 al 18 de septiembre del mismo año, encontrando un rango de edad mayor desde los 25 a los 29 años (11.39%) y con un porcentaje menor desde los 35 a los 39 años (10.80%), teniendo nuevamente un predominio de sexo masculino en la población total de esta ola (50.45%). Asimismo, fue la ola con menor prevalencia de

tabaquismo (5.37%); al igual que las dos olas anteriores, la HAS ocupó el primer lugar de comorbilidad (14.65%); sin embargo, la DT subió al segundo puesto (12.20%) dejando a la obesidad en tercer lugar (11.29%). Uno de los hallazgos significativamente más importantes es que ésta fue la ola que tuvo mayor porcentaje de defunciones (8.64%) aún con una población ambulatoria similar a la de la segunda ola (74.24%).

### Diabetes y COVID-19

Durante la primera ola, la población total de casos confirmados que padecían DT, el 32.5% recibió VMI (Figura 1c) y tuvo una mortalidad del 39.5% (Figura 1e), lo que refleja el alto riesgo que esta comorbilidad implica frente al COVID-19. Esta tendencia enfatiza la vulnerabilidad de las personas que viven con DT, que posiblemente se vio exacerbada por la falta de tratamientos específicos y una comprensión completa del SARS-CoV-2. Con respecto a la segunda y tercera ola, del total de casos diabéticos que usaron VMI fueron de 34% y 29% respectivamente (Figura 1c), respectivamente. Referente al total de defunciones, la segunda ola el 37% padecieron DT y 34% en la tercera ola, respectivamente (Figura 1e).

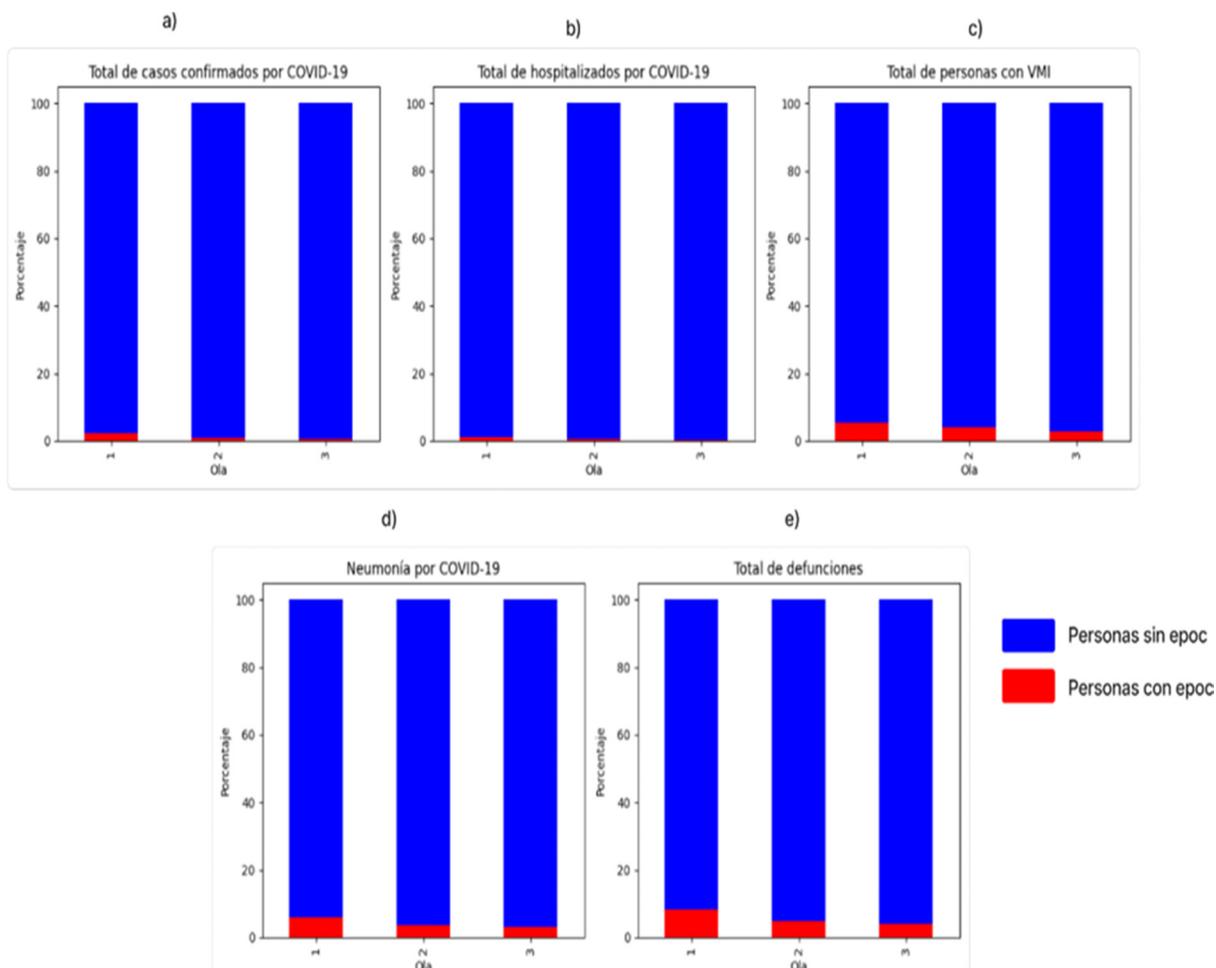


**Figura 1: Porcentaje de personas con diabetes de acuerdo con los desenlaces relacionados con Covid-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** 1a) prevalencia de personas registradas con DT en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 1b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con DT en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 1c) prevalencia de personas intubadas registradas con DT en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con VMI en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 1d) prevalencia de personas registradas con DT y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 1e) prevalencia de personas que murieron registradas con DT en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México.

### Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) y COVID-19

Se observó que el 8.0 % del total de las defunciones en la primera ola, padecían EPOC y en la segunda y tercera, se redujo al 4% para ambas olas (Figura 2e). De igual manera, la incidencia de

personas con VMI que padecían EPOC fue del 5% en la primera ola y bajó drásticamente para las siguientes dos olas (Figura 2a). La prevalencia de EPOC en el total de casos hospitalizados, en la primera ola fue del 1%, y en la segunda ola fue de 0.5% y, finalmente, fue de 0.03% para la tercera ola (Figura 2b).

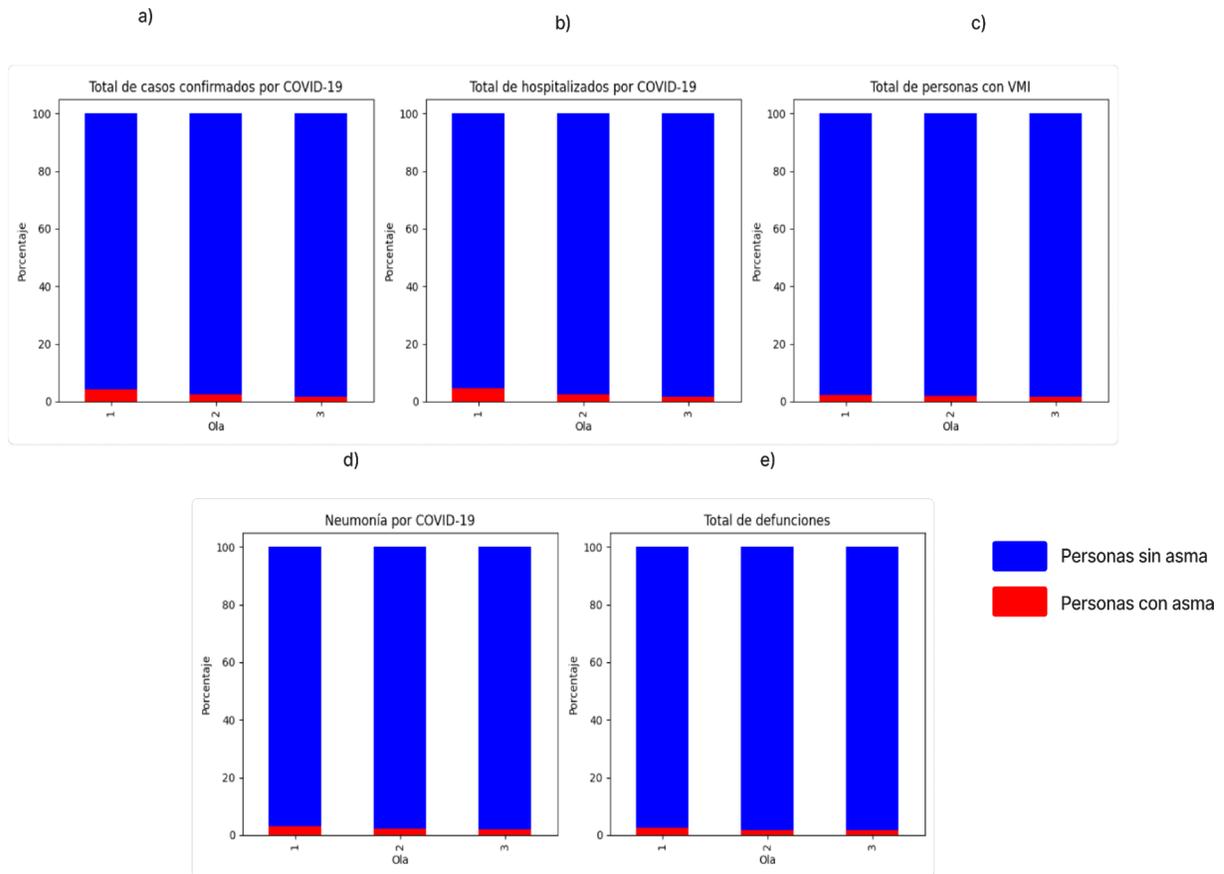


**Figura 2: Porcentaje de personas con la enfermedad EPOC de acuerdo con los desenlaces relacionados con COVID-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** 2a) prevalencia de personas registradas con EPOC en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 2b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con EPOC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 2c) prevalencia de personas con VMI registradas con EPOC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 2d) prevalencia de personas registradas con EPOC y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 2e) prevalencia de personas que murieron registradas con EPOC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México.

### Asma y COVID-19

No se observó una notable contribución por parte de personas asmáticas en la complicación del COVID-19 (hospitalizados, VMI o fallecidos). Del total de defunciones confirmadas en la primera ola, alrededor

del 2% presentó asma y solo el 1% en las dos olas subsiguientes (Figura 3e). Con respecto al total de casos confirmados por COVID-19 la prevalencia de asma fue de 4% en la segunda ola y 1.7% para la tercera ola (Figura 3a).

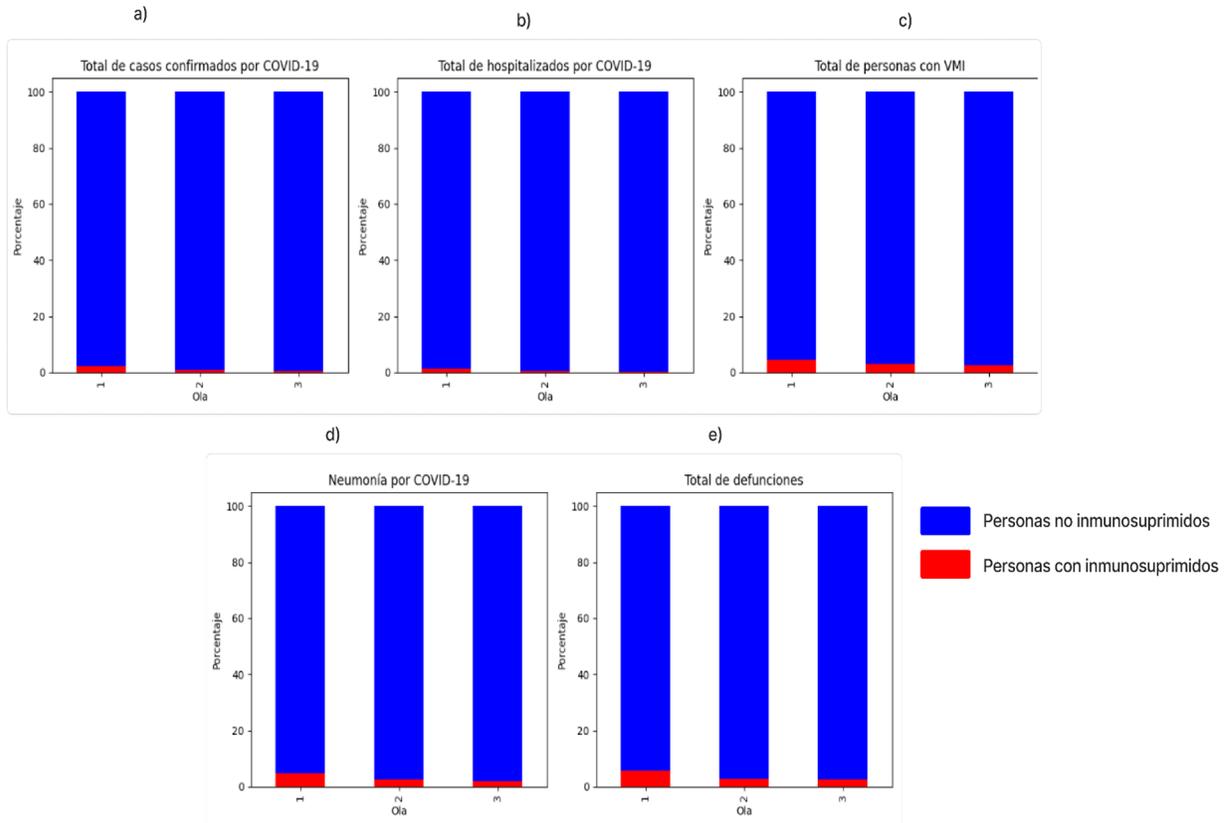


**Figura 3: Porcentaje de personas con la enfermedad asma de acuerdo con los desenlaces relacionados con COVID-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** Figura 3a) prevalencia de personas registradas con asma en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 3b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con asma en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 3c) prevalencia de personas con VMI registradas con asma en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 3d) prevalencia de personas registradas con asma y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 3e) prevalencia de personas que murieron registradas con asma en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México

### Inmunosupresión y COVID-19

Del total de defunciones solo el 5% presentó algún tipo de inmunosupresión en la primera ola y de 2.7% y 2.4% (Figura 4e) en las olas subsiguientes. La

prevalencia no fue mayor al 1% de los casos hospitalizados y en el total de casos confirmados no superó el 2% en ninguna de las tres olas analizadas (Figura 4a).

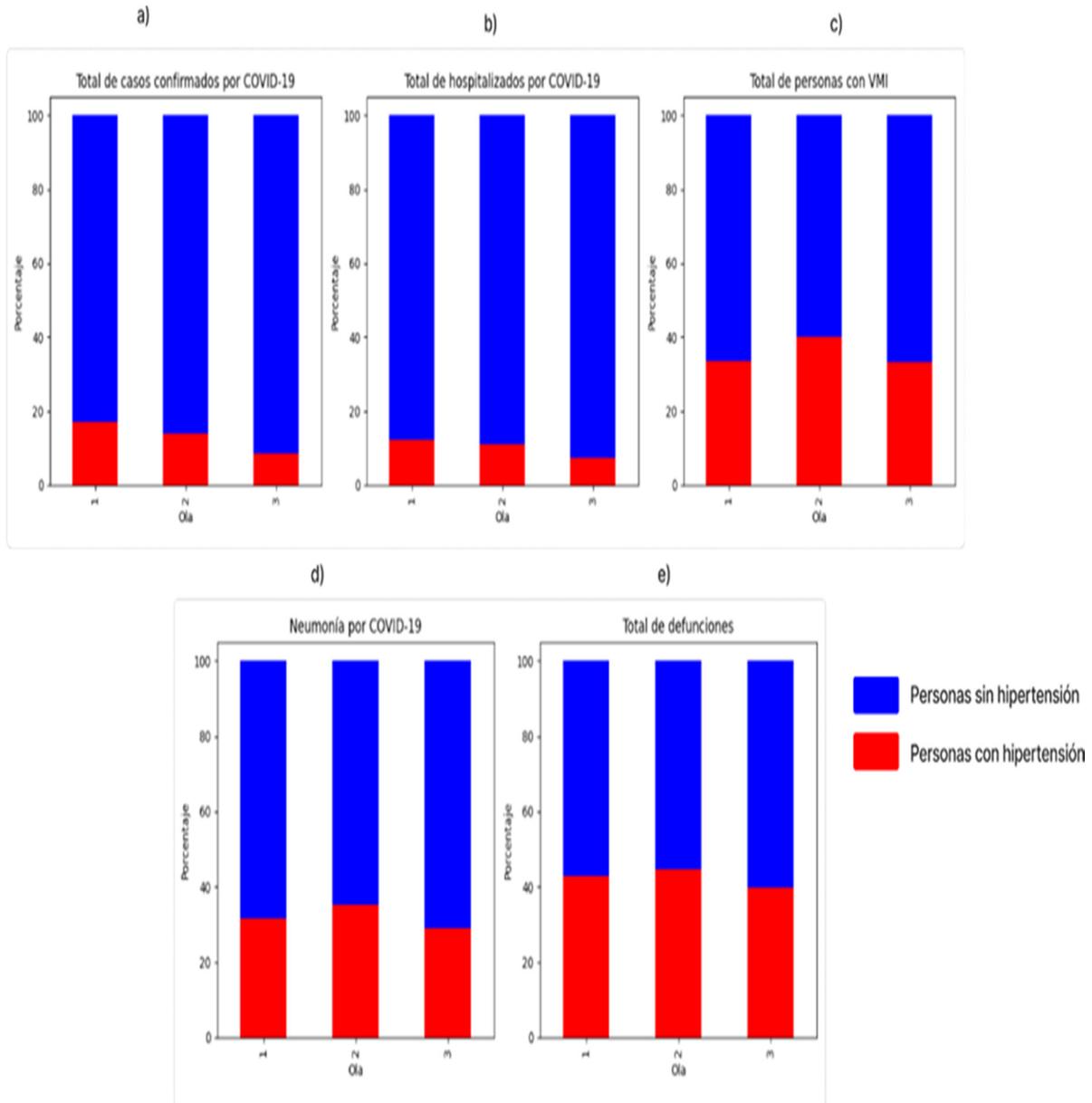


**Figura 4: Porcentaje de personas inmunosuprimidas de acuerdo con los desenlaces relacionados con COVID-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** 4a) porcentaje de personas inmunosuprimidas registradas en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 4b) porcentaje de personas inmunosuprimidas hospitalizadas registradas en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 4c) porcentaje de personas inmunosuprimidas con VMI registradas en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 4d) porcentaje de personas inmunosuprimidas registradas y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 4e) porcentaje de personas inmunosuprimidas que murieron registradas en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México

### Hipertensión arterial sistémica y COVID-19

La HAS, al igual que la DT, ha sido identificada como un factor de riesgo significativo para complicaciones graves de COVID-19. A lo largo de las olas, se observó que el 40.0 % del total de las defunciones en la primera ola tuvo HAS y en las

posteriores, se mantuvo la prevalencia en 33% en la segunda ola y aumentó a 39% para la tercera ola (Figura 5e). En la primera ola hubo una mayor número de personas hipertensas en los casos con una prevalencia del 17.16%; para la segunda y tercera ola fue de 13.98% y 8.48%, respectivamente (Figura 5a).



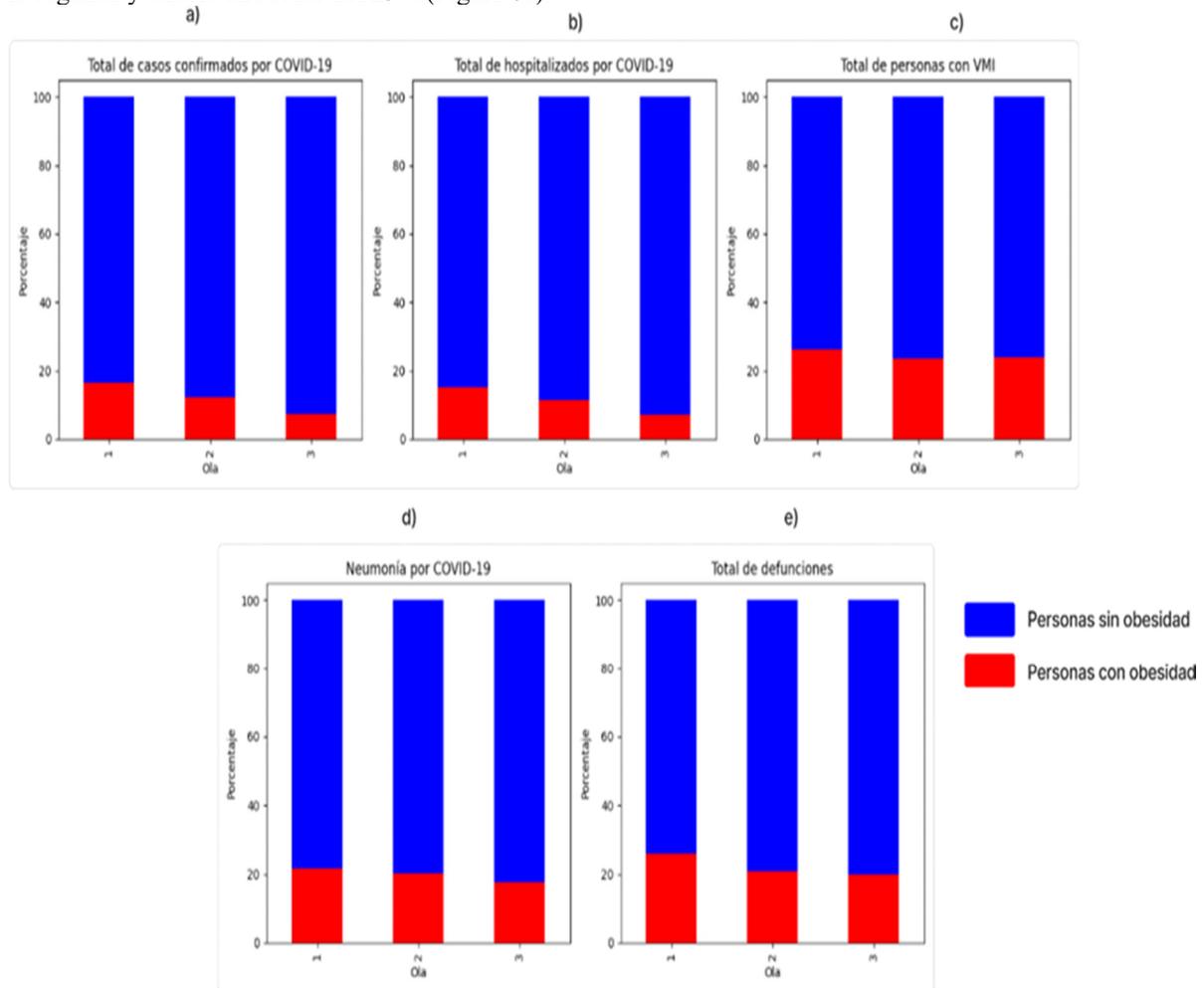
**Figura 5: Porcentaje de personas con hipertensión de acuerdo con desenlaces relacionados con COVID-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** 5a) prevalencia de personas registradas con hipertensión en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 5b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con HAS en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 5c) prevalencia de personas con VMI registradas con HAS en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 5d) prevalencia de personas registradas con HAS y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 5e) prevalencia de personas que murieron registradas con HAS en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México.

### Obesidad y COVID-19

La obesidad fue una de las ECNT que mayor impacto tuvo dentro del total de casos confirmados por COVID-19. En la primera ola, del total de defunciones confirmadas por COVID-19, el 25.9% padecían obesidad, el 20.7% para la segunda ola y 19.77% para

la tercera ola (Figura 6e). De igual manera, la tasa en el total de casos confirmados, la prevalencia de obesidad fue de 14.9% en la primera ola, disminuyendo drásticamente en la tercera ola (6.9%) (Figura 6b). La prevalencia de obesidad en personas

con VMI 26.24% en la primera ola y se estabilizó para la segunda y tercera alrededor del 23%. (Figura 6c).

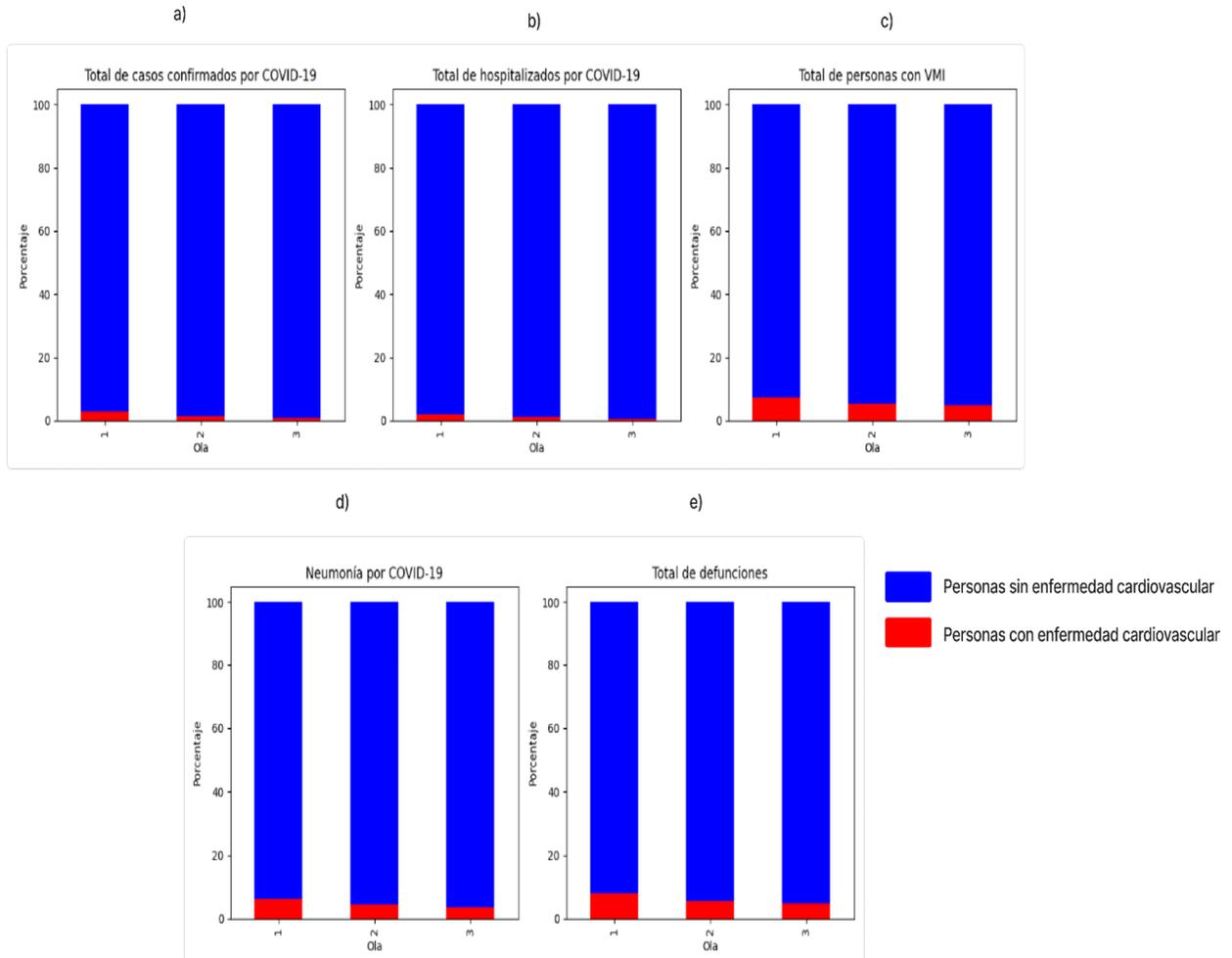


**Figura 6: Porcentaje de personas con obesidad de acuerdo con los desenlaces relacionados con COVID-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** Figura 6a) prevalencia de personas registradas con obesidad en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV 2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 6b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con obesidad en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 6c) prevalencia de personas con VMI registradas con obesidad en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 6d) prevalencia de personas registradas con obesidad y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 6e) prevalencia de personas que murieron registradas con obesidad en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México

#### Enfermedad Cardiovascular y COVID-19

Se observó que del total de defunciones por COVID-19, 7.9% padecían EC en la primera ola, 5.5% para la segunda ola y, finalmente, a 4.79% (Figura 7e). No se notó un porcentaje significativo en los casos de

EC hospitalizados por COVID-19 (Figura 7b). Finalmente, la incidencia de EC fue mínima, alcanzando una cifra máxima de 2.9% de pacientes con EC dentro de los casos confirmados por COVID-19 (Figura 7a).

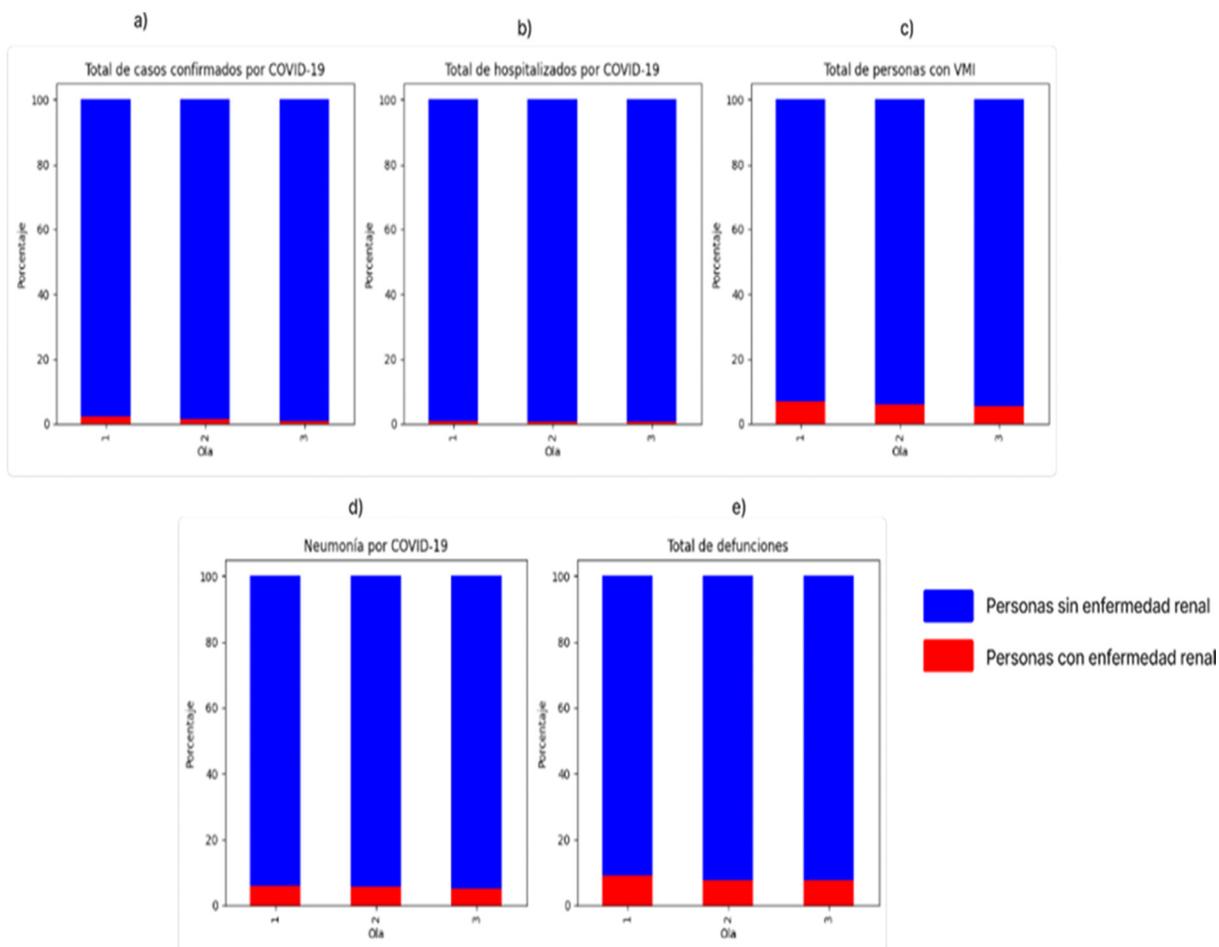


**Figura 7: Porcentaje de personas con enfermedad cardiovascular de acuerdo con desenlaces relacionados con COVID-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** 7a) prevalencia de personas registradas con EC en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 7b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con EC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 7c) prevalencia de personas con VMI registradas con EC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 7d) prevalencia de personas registradas con EC y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 7e) prevalencia de personas que murieron registradas con EC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México.

### Enfermedad Renal Crónica y COVID-19

Las personas con ERC enfrentan desafíos particulares en el contexto de COVID-19, incluido un mayor riesgo de complicaciones y mortalidad. Los datos sugieren que, a lo largo de las olas, la incidencia

y los resultados adversos en este grupo han variado, lo que podría reflejar tanto la evolución de las prácticas de tratamiento como el impacto de las intervenciones para proteger a estas personas vulnerables (Figura 8).

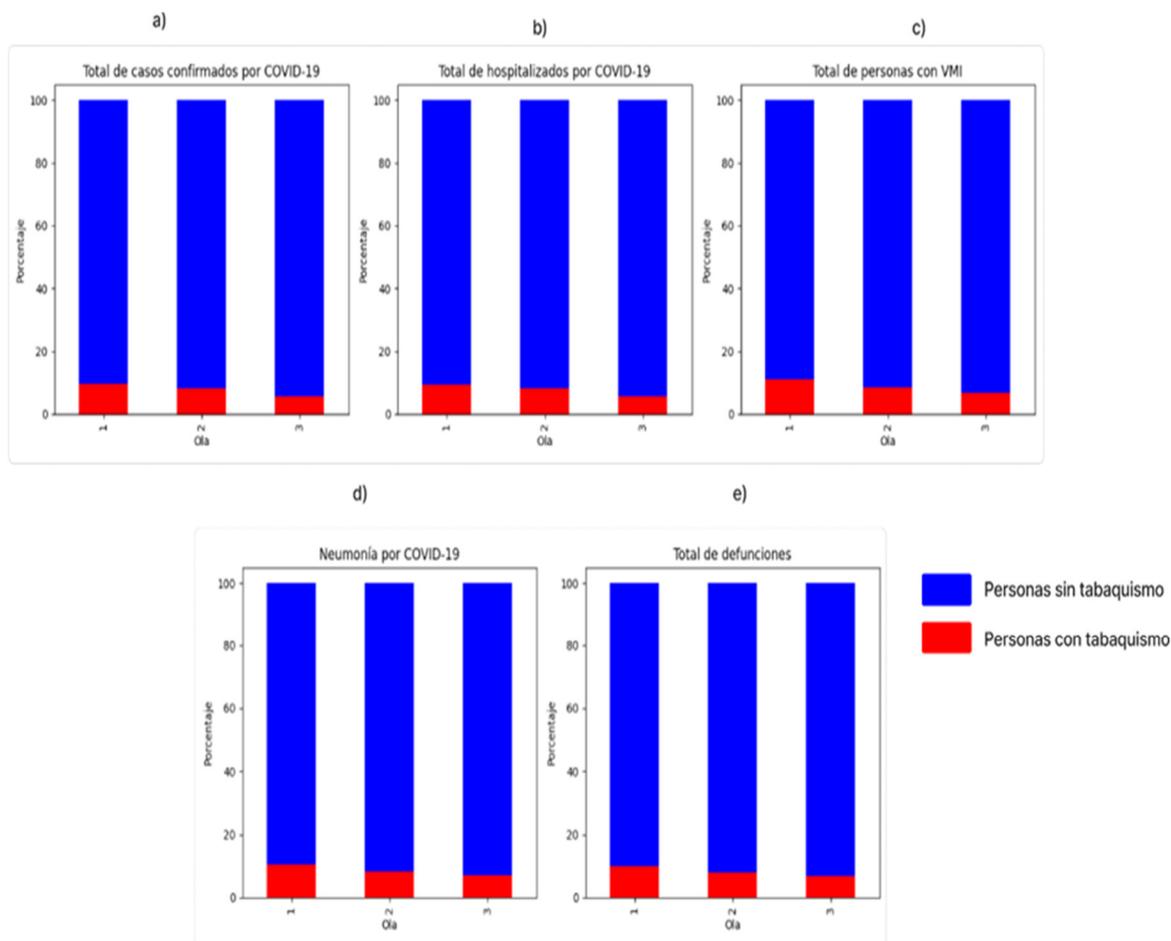


**Figura 8: Porcentaje de personas con enfermedad renal crónica de acuerdo con los desenlaces relacionados con Covid-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** 8a) prevalencia de personas registradas con ERC en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 8b) prevalencia de personas hospitalizadas registradas con ERC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 8c) prevalencia de personas con VMI registradas con ERC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 8d) prevalencia de personas registradas con ERC y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 8e) prevalencia de personas que murieron registradas con ERC en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México.

### Tabaquismo actual y COVID-19

En la primera ola, dentro de la tasa de mortalidad de individuos confirmados con COVID-19 el 10% fumaban, y para la tercera ola disminuyó hasta llegar a 6.8% de fumadores (Figura 9e). Del total de personas hospitalizadas el 9% fumaban en la primera ola, mientras que en la segunda ola fue del 8.5% y para

la tercera ola alcanzó el 6.8% pacientes fumadores que requirieron hospitalización (Figura 9b). La incidencia de personas positivas a COVID-19 que requirió VMI se comportó de manera similar, siendo el 10.96% en la primera ola, 8.5% en la segunda ola y finalmente bajando a 6.8% (Figura 9a).



**Figura 9: Porcentaje de personas que presentaron hábitos de tabaquismo de acuerdo con los desenlaces relacionados con Covid-19 en casos confirmados durante las 3 primeras olas.** a) porcentaje de personas registradas con hábitos de tabaquismo en el número total de enfermos confirmados con SARS-CoV-2 en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 9b) porcentaje de personas hospitalizadas registradas con hábitos de tabaquismo en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 hospitalizados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 9c) porcentaje de personas con VMI registradas con hábitos de tabaquismo en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 intubados en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 9d) porcentaje de personas registradas con hábitos de tabaquismo y neumonía en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 con neumonía en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México. 9e) porcentaje de personas que murieron registradas con hábitos de tabaquismo en el número total de enfermos con SARS-CoV-2 que murieron en las tres primeras olas de la pandemia por COVID-19 en México

## Discusión

La evolución de la incidencia de COVID-19 entre personas con comorbilidades preexistentes en México ha esbozado un panorama complejo, marcado por la variabilidad en la transmisión del virus y las intervenciones de salud pública implementadas por el gobierno federal. El notable aumento en el número de casos registrados, que ascendió de 123,446 en la primera ola a 5,277,696 en la segunda, antes de experimentar una disminución a 3,295,846 en la tercera ola, ilustra la dinámica cambiante de la pandemia a lo largo del tiempo.

Un análisis de las características sociodemográficas y de salud de la población

mexicana y de migrantes con COVID-19 en México, observando una prevalencia común de enfermedades como DT, EPOC, asma, inmunosupresión, HAS, obesidad, EC, neumonía, ERC y tabaquismo [31]. Un estudio en Finlandia, por otro lado, demostró que la presencia de comorbilidades como la DT, inmunosupresión, EC y ERC predisponen a las personas más jóvenes a un empeoramiento frente al COVID-19 [32]. Además, un metaanálisis que examinó 41 estudios con un total de 115,635 personas confirmados concluyó que aquellos con obesidad presentaban una mayor incidencia de hospitalización (OR = 1.54, IC del 95%: 1.33-1.78) [33].

Una revisión detallada de la prevalencias de enfermedades crónicas asociadas a COVID-19 subraya una variabilidad significativa en los impactos y resultados a lo largo de las diferentes olas. En este análisis se observó que la DT, HAS y obesidad fueron más frecuentes en los casos confirmados, en hospitalizaciones y de manera muy significativa en defunciones. Por ejemplo, la tasa de personas que requirió VMI con DT alcanzó un alarmante 32.5% durante la primera ola, resaltando el elevado riesgo asociado a esta comorbilidad. En contraste, las personas con HAS mostraron las tasas de mortalidad más altas, con un pico del 43.0% en la misma ola, lo que indica la grave amenaza que representa COVID-19 para este grupo.

La respuesta a la enfermedad en personas con EPOC y asma también merece especial atención, presentando tasas de mortalidad menores en comparación con la DT y la HAS, pero aun así enfatizando la necesidad de un manejo cuidadoso. Las personas inmunosuprimidas, por su parte, enfrentan desafíos únicos, con una tasa de mortalidad del 5.5%, lo que destaca su vulnerabilidad aumentada a complicaciones graves.

Se ha señalado la interacción significativa entre las comorbilidades preexistentes, la edad y los desenlaces clínicos graves de COVID-19 [34]. La edad avanzada, en particular los mayores de 65 años, incrementa el riesgo de hospitalización, neumonía y muerte, independientemente de otras condiciones crónicas. Adicionalmente, la combinación de obesidad, DT y edad avanzada se asocia con una mayor incidencia de hospitalización y neumonía, subrayando la necesidad de estrategias de manejo que consideren tanto la edad como las comorbilidades de las personas. [28, 35].

### Conclusión

La pandemia de COVID-19 en México ha resaltado la significativa vulnerabilidad de las personas con comorbilidades tales como DT, HAS, neumonía, obesidad y asma, planteando desafíos al sistema de salud para adaptarse eficazmente a las necesidades cambiantes de esta población. A medida que la pandemia prosigue, resulta esencial mantener un enfoque en el manejo integral de las comorbilidades, junto con estrategias de prevención y tratamiento efectivas contra COVID-19, para minimizar el impacto de la enfermedad en estos grupos de alto riesgo.

### Referencias

1. WHO (2020) Noncommunicable diseases and COVID-19. World Health Organization. [en línea] <https://www.who.int/teams/noncommunicable-diseases/covid-19> (Consultado el 13 de diciembre de 2023).
2. CDC (2023) People with Certain Medical Conditions. Centers for Disease Control and Prevention. [en línea] <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/people-with-medical-conditions.html> (Consultado el 13 de diciembre de 2023).
3. WHO (2023) Noncommunicable diseases. World Health Organization. [en línea] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> (Consultado en 2023).
4. WHF (2021) About Cardiovascular Disease. World Heart Federation. [en línea] <https://www.world-heart-federation.org/resources/about-cardiovascular-disease/> (Consultado el 15 de diciembre de 2023).
5. Vas, P., Hopkins, D., Feher, M., Rubino, F., & Whyte, M. B. (2020). Diabetes, obesity and COVID-19: A complex interplay. <https://doi.org/10.1111/dom.14134>
6. Hussain, A., Bhowmik, B., y do Vale Moreira, N. C. (2020) COVID-19 and diabetes: Knowledge in progress. *Diabetes research and clinical practice.* 10.1016/j.diabres.2020.108142
7. Jose, R. J., y Manuel, A. (2020) COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *The Lancet Re.* 8, 46–47
8. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (U.S.). Division of Viral Diseases (2020) Health equity considerations and racial and ethnic minority groups. Centers for Disease Control and Prevention. [en línea] <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/91049> (Consultado el 15 de diciembre de 2023)
9. Qureshi, A. I., Suri, M. F. K., Chu, H., Suri, H. K., & Suri, A. K. (2021). Early mandated social distancing is a strong predictor of reduction in peak daily new COVID-19 cases. *Public Health*, 190, 160-167. [doi.org/10.1016/j.puhe.2020.10.015](https://doi.org/10.1016/j.puhe.2020.10.015)
10. WHO (2013) Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. World Health Organization. [en línea] <https://www.who.int/publications/i/item/9789241506236> (Consultado el 13 de diciembre de 2023)
11. Ahmed, J., AlSaleh, A., Almarabhe, A. J., Leila, C., Almuqahwi, A., Husa, A., AlAlhareth, I., Albader, S., Alhajeri, S., & Ayesha., D. (2023). Lifestyle and Dietary Patterns during the COVID-19 Lockdown in Bahrain: A Web-Based Cross-Sectional Study. <https://doi.org/10.3390/nu15112543>
12. Gomez, C., Kleinman, D., Pronk, N., Wrenn Gordon, G., Ochiai, E., Blakey, C., Johnson, A., & Brewer, K. (2021). Addressing Health Equity and Social Determinants of Health Through Healthy People 2030. <https://doi.org/10.1097/PHH.0000000000001297>
13. WHF COVID-19 Resources. (2021) World Heart Federation. [en línea] <https://world-heart-federation.org/covid-19-resources/> (Consultado diciembre 2023)

14. WHO (2020) Noncommunicable diseases and COVID-19. World Health Organization. [en línea] <https://www.who.int/teams/noncommunicable-diseases/covid-19> (Consultado el 21 de diciembre de 2023)
15. CONAHCYT (2023) Situación Nacional de COVID-19 en México. [en línea] <https://datos.covid-19.conacyt.mx/> (Consultado el 22 de diciembre de 2023)
16. INEGI, Instituto Nacional de Salud Pública. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018.
17. Secretaría de Salud (2020) Datos Abiertos Dirección General de Epidemiología. Gobierno de México. [en línea] <https://www.gob.mx/salud/documentos/datos-abiertos-152127> (Consultado el 22 de diciembre de 2023)
18. Gobierno de México. (2021). Política Nacional de vacunación contra el virus SARS-CoV-2, para la prevención de la COVID-19 en México. [https://coronavirus.gob.mx/wp-content/uploads/2021/04/28Abr2021\\_13h00\\_PNVx\\_COVID\\_19.pdf](https://coronavirus.gob.mx/wp-content/uploads/2021/04/28Abr2021_13h00_PNVx_COVID_19.pdf)
19. León-González, Guillermo, Pavón-Gutiérrez, Odón A., Téllez-Santillán, Carlos, Sánchez-Carmona, Francisca, & Yáñez-Castañeda, Karina. (2021). Estrategias de control y mitigación de contagio por COVID-19 en un hospital psiquiátrico en México. *Gaceta médica de México*, 157(4), 459-463. Epub 13 de diciembre de 2021. <https://doi.org/10.24875/gmm.20000824>
20. Instituto Nacional de Salud Pública (2022) Respuesta de México ante la pandemia de COVID-19 y próximos retos.
21. Aljaberi, M., Al-Shafari, M., Uzir, H., Sabah, A., Mohammed Ali, A., Lee, K.-H., Alsalahi, A., y Noman, S. (2023) Psychological Toll of the COVID-19 Pandemic: An In-Depth Exploration of Anxiety, Depression, and Insomnia and the Influence of Quarantine Measures on Daily Life. 10.3390/healthcare11172418
22. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021) Impacto de la pandemia de COVID-19 en las enfermedades crónicas no transmisibles. <https://www.paho.org/es/ent-covid-19>
23. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2019) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. <https://www.inegi.org.mx/programas/ensanut/>.
24. Secretaría de Salud. (2018) Estrategia Nacional para la Prevención y Control de las Enfermedades Crónicas No Transmisibles. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/data/file/416454/Enfermedades\\_No\\_Transmisibles\\_ebook.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/data/file/416454/Enfermedades_No_Transmisibles_ebook.pdf) (Consultado el 21 de diciembre de 2023)
25. Yang, J., Zheng, Y., Gou, X., Pu, K., Chen, Z., Guo, Q., Rui, J., Wang, H., Wang, Y., & Zhou, Y. (2020). Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.017>
26. Nalbandian, A., Sehgal, K., Gupta, A., Madhavan, M. V., McGroder, C., Stevens, J. S., & Cook, J. R. (2021). Post-acute COVID-19 syndrome. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>
27. Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., & Manson, J. J. (2020). COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30630-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30630-9)
28. Oliva Sanchez, P. F., Vadillo Ortega, F., Bojalil Parra, R., Martínez Kobeh, J. P., Pérez Pérez, J. R., y Pérez Avalos, J. L. (2022) Factores de riesgo para complicaciones graves de COVID-19, comparando tres olas epidemiológicas. Un enfoque desde la atención primaria en México. 10.1016/j.aprim.2022.102469
29. Albrecht, T. (2023) Challenges to Global Health Emerging from the COVID-19 Pandemic. 10.3390/su15097633
30. Ajelbi, M., Amsayef, A., Akdad, M., Algharras, Y., y Babakhouya, A. (2021) Chronic Diseases and COVID-19: A Review. 10.2174/1871530320666201201110148
31. Orjuela Neira, F. (2021) Características sociodemográficas y de salud de los mexicanos y los migrantes con enfermedad por coronavirus (COVID-19) en México. *Notas de Población*. 112, 35–62
32. Salo, H., Lehtonen, T., Auranen, K., Baum, U., y Leino, T. (2022) Predictors of hospitalization and death due to SARS-CoV-2 infection in Finland: A population-based register study with implications to vaccinations. 10.1016/j.vaccine.2022.04.055
33. Yang, J., Tian, C., Chen, Y., Zhu, C., Chi, H., y Li, J. (2021) Obesity aggravates COVID-19: An updated systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Vi.* 93, 2662–2674.
34. Davis, H.E., McCorkell, L., Vogel, J.M. et al. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nat Rev Microbiol* 21, 133–146 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>
35. Berbudi, A., Rahmadika, N., Tjahjadi, A. I., & Ruslami, R. (2020). Type 2 Diabetes and its Impact on the Immune System. <https://doi.org/10.2174/1573399815666191024085838>.



**Dr. Pablo Francisco Oliva Sánchez**  
**ORCID: 0000-0002-8929-5671**

---

El Dr. Pablo Oliva cursó la Licenciatura de Médico Cirujano en la Universidad Autónoma Metropolitana, posteriormente obtuvo su grado de Maestro en Ciencias de la Salud con área de concentración en Epidemiología y el doctorado en Ciencias por la Universidad Nacional Autónoma de México. Actualmente es Investigador en Ciencias Médicas, adscrito a la Unidad de Vinculación Científica de la Facultad de Medicina, U.N.A.M en el INMEGEN y profesor en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma Metropolitana de materias como Salud Pública, Genómica, Epidemiología y Métodos de Investigación. Es candidato a Investigador Nacional por el Sistema Nacional de Investigadores del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Ha colaborado con proyectos enfocados en determinantes de la salud sobre el comportamiento epidemiológico de COVID-19, VIH/SIDA en riesgo cardiovascular, Encuesta de Salud Física, Salud Mental y Seroepidemiología UA



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Actualidades sobre COVID-19

### Current affairs on COVID-19

Wong-Chew, Rosa María<sup>1</sup>✉; Vásquez- Martínez, Leonardo Martín<sup>1</sup>; Pérez-Flores, Samantha Denisse<sup>1</sup>; García-Morales Sarahi<sup>1</sup>.

1. Laboratorio de investigación en enfermedades infecciosas, División de investigación. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

✉ Torre de Investigación 6° piso, Edificio H, Circuito Escolar S/N, Ciudad Universitaria. Ciudad de México. México. CP 04510, México. Tel: +52 (55) 5623 2300, Ext. 45018; [rmwong@unam.mx](mailto:rmwong@unam.mx)

Editor responsable: Héctor Riveros-Rosas  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.07>

Recibido: 19 de abril de 2024  
Revisado: 21 de junio de 2024  
Aceptado: 23 de junio de 2024

#### Resumen

Para febrero del 2024, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó un total acumulado de 774 millones 500 mil casos confirmados de COVID-19 y 7 millones de muertes. En México, se reportan 7.7 millones de casos y 334 mil muertes.

Durante la replicación del virus, se producen mutaciones con facilidad y entre más casos haya, más posibilidades hay de que se presenten mutaciones debido a la alta tasa de replicación que ocurre durante la transmisión del virus de persona a persona.

Desde febrero 2020 hasta mayo 2023, se reportaron 6 variantes dominantes durante la pandemia en México: la original de Wuhan, B.1.1.519, delta, ómicron, BA4/BA5 y XBB.1.5. En enero y febrero 2024 las variantes que circularon con mayor frecuencia corresponden a 23A (XBB.1.5), 23B (XBB.1.1.6) y 23F (EG.5.1).

Se han desarrollado vacunas a partir de virus atenuado o inactivado, de vectores virales replicativos o no replicativos, de material genético (ARN o ADN), y de proteínas (subunidades proteicas o partículas similares al virus).

Las vacunas bivalentes desarrolladas por Pfizer y Moderna que contenían RNA mensajero del virus de la cepa original del virus del SARS-CoV-2 y de la variante ómicron linajes BA.4/BA.5 fueron autorizadas por la FDA en agosto de 2022, aplicándolas como refuerzo.

#### Abstract

By February 2024, the World Health Organization (WHO) reported a cumulative total of 774.5 million confirmed cases of COVID-19 and 7 million deaths worldwide. In Mexico, 7.7 million cases and 334,000 deaths were reported.

During virus replication, mutations occur easily, and the more cases there are, the higher the likelihood of mutations due to the high replication rate during virus transmission from person to person.

From February 2020 to May 2023, six dominant variants were reported during the pandemic in Mexico: the original Wuhan strain, B.1.1.519, delta, omicron, BA4/BA5, and XBB.1.5. In January and February 2024, the most frequently circulating variants were 23A (XBB.1.5), 23B (XBB.1.1.6), and 23F (EG.5.1).

Vaccines have been developed from attenuated or inactivated viruses, replicative or non-replicative viral vectors, genetic material (RNA or DNA), and proteins (protein subunits or virus-like particles).

The bivalent vaccines developed by Pfizer and Moderna, containing messenger RNA from the original strain of the SARS-CoV-2 virus and the omicron variant lineages BA.4/BA.5, were authorized by the FDA in August 2022 for use as boosters.

By May 13, 2023, the WHO recommended that new formulations should contain monovalent XBB.1.5,

Para el 13 de mayo del 2023, la OMS recomendó que las nuevas formulaciones deberán contener XBB.1.5 monovalente, quitando el virus original en futuras formulaciones de vacunas COVID-19.

Las vacunas han tenido un papel muy importante en evitar casos graves y muerte, pero los brotes y casos de nuevas variantes de Omicron continúan. Las vacunas bivalentes y monovalente XBB.1.5 han demostrado efectividad en evitar hospitalización y muerte por las nuevas variantes.

Dado que el SARS-CoV-2 persiste con la posibilidad de mutar, la inmunidad híbrida y la actualización de las vacunas a las variantes circulantes son clave para poder combatir la enfermedad.

removing the original virus in future COVID-19 vaccine formulations.

Vaccines have played a crucial role in preventing severe cases and deaths, but outbreaks and cases of new omicron variants persist. Bivalent and monovalent XBB.1.5 vaccines have demonstrated effectiveness in preventing hospitalization and death from the new variants.

As SARS-CoV-2 continues to persist with the possibility of mutating, hybrid immunity and updating vaccines to circulating variants are key to combating the disease.

*Palabras claves:* COVID-19, vacunas bivalentes, vacunas monovalentes.

*Keywords:* COVID-19, bivalent vaccines, monovalent vaccines.

### Situación epidemiológica de COVID-19

Para febrero de 2024, la Organización Mundial de la Salud (OMS) había reportado un total acumulado de 774 millones 500 mil casos confirmados de COVID-19, la mayoría de ellos registrados en EUA, China e India, sumando solamente entre ellos 250 millones, y un aproximado de 7 millones de muertes confirmadas por la enfermedad [1].

El número de casos reportados a la OMS por semana ha variado en el transcurso de la pandemia. Entre el mes de enero de 2020 y febrero del 2024 se han registrado varios picos en la incidencia de la COVID-19, destacando los meses de diciembre 2020, abril y agosto de 2021, con el mayor incremento a nivel global en enero del 2022 y enero del 2023. En la incidencia por regiones, es posible identificar variaciones significativas en temporalidad entre las principales olas de contagio. En el continente americano, por ejemplo, se presentaron 5 olas, el periodo con el mayor número de casos registrados en todas las regiones ocurrió en enero del 2022 que corresponde a Ómicron, mientras que en el Pacífico Occidental, que no había seguido el mismo patrón epidemiológico que el resto del mundo, la gran mayoría de los casos se presentaron en enero del 2023, principalmente en China que coincide con la suspensión de las medidas de contención de COVID-19, y los demás continentes fueron afectados con menor intensidad. Aun cuando los casos no eran tan altos en el mundo al inicio de la pandemia, había una mayor proporción de fallecimientos que fue disminuyendo con el tiempo.

Particularmente en México, se tiene registro oficial de 7.7 millones de casos y 334 mil muertes, con su principal pico de incidencia ocurriendo en enero y septiembre de 2022, registrándose 6 olas a lo largo de

la pandemia. Cabe destacar la comparación contra la mortalidad reportada, pues la mayoría de las defunciones ocurrieron en las primeras 2 olas con picos en mayo del 2020 y el mayor en enero del 2021 en concordancia con las primeras olas de contagio, mientras que, a partir de la temporada de otoño a invierno de 2021, a pesar de tener un incremento en el número de casos, el número de defunciones fue disminuyendo con el tiempo, y eso fue gracias a la vacunación. De hecho, a pesar de que en México y el mundo se presentaron las olas más grandes a partir del año 2022, fue también este año cuando la mortalidad descendió de manera significativa [2].

De la misma forma, la comparación en el tiempo de supervivencia y desenlace de los pacientes, indica que en mayo de 2020 tuvieron lugar la mayoría de las hospitalizaciones y defunciones, y estas fueron reduciéndose hasta sustituirse gradualmente y casi en su totalidad por cursos clínicos ambulatorios y supervivencia de la población afectada.

Ya al final de la pandemia, la hospitalización y requerimiento de apoyo ventilatorio por rango de edad específica, muestra que los extremos de la vida son los grupos que tienen desenlaces más graves, i.e., de 0 a 5 años y de 70 a 102 años. Tanto en pacientes intubados como en hospitalizados y ambulatorios, el porcentaje más grande de fallecimientos se presentó dentro del grupo de edad superior a los 70 años, al igual que el número total de defunciones, a pesar de que el número de casos fue superior dentro del grupo de edad de 20 a 60 años.

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica en México (SINAVE) reporta que para 2024, la tasa de incidencia acumulada (TIA) por 100 mil habitantes de COVID-19, es mayor en adultos mayores de 65 años (TIA 0.27), seguida de adultos de 25 a 29 años (TIA 0.19), con un predominio en la distribución de

casos ambulatorios que ocurrieron en un 59%. También se identifica un mayor requerimiento de hospitalización en los grupos de 1 a 4 años, 55 a 59 y mayores de 70 años [3].

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2022 se realizaron mediciones de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 por el Instituto Nacional de Salud Pública, reportando una seroprevalencia de anticuerpos contra COVID-19 en México de 94.9% en todas las edades, variando entre 94.1% y 96.8% dependiendo de la entidad federativa [4].

### Variantes de COVID-19

Durante la replicación del genoma del virus se producen mutaciones con facilidad, éstas se deben a la escasa precisión de la polimerasa viral y la alta velocidad con la que el virus replica su genoma, lo que ocasiona errores al copiar el material genético [6]. Las mutaciones producen cambios en las secuencias de aminoácidos de las proteínas virales; sin embargo, no todas tienen un efecto sobre la estructura o la función del virus, ni tienen un impacto directo sobre la salud de la población. Aquellas que sí tienen repercusión significativa o que se acumulan dentro de las poblaciones virales, generan cambios en el comportamiento viral, surgiendo así variantes del virus original. La repercusión clínica y epidemiológica que se le adjudica a las variantes de un virus están relacionadas con la transmisibilidad de este, la gravedad de la enfermedad, la eficacia de vacunas y pruebas diagnósticas, así como de los tratamientos específicos [7].

En el caso de SARS-CoV-2 la proteína Spike es la principal implicada en la generación de variantes. Esta proteína se encuentra en la superficie de la partícula vírica, permite la unión con los receptores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE2) que se hallan en las células del hospedero y con ello la internalización del virus, para dar paso a toda la cadena de acontecimientos que conducen a la replicación y diseminación de las partículas virales.

Adicionalmente, cuantos más casos se presentan, más posibilidades hay de que se generen mutaciones, debido a la alta tasa de replicación que ocurre durante la transmisión del virus de persona a persona.

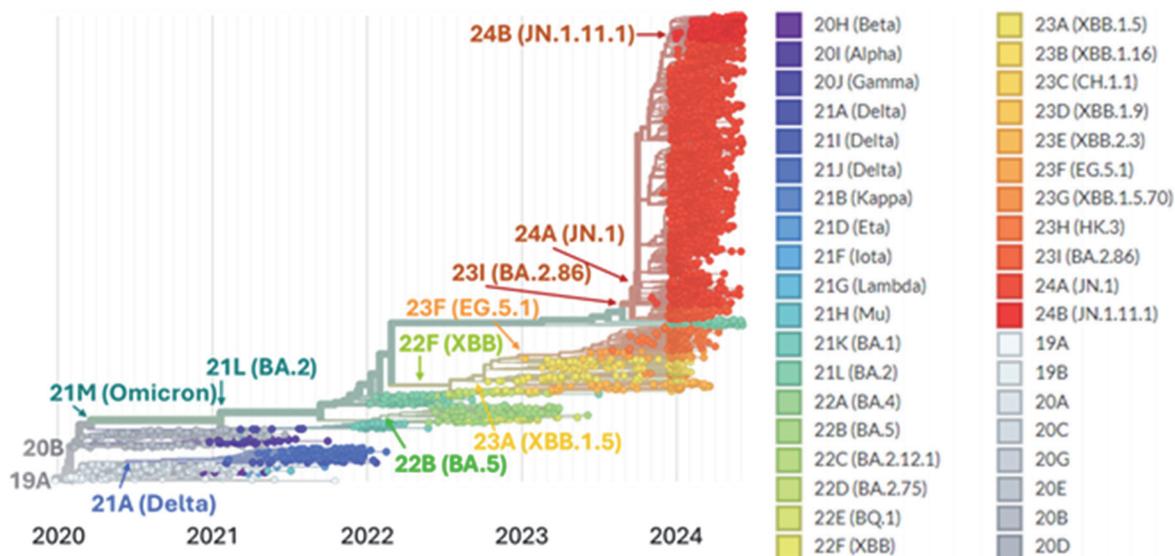
De acuerdo con la trascendencia que las variantes tengan sobre la salud de la población, se clasifican en: variantes de gran consecuencia, variantes de preocupación, variantes de interés y variantes de bajo monitoreo [7]. Las primeras adquieren su nombre cuando clínicamente se presentan casos más graves, hay un aumento en la tasa de pacientes que requieren hospitalización, hay falla demostrada en las pruebas

diagnósticas, una alta cantidad de casos de infección en pacientes previamente vacunados, y una evidente reducción en la susceptibilidad a tratamientos aprobados. Una variante de preocupación ocasiona casos más graves de enfermedad, una reducción en la neutralización por los anticuerpos que han sido generados previamente durante una infección o mediante la vacunación, o que adquieren mayor transmisibilidad. Por otro lado, las variantes de interés son aquellas en las que se prevé un aumento en la transmisibilidad, en la gravedad de la enfermedad o en las que hay evidencia de que sean la causa de un aumento en la proporción de casos o brotes. Finalmente, una variante de bajo monitoreo incluye linajes que solían causar formas más graves de la enfermedad o con alta capacidad de transmisión, pero que ahora no se detectan, o bien, tienen niveles de circulación muy bajos entre la población actual. Al momento, ninguna de las variantes de SARS-CoV-2 se considera de gran consecuencia.

De forma paralela, existen diferentes maneras de nombrar a las variantes, el método elegido por la Organización Mundial de la Salud es mediante la utilización de letras del alfabeto griego, pero también se cuenta con el Sistema de Linaje Pango y Nexclade [7-8]. Los linajes adquieren su nombre mediante prefijos alfabéticos y sufijos numéricos, y se nombran de forma jerárquica conforme surgen los descendientes de una variante de origen. Por su parte los clados agrupan a miembros o linajes con un antepasado en común, dichos integrantes comparten muchas características entre sí, lo que demuestra su ascendencia en común. En el caso específico de SARS-CoV-2 los clados se determinan en función de su relación genética y se nombran con los números del año en que se asignan, seguidos de una letra [7].

Desde el inicio de la pandemia por COVID-19 hasta el año en curso ha surgido una gran cantidad de variantes del virus original (19A), las cuales se han relacionado por medio de un árbol filogenético que nos muestra los descendientes de cada clado y linaje [9]. Se puede observar que entre el año 2020 y 2021 se originaron las variantes alfa, beta y delta que fueron en su momento denominadas como variantes de preocupación por sus características y comportamiento en la población, causando incrementos en los casos y evasión de anticuerpos previos (Figura 1). En el año 2021 surge la variante ómicron (21L) que contenía más de 50 mutaciones en la proteína S y que causó la ola más grande de la pandemia en todo el mundo, y posteriormente dio origen a un gran número de subvariantes que circularon durante el resto del 2022 y la totalidad del 2023. Al hacer un análisis de la secuencia genética de dichas variantes, se advierten múltiples cambios en los marcos de lectura abierta y diversas proteínas, tales

como la proteína S, E, N, M; de las cuales, la proteína S es quien presenta mayor número de mutaciones, tal como se menciona anteriormente.



**Figura 1. Filogenia que muestra las relaciones evolutivas entre los virus de SARS-CoV-2 circulando.**

Los datos mostrados corresponden a un submuestreo enfocado en los últimos 6 meses, de 3803 genomas virales muestreados de todo el mundo obtenidos de GISAD (del inglés, Global Initiative on Sharing All Influenza Data; <https://gisaid.org/>), desde el 22 de diciembre de 2019 al 11 de junio de 2024. Gráfica obtenida a través de la plataforma generada por el Nextstrain Team ([https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/6m?tl=clade\\_membership](https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/6m?tl=clade_membership)) [35].

Asimismo, los árboles filogenéticos han mostrado diversas variantes que han tenido origen en México desde el 2020 hasta las últimas reportadas en 2023, se han detectado 6 variante dominantes durante la pandemia la original de Wuhan, la B.1.1.519, delta, ómicron, BA4/BA5 y XBB.1.5 [9]. Actualmente en nuestro país las variantes que circulan con mayor frecuencia corresponden a 23A (XBB.1.5), 23B (XBB.1.16) y 23F (EG.5.1). Se ha reportado que la variante 23A (XBB.1.5) contiene 2084 descendientes, entre ellos las variantes 23B (XBB.1.16) y 23F (EG.5.1), las cuales han dado origen a su vez a 304 y 1009 descendientes respectivamente. La subvariante 23B (XBB.1.16) es portadora de dos mutaciones en nucleótidos únicos, cinco mutaciones homoplásmicas y mutaciones en aminoácidos en ORF1a, ORF1b, ORF9b y en la proteína S. Por su parte la subvariante 23F (EG.5.1) cuenta con dos mutaciones homoplásmicas y una sola mutación en un aminoácido de la proteína S [9].

### Tipos de vacunas

La generación de una respuesta inmune contra el SARS-CoV-2 requiere que las células presentadoras de antígeno especializadas engullan al virus y utilicen fragmentos proteicos reconocibles para activar a los Linfocitos T CD4+, desencadenando estos el proceso de generación de anticuerpos por los Linfocitos B y la habilidad de Linfocitos T CD8+ para identificar y destruir a las células infectadas por virus [10].

Bajo este principio, el diseño de estrategias de inmunización parte de crear antígenos o precursores de antígenos que, por lo mismo, sin resultar infecciosos, puedan ser reconocidos por nuestro sistema inmune para generar anticuerpos neutralizantes. Se han desarrollado vacunas a partir de virus atenuado o inactivado, de vectores virales replicativos o no replicativos, de material genético (ARN o ADN), y de proteínas (subunidades proteicas o partículas similares al virus) [11].

En el caso de las vacunas vivas atenuadas e inactivadas, para la atenuación de un virus se debe replicar múltiples veces en células humanas o animales hasta que genere mutaciones que le impidan generar enfermedad, mientras que la inactivación se

logra mediante la aplicación de productos químicos como formaldehído o calor a grandes cantidades de virus con capacidad infecciosa.

Las vacunas de material genético se producen mediante ingeniería genética. Están constituidas por ADN o ARN que contiene la información para la producción de la proteína S o spike. Mediante un recubrimiento lipídico se protege de la degradación y se permite su entrada a la célula, de manera que sea traducido en la proteína deseada, la cual se presenta en la superficie de la célula y será identificada como extraña por el sistema inmune para el inicio de la respuesta inmune [12].

En el caso de las vacunas basadas en vectores virales, se utiliza un virus de otra especie en el que se inserta un gen que va a codificar la proteína viral de interés (spike). Una vez dentro de la célula, se produce un ARN mensajero que traduce la proteína S: ésta se presenta en la superficie y se desarrolla la respuesta inmune específica. Los vectores virales pueden ser replicativos o no replicativos. En el primer caso, como su nombre lo indica, el virus es capaz de replicarse. En el caso de los no replicativos, se realiza una mutación genética para limitar su capacidad de replicación, solo se producirá la proteína S. Si se comparan, los vectores virales replicantes corren el riesgo de atenuar el efecto deseado por el desarrollo de inmunidad al virus utilizado como vehículo, aunque cuentan con la ventaja de provocar una respuesta fuerte y segura, mientras que los no replicantes pueden necesitar de dosis de refuerzo para asegurar respuesta a largo plazo.

Existen también tecnologías como la de subunidades proteicas. Un ejemplo es la vacuna Abdala que se basa en el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S de la cepa original de Wuhan [11], y partículas similares al virus, las cuales son únicamente envolturas que asemejan su estructura sin el material genético, por lo que carecen de potencial infeccioso, sin embargo, son de difícil fabricación [16].

Existen vacunas de ARNm (Pfizer y Moderna), de vectores virales no replicativos que utilizan adenovirus 5, 26 o de chimpancé (Cansino, Janssen, Gamaleya, AstraZeneca), vectores virales replicativos que utilizan virus de New Castle (Patria), inactivadas (Sinopharm, Sinovac) y subunidades proteicas (Novavax) que han mostrado en estudios fase 1, 2 y 3 buena respuesta inmunológica, y eficacia vacunal entre 66 y hasta 95%, pero con capacidad de evitar casos graves desde el 85% hasta el 100% con los esquemas primarios que incluyen 2 dosis, excepto Janssen que solo aplicaron una dosis como esquema primario.

Para febrero del 2024, a nivel mundial el 70% de la población ya se ha vacunado contra la COVID-19

[13]; el país con un mayor porcentaje de población con el esquema original de vacunación completo es Chile (90%). Otros, como México, han cubierto con el esquema completo únicamente al 64% de la población, y otro 12% se encuentra parcialmente vacunado [13]. La Secretaría de salud en su Estrategia Nacional de Vacunación en México reporta que un 81% de la población de 5 o más años de edad, que es la edad mínima autorizada para recibir el biológico en nuestro país, ha recibido al menos una dosis, es decir, 96 millones de los 118 millones de mexicanas y mexicanos pertenecientes a este grupo. Dentro de los grupos poblacionales: 91% de los mayores de 18 años cuentan con al menos una dosis, 63% entre los 12 y 17 años, y 42% entre 5 y 11 años [14].

Gracias a la vacunación, a pesar de observar un incremento importante en el número de casos, la mortalidad fue disminuyendo paulatinamente en el tiempo a partir del inicio de la vacunación.

En México, esta cobertura de vacunación a gran escala fue identificada como uno de los contribuyentes para disminuir considerablemente la mortalidad por COVID-19 a partir de finales de 2021, junto con la aparición de las variantes Gamma, Delta y Ómicron que presentaron un incremento exponencial en la capacidad de infección al mismo tiempo que una reducción en la generación de casos graves [15]. Esta combinación, es responsable de la peculiar discrepancia entre la incidencia de casos sin precedentes y la enfermedad grave o defunciones, cada vez más amplia a partir de aquel momento.

El Grupo de Expertos en Asesoramiento Estratégico de la OMS (SAGE por sus siglas en inglés) actualizó en marzo de 2023 la guía de vacunación contra COVID-19 [15], en la cual clasifica a la población dentro de tres grupos prioritarios (Figura 2).

### Vacunas bivalentes

El 9 de noviembre de 2021 se reportó por primera vez la variante de ómicron (B.1.1.529), la cual fue nombrada el 26 de noviembre del mismo año. Fue considerada una variante de preocupación por ser portadora de 50 mutaciones que no habían sido vistas previamente, 30 de ellas en la proteína Spike. Del mismo modo se encontraron las mutaciones D614G, N501Y y K417N, que se cree tienen la capacidad de aumentar la capacidad de infección del virus y que se han encontrado también en otras variantes de preocupación [17].

Para junio de 2022, el Grupo Consultivo Técnico sobre la Composición de las Vacunas contra la COVID-19 (TAG-CO-VAC, por sus siglas en inglés) de la OMS reconoció que si bien las vacunas que

contenían la cepa original del virus SARS-CoV-2 aún conferían cierto nivel de protección contra las formas de enfermedad más graves, la eficacia de las mismas se reduciría con el tiempo, esto debido a la clara evidencia del alto número de mutaciones y variantes que habían surgido con respecto al virus original. Por

dicho motivo se recomendó estudiar la posibilidad de cambiar la composición de dichas vacunas adicionándoles antígenos de la variante ómicron [18].

Prioridad	Grupo	Recomendación
Alta	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adultos &gt; 60 años con comorbilidades importantes (Diabetes y Cardiopatías)</li> <li>• Personas &gt;6 meses con inmunodeficiencia</li> <li>• Embarazadas</li> <li>• Personal de Salud</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dosis de refuerzo adicional en un plazo de 6 o 12 meses tras la última dosis</li> </ul>
Media	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adultos &lt; 60 años sanos</li> <li>• Niños y adolescentes con comorbilidades</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se recomienda una dosis de refuerzo. Aunque los refuerzos adicionales son seguros para este grupo el SAGE no los recomienda en forma sistemática</li> </ul>
Baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Niños y adolescentes sanos de entre 6 meses y 17 años</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las dosis de refuerzo son seguras y eficaces, sin embargo, se deben considerar algunos factores como la morbilidad y la relación costo - eficacia</li> </ul>

**Figura 2. Clasificación de la población de acuerdo con el riesgo de muerte y enfermedad grave a causa de la infección por SARS-CoV-2 [15].**

Las vacunas bivalentes fueron finalmente autorizadas por la Administración de Medicamentos y Alimentos de EUA (FDA por sus siglas en inglés) en agosto de 2022, permitiendo la aplicación de aquellas que contenían RNA mensajero del virus de la cepa original del virus del SARS-CoV-2 y otro RNA mensajero de la variante ómicron linajes BA.4/BA.5 como dosis de refuerzo. Las vacunas Pfizer y Moderna fueron desarrolladas como vacunas bivalentes. Por un lado, la vacuna bivalente de Pfizer requería una dosis de 0.3 mL, y estaba autorizada para su uso como dosis única de refuerzo en personas de 12 años y mayores. Por otro lado, la vacuna Moderna bivalente requería dosis de 0.5 mL, y se autorizó como dosis única de refuerzo 2 meses después de la última dosis para mayores de 18 años de edad [19].

Para marzo de 2023, el grupo TAG-CO-VAC se reunió nuevamente para estudiar las pruebas disponibles sobre la administración de vacunas bivalentes como refuerzo. Tras el análisis de diversos estudios epidemiológicos observacionales, datos obtenidos en laboratorios y datos observacionales sobre memoria inmunológica, se observó que existe mayor neutralización con vacunas bivalentes en personas previamente infectadas. Por ello concluyeron que administradas como dosis de refuerzo, las vacunas bivalentes que incluyen el linaje BA.1 o BA.4/BA.5 generan una reactividad cruzada

de mayor magnitud y amplitud contra las variantes del virus, que aquellas vacunas que fueron fabricadas únicamente con el virus inicial [18].

Dichos hallazgos concuerdan con lo reportado en un estudio intervencionista, aleatorizado, doble ciego que evalúa la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de la vacuna bivalente mediante la comparación de pacientes mayores a 55 años a quienes se les aplicó la vacuna monovalente contra quienes se les administró vacuna bivalente. En dicho ensayo se obtuvo que con la vacuna bivalente BA.4/BA.5 se produjeron anticuerpos neutralizantes mayores contra sublinajes derivados del virus, como BQ.1.1 y XBB.1; asimismo se observó que después de la cuarta dosis con la vacuna bivalente se desarrollan niveles mayores de anticuerpos neutralizantes en pacientes infectados [20].

Del mismo modo un análisis realizado con base en datos nacionales en EUA demostró la efectividad de la vacuna bivalente como refuerzo de la enfermedad sintomática: una dosis de refuerzo de ARNm bivalente proporciona una protección añadida contra la infección sintomática por linajes XBB/XBB.1.5 durante al menos los primeros tres meses tras la vacunación, en personas que ya habían recibido vacunas monovalentes [21].

Según datos obtenidos del Centro de Control de Enfermedades de EUA (CDC, por sus siglas en

inglés), en noviembre del 2022 la tasa de hospitalización en pacientes mayores a 18 años que fueron vacunados con formulaciones bivalentes fue 2.7 veces menor que vacunas monovalentes y 13.6 veces menor que aquellos que no recibieron ninguna vacuna. Similar a lo que se encontró con respecto a la tasa de fallecimientos en pacientes mayores de 5 años, con 2.4 veces menor riesgo de muerte por COVID-19 en pacientes con refuerzo con vacunas bivalentes comparado con vacunas monovalentes y 12.7 veces menor riesgo de muerte en personas con vacunas bivalentes comparado con pacientes no vacunados [22].

### Vacunas monovalentes actualizadas

Para el 13 de mayo del 2023, la OMS publicó la declaración sobre la composición antigénica de las vacunas contra la COVID-19, en la cual se menciona la existencia de una evolución genética y antigénica continua y considerable del agente etiológico de esta enfermedad, el SARS-CoV-2; además de un alta seroprevalencia e inmunidad heterogénea. Es por ello que los programas de vacunación para completar la serie primaria y dosis de refuerzo para los grupos de prioridad media y alta aún deben de seguir vigentes. Las actualizaciones del antígeno de la vacuna pueden tener una mejoría en las respuestas inmunitarias inducidas por la vacuna a las variantes circulantes del agente etiológico, el SARS-CoV-2. Sin embargo, desde mayo del 2023 los linajes descendientes de XBB.1 predominan en la circulación mundial. Las nuevas formulaciones deberán proporcionar protección contra linajes descendientes de XBB.1 y el TAG-CO-VAC recomienda XBB.1.5 monovalente. Además, se recomienda no incluir la cepa original o virus índice en futuras formulaciones de vacunas COVID-19 [23].

El 11 de septiembre del 2023 la FDA en Estados Unidos autorizó la vacuna Comirnaty de Pfizer monovalente de ARNm basada en la subvariante XBB.1.5, para aplicarla en pacientes de 6 meses a 4 años, en el caso de no vacunados 3 dosis a las 0, 3 y 8 semanas, en el caso de 1 dosis recibida previamente aplicar 2 dosis con intervalo de 8 semanas y en el caso de haber recibido 2 a 4 dosis, aplicar sólo 1 dosis después de 8 semanas de la última; en niños de 5 años a 11 años, en el caso de dosis previas aplicar solo 1 dosis 8 semanas después, en el caso de pacientes inmunosuprimidos se aplican 3 dosis con intervalos de 2 meses y en individuos de 12 años y más se aplica una dosis 2 meses después de la última dosis [24].

El 11 de septiembre del 2023 la FDA de EUA también autorizó la vacuna Spikevax de Moderna monovalente de ARNm basada en la subvariante

XBB.1.5, que se aplica a pacientes de 6 meses a 4 años, en el caso de no vacunados 2 dosis con intervalo de 1 mes, si ya recibieron una dosis se aplica 1 dosis después de un mes de la última; en niños de 5 a 11 años se recomienda la aplicación de una dosis independientemente del estado de vacunación, en niños de 6 meses a 11 años inmunosuprimidos se recomienda la aplicación de 3 dosis con intervalos de 1 mes y de 12 años en adelante se recomienda una dosis independientemente del estado de vacunación, por lo menos 2 meses después de la última dosis [25].

El 13 de octubre del 2023 la FDA también autorizó la vacuna Novavax COVID-19 monovalente de subunidad proteica basada en la subvariante XBB.1.5, que se aplica a pacientes de 12 años o más aplicando una dosis en caso de vacunación previa y 2 dosis con intervalos de 3 semanas en no vacunados.

La Vacuna Moderna monovalente XBB.1.5 produce anticuerpos neutralizantes contra la cepa original de Wuhan, y las subvariantes BA.4/BA.5, XBB.1.5, XBB.1.16, XBB.2.3.2, EG.5.1, FL.1.5.1 y BA.2.86 [26]. La vacuna Pfizer monovalente XBB.1.5 confiere protección contra BA.5 y BA.2.86 [27].

### Vacunación en niños

En mayo del 2021, la FDA autorizó la vacuna de Pfizer para adolescentes de 12 a 15 años y en junio de ese mismo año, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) también autoriza para uso de emergencia la vacuna de Pfizer-Biontech para la población mexicana mayor de 12 años de edad y el 17 de junio del 2022 la FDA de Estados Unidos autoriza la vacuna Pfizer-BioNTech anti-COVID-19 para niños de 6 meses de edad hasta los 11 años.

La aprobación de las vacunas Moderna y Pfizer para niños de 6 meses a 18 años en el caso de Moderna y hasta los 16 años en el caso de Pfizer se basó en los estudios de “puenteo inmunológico”, en donde a partir de los resultados de eficacia reportados en adultos, simplemente se evalúa si en los niños y/o adolescentes que recibieron la vacuna, también producen anticuerpos en la misma proporción que los adultos, lo cual se demostró en niños de 6 a 23 meses, 2 a 5 años, 6 a 11 años y 12 a 18 o 16 años, que presentaron títulos medios geométricos mayores al grupo de edad de 18 a 25 años de edad y un 100% de respuesta en los diferentes grupos de edad vacunados y 98 a 99% de respuesta en comparación con el grupo de 18 a 25 años. En el caso de la vacuna de moderna se aplican 25 microgramos en 2 dosis a niños de 6 meses a 5 años, 50 microgramos a niños de 6 a 11 años y 100 microgramos a niños de 12 a 18 años. En el caso de la vacuna de Pfizer se aplican 3 microgramos en 3 dosis

a niños de 6 meses a 4 años, 2 dosis de 10 microgramos a niños de 5 a 11 años y 2 dosis de 30 microgramos a niños de 12 a 16 años.

El SARS-CoV-2 en niños puede causar hospitalizaciones por falla respiratoria, miocarditis, falla renal, trombosis u otras complicaciones relacionadas; puede propiciar la aparición del Síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico (PIMS, por sus siglas en inglés), que puede llevar a choque y falla orgánica múltiple [28-29], y los hace propensos a desarrollar COVID largo afectando su calidad de vida. Los niños pueden tener la misma vulnerabilidad para la infección que los adultos; pero estos casos se reportan menos por lo que puede existir transmisión secundaria en casa y en la escuela. En Estados Unidos, se observó un incremento de 5 veces en las hospitalizaciones por COVID-19 en niños durante junio a agosto del 2021 con la variante delta, en donde la hospitalización fue 10 veces mayor en los no vacunados [30]. En Estados Unidos, de junio 2022 a marzo de 2022, se analizaron las tasas de hospitalización asociadas a COVID-19 por estado de vacunación entre niños de 5 a 11 años y adolescentes de 5 a 17 años vacunados y no vacunados, encontrando que el grupo más afectado fue el de 12 a 17 años no vacunados, con una tasa de hospitalización de más de 30 x 100,000 comparado con los vacunados de 12 a 17 años de 20 x 100,000 en el mes de enero de 2022 [22].

En un informe publicado el 14 de enero del 2022, se examinaron los resultados clínicos y la gravedad del síndrome multisistémico en pacientes pediátricos de 12 a 18 años, considerando su estado de vacunación, en 24 hospitales pediátricos ubicados en 20 estados de los Estados Unidos, durante el período comprendido entre julio y diciembre de 2021, mostrando que la vacunación contra COVID-19 protege contra PIMS en niños de 12 a 18 años con una eficacia vacunal del 90% [31].

Entre el 29 de octubre de 2021 y el 6 de enero de 2023, se llevó a cabo un estudio que abarcó datos de vigilancia de Carolina del Norte, enfocados en la vacunación contra la COVID-19 y los resultados clínicos en niños menores de 12 años a lo largo de todo el período de predominancia de ómicron. Durante todo este lapso, se evaluó la efectividad de los refuerzos bivalentes en comparación con los monovalentes contra la infección por ómicron en niños de 5 a 11 años. Los refuerzos bivalentes demostraron ser más efectivos que los monovalentes en el grupo de niños

de 5-11 años de edad, la efectividad de una dosis de refuerzo monovalente fue de 24.4% (IC de 95%, 14.4 a 33.2) tras 1 mes y 23.1% (IC de 95%, 15.6 a 30.0) tras 2 meses, comparado con la efectividad de una dosis de refuerzo bivalente de 76.7% (IC de 95%, 45.7 a 90.0) tras 1 mes y 47.3% (IC de 95%, -17.9 a 76.4) tras 2 meses [32].

IC corresponde al Intervalo de Confianza. Un IC de 95% se puede interpretar de la siguiente manera: si el estudio se repite 100 veces, en 95 ocasiones, el intervalo de confianza incluiría la eficacia de la vacuna (EV). En el primer caso en particular, en 95% de las ocasiones, la EV obtenida estaría en el rango de 14.4 a 33.2 .

En un estudio publicado en el 2024 se observó que las vacunas bivalentes tienen un 54% de efectividad contra la infección y el 49% contra COVID sintomático en niños de 5 a 17 años [33].

En el 2023 la ACIP (del inglés Advisory Committee on Immunization Practices) publicó las recomendaciones de vacunación con vacuna COVID-19 monovalente XBB.1.5 para niños de 6 meses a 4 años y mayores de 5 de acuerdo con su estado de vacunación (Tabla 1 y 2) [33].

Tanto las vacunas desarrolladas por Pfizer como por Moderna proveen dosis y características de administración específicas para los distintos grupos etarios. En el caso de Pfizer, hay viales con tapones de diferentes colores para diferenciar la edad, la cantidad de dosis y la concentración que se aplica de acuerdo a la edad: tapón gris oscuro para mayores de 12 años con 6 dosis por vial de 30 µg, gris claro 1 dosis por vial de 30 µg, tapón amarillo para niños de 5 a 11 años con 10 dosis por vial de 10 µg y azul fuerte para niños de 5 a 11 años con 5 dosis por vial de 10 µg, tapón azul claro para niños de 5 a 11 años con una dosis por vial de 10 µg y tapón marrón para niños de 6 meses a 5 años con 10 dosis por vial de 3 µg. La duración de las vacunas en almacenamiento entre 2 y 8°C es de 10 semanas. En el caso de frascos multidosis una vez que se punciona el vial, la duración de la vacuna en el refrigerador entre 4 y 8°C es de 12 horas, después de ese tiempo el ARNm se inactiva.

**Tabla 1. Esquema de vacunación para niños de 6 meses a 5 años con vacunas COVID-19 monovalentes XBB.1.5**

Historia de vacuna COVID	Vacuna actualizada mRNA	Dosis indicadas de vacuna de mRNA actualizada	Intervalo entre dosis
<b>No vacunados</b>	Moderna	2	4 - 8 semanas
	Pfizer	3	Dosis 1 y 2: 3-8 semanas Dosis 2 y 3: >8 semanas
<b>Recibieron Moderna</b>			
1 dosis de Moderna	Moderna	1	4 a 8 semanas después de la última dosis
> 2 dosis de Moderna	Moderna	1	> 8 semanas de la última dosis
<b>Recibieron Pfizer BioNTech</b>			
1 dosis de Pfizer BioNTech	Pfizer BioNTech	2	Dosis 1: 3-8 semanas después de la última dosis Dosis 1 y 2: >8 semanas
2 dosis de Pfizer BioNTech	Pfizer BioNTech	1	> 8 semanas después de la última dosis
> 3 dosis de Pfizer BioNTech	Pfizer BioNTech	1	> 8 semanas después de la última dosis

**Tabla 2. Esquema de vacunación para niños mayores de 5 años con vacunas COVID-19 monovalentes XBB.1.5**

Historia de vacuna COVID 19	Vacuna actualizada	Dosis indicadas	Intervalo entre dosis
<b>No vacunados</b>	Moderna	1	NA
	Pfizer BioNTech	1	NA
	Novavax (solo >12 años)	2	Dosis 1 y 2: 3-8 semanas
<b>Recibió &gt;1 dosis de vacuna COVID 19 incluyendo Moderna, Pfizer BioNTech, Novavax (&gt;12), Janssen (&gt;18)</b>	Moderna	1	8 semanas después de la última dosis
	Pfizer BioNTech	1	8 semanas después de la última dosis
	Novavax (solo >12 años)	1	8 semanas después de la última dosis

La vacuna de ARNm monovalente XBB.1.5 de Moderna tiene 2 presentaciones: un vial con tapa azul con 100 µg/ml es decir 2.5 ml para pacientes pediátricos, en el que se aplica 0.25 mL que equivalen a 25 microgramos y la tapa roja de 200 µg/ml es decir 10 ml para pacientes mayores de 18 años, en el que se aplican 0.5 mL para esquema primario que equivale a 100 µg y 0.25 mL para refuerzo que equivale a 50 µg. La vacuna dura 30 días almacenada entre 2 y 8°C, una vez que se ha puncionado el vial para extraer la dosis inicial, la vacuna dura hasta 19 horas, después de este tiempo el ARNm se inactiva. El esquema de vacunación en los Estados Unidos en niños de 6 meses a 23 meses y de 2 años a 5 años en la serie primaria se aplican 2 dosis de 25 µg intramuscular con un mes de diferencia.

### Futuro de la vacunación contra COVID-19

La vacunación contra COVID-19 en los próximos años se verá influenciado por diversas consideraciones, entre las cuales se incluyen la necesidad de tener vacunas actualizadas cada año para poder hacer frente a la emergencia de variantes con capacidad de tener un escape inmunológico o que causen una enfermedad más agresiva. Se deberá dar prioridad para la vacunación a la población de alto riesgo, que incluye individuos mayores de 60 años, mujeres embarazadas, personas inmunocomprometidas, aquellos con enfermedades crónicas como la diabetes mellitus y la hipertensión arterial, así como el personal de

salud. Ahora los niños son la población susceptible, además de potenciales transmisores de la enfermedad, por lo que se deben considerar en el programa nacional de vacunación.

## Conclusiones

Aunque el coronavirus ya no es una emergencia de salud internacional, sigue siendo un problema de salud pública mundial, las vacunas han tenido un papel muy importante en evitar casos graves y muerte, pero los brotes y casos de nuevas variantes de Omicron continúan. Las vacunas bivalentes y monovalente XBB.1.5 han demostrado efectividad en evitar hospitalización y muerte por las nuevas variantes.

Dado que el SARS-CoV-2 persiste con la posibilidad de mutar, la inmunidad híbrida y la actualización de las vacunas a las variantes

circulantes son clave para poder combatir la enfermedad. Es fundamental que las personas con factores de riesgo continúen con las medidas de protección y se vacunen con las vacunas actualizadas.

En el contexto de la pandemia, los niños son los que tienen menor riesgo, pero en el contexto de endemia, donde el 94% de la población es inmune, los niños son ahora los más susceptibles. Es muy importante recalcar que el COVID-19 en pacientes pediátricos causa hospitalizaciones, muertes y complicaciones como el síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico (PIMS) y COVID largo, además que pueden ser transmisores de la enfermedad sobre todo a personas de la tercera edad que frecuentemente son los cuidadores, por lo que es importante considerar la vacunación contra COVID-19 en niños como una estrategia de salud pública.

## Referencias

- World Health Organization (2024). 2023 data.who.int, WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard > Cases [Dashboard]. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>
- Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud (2023). "Informe Técnico Semanal COVID-19 México". [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/846869/Informe\\_Tecnico\\_Semanal\\_COVID-19\\_2023.08.01.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/846869/Informe_Tecnico_Semanal_COVID-19_2023.08.01.pdf)
- Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud (2024). "Informe semanal de la COVID-19, influenza y otros virus respiratorios 2024. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/880794/ERV\\_SE02\\_2024.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/880794/ERV_SE02_2024.pdf) (consultado en febrero del 2024)
- Carnalla M, Basto-Abreu A, Stern D, Colchero MA, Bautista-Arredondo S, Alpuche-Aranda CM, Martínez-Barnette J, Romero-Martínez M, Cortés-Alcalá R, López-Martínez I, Aparicio-Antonio R, Barrientos-Gutiérrez T. (2023) Prevalencia de anticuerpos y vacunación contra SARS-CoV-2 en 2022 en México. *Salud Publica Mex* 65, s135-s145.
- Organización Mundial de la Salud (2023). "Declaración acerca de la decimoquinta reunión del Comité de Emergencias del Reglamento Sanitario Internacional (2005) sobre la pandemia de enfermedad por coronavirus (COVID-19)". Disponible en: [https://www.who.int/es/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/es/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic)
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (Eds.). (2014). *Microbiología médica*. Séptima edición. Elsevier-Saunders, Barcelona.
- Clasificaciones y definiciones de las variantes del SARS-CoV-2*. (2023, 1 septiembre). Centros Para el Control y Prevención de Enfermedades. Recuperado 27 de febrero de 2024, de <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>
- CoVariants. (2024, febrero). CoVariants. Recuperado 29 de febrero de 2024, de <https://covariants.org/>
- Genomic epidemiology of SARS-COV-2 with subsampling focused globally over the past 6 months. (2024, febrero). Nextstrain. Recuperado 29 de febrero de 2024, de <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/6m>
- Le TT, Cramer JP, Chen R, Mayhew S. Evolution of the COVID-19 vaccine development landscape. *Nat Rev Drug Discov.* 2020 Oct;19(10):667-668. doi: 10.1038/d41573-020-00151-8.
- Más-Bermejo, P. I., Dickinson-Meneses, F. O., Almenares-Rodríguez, K., Sánchez-Valdés, L., Guinovart-Díaz, R., Vidal-Ledo, M. & Ayala-Ávila, M. (2022). Cuban Abdala vaccine: Effectiveness in preventing severe disease and death from COVID-19 in Havana, Cuba; A cohort study. *The Lancet Regional Health–Americas*, 16: 100366. doi: [10.1016/j.lana.2022.100366](https://doi.org/10.1016/j.lana.2022.100366)
- Edouard Mathieu, Hannah Ritchie, Lucas Rodés-Guirao, Cameron Appel, Charlie Giattino, Joe Hasell, Bobbie Macdonald, Saloni Dattani, Diana Beltekian, Esteban Ortiz-Ospina and Max Roser (2020) - "Coronavirus Pandemic (COVID-19)". Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from: 'https://ourworldindata.org/coronavirus' [Online Resource].

13. Mathieu, E., Ritchie, H., Rodés-Guirao, L., Appel, C., Giattino, C., Hasell, J., Macdonald, B., Dattani, S., Beltekian, D., Ortiz-Ospina, E., and Roser, M. (2020) - "Coronavirus Pandemic (COVID-19)". Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>' [Online Resource], consultado el 8 de marzo de 2024.
14. Loza, A., Wong-Chew, R. M., Jimenez-Corona, M. E., Zarate, S., Lopez, S., Ciria, R., Palomares, D., Garcia-Lopez, R., Isa, P., Taboada, B., Rosales, M., Boukadida, C., Herrera-Estrella, A., Mojica, N. S., Rivera-Gutierrez, X., Munoz-Medina, J. E., Salas-Lais, A. G., Sanchez-Flores, A., Vazquez-Perez, J. A., Arias, C. F., and Gutierrez-Rios, R. M. (2022) Two-year follow-up of the COVID-19 pandemic in Mexico. *Front Public Health* **10**, 1050673
15. Organización Mundial de la Salud (2023). "El SAGE actualiza la guía de vacunación contra la COVID-19". Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/28-03-2023-sage-updates-covid-19-vaccination-guidance>, consultado el 30 de marzo 2023
16. Callaway, E. (2020) The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature* **580**, 576-577.
17. Jonathan Corum. (2022, mayo). Tracking Omicron and Other Coronavirus Variants. *The New York Times*. Recuperado 29 de febrero de 2024, de <https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/coronavirus-variant-tracker.html>
18. Organización Mundial de la Salud (2023, 14 abril). Informe de la reunión del Grupo Consultivo Técnico sobre la composición de las vacunas contra la COVID-19 celebrada los días 16 y 17 de marzo de 2023. Recuperado 28 de febrero de 2024, de [https://www.who.int/es/news/item/14-04-2023-report-of-the-meeting-of-the-who-technical-advisory-group-on-covid-19-vaccine-composition-\(tag-co-vac\)-held-on-16-17-march-2023](https://www.who.int/es/news/item/14-04-2023-report-of-the-meeting-of-the-who-technical-advisory-group-on-covid-19-vaccine-composition-(tag-co-vac)-held-on-16-17-march-2023)
19. U.S. Food & Drug Administration (2022, 31 agosto). Actualización sobre el coronavirus (COVID-19): La FDA autoriza las vacunas bivalentes contra el COVID-19 de Moderna y Pfizer-BioNTech para su uso como dosis de refuerzo. FDA. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/actualizacion-sobre-el-coronavirus-covid-19-la-fda-autoriza-las-vacunas-bivalentes-contra-el-covid>
20. Zou, J., Kurhade, C., Patel, S., Kitchin, N., Tompkins, K., Cutler, M., Cooper, D., Yang, Q., Cai, H., Muik, A., Zhang, Y., Lee, D. Y., Sahin, U., Anderson, A. S., Gruber, W. C., Xie, X., Swanson, K. A., and Shi, P. Y. (2023). Neutralization of BA.4-BA.5, BA.4.6, BA.2.75.2, BQ.1.1, and XBB.1 with bivalent vaccine. *New England Journal of Medicine*, **388** (9), 854-857.
21. Link-Gelles, R., Ciesla, A. A., Roper, L. E., Scobie, H. M., Ali, A. R., Miller, J. D., Wiegand, R. E., Accorsi, E. K., Verani, J. R., Shang, N., Derado, G., Britton, A., Smith, Z. R., and Fleming-Dutra, K. E. (2023) Early Estimates of bivalent mRNA booster dose vaccine effectiveness in preventing symptomatic SARS-CoV-2 infection attributable to Omicron BA.5—and XBB/XBB. 1.5—related sublineages among immunocompetent adults—Increasing Community Access to Testing Program, United States, December 2022–January 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **72** (5), 119-124.
22. COVID Data Tracker. (2024, febrero). COVID-19 Update For The United States. Recuperado 28 de febrero de 2024, de <https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/#datatracker-home>
23. World Health Organization: WHO. (2023, 14 abril). Informe de la reunión del Grupo Consultivo Técnico sobre la Composición de las Vacunas contra la COVID-19 celebrada los días 16 y 17 de marzo de 2023. *World Health Organization*. [https://www.who.int/es/news/item/14-04-2023-report-of-the-meeting-of-the-who-technical-advisory-group-on-covid-19-vaccine-composition-\(tag-co-vac\)-held-on-16-17-march-2023](https://www.who.int/es/news/item/14-04-2023-report-of-the-meeting-of-the-who-technical-advisory-group-on-covid-19-vaccine-composition-(tag-co-vac)-held-on-16-17-march-2023)
24. Research, C. F. B. E. A. (2023, 7 diciembre). *COMIRNATY*. U.S. Food And Drug Administration. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/comirnaty>
25. Research, C. F. B. E. A. (2023a, septiembre 21). *SPIKEVAX*. U.S. Food And Drug Administration. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/spikevax>
26. [Preprint] Chalkias, S., McGhee, N., Whatley, J.L., Essink, B., Brosz, A., Tomassini, J.E., Girard, B., Wu, K., Edwards, D.K., Nasir, A., Lee, D., Avena, L.E., Feng, J., Deng, W., Montefiori, D.C., Baden, L.R., Miller, J.M., Das R., (2023, 7 septiembre). Safety and Immunogenicity of XBB.1.5-Containing mRNA Vaccines. *medRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)* doi: [10.1101/2023.08.22.23293434](https://doi.org/10.1101/2023.08.22.23293434)
27. Marking, U., Bladh, O., Aguilera, K., Yang, Y., Greilert-Norin, N., Blom, K., Hober, S., Klingström, J., Havervall, S., Åberg, M., Sheward, D. J., & Thålin, C. (2024). Humoral immune responses to the monovalent XBB.1.5-adapted BNT162b2 mRNA booster in Sweden. *The Lancet Infectious Diseases*, **24** (2), e80-e81. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(23\)00779-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(23)00779-x)
28. Molteni, E., Sudre, C. H., Canas, L. S., Bhopal, S. S., Hughes, R. C., Antonelli, M., Murray, B., Klaser, K., Kerfoot, E., Chen, L., Deng, J., Hu, C., Selvachandran, S., Read, K., Capdevila Pujol, J., Hammers, A., Spector, T. D., Ourselin, S., Steves, C. J., Modat, M., Absoud, M., and Duncan, E. L. (2021) Illness duration and symptom profile in symptomatic UK school-aged children tested for SARS-CoV-2. *Lancet Child Adolesc Health* **5**, 708-718
29. Fryhofer, S. A., MD. (2021, 12 noviembre). *The Pfizer COVID Vaccine for Kids: How Does It Differ?* Medscape. [https://www.medscape.com/viewarticle/962657?spoon=9&uac=38540AV&impID=3801683&ss=1&src=WNL\\_mdpls\\_211116\\_mscpedipeds](https://www.medscape.com/viewarticle/962657?spoon=9&uac=38540AV&impID=3801683&ss=1&src=WNL_mdpls_211116_mscpedipeds)
30. Delahoy, M. J., Ujamaa, D., Whitaker, M., O'Halloran, A., Anglin, O., Burns, E., Cummings, C., Holstein, R., Kambhampati, A. K., Milucky, J., Patel, K., Pham, H., Taylor, C. A., Chai, S. J., Reingold, A., Alden, N. B., Kawasaki, B., Meek, J., Yousey-Hindes, K., Anderson, E. J., Openo, K. P., Teno, K., Weigel, A., Kim, S., Leegwater, L., Bye, E., Como-Sabetti, K.,

- Ropp, S., Rudin, D., Muse, A., Spina, N., Bennett, N. M., Popham, K., Billing, L. M., Shiltz, E., Sutton, M., Thomas, A., Schaffner, W., Talbot, H. K., Crossland, M. T., McCaffrey, K., Hall, A. J., Fry, A. M., McMorrow, M., Reed, C., Garg, S., Havers, F. P., Team, C.-N. S., and Team, C.-N. S. (2021) Hospitalizations Associated with COVID-19 Among Children and Adolescents - COVID-NET, 14 States, March 1, 2020-August 14, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **70**, 1255-1260
31. Zambrano, L. D., Newhams, M. M., Olson, S. M., Halasa, N. B., Price, A. M., Boom, J. A., Sahni, L. C., Kamidani, S., Tarquinio, K. M., Maddux, A. B., Heidemann, S. M., Bhumbra, S. S., Bline, K. E., Nofziger, R. A., Hobbs, C. V., Bradford, T. T., Cvijanovich, N. Z., Irby, K., Mack, E. H., Cullimore, M. L., Pannaraj, P. S., Kong, M., Walker, T. C., Gertz, S. J., Michelson, K. N., Cameron, M. A., Chiotos, K., Maamari, M., Schuster, J. E., Orzel, A. O., Patel, M. M., Campbell, A. P., Randolph, A. G., and Overcoming, C.-I. (2022) Effectiveness of BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) mRNA Vaccination Against Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Among Persons Aged 12-18 Years - United States, July-December 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **71**, 52-58
32. [Preprint] Lin, D., Xu, Y., Gu, Y., Zeng, D., Wheeler, B., Young, H. P., Moore, Z., & Sunny, S. K. (2023). Effectiveness of Vaccination and Previous Infection Against Omicron Infection and Severe Outcomes in Children Under 12 Years of Age. medRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory). <https://doi.org/10.1101/2023.01.18.23284739>
33. Feldstein, L. R., Britton, A., Grant, L., Wiegand, R., Ruffin, J., Babu, T. M., Briggs Hagen, M., Burgess, J. L., Caban-Martinez, A. J., Chu, H. Y., Ellingson, K. D., Englund, J. A., Hegmann, K. T., Jeddy, Z., Lauring, A. S., Lutrick, K., Martin, E. T., Mathenge, C., Meece, J., Midgley, C. M., Monto, A. S., Newes-Adeyi, G., Odame-Bamfo, L., Olsho, L. E. W., Phillips, A. L., Rai, R. P., Saydah, S., Smith, N., Steinhardt, L., Tyner, H., Vandermeer, M., Vaughan, M., Yoon, S. K., Gaglani, M., and Naleway, A. L. (2024) Effectiveness of Bivalent mRNA COVID-19 Vaccines in Preventing SARS-CoV-2 Infection in Children and Adolescents Aged 5 to 17 Years. *JAMA* **331**, 408-416.
34. Regan, J. J., Moulia, D. L., Link-Gelles, R., Godfrey, M., Mak, J., Najdowski, M., Rosenblum, H. G., Shah, M. M., Twentyman, E., Meyer, S., Peacock, G., Thornburg, N., Havers, F. P., Saydah, S., Brooks, O., Talbot, H. K., Lee, G. M., Bell, B. P., Mahon, B. E., Daley, M. F., Fleming-Dutra, K. E., and Wallace, M. (2023) Use of Updated COVID-19 Vaccines 2023-2024 Formula for Persons Aged  $\geq 6$  Months: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices - United States, September 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **72**, 1140-1146.
35. Hadfield, J., Megill, C., Bell, S. M., Huddleston, J., Potter, B., Callender, C., Sagulenko, P., Bedford, T., and Neher, R. A. (2018) Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics* **34**, 4121-4123



**Dra. Rosa María Wong-Chew**  
**ORCID: 0000-0002-3582-5120**

La Dra. Rosa María Wong Chew, nació en la Ciudad de México. Estudió la carrera de Médico cirujano en la Universidad La Salle, realizó su especialidad en Pediatría Médica en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, y la subespecialidad en Infectología Pediátrica en el Hospital Civil de Guadalajara. Realizó un posdoctorado en el Departamento de Infectología Pediátrica, de la Universidad de Stanford en

California, Estados Unidos, y la Maestría (sede CMN) y Doctorado (sede Hospital Infantil de México) en Ciencias Médicas en el Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, de la Fac. Medicina, UNAM.

En 1998 laboró como Médico Adscrito al Servicio de Pediatría del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”. Inició labores en el año 2000 como Profesor Asociado C, desde el año 2012 como Profesor Titular A de tiempo completo definitivo en la Unidad de Investigación en Medicina Experimental de la Fac. Medicina, UNAM (Hospital General) y desde agosto de 2016 como Profesor Titular B y Jefa del Laboratorio de Investigación en enfermedades Infecciosas de la División de Investigación de la FM-UNAM. Desde el 1º de marzo de 2016 ocupa el cargo de Jefa de la Subdivisión de Investigación clínica, FM-UNAM. Desde abril del 2023 es vocal de la junta de gobierno del Hospital Infantil de México Federico Gómez y desde mayo del 2023 es Vicepresidenta de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología clínica. Es miembro del Comité Nacional de Investigación científica, Desarrollo tecnológico e innovación en Salud Pública sobre

desarrollos vacunales COVID 19 para México, y del Comité de moléculas nuevas de COFEPRIS. Es Secretaria técnica de la Comisión de Investigación, del Comité de Ética de la Investigación y del Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la FM-UNAM.

Ha graduado 2 estudiantes de licenciatura, 7 de especialidad, 9 de maestría y 1 de doctorado. Tiene 60 publicaciones en revistas internacionales y nacionales y 9 capítulos de libro. Ha presentado 96 trabajos en congresos nacionales e internacionales, ha impartido 252 pláticas o conferencias en congresos y cursos, y ha asistido a 221 Congresos o Cursos de su especialidad. Ha participado en 380 entrevistas para radio, televisión, internet y medios impresos.

Ha obtenido financiamientos del CONACYT, Seegene (Corea), PAPIIT (DGAPA, UNAM), PIMSA (UC Berkeley) y de los Institutos Nacionales de Salud (NIH por sus siglas en inglés) de Estados Unidos para sus proyectos. Ha realizado asesorías para GSK, Sanofi, Abbvie, Innova Salud, Landsteiner, Asofarma.

La Dra. Wong es miembro del Sistema Nacional de Investigadores del CONAHCYT nivel 2, tiene PRIDE D, ha recibido 24 premios nacionales por sus trabajos de investigación. Recibió la medalla Alfonso Caso en el año 2012 como la graduada más distinguida del doctorado de la UNAM. Recibió mención honorífica en el examen profesional de Medicina, en el de la Especialidad en Pediatría, en el examen de grado de la maestría y el Doctorado en ciencias médicas. Está certificada por el Consejo

Nacional de Certificación en Pediatría y el Consejo Mexicano de Infectología, es miembro de la Asociación de Médicos del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de la Sociedad Mexicana de Pediatría, de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología clínica y de la Infectious Diseases Society of America. Es revisora de artículos para revistas como *Frontiers in Pediatrics*, *PlosOne*, *Vaccine*, *Epidemiology and Infection*, *Human Vaccines and immunotherapeutics*, *Journal of Medical Virology*, entre otras.

Sus líneas de investigación incluyen:

1. Evaluación de la respuesta inmune a vacunas: incluyendo la vacunación contra sarampión en aerosol en niños, la vacuna de sarampión y rubéola en adultos sanos y con VIH, la vacuna de Influenza en niños con leucemia y adultos con asma.
2. Epidemiología de virus respiratorios causantes de infecciones en niños y adultos.
3. Genotipos y patogénesis de rinovirus
4. Microbioma respiratorio e intestinal y su relación con las infecciones respiratorias.
5. Marcadores de choque séptico y sepsis abdominal y la relación con la respuesta inmune.
6. Estrategias de educación para la mejoría de la desnutrición infantil.
7. Prevalencia de SARS CoV2 en personal de salud, Síntomas post COVID 19 y uso de dexametasona intranasal en pacientes con COVID 19.





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# El metabolismo energético como blanco farmacológico en la cardioprotección

## Energy metabolism as a pharmacological target in cardioprotection

Rubio-Ruiz, María Esther<sup>1</sup>✉; Vázquez-Meza, Héctor<sup>2</sup>; Sánchez-Aguilar, María<sup>3</sup>.

1. Departamento de Fisiología, Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.
2. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.
3. Departamento de Farmacología, Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.

✉ Calle Juan Badiano 1, Col. Belisario Domínguez, Sección XVI, Alcaldía Tlalpan, Cd. de México, C.P. 14080, México. Tel: +52 (55) 5573 2911, Ext. 25400; Email: [esther\\_rubio\\_ruiz@yahoo.com](mailto:esther_rubio_ruiz@yahoo.com)

Editor responsable: Omar Echeverría Rodríguez  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.08>

Recibido: 12 de marzo de 2024  
Revisado: 12 de abril de 2024  
Aceptado: 6 de mayo de 2024

### Resumen

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son las principales causas de muerte en el mundo, de manera particular la isquemia miocárdica. El corazón se considera un órgano omnívoro pues, para mantener su trabajo mecánico continuo y dependiendo de la situación, es capaz de metabolizar diferentes sustratos mediante rutas enzimáticas finamente reguladas. En condiciones fisiológicas, el corazón de un adulto obtiene energía al oxidar ácidos grasos; sin embargo, cuando se reduce el flujo sanguíneo (isquemia), se producen alteraciones en el metabolismo energético donde el corazón prefiere metabolizar glucosa y cuerpos cetónicos como un mecanismo protector que le permite producir ATP y preservar así la función contráctil. No obstante, esta modificación en el uso de sustratos conduce a una serie de alteraciones morfológicas y fisiológicas (daño mitocondrial, estrés oxidativo, remodelación estructural e inflamación) que finalmente hacen que el daño a este órgano sea mayor. El empleo de agentes farmacológicos que mejoren el metabolismo energético es una opción eficaz para aumentar la capacidad funcional cardíaca y la prognosis de pacientes con ECV. Por lo tanto, el presente trabajo pretende describir el metabolismo energético

### Abstract

Cardiovascular diseases (CVD) are the main causes of death in the world, particularly myocardial ischemia. The heart can be considered as an omnivore organ capable of oxidizing a wide range of substrates through finely regulated enzymatic pathways to maintain its continuous mechanical work. Under physiological conditions, healthy adult heart generates energy through fatty acid oxidation; however, when blood flow is reduced (ischemia), alterations occur in energy metabolism where the heart prefers to metabolize glucose and ketone bodies as a protective mechanism that allow it to produce ATP and thus preserve contractile function. Nevertheless, that shifts in substrate utilization in the heart leads to morphological and physiological alterations (mitochondrial damage, oxidative stress, structural remodeling and inflammation) that further exacerbate the progression of myocardial damage. The use of pharmacological agents that promote energy metabolism is an effective option to improve cardiac functional capacity and the prognosis of patients with CVD. Therefore, the present work aims to describe myocardial energy metabolism and its related factors, as well as summarize therapies for heart failure that involve metabolic intervention.

cardíaco y sus factores relacionados, así como resumir algunas de las propuestas terapéuticas que están dirigidas a este objetivo.

*Palabras claves:* cardioprotección, fármacos para enfermedades cardíacas, metabolismo cardíaco, terapia metabólica.

*Keywords:* cardioprotection, cardiac diseases pharmacotherapy, myocardial metabolism, metabolic therapy.

## Introducción

A nivel mundial, las enfermedades cardiovasculares (ECV) representan las principales causas de muerte. Las de mayor prevalencia y mortalidad son las de tipo isquémico, donde está considerado el infarto al miocardio, patología que fue la primera causa de muerte en México en 2023 (97 187 casos) (1,2). Es importante destacar que las ECV pueden prevenirse si logramos controlar algunos de los factores de riesgo asociados a éstas como son: el tabaquismo, alcoholismo y el presentar enfermedades crónicas como obesidad, diabetes e hipertensión. De manera particular, cada vez son más las evidencias que demuestran que el tener un estilo de vida saludable llevando una alimentación equilibrada, realizando actividad física y, en caso necesario, apegarse al tratamiento farmacológico prescrito, son un factor determinante para su control.

A pesar de que en los últimos años ha habido un progreso notable en el manejo de las ECV, éstas siguen siendo un problema de salud pública en el mundo y la tasa de mortalidad asociada a la isquemia miocárdica está en aumento (3). Es por esta razón que resulta importante el seguir buscando tratamientos para este tipo de patologías, teniendo como blancos diferentes mecanismos celulares y/o moleculares que se llevan a cabo en el corazón. Particularmente, el metabolismo energético cardíaco es una línea de gran interés.

## Abastecimiento de energía y mitocondrias

El corazón de un adulto sano es un órgano con metabolismo altamente aeróbico; para mantener su trabajo mecánico equivalente a 100 000 latidos diarios, requiere una gran cantidad de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP). Esta molécula proviene principalmente de la oxidación de tres sustratos: ácidos grasos de cadena larga, glucosa y lactato; aunque en algunas condiciones, también se puede obtener ATP a partir de algunos aminoácidos y cuerpos cetónicos. El corazón humano consume aproximadamente 6 kg de ATP al día, cantidad que debe ser utilizada para sostener la síntesis de proteínas, la función de la ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , la ATPasa de  $\text{Ca}^{2+}$  y la ATPasa de miosina-actina (4);

es por ello que es primordial contar con una buena cantidad de mitocondrias funcionales.

Las mitocondrias son organelos que se localizan en el citosol y cuya cantidad depende de la función y de la demanda energética particular de cada órgano; en el corazón, las mitocondrias constituyen un 20-40% del volumen celular. Además de cumplir con las funciones de requerimiento energético, estos organelos desempeñan diversas funciones relacionadas con la señalización intracelular, el almacenamiento de calcio y la muerte celular programada (apoptosis) (5).

Las mitocondrias están sujetas a varios procesos los cuales ocurren de manera continua y que forman parte del fenómeno conocido como “dinámica mitocondrial”. Dichos procesos son: la formación de nuevas mitocondrias (biogénesis), la eliminación de éstas (mitofagia), así como la fusión/fisión y el transporte intracelular. La fusión mitocondrial ocurre cuando dos organelos se unen y forman uno de mayor tamaño e inclusive pueden formar redes; mientras que el proceso opuesto se conoce como fisión, en el cual el organelo se fragmenta en dos unidades. Es importante destacar varios aspectos de la dinámica mitocondrial: 1) depende del tipo celular y del estado metabólico de ésta, 2) los procesos de fusión y fisión deben mantenerse en equilibrio para asegurar la estabilidad y funcionalidad mitocondrial, 3) es controlada por grupos de proteínas independientes cuya actividad puede estar regulada por modificaciones postraduccionales, y 4) está sujeta a modificaciones derivadas de algunos estímulos fisiopatológicos (6). Existen varios estudios que demuestran que alteraciones en la dinámica mitocondrial, que afecta directamente su capacidad oxidativa, pueden estar asociadas con la presencia de ECV, particularmente en la isquemia miocárdica y miocardiopatía diabética (7). Es por ello que, algunas herramientas terapéuticas se han diseñado para modificar la dinámica mitocondrial y, de esta manera, promover el funcionamiento cardíaco.

Por otro lado, el tejido cardíaco cuenta con pequeños reservorios energéticos que puede utilizar en ciertas condiciones, éstos son: 1) energía directa en forma de ATP (aproximadamente 5  $\mu\text{mol/g}$  de peso húmedo) y 2) energía unida a una molécula de transporte, la fosfocreatina (PCr) (8  $\mu\text{mol/g}$  de peso

húmedo); la cual tiene la capacidad de difundir fácilmente de la mitocondria al citosol (8,9). Sin embargo, debido a que estos almacenes son bastante limitados y se ven significativamente afectados en situaciones de daño cardíaco, resulta muy importante mantener el equilibrio entre el suministro y la demanda de sustratos a oxidar; ya que, cambios muy modestos en la utilización de algún sustrato, pueden tener un gran impacto en la eficiencia energética y, por ende, en la función contráctil.

### Metabolismo cardíaco

En 1950 Richard Bing, un cardiólogo alemán, fue pionero en el estudio del metabolismo oxidativo en el corazón humano. Sus investigaciones fueron de gran importancia y sentaron las bases para el conocimiento de la regulación metabólica en corazones de individuos sanos y en aquellos que presentaban alguna enfermedad (10,11).

Estudios experimentales han demostrado que el corazón tiene la capacidad de oxidar diferentes sustratos dependiendo de las condiciones del cuerpo. Por ejemplo, el corazón adulto depende en un 40-60% de la oxidación de ácidos grasos (AG) (oleico y palmítico, principalmente); sin embargo, durante el desarrollo fetal y en condiciones de bajo aporte de oxígeno (hipoxia), depende de la oxidación de la glucosa (Figura 1).

### Ácidos grasos

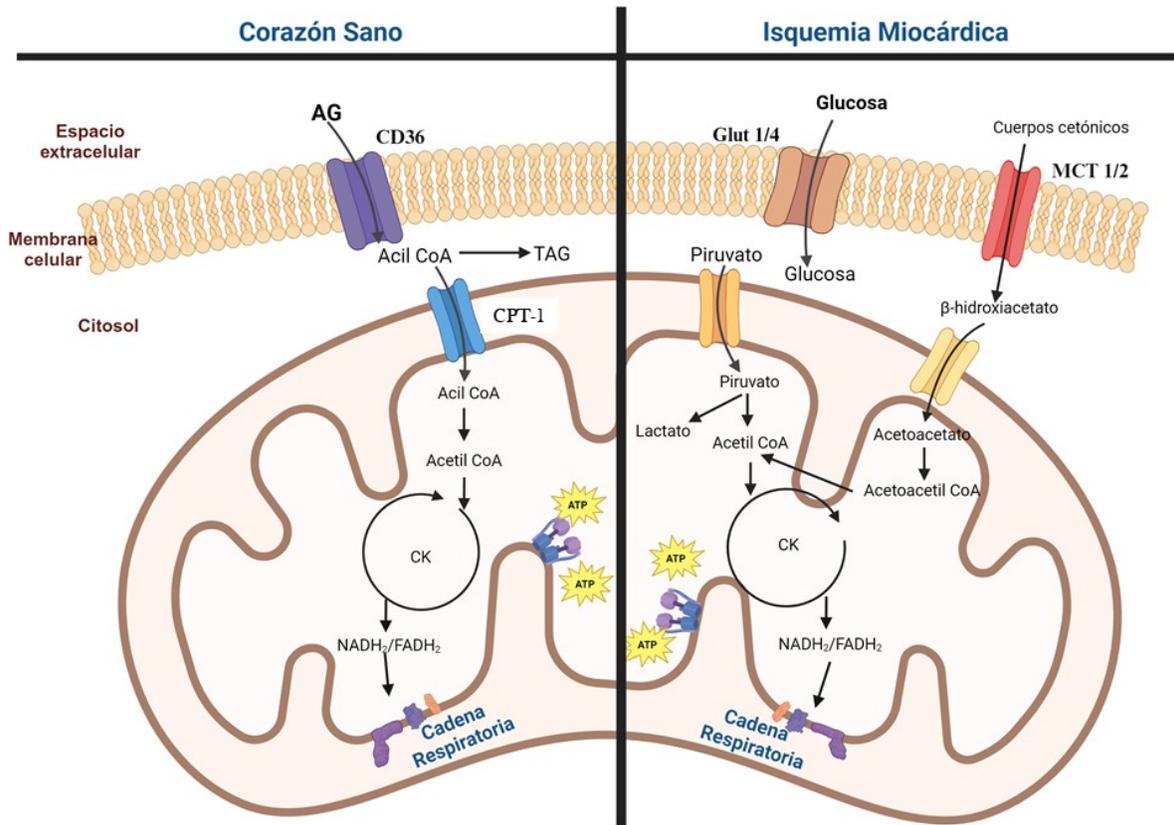
En la sangre los AG llegan al corazón unidos a la albúmina plasmática o en forma de triacilglicérol (combinados con colesterol) contenidos en los quilomicrones o en las lipoproteínas de muy baja densidad circulantes. Estos AG entran a las células cardíacas mediante difusión pasiva o con ayuda de proteínas transportadoras como la FAT/CD36, la proteína ligante de AG en la membrana plasmática (FABPm, por sus siglas en inglés) y la proteína transportadora de AG (FATP, por sus siglas en inglés) (12). Después de su captación por las células cardíacas, los AG deben activarse mediante su unión con la coenzima A (CoASH), generando así los derivados acil CoA correspondientes que pueden internarse en la matriz mitocondrial para ser oxidados de forma inmediata o pueden almacenarse en forma de triglicéridos en los cardiomiocitos (Figura 1).

La oxidación de los AG en el corazón es un proceso que se encuentra finamente controlado y que depende directamente de: la demanda energética (que

varía durante el desarrollo cardíaco y con el estrés fisiológico o anormal), la abundancia de los AG y el suministro de oxígeno. Además, factores como la disponibilidad de sustratos alternos (como la glucosa o los cuerpos cetónicos), la actividad del ciclo de Krebs y la función mitocondrial, pueden afectar dicho proceso (13). De manera recíproca, el metabolismo de los AG inhibe el transporte de glucosa y al complejo de la piruvato deshidrogenasa.

Por otro lado, se ha descrito que el depósito de triglicéridos en el corazón es altamente dinámico pues se renueva constantemente y constituye una fuente de energía en condiciones de bajo aporte de AG extracelulares. Sin embargo, cuando el almacenamiento de AG supera la oxidación de éstos, se puede promover el daño cardíaco mediante un mecanismo llamado lipotoxicidad (14).

Recientemente se ha descrito que otra función importante que desempeña el depósito de AG es el prevenir la acumulación de algunos intermediarios tóxicos como las ceramidas; las cuales son una familia de moléculas lipídicas que pueden activar cascadas de señalización intracelulares asociadas a funciones como: diferenciación, adhesión, migración, inflamación, crecimiento y muerte celular (15). Estudios recientes destacan la importancia de las ceramidas en la salud cardiovascular, incluso algunos tipos de ceramidas se han postulado como biomarcadores para evaluar el riesgo de presentar complicaciones cardíacas derivadas de enfermedades como la aterosclerosis, diabetes mellitus tipo II o la resistencia a la insulina; es por esta razón que las ceramidas también se están considerando como blancos farmacológicos potenciales (16,17). Es importante destacar que los AG no sirven solamente como fuente de energía, también funcionan como reguladores de la expresión génica pues son ligandos endógenos de una clase de factores nucleares de transcripción llamados PPARs, por sus siglas en inglés: receptores activados por proliferadores de peroxisomas. Estos factores pertenecen a la superfamilia de los receptores nucleares activados por ligando e incluyen 3 isoformas –  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  – que se expresan en el corazón y están codificados por diferentes genes. PPAR- $\alpha$  es el principal regulador molecular del metabolismo cardíaco, participa en la remodelación de la matriz extracelular, la inflamación y el estrés oxidativo (18). Debido a lo anterior, se sabe que las alteraciones en la expresión y/o actividad del PPAR- $\alpha$ , están involucradas en la patogénesis y control de las ECV.



**Figura 1. Metabolismo en el corazón sano y en un proceso isquémico.** El corazón es un órgano capaz de metabolizar diferentes sustratos con la finalidad de producir una cantidad suficiente de ATP que le permita mantener su función contráctil. En condiciones fisiológicas (aerobias), el corazón oxida preferentemente ácidos grasos; mientras que cuando existe una disminución en el aporte sanguíneo (condiciones de isquemia), se lleva a cabo un cambio metabólico en donde se utiliza a la glucosa y a los cuerpos cetónicos para la obtención de energía. Abreviaturas: AG, ácidos grasos; ATP, adenosín trifosfato; CD36, proteína transportadora de ácidos grasos; CK, ciclo de Krebs; CPT-1, carnitina palmitoil transferasa 1; FADH, flavín adenin dinucleótido reducido; GLUT, transportador de glucosa; MCT, transportador de aniones monocarboxílicos; NADH, nicotinamida adenina dinucleótido reducido; TAG, triglicéridos.

### Glucosa, lactato y cuerpos cetónicos

La glucosa es otro de los sustratos que utiliza el tejido cardíaco para obtener ATP a través de la glucólisis. Si esta ruta metabólica se lleva a cabo en presencia de oxígeno, se obtiene como productos el piruvato y 2 moléculas de ATP; sin embargo, si el proceso ocurre en condiciones de anoxia, se produce lactato con una ganancia energética similar.

En el corazón fetal se utiliza la glucosa y el lactato como sustratos energéticos. El metabolismo de estos sustratos se ve favorecido debido a que el feto se encuentra en condiciones relativas de hipoxia, existe una baja cantidad de AG circulantes y en el tejido cardíaco existe una buena cantidad de glucógeno almacenada, pero cuenta con un menor contenido mitocondrial. A su vez, la concentración elevada de lactato es capaz de inhibir la oxidación de

los AG. En el período posnatal se produce un cambio, de manera que los ácidos grasos se convierten en el principal sustrato energético del corazón (4).

La glucosa ingresa a las células a través de las proteínas transportadoras llamadas GLUTs (por sus siglas en inglés), específicamente GLUT1 y GLUT4 se expresan de manera importante en el corazón. Aunque GLUT4 es dependiente de la acción de la insulina, éste también se regula por la contracción cardíaca (12). En condiciones normales, GLUT4 se encuentra almacenado dentro de vesículas intracelulares; pero al momento de recibir un estímulo (como el estrés energético que ocurre durante la isquemia), GLUT4 se transloca a la membrana plasmática para favorecer la entrada de glucosa a la célula cardíaca y de esta manera se protege al tejido cardíaco (19). Además de la acción

de la insulina, factores como la actividad metabólica, el ejercicio, el estrés y cambios en la disponibilidad de los sustratos, afectan el transporte de glucosa en las células cardíacas. Se ha reportado que fármacos que mejoran la sensibilidad a la insulina, como la metformina, son capaces de aumentar la captación de glucosa al activar a la enzima cinasa dependiente de AMP (AMPK, por sus siglas en inglés) favoreciendo la translocación de los GLUTs.

El metabolismo de la glucosa (glucólisis) se lleva a cabo en condiciones de isquemia y es la vía metabólica que aporta pequeñas cantidades de ATP, pero está bien regulada a través de sus enzimas limitantes (Figura 1). La hexocinasa, que cataliza la fosforilación de la glucosa en el primer paso de la glucólisis, puede encontrarse en dos isoformas: la tipo I predomina en la etapa fetal, mientras que la tipo II se encuentra en el corazón adulto. La fosfofructocinasa (PFK), enzima clave de la glucólisis que se encarga de la fosforilación de la fructosa-6-fosfato a fructosa 1-6 difosfato, se estimula durante la isquemia miocárdica debido a la disminución de las concentraciones de citrato y ATP, sus principales inhibidores. Finalmente, la acción de la piruvato cinasa, enzima que cataliza el último paso de la glucólisis, se ve estimulada por la fructosa 1-6 difosfato e inhibida cuando hay altos niveles de ATP (20).

La mayor parte del piruvato producido en la glucólisis, se convierte a acetil-CoA por la piruvato deshidrogenasa, pero puede metabolizarse a lactato, el cual también es un sustrato energético (en condiciones de isquemia), es precursor de la gluconeogénesis e incluso puede actuar como señal para regular procesos de diferenciación celular y remodelación cardíaca (21).

El corazón absorbe el lactato de la sangre a través de un transportador de aniones monocarboxílicos (MCT4, por sus siglas en inglés) y luego lo convierte en piruvato a través de la lactato deshidrogenasa (LDH). Algunos autores han reportado que el incremento en el lactato puede ser el causante del dolor que refieren los pacientes con isquemia miocárdica, ya sea de forma directa porque este metabolito puede activar a los nociceptores o debido al descenso en el pH por la formación de ácido láctico. Sin embargo, existen algunos otros mediadores químicos implicados en el estímulo doloroso como son: citocinas proinflamatorias, histamina, adenosina y iones potasio, que actúan también a través de la activación de los canales iónicos sensibles a la concentración extracelular de protones (ASIC-3, por sus siglas en inglés) (22).

Por otro lado, los cuerpos cetónicos se reconocen como un importante sustrato energético del corazón; estos metabolitos se producen en el hígado a partir

de la acetil-CoA. El  $\beta$ -hidroxibutirato es el cuerpo cetónico principal que se oxida en el corazón, especialmente en situaciones donde sus concentraciones plasmáticas están incrementadas como durante el ejercicio, el ayuno y en la insuficiencia cardíaca (Figura 1). En este sentido, existen varios estudios clínicos en los que se ha propuesto que los niveles plasmáticos de los cuerpos cetónicos son un buen indicador de la gravedad de la insuficiencia cardíaca e incluso se asocian con la tasa de mortalidad en ECV (23).

### **Estrategias terapéuticas en la enfermedad cardíaca**

El tratamiento para la insuficiencia cardíaca ya sea como resultado de un padecimiento crónico o cuando ocurre un evento agudo, se ha abordado desde varios puntos de vista. Específicamente, el manejo habitual del paciente con un proceso isquémico incluye la administración de beta bloqueadores, nitratos y antagonistas de calcio; cuyo objetivo final es disminuir el área del infarto y/o preservar la función cardíaca. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que estos tratamientos pueden no tener los efectos terapéuticos deseables, incluso en algunas situaciones, estos fármacos hemodinámicos pueden ser perjudiciales (24,25).

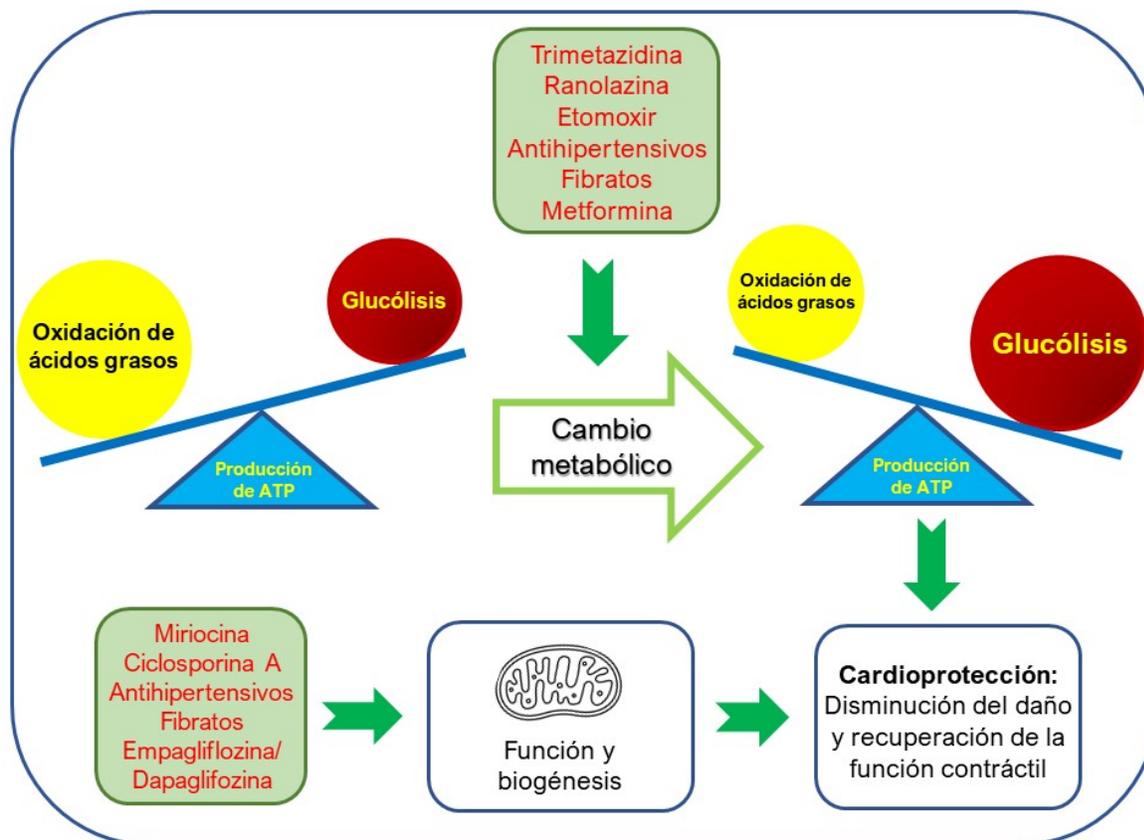
Es por ello que se han propuesto nuevas opciones terapéuticas sustentadas en el conocimiento de las bases fisiopatológicas de la enfermedad miocárdica. Los nuevos agentes farmacológicos están dirigidos a otros blancos moleculares que participan en procesos como: el cambio en la utilización de sustratos (regulación metabólica), modificaciones en la dinámica y función mitocondrial, y de la síntesis de ceramidas (Figura 2). A continuación, se describen algunos de los fármacos y su mecanismo de acción; el resumen de éstos se muestra en la Tabla 1.

#### *Fármacos que optimizan el metabolismo cardíaco*

Durante la isquemia miocárdica, el desabasto de nutrientes y oxígeno afecta, en primera instancia, a la respiración aerobia mitocondrial ya que el oxígeno es el aceptor final de la cadena transportadora de electrones. La interrupción de la actividad de la cadena respiratoria limita el bombeo de protones por los complejos I, III y IV desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembranal, lo que conduce a la disminución en la generación de ATP y obliga a las células cardíacas a obtener energía por otras vías. En esta situación, se disminuye la actividad de los procesos celulares que consumen energía y se activa el metabolismo

anaerobio (glucólisis); aunque el piruvato producido se transforma en lactato, su acumulación causa el descenso del pH intracelular y contribuye al daño al miocardio. Por lo anterior, en un estado de emergencia, la administración de fármacos que

favorezcan el cambio metabólico hacia el consumo de glucosa asegura la producción de ATP necesaria para mantener provisionalmente el funcionamiento cardíaco.



**Figura 2.** Fármacos que regulan el metabolismo energético para el desarrollo de la cardioprotección.

La trimetazidina es un fármaco antianginoso perteneciente al grupo de las piperazinas, que ocasiona cambios metabólicos intracelulares y se utiliza para controlar la isquemia miocárdica. Se ha reportado que esta droga también es eficaz en el tratamiento del infarto agudo, la insuficiencia cardíaca congestiva y en cirugías de revascularización (26). La trimetazidina inhibe a la 3-cetoacil CoA tiolasa, enzima encargada de catabolizar los ácidos grasos en acetil Co-A para su ingreso en el ciclo de Krebs; lo que conduce a que el miocardio prefiera utilizar glucosa como combustible (27). Algunos otros efectos que hacen de la trimetazidina un buen agente cardioprotector son: conserva la estructura y función mitocondrial, mantiene la homeostasis de calcio, mejora la capacidad antioxidante y favorece la biosíntesis de fosfolípidos (28-30).

La ranolazina se indica como tratamiento complementario para la angina crónica estable o

angina de pecho o en pacientes que no toleran los medicamentos antianginosos convencionales (nitratos, beta bloqueadores y antagonistas del calcio). Dicha patología se presenta como un dolor intenso en el tórax que empeora con el ejercicio o actividad física intensa y se debe al aporte deficiente de oxígeno al corazón. Si bien el mecanismo de acción exacto de la ranolazina no ha sido dilucidado, se ha descrito que inhibe la corriente tardía de sodio que se traduce en la disminución de la sobrecarga de calcio en las células cardíacas y con lo que mejora la relajación (31). Sin embargo, recientemente los estudios en humanos y modelos animales han mostrado que este fármaco puede inhibir parcialmente la  $\beta$ -oxidación y favorecer la oxidación de la glucosa al activar a la piruvato deshidrogenasa (32). Además, Le y colaboradores en el 2020 demostraron que la ranolazina es capaz de incrementar los niveles de adenosina, un nucleósido

endógeno de vida media corta, cuyos efectos antiarrítmicos son mediados por sus receptores específicos conocidos como: A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> y A<sub>3</sub>, y que están ligados a proteínas G (33).

Para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca se utiliza el etomoxir, una molécula que inhibe irreversiblemente a la carnitina palmitoil transferasa 1 (CPT-1), enzima encargada del ingreso de los AG a la mitocondria; de esta manera, el fármaco ocasiona un cambio metabólico en el corazón al detener la oxidación de los AG y favorecer la oxidación de la glucosa (34). Existen reportes adicionales que demuestran que el etomoxir mejora el rendimiento cardíaco al incrementar la expresión y actividad de la ATPasa de calcio presente en el retículo sarcoplásmico (bomba SERCA) (35). Compuestos como la perhexilina, que también son inhibidores de la CPT-1, se han propuesto como posibles agentes anticancerosos, pero debido a sus fuertes efectos hepatotóxicos y neurotóxicos no se utilizan tan comúnmente (36,37).

#### *Fármacos que modifican el metabolismo de las ceramidas*

Dentro del grupo de las ceramidas (aproximadamente existen 4000 tipos), se ha identificado que algunas de éstas contribuyen a la disfunción cardíaca, mientras que otras ejercen un papel cardioprotector (17). Investigaciones en modelos animales muestran que la inhibición de algunas enzimas que participan en la síntesis de ceramidas, puede ser una estrategia terapéutica para el control de la aterosclerosis o enfermedad valvular (38). Existen algunos fármacos que inhiben la actividad de la serina palmitoil transferasa (SPT), enzima involucrada en el primer paso de la síntesis de esfingosina; la miriocina, un antibiótico derivado de *Mycelia sterilia*, es un ejemplo de este tipo de fármacos que han demostrado ser efectivos en el tratamiento del daño por isquemia y reperfusión al mejorar la producción de energía, disminuir la inflamación y la remodelación miocárdica (39).

Se ha descrito que los niveles de ceramidas circulantes asociadas a ECV (C16:0 y C18:0) pueden disminuir si incorporamos en la dieta el consumo de antocianinas; una clase de flavonoides con actividad antioxidante. Por otro lado, algunos estudios están dirigidos a disminuir los niveles de las ceramidas del tipo C16 y C24 que se asocian con la insuficiencia cardíaca; sin embargo, debido a que las ceramidas también desempeñan funciones importantes en el sistema nervioso e inmune, no existen evidencias de estudios clínicos hasta el

momento (17). Los fármacos que se utilizan para disminuir los niveles de colesterol en sangre, como la rosuvastatina, también atenúan la síntesis de ceramidas (40).

La amitriptilina es un analgésico y antidepresivo que actúa bloqueando la recaptura de noradrenalina y serotonina en las terminaciones nerviosas. A esta molécula también se le atribuyen efectos cardiovasculares benéficos pues es un inhibidor de la esfingomielinasa ácida y altera la síntesis de ceramidas. Esta inhibición se asocia a la disminución del proceso inflamatorio y de la disfunción endotelial, fenómenos que ocurren en la aterosclerosis (41).

#### *Las mitocondrias como blanco farmacológico*

Numerosos estudios han demostrado que las enfermedades cardíacas están asociadas con alteraciones en los procesos de dinámica mitocondrial, así como con la disfunción de este organelo (7). Estas modificaciones ocasionan el incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno y la disminución en la fosforilación oxidativa, que finalmente promueven la muerte celular de los cardiomiocitos. Es por ello que algunos autores proponen que el uso de intermediarios metabólicos (como coenzimas, cofactores y vitaminas), puede tener efecto benéfico al favorecer la producción de ATP. Del mismo modo, el uso de algunos agentes antioxidantes, como la coenzima Q10 y el  $\beta$ -caroteno, han demostrado ser útiles en el tratamiento de algunas cardiopatías (42).

Estudios experimentales muestran que agentes inmunosupresores como la ciclosporina A son capaces de disminuir el daño causado por isquemia-reperfusión al inhibir el poro de la transición de la permeabilidad (PTP), mantener la expresión de la citocromo c oxidasa y la síntesis de ATP (43,44). De forma preliminar, se han estudiado algunos tratamientos potenciales para la enfermedad miocárdica teniendo como blanco: elementos que participan en la activación de factores reguladores de los procesos de transcripción y replicación del ADN mitocondrial, en la biogénesis mitocondrial, en la restauración funcional de los complejos mitocondriales, o en la dinámica fosfolipídica (6). Sin embargo, aún se necesita explorar más acerca de los fármacos útiles para el tratamiento de enfermedades cardíacas y su efecto en la estructura mitocondrial.

**Tabla I. Fármacos y su mecanismo de acción cardioprotector.**

Fármaco	Usos	Blancos farmacológicos	Efectos fisiológicos
<b>Trimetazidina</b>	Antianginoso	3-cetoacil CoA	↓ $\beta$ -oxidación ↑ Glucólisis
<b>Ranolazina</b>	Antianginoso	Piruvato DH  5' nucleotidasa	↑ GLUT-1 ↑ Glucólisis ↓ $\beta$ -oxidación  ↑ Adenosina
<b>Etomoxir</b>	Tratamiento de insuficiencia cardíaca	CPT-1 Bomba SERCA	↑ Glucólisis ↓ $\beta$ -oxidación ↑ Rendimiento cardíaco
<b>Miriocina</b>	Antibiótico	SPT PPAR- $\alpha$	↓ Remodelación ↓ Inflamación ↑ Producción de energía
<b>Amitriptilina</b>	Analgésico/antidepresivo	Esfingomielinasa	↓ Inflamación ↑ Función endotelial
<b>Ciclosporina A</b>	Inmunosupresor	PTP	↑ Funcionamiento mitocondrial
<b>iECAs ARA</b>	Antihipertensivos	ECA Receptor AT <sub>1</sub>	↑ Sensibilidad a la insulina ↓ Estrés oxidativo ↑ Funcionamiento mitocondrial
<b>Fibratos</b>	Hipolipemiente	PPAR- $\alpha$	↑ Sensibilidad a la insulina ↓ Inflamación ↓ Remodelación ↓ Estrés oxidativo ↑ Biogénesis mitocondrial
<b>Metformina</b>	Hipoglucemiante	AMPK	↑ Expresión de GLUT1 y 4 ↑ Oxidación de glucosa ↑ Oxidación de AG ↓ Apoptosis
<b>Empagliflozina y dapagliflozina</b>	Hipoglucemiantes	SGLT2	↑ Oxidación de AG y cuerpos cetónicos

↑: significa incremento o activación; ↓: indica disminución o inhibición

#### *Agentes antihipertensivos, hipolipemiantes e hipoglucemiantes como cardioprotectores*

Los inhibidores del sistema renina angiotensina/aldosterona (SRAA) constituyen el grupo de fármacos más utilizados en el tratamiento de la hipertensión e insuficiencia cardíaca congestiva; en este grupo se incluyen a: los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (iECAs), los antagonistas de los receptores AT<sub>1</sub> de angiotensina II (ARA) y los

inhibidores de la renina. Estos fármacos ejercen su efecto antihipertensivo al regular la producción o bloquear la acción de la angiotensina II, una hormona peptídica versátil implicada en la función renal, vascular y en el metabolismo energético cardíaco. En este contexto, evidencias científicas describen el efecto cardioprotector que tienen los iECAs o ARA al mejorar el metabolismo oxidativo, disminuir el daño mitocondrial y favorecer el ingreso de la glucosa a las células cardíacas (45).

Los fibratos son la clase de fármacos recomendada para el control de la dislipidemia, pues reducen los niveles de triglicéridos y aumentan discretamente los niveles de las lipoproteínas de alta densidad plasmáticas (HDL, por sus siglas en inglés) (5-15%); este efecto hipolipemiente se lleva a cabo a través de su unión y consecuente activación de PPAR- $\alpha$  (46). Sin embargo, algunos autores han reportado que los fibratos son un tratamiento eficaz para disminuir el daño miocárdico en varios modelos experimentales al regular procesos como: inflamación, remodelación tisular y la biogénesis mitocondrial. Además, la activación de PPAR- $\alpha$  también modula la actividad del sistema renina-angiotensina miocárdica y restablece la vía de señalización de la insulina (47). Debido a que la administración de los fibratos se utiliza para tratar la dislipidemia en pacientes que presentan obesidad o síndrome metabólico, este tipo de tratamiento a largo plazo podría ayudar a proteger al corazón en caso de que se presente un evento isquémico.

Recientemente se han adquirido nuevos conocimientos sobre el efecto cardioprotector de los fármacos hipoglucemiantes. La metformina es el fármaco de primera elección para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 y la resistencia a la insulina, y sus efectos benéficos a nivel cardiovascular han sido respaldados por múltiples estudios clínicos. Este fármaco ejerce su efecto en el miocardio activando a la AMPK. La estimulación de esta enzima favorece la expresión y translocación de los GLUTs 1 y 4, aumenta la oxidación de la glucosa, protege a las mitocondrias, favorece la oxidación de los AG por incremento en la expresión

de la CPT-1 y disminuye la apoptosis de los cardiomiocitos (48,49).

Por otro lado, diferentes ensayos clínicos han demostrado que los inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2, por sus siglas en inglés) prescritos para el tratamiento de la diabetes mellitus 2 (por su acción glucosúrica), también tienen un efecto benéfico importante en pacientes con insuficiencia cardíaca (50). Se ha reportado que la empagliflozina y dapagliflozina, ejemplos de este grupo de fármacos, actúan como reguladores metabólicos cardíacos al incrementar la concentración de AG, favorecen la  $\beta$ -oxidación y el metabolismo de cuerpos cetónicos en el miocardio (51).

## Conclusión

El conocimiento de los procesos celulares y moleculares que ocurren en el corazón pone en evidencia la flexibilidad que tiene este órgano para adaptarse a diferentes condiciones. En una situación de emergencia, como la que se presenta durante la isquemia, se produce un cambio metabólico, al disminuir la oxidación de los AG y favorecer la glucólisis; esta modificación promueve la obtención de energía que sirve para mantener la función contráctil. Por esta razón, el empleo de agentes farmacológicos que benefician este cambio metabólico es una opción terapéutica eficaz que incrementa la capacidad funcional cardíaca y la prognosis de pacientes con ECV.

## Referencias

1. World Health Statistics 2023. Disponible en: <https://www.who.int/data/stories/world-health-statistics-2023-a-visual-summary>
2. INEGI (2024). Nota técnica sobre las estadísticas de defunciones registradas 2022. Disponible en [https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2024/EDR/EDR2023\\_En-Jn.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2024/EDR/EDR2023_En-Jn.pdf)
3. Castro, P., Gabrielli, L., Verdejo, H., Greig, D., Mellado, R., Concepción, R., Sepúlveda, L., Vukasovic, J.L., García, L., Pizarro, M., Pívet, D., Carrillo, C., Tapia, F., Navarro, M., Troncoso, R., Baraona, F., Llevaneras, S., Hernández, C., Godoy, I., Jalil, J.E., Quintana, J.C., Orellana, P. & Chiong, M., Lavandero, S. (2010). Metabolismo energético del corazón y sus proyecciones en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca [Heart energy metabolism and its role in the treatment of heart failure]. *Rev. Med. Chil.* 138(8), 1028-39.
4. Carbó, R. & Guarner, V. (2003). Cambios en el metabolismo cardíaco y su posible aprovechamiento en la terapéutica (Parte I) [Changes in heart metabolism and their possible usefulness in therapy (Part I)]. *Arch. Cardiol. Mex.* 73(3), 218-29.
5. Marín-García, J., Akhmedov, A. & Moe, G.W. (2013). Introduction to mitochondria in the heart. *Mitochondria and their role in cardiovascular disease*, vol. 1, pp. 3-9.
6. Cañas M. & Franco-Sierra, N. D. (2017). Rol de la función mitocondrial en el corazón y sus implicaciones en disfunciones cardíacas. *Ingeniería y ciencia*, 13(26), 233-268.
7. Kuzmicic, J., Del Campo, A., López-Crisosto, C., Morales, P. E., Pennanen, C., Bravo-Sagua,

- R., Hechenleitner, J., Zepeda, R., Castro, P. F., Verdejo, H. E., Parra, V., Chiong, M. & Lavandero, S. (2011). Dinámica mitocondrial: un potencial nuevo blanco terapéutico para la insuficiencia cardíaca [Mitochondrial dynamics: a potential new therapeutic target for heart failure]. *Rev. Esp. Cardiol.* 64(10), 916-23.
8. Martín-Fernández, B., & Gredilla, R. (2017). Mitochondrial oxidative stress and cardiac ageing. *Clin. Investig. Arterioscler.* 30(2), 74-83.
  9. Beer, M., Seyfarth, T., Sandstede, J., Landschütz, W., Lipke, C., Köstler, H., von Kienlin, M., Harre, K., Hahn, D. & Neubauer, S. (2002). Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with (31)P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 40(7), 1267-74.
  10. Opie, L. H. (1979). Myocardial metabolism and the impact of Richard Bing. *Mol. Cell. Cardiol.* 11(10), 925-29.
  11. Taegtmeier, H. (2021). Richard J. Bing, MD (1909-2010). *Cardiology* 146(6), 801-3.
  12. Lopaschuk, G. D., Karwi, Q. G., Tian, R., Wende, A. R. & Abel, E. D. (2021). Cardiac energy metabolism in heart failure. *Circ. Res.* 128(10), 1487-1513.
  13. Lopaschuk, G.D., Ussher, J.R., Folmes, C.D., Jaswal, J.S. & Stanley, W.C. (2010). Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol. Rev.* 90(1), 207-58.
  14. Wende, A. R. & Abel, E. D. (2010). Lipotoxicity in the heart. *Biochim. Biophys. Acta.* 1801(3), 311-19.
  15. Gulbins, E. & Li, P.L. (2006). Physiological and pathophysiological aspects of ceramide. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 290(1), R11-26.
  16. Kurz, J., Parnham, M.J., Geisslinger, G. & Schiffmann, S. (2019). Ceramides as novel disease biomarkers. *Trends. Mol. Med.* 25(1), 20-32.
  17. Bosak, K., Sauer, A. & Meeusen, J. (2024). Clinical Update: Ceramides as novel biomarkers of cardiovascular disease risk. *The Journal for Nurse Practitioners* 20, 104838.
  18. Lee, W. S. & Kim, J. (2015). Peroxisome proliferator-activated receptors and the heart: lessons from the past and future directions. *PPAR Res.* 2015, 271983.
  19. Young, L. H., Coven, D. L. & Russell, R. R. 3rd. (2000). Cellular and molecular regulation of cardiac glucose transport. *J. Nucl. Cardiol.* 7(3), 267-76.
  20. Luna-Ortiz, P., Rojas-Pérez, E., Micheli, A., Flores, P. & Martínez-Rosas, M. (2012). Aplicación clínica de la terapia metabólica en la cardiopatía isquémica. *Rev. Mex. Anest.* 35(4), 255-74.
  21. Dai, C., Li, Q., May, H. I., Li, C., Zhang, G., Sharma, G., Sherry, A. D., Malloy, C. R., Khemtong, C., Zhang, Y., Deng, Y., Gillette, T. G., Xu, J., Scadden, D. T. & Wang, Z. V. (2020). Lactate dehydrogenase a governs cardiac hypertrophic growth in response to hemodynamic stress. *Cell Rep.* 32(9), 108087.
  22. Abd El-Aziz, T. A., Hussein, Y. M., Elsebaie, M. H., Mohammad, H. A. & Mohamed, R. H. (2015). A new metabolic mechanism for absence of pain in patients with silent myocardial ischemia. *Arch. Med. Res.* 46(2), 127-32.
  23. Oyetoro, R. O., Conners, K. M., Joo, J., Turecamo, S., Sampson, M., Wolska, A., Remaley, A. T., Otvos, J. D., Connelly, M. A., Larson, N. B., Bielinski, S. J., Hashemian, M., Shearer, J. J. & Roger, V. L. (2024). Circulating ketone bodies and mortality in heart failure: a community cohort study. *Front. Cardiovasc. Med.* 11, 1293901.
  24. Di Somma, S. & Magrini, L. (2015) Tratamiento farmacológico en la insuficiencia cardíaca aguda. *Revista Española de Cardiología*, 68(8), 706-13.
  25. Sociedad Interamericana de Cardiología. Disponible en: <https://www.siacardio.com/editoriales/insuficiencia-cardiaca/farmacos-que-pueden-exacerbar-la-insuficiencia-cardiaca/>
  26. Rivera Pérez, R., Suárez Nadal, E. D., Flores Martínez, R., Guzmán Cruz, J., d'Hyver De Las Deses De Juillac & Wiechers, C. (2008). Trimetazidina: Un inhibidor de la oxidación de ácidos grasos. *Rev. Fac. Med. UNAM*, 51(6), 245-48.
  27. Kantor, P. F., Lucien, A., Kozak, R. & Lopaschuk, G. D. (2000). The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ. Res.* 86, 580-8.
  28. Sentex, E., Héliers-Toussaint, C., Rousseau, D., Lucien, A., Ferrary, E. & Grynberg, A. (2001). Influence of trimetazidine on the synthesis of complex lipids in the heart and other target organs. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 15(4), 255-64.
  29. Marzilli, M., Vinereanu, D., Lopaschuk, G., Chen, Y., Dalal, J. J., Danchin, N., Etriby, E., Ferrari, R., Gowdak, L. H., Lopatin, Y., Milicic, D., Parkhomenko, A., Pinto, F., Ponikowski, P., Seferovic, P. & Rosano, G. M. C. (2019).

- Trimetazidine in cardiovascular medicine. *Int. J. Cardiol.* 293, 39-44.
30. Farzaei, M. H., Ramezani-Aliakbari, F., Ramezani-Aliakbari, M., Zarei, M., Komaki, A., Shahidi, S., Sarihi, A. & Salehi, I. (2023). Regulatory effects of trimetazidine in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 396(8), 1633-46.
  31. Cacciapuoti, F. (2016). Ranolazine and Ivabradine: two different modalities to act against ischemic heart disease. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* 10(2), 98-102.
  32. Han, Q. J., Forfia, P., Vaidya, A., Ramani, G., deKemp, R. A., Mach, R. H., Mankoff, D. A., Bravo, P. E., DiCarli, M., Chan, S. Y., Waxman, A. B. & Han, Y. (2023). Effects of ranolazine on right ventricular function, fluid dynamics, and metabolism in patients with precapillary pulmonary hypertension: insights from a longitudinal, randomized, double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Front. Cardiovasc. Med.* 10, 1118796.
  33. Le, D. E., Davis, C. M., Wei, K., Zhao, Y., Cao, Z., Nugent, M., Scott, K. L. L., Liu, L., Nagarajan, S., Alkayed, N. J. & Kaul, S. (2020). Ranolazine may exert its beneficial effects by increasing myocardial adenosine levels. *Am J Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 318(1), H189-H202.
  34. Holubarsch, C. J. F., Rohrbach, M., Karrasch, M., Boehm, E., Polonski, L., Ponikowski, P. & Rhein, S. (2007). A double-blind randomised, multicentre clinical trial to evaluate the efficacy and safety of two doses of etomoxir in comparison with placebo in patients with moderate congestive heart failure: The ERGO (etomoxir for the recovery of glucose oxidation) study. *Clin. Sci.* 113(4), 205-12.
  35. Pasqua, T., Rocca, C., Giglio, A., Angelone, T. (2021). Cardiometabolism as an interlocking puzzle between the healthy and diseased heart: new frontiers in therapeutic applications. *J. Clin. Med.* 10, 721.
  36. Ananthkrishna, R., Lee, S. L., Foote, J., Sallustio, B. C., Binda, G., Mangoni, A. A., Woodman, R., Semsarian, C., Horowitz, J. D. & Selvanayagam, J. B. (2021). Randomized controlled trial of perhexiline on regression of left ventricular hypertrophy in patients with symptomatic hypertrophic cardiomyopathy (RESOLVE-HCM trial). *Am. Heart. J.* 240, 101-13.
  37. Dhakal, B., Tomita, Y., Drew, P., Price, T., Maddern, G., Smith, E. & Fenix, K. (2023). Perhexiline: Old Drug, New Tricks? A summary of its anti-cancer effects. *Molecules*, 28, 3624.
  38. Park, T. S., Rosebury, W., Kindt, E. K., Kowala, M. C. & Panek, R. L. (2008). Serine palmitoyltransferase inhibitor myriocin induces the regression of atherosclerotic plaques in hyperlipidemic ApoE-deficient mice. *Pharmacol. Res.* 58(1), 45-51.
  39. Bonezzi, F., Piccoli, M., Dei Cas, M., Paroni, R., Mingione, A., Monasky, M. M., Caretti, A., Riganti, C., Ghidoni, R., Pappone, C., Anastasia, L. & Signorelli, P. (2019). Sphingolipid synthesis inhibition by myriocin administration enhances lipid consumption and ameliorates lipid response to myocardial ischemia reperfusion injury. *Front. Physiol.* 10, 986.
  40. Zietzer, A., Düsing, P., Reese, L., Nickenig, G. & Jansen, F. (2022). Ceramide metabolism in cardiovascular disease: A network with high therapeutic potential. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 42(10), 1220-8.
  41. Ya'ar Bar, S., Pintel, N., Abd Alghne, H., Khattib, H. & Avni, D. (2023). The therapeutic potential of sphingolipids for cardiovascular diseases. *Front. Cardiovasc. Med.* 10, 1224743.
  42. Marín-García, J. & Goldenthal, M. J. (2002). La mitocondria y el corazón [The mitochondrial organelle and the heart]. *Rev. Esp. Cardiol.* 55(12), 1293-310.
  43. Szewczyk, A. & Wojtczak, L. (2002). Mitochondria as a pharmacological target. *Pharmacol. Rev.* 54(1), 101-27.
  44. Correale, M., Tricarico, L., Fortunato, M., Mazzeo, P., Nodari, S., Di Biase, M. & Brunetti, N. D. (2021). New targets in heart failure drug therapy. *Front. Cardiovasc. Med.* 8, 665797.
  45. Fragasso, G., Margonato, A., Spoladore, R. & Lopaschuk, G.D. (2019). Metabolic effects of cardiovascular drugs. *Trends Cardiovasc. Med.* 29(3), 176-87.
  46. Carley, A. N. & Lewandowski, E. D. (2016). Triacylglycerol turnover in the failing heart. *Biochim Biophys Acta.* 1861(10), 1492-99.
  47. Sánchez-Aguilar, M., Ibarra-Lara, L., Cano-Martínez, A., Soria-Castro, E., Castrejón-Téllez, V., Pavón, N., Osorio-Yáñez, C., Díaz-Díaz, E. & Rubio-Ruiz, M. E. (2023). PPAR alpha activation by clofibrate alleviates ischemia/reperfusion injury in metabolic syndrome rats by decreasing cardiac inflammation and remodeling and by regulating the atrial natriuretic peptide compensatory response. *Int. J. Mol. Sci.* 24(6), 5321.
  48. Zaha, V. G., Qi, D., Su, K. N., Palmeri, M., Lee, H. Y., Hu, X., Wu, X., Shulman, G. I., Rabinovitch, P. S., Russell, R. R. 3<sup>rd</sup> & Young,

- L. H. (2016). AMPK is critical for mitochondrial function during reperfusion after myocardial ischemia. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 91, 104-13.
49. Scherthaner, G., Brand, K. & Bailey, C. J. (2022). Metformin and the heart: Update on mechanisms of cardiovascular protection with special reference to comorbid type 2 diabetes and heart failure. *Metabolism*, 130, 155160.
50. Requena-Ibáñez, J. A., Santos-Gallego, C. G. & Badimón, J. J. (2022). Los iSGLT2 en la insuficiencia cardíaca. ¿Sus beneficios pueden extenderse a todo el espectro de la fracción de eyección? *Rev. Es. Card.* 75(10), 834-42.
51. Vargas-Delgado, A. P., Arteaga Herrera, E., Tumbaco Mite, C., Delgado Cedenó, P., Van Loon, M. C. & Badimón, J. J. (2023). Renal and Cardiovascular Metabolic Impact Caused by Ketogenesis of the SGLT2 Inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 24(4), 4144.



**Dra. María Esther Rubio Ruiz**  
**ORCID: 0000-0002-8844-2078**

Es egresada de la Escuela de Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y obtuvo el título con el honor *Cum laude*. Cursó la Maestría en Ciencias en la Facultad de Ciencias de la UNAM y posteriormente el Doctorado en Ciencias Biomédicas en la misma Institución. Se ha desempeñado como profesor de asignatura en la Facultad de Ciencias, en la Facultad de Medicina y

actualmente en el posgrado de Ciencias Médicas Odontológicas y de la Salud de la UNAM.

Desde hace 20 años se desempeña como Investigadora en Ciencias Médicas del Departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” desarrollando las siguientes líneas de investigación: fisiopatología del síndrome metabólico y su tratamiento con compuestos naturales, fisiopatología cardiovascular y papel cardioprotector del fenofibrato, y papel del sistema renina-angiotensina en enfermedades cardiometabólicas.

Ha presentado trabajos en diferentes congresos nacionales e internacionales y ha impartido conferencias en foros de investigación y divulgación científica. Es autora de 46 trabajos de investigación publicados en revistas arbitradas y de 8 capítulos de libro especializados sobre temas cardiovasculares. Cuenta con 1138 citas registradas.

Ha participado en la formación de recursos humanos al dirigir tesis de alumnos de licenciatura y maestría y como miembro del comité tutorial de alumnos de maestría y doctorado. Ha sido evaluadora de proyectos de investigación tanto del CONAHCYT como de la Universidad de Guadalajara. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores, nivel 2.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# El tejido adiposo: Más allá del almacenamiento de energía

## Adipose tissue: Beyond energy storage

Juárez-Rojas, Juan Gabriel<sup>1</sup>  ; Cervantes-Pérez, Luz Graciela<sup>1</sup>;  
Torre-Villalvazo, Iván<sup>2</sup>.

1. Departamento de Farmacología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.
2. Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

✉ Juan Badiano 1, Sección XVI, C.P. 14080, Del. Tlalpan, Ciudad de México, México. Tel. +52 (55) 55732911, Ext. 25603; Email: [gaboynk2@gmail.com](mailto:gaboynk2@gmail.com).

Editor responsable: María Magdalena Vilchis Landeros  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.09>

Recibido: 14 de febrero de 2024  
Revisado: 28 de mayo de 2024  
Aceptado: 29 de mayo de 2024

### Resumen

Aunque los avances tecnológicos y médicos han duplicado la esperanza de vida de las personas, en la actualidad estamos observando un declive en países en donde el estilo de vida se caracteriza por actividad física reducida y hábitos dietéticos inadecuados. Lo anterior es causado por el incremento sostenido en la prevalencia de enfermedades crónicas degenerativas, asociadas al sobrepeso y obesidad. Sin embargo, no todas las personas con obesidad presentan alteraciones metabólicas e incluso hay personas normopeso con enfermedades asociadas a la obesidad. Además de su función como almacén de energía, el tejido adiposo participa activamente en la regulación del metabolismo energético, mediante la liberación de hormonas y citocinas llamadas adipocinas. Estas adipocinas también modulan la actividad de las células del sistema inmunitario, regulando la magnitud, duración y resolución de la respuesta inmune. Debido a esto, se ha sugerido que los fenotipos de adiposidad metabólicamente no sana son causados principalmente por la disfunción de este tejido y su impacto negativo sobre otros órganos, pero no necesariamente por su masa total. Por lo anterior, resulta importante la identificación temprana de la disfunción del tejido adiposo, para

### Abstract

Although technological and medical advances have doubled life expectancy of the world population, we are currently witnessing a decline in countries where the lifestyle is characterized by reduced physical activity and inadequate dietary habits. This is caused by the sustained increase in the prevalence of chronic degenerative diseases derived from overweight and obesity. However, not all obese individuals present metabolic alterations; indeed, there are individuals with normal weight who suffer from diseases associated with obesity. In addition to its function as an energy store, it has been described that adipose tissue (AT) actively participates in the regulation of energy metabolism by releasing hormones and cytokines called adipokines. These adipokines also modulate the activity of immune system cells, regulating the magnitude, duration, and resolution of the immune response. Therefore, it has been suggested that metabolically unhealthy adiposity phenotypes are primarily caused by AT dysfunction and its negative impact on other organs, rather than by total AT content. Hence, the early identification of AT dysfunction is essential to prevent the development of chronic complications. The present work discusses the utility of the dysfunctional

evitar el desarrollo de complicaciones crónicas. El presente trabajo discute la utilidad del índice adiposidad disfuncional o DAI, como una herramienta para la identificación de sujetos con función alterada de este tejido y, por ende, con alto riesgo de desarrollar enfermedades crónicas degenerativas. La implementación del DAI en la práctica clínica cotidiana podría ayudar a crear estrategias que promueven cambios conductuales enfocados a mejorar la calidad de vida de las personas, con objeto de revertir la alarmante carga en gastos y atención de salud que se observa en la actualidad.

adiposity index or DAI, as a tool for identifying subjects with altered AT function and thus, at risk of developing chronic degenerative diseases. The implementation of DAI in everyday clinical practice could help focus strategies promoting behavioral changes focused on improving people's quality of life, with the aim of reversing the alarming burden of healthcare expenses associated with AT dysfunction.

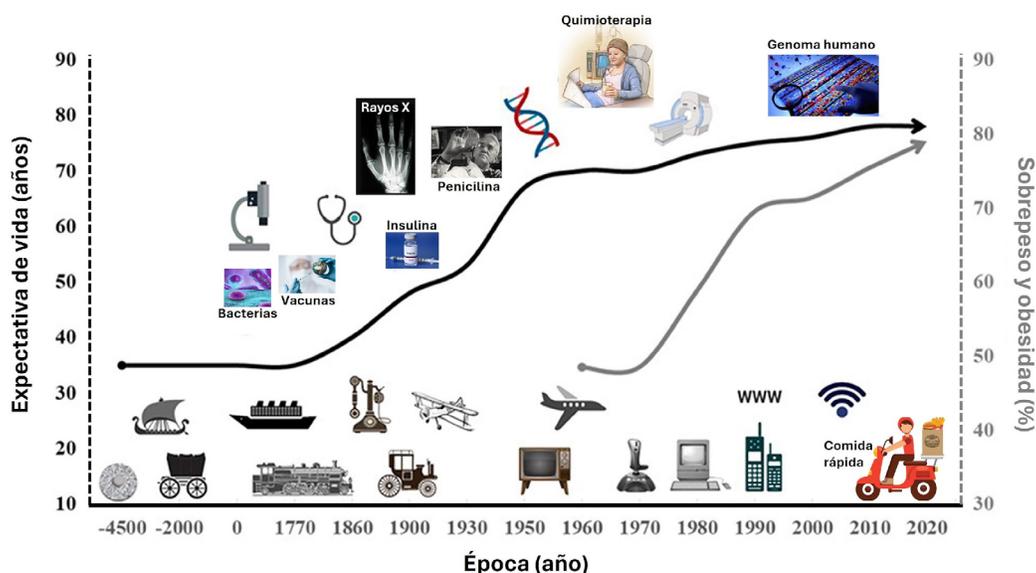
*Palabras clave: Tejido adiposo, inflamación, metabolismo, enfermedades crónicas degenerativas.*

*Keywords: Adipose tissue, inflammation, metabolism, and chronic degenerative diseases.*

## Introducción

Desde el principio de los tiempos, el ser humano ha desarrollado tecnologías para hacer que sus actividades diarias sean más eficientes y con el menor esfuerzo físico posible, lo que ha conducido a una vida cada vez más sedentaria. Los avances tecnológicos han facilitado la disponibilidad de alimento, mientras que los avances médicos han incrementado la

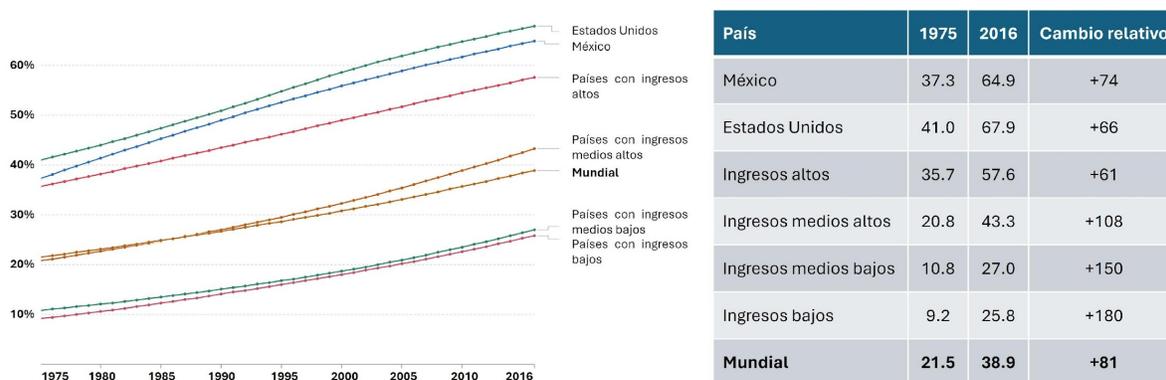
esperanza de vida al reducir la incidencia y mortalidad por enfermedades infecciosas, principalmente (1). A pesar de que la expectativa de vida se duplicó entre los siglos XVIII y XX (Figura 1), en la actualidad estamos observando un declive en países en los que el estilo de vida se caracteriza por actividad física reducida y hábitos dietéticos inadecuados, hecho que se ha evidenciado a partir de la pandemia de COVID-19 (1, 2).



**Figura 1. Representación gráfica del avance científico y tecnológico a través del tiempo, así como el consecuente incremento en la expectativa de vida, el sobrepeso y la obesidad.** Modificado de Front Public Health. 2021;9:655491.

La combinación del comportamiento sedentario y la mala alimentación ha dado lugar al aumento sostenido en las prevalencias de sobrepeso y obesidad durante los últimos 50 años (Figura 1). El sobrepeso y la obesidad en población adulta se definen cuando la relación peso/talla<sup>2</sup> (índice de masa corporal [IMC]) se encuentra entre 25-29.9 kg/m<sup>2</sup> o  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>;

respectivamente. Los sujetos con exceso de peso (EP) se pueden identificar cuando el IMC es  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> y según datos de la Organización Mundial de la Salud, la prevalencia de esta alteración se elevó alarmantemente (81%) entre los años de 1975 a 2016 (Figura 2) (3).



**Figura 2. Porcentaje de sobrepeso y obesidad en países estratificados por nivel de ingresos económicos, del año 1975 al 2016.** Datos tomados de OurWorldData.org/obesity, revisado el 08 de febrero de 2024.

Lo anterior tiene implicaciones graves, ya que el EP es considerado un factor de riesgo que se asocia con la presencia de más de 200 enfermedades (4). La relación entre el EP y las enfermedades crónicas degenerativas como la resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades respiratorias, enfermedad renal, hipertensión, enfermedad del hígado graso asociada a la disfunción metabólica (MAFLD), enfermedades cardiovasculares y cáncer, ha sido ampliamente descrita (5, 6). Derivado de esto, se ha definido al EP como la acumulación excesiva de tejido adiposo (TA) que se asocia con el deterioro gradual del estado de salud. Se estima que para el 2050, las patologías relacionadas con el exceso de adiposidad reducirán el producto interno bruto hasta en un 3.3% dentro de los países pertenecientes a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) (4, 5).

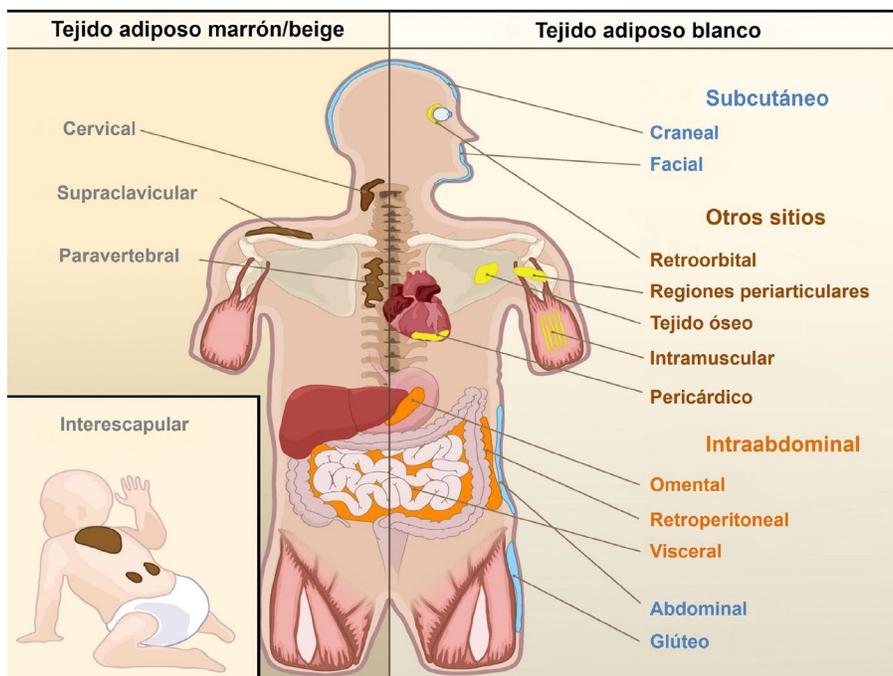
Investigaciones realizadas durante las últimas dos décadas han reportado que el EP es una condición muy heterogénea en términos de su impacto sobre los procesos metabólicos, endócrinos e inflamatorios que afectan la salud. Por ejemplo, para un peso o IMC determinado, algunas personas presentan resistencia a la insulina, dislipidemia o cifras altas de tensión arterial, pero otras personas con peso o IMC equivalentes no presentan estas alteraciones (5, 7, 8). Cabe destacar que estas diferencias se han observado tanto en sujetos con peso normal (IMC 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup>) como en aquellos con EP. Nuestro grupo de investigación aunado a otros, hemos descrito que estos fenotipos definidos como “metabólicamente sanos” o “metabólicamente no sanos”, están más estrechamente relacionados con la funcionalidad del TA y su interacción con otros órganos (9-11).

Aunque el aumento de la adiposidad puede ser causado por la interacción de factores biológicos, genéticos, sociales, psicológicos y ambientales,

estudios recientes sugieren al estilo de vida actual como uno de los principales desencadenantes de la alteración en la funcionalidad del TA, que resulta en el daño a otros órganos y en la subsecuente aparición de enfermedades metabólicas (8, 12-15). Tomando en cuenta la magnitud de esta problemática, el objetivo del presente trabajo es describir los conceptos básicos sobre el origen y la función del TA, así como la interacción de este tejido con otros órganos, para mostrar un panorama integral del impacto negativo que tiene la disfunción del TA sobre la salud. Con este abordaje, los autores consideramos que es necesario redefinir el papel que juega el TA en la aparición y desarrollo de las enfermedades crónicas degenerativas, las cuales ocupan los primeros lugares como causas de mortalidad a nivel mundial.

### Clasificación del tejido adiposo

El TA representa el tejido endócrino más grande del organismo, especialmente en personas con EP (16, 17). Histológicamente, el TA se puede clasificar en tres tipos principales: 1) blanco (TAB), que representa más del 95% de la masa adiposa; 2) marrón (TAM), que representa del 1% al 2% de la grasa y, en humanos, se encuentra en pequeñas cantidades en las regiones cervical, axilar y regiones paraespinales; y 3) TA beige, que representa células intercaladas dentro de TAB, que son capaces de transformarse en adipocitos de color marrón después de la exposición al frío o estimulación adrenérgica (Figura 3). En contraste con los adipocitos del TAB, que tienen una sola vesícula de lípidos, los adipocitos marrones y beige tienen morfología multilocular y una alta densidad mitocondrial, útil para la disipación de energía a través de la respiración mitocondrial desacoplada (18, 19).



**Figura 3. Representación de los principales depósitos de tejido adiposo en humanos.** Modificado de Cell. 2007;131:242-256.

Anatómicamente, el TAB se divide en dos compartimentos discretos: subcutáneo (~80% del TA corporal total) y visceral (~12% del TA corporal total). El compartimento subcutáneo o hipodérmico se localiza principalmente en brazos, tórax, abdomen, glúteos y piernas. En los bebés y niños pequeños existe una capa continua de grasa subcutánea alrededor del cuerpo, el panículo adiposo. Esta capa se adelgaza en algunas áreas en los adultos, pero persiste y se vuelve más gruesa en otras regiones como el cuello, la cara, las palmas de las manos, los brazos, etc. El tejido visceral se localiza en el interior de la cavidad abdominal y se acumula alrededor de órganos como los riñones y las glándulas suprarrenales, en el surco coronario del corazón, en la médula ósea, el mesenterio y el epiplón (20, 21). Los depósitos adiposos difieren en su distribución entre sexos, dando origen a la forma corporal característica de hombres y mujeres que se denominan distribución de grasa androide o ginecoide, respectivamente (21). En los hombres, las regiones principales de acumulación de TA incluyen la nuca, el área subcutánea sobre los músculos deltoides y tríceps, así como la región lumbosacra. Los hombres también se caracterizan por acumular más grasa en el compartimento visceral. Por otro lado, en las mujeres la grasa subcutánea es más abundante en las nalgas, en las regiones anterior y laterales de los muslos y en los senos. Además, en ambos sexos se encuentran extensos depósitos de grasa en el epiplón, los mesenterios y el área

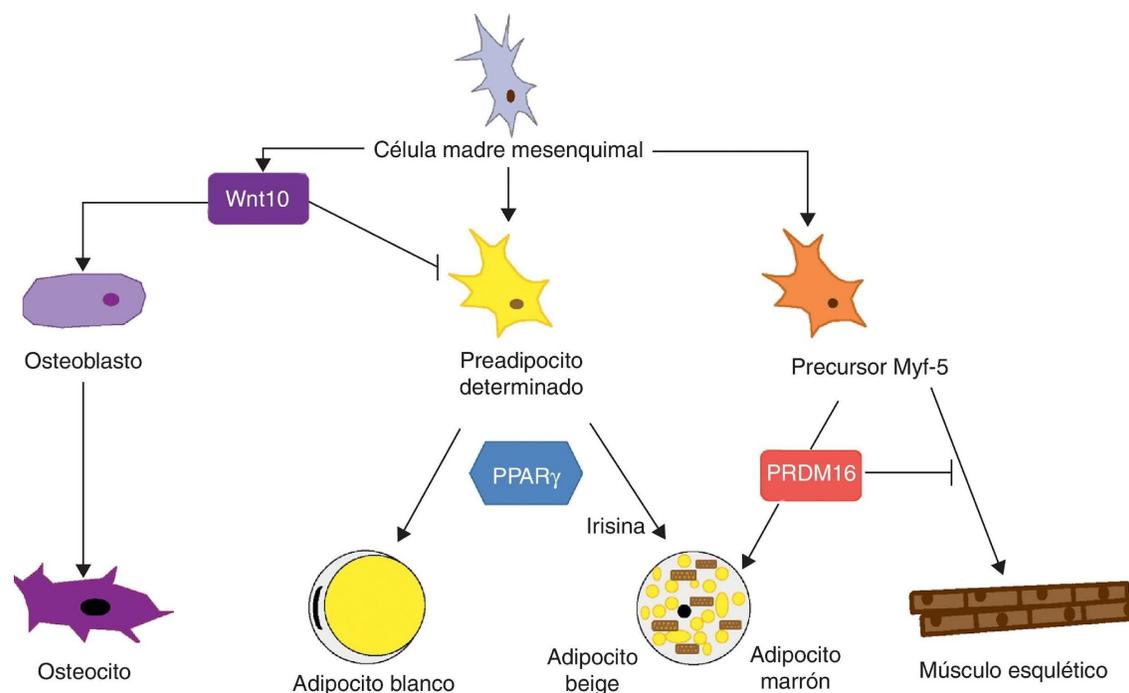
retroperitoneal. La diferencia en la distribución del TA por sexo puede estar relacionada no sólo con las variaciones en la distribución de los receptores hormonales, sino con el metabolismo de las células grasas, con la capacidad individual para generar nuevos adipocitos o con las características ambientales locales específicas, como la innervación y la vascularización del tejido (21). Lo anterior es de vital importancia, ya que a pesar de comprender un menor volumen de la masa grasa corporal total, la acumulación de TAB visceral intraabdominal se asocia con mayor riesgo de presentar enfermedades metabólicas. Por el contrario, la acumulación de TAB subcutáneo ha mostrado tener efectos menos adversos para la salud e incluso se ha propuesto como protector contra el desarrollo de estas alteraciones (22-24). Reportes previos han indicado que los preadipocitos subcutáneos tienen tasas aumentadas de proliferación y de acumulación de lípidos (25, 26), mientras que los de origen visceral tienen mayor tasa de lipólisis y necrosis (27, 28). Estas diferencias pudieran deberse a factores ambientales o a variaciones en la expresión génica (29-31).

### Origen del tejido adiposo

La mayor parte del tejido adiposo se origina del mesodermo. El rastreo de linaje celular, utilizando los genes específicos del mesodermo paraxial, hizo

pensar originalmente que el mesodermo sólo daba lugar a adipocitos marrones y músculo esquelético. Sin embargo, estas células también dan lugar a adipocitos blancos en depósitos retroperitoneales e interescapulares (32, 33). Por el contrario, el mesodermo de la placa lateral contribuye con la generación de depósitos de TA ventral y posterior, incluyendo los depósitos inguinales, mesentéricos y perigonadales. Adicionalmente, se ha reportado que las células progenitoras que expresan el factor de transcripción homeobox-1 relacionado al

emparejamiento (Prx1, por sus siglas en inglés), dan lugar a la generación de adipocitos subcutáneos, pero no viscerales (34, 35). Por otro lado, se ha sugerido que una parte del TAB visceral puede ser derivado de linajes hematopoyéticos de la médula ósea (36). Finalmente, un subconjunto de adipocitos en la cara y el cuello son derivado de progenitores de la cresta neural, aunque con el tiempo estos son reemplazados por adipocitos derivados del mesodermo (Figura 4) (37).



**Figura 4. Origen de los diferentes tipos de adipocitos.** Los adipocitos blancos se originan de preadipocitos provenientes de células madre mesenquimales, mientras que los adipocitos marrones se originan de células musculares que expresan Myf-5. Lo anterior explica el alto contenido de proteína desacoplante 1 (UCP-1) y el papel termoregulador de los adipocitos del tejido adiposo marrón. Adicionalmente, se ha descrito que en presencia de irisina, los preadipocitos del tejido adiposo blanco originan adipocitos ricos en UCP-1 (tipo marrón). Estos últimos se han definido como adipocitos beige, debido a que están dentro del tejido adiposo blanco. En condiciones necesarias, se ha descrito que los adipocitos también pueden ser originados a partir de células osteoblásticas. Modificado de *Endocrinol Nutr.* 2014;61:100-112.

El rastreo del linaje celular ha proporcionado información sobre diferentes procesos de desarrollo de los adipocitos. Usando técnicas de regulación génica, Tang y cols. mostraron que los preadipocitos pueden localizarse dentro del compartimento celular mural de los lechos vasculares del TA (38, 39). Adicionalmente, algunas células progenitoras adiposas han podido identificarse con el uso de marcadores endoteliales específicos, lo que apoya la idea del origen vascular de los preadipocitos (40). El mesotelio visceral que recubre los órganos internos ha mostrado contribuir con el linaje de adipocitos en órganos viscerales y depósitos adiposos cardíacos. Esta subpoblación de adipocitos se caracteriza por

tener poca acumulación de triglicéridos y metabolismo altamente glucolítico (41). Las células mesoteliales son altamente sensibles a la inflamación y capaces de secretar cantidades elevadas de interleucinas (IL's) 6 y 8, después de un estímulo inflamatorio (42, 43). Lo anterior sugiere un papel importante de los adipocitos derivados de células mesoteliales, en la respuesta inflamatoria de la grasa visceral.

#### **Función metabólica del tejido adiposo**

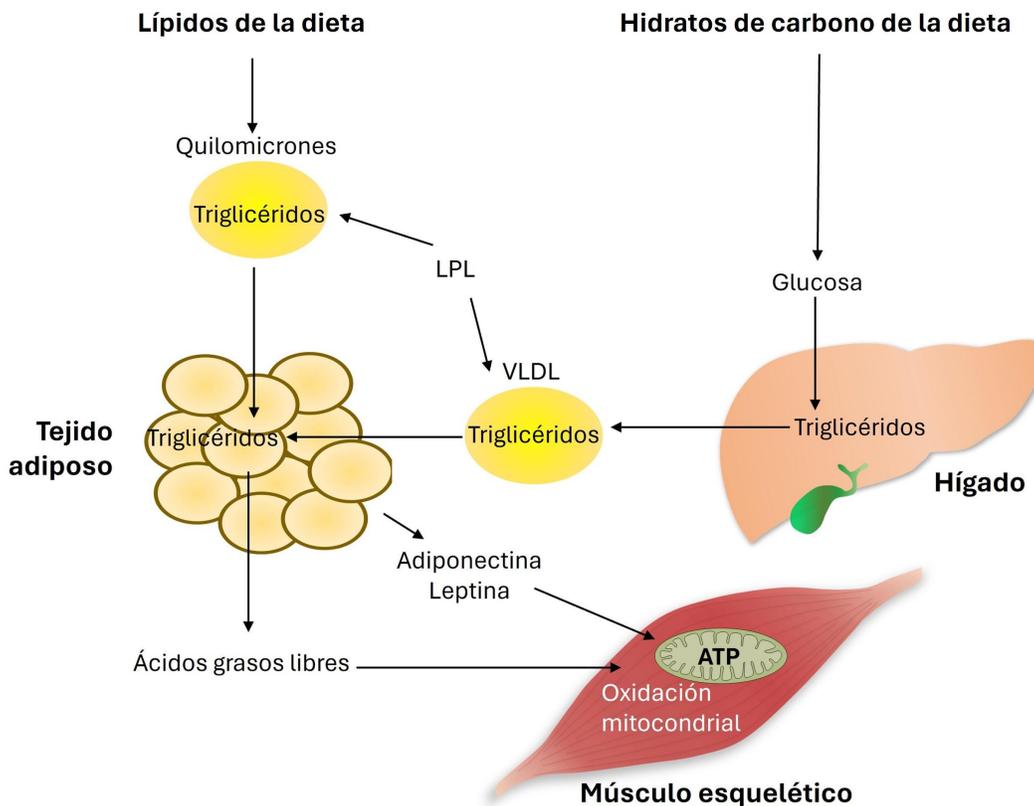
El TA es el mayor reservorio de energía del cuerpo. Se ha descrito que por cada kilogramo de grasa se pueden obtener hasta 7700 calorías, por lo que una persona con ~70 kilogramos de peso y 10% de grasa corporal podría almacenar 110,000 kilocalorías en el TA (44). Considerando que el rango fisiológico de grasa corporal se ha establecido entre 10-20% para los hombres y 20-30% para las mujeres, esto representa una reserva energética para aproximadamente 25-50 días en hombres y 40-60 días en mujeres (21). Adicionalmente, se ha mostrado que los lípidos se movilizan y renuevan continuamente en las personas con un balance energético adecuado. Estudios realizados en roedores han señalado que la vida media de los depósitos de lípidos es de ~8 días, lo que significa que, casi el 10% de los ácidos grasos almacenados en el TA se reemplaza diariamente (21).

Las fuentes de ácidos grasos en el organismo son: 1) los aportados por la dieta, que son absorbidos en el intestino delgado y 2) los sintetizados *de novo* en el hígado, a partir de glucosa, lactato y aminoácidos. Durante los periodos de alimentación, el exceso de energía proveniente de los lípidos e hidratos de carbono se almacena eficientemente en el TA. Los ácidos grasos de la dieta se absorben por los enterocitos y son esterificados con una molécula de glicerol (3:1) para formar triglicéridos. Estos son transportados en la circulación hacia el TA dentro de lipoproteínas conocidas como quilomicrones. Los adipocitos secretan lipoproteína lipasa (LPL), la cual es una enzima que hidroliza los triglicéridos de las lipoproteínas, liberando los ácidos grasos. En el interior de los adipocitos, los ácidos grasos se re-esterifican utilizando glicerol que el adipocito sintetiza a partir de glucosa, para almacenar los triglicéridos en la vesícula lipídica. Adicionalmente, los hidratos de carbono que no son utilizados por el músculo esquelético y otros órganos metabólicos durante la etapa posprandial son captados por el hígado, en un proceso fisiológico que incluye su conversión en ácidos grasos a través de la lipogénesis. Durante la etapa de ayuno, los ácidos grasos hepáticos son esterificados en triglicéridos y empaquetados junto con el colesterol dentro de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL por sus siglas en inglés); las cuales son liberadas a la circulación para el

transporte de lípidos, en un proceso conocido como vía endógena de los lípidos. La lipogénesis y secreción de lipoproteínas hepáticas es regulada por la insulina, el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), el péptido inhibidor gástrico (GiP) y la leptina, que activan las enzimas piruvato cinasa, piruvato deshidrogenasa, acetyl-CoA carboxilasa y glicerol fosfato aciltransferasa (Figura 5) (45, 46).

En humanos, el TAB también puede sintetizar ácidos grasos a partir de precursores como la glucosa, el lactato y ciertos aminoácidos, siendo la primera el precursor más importante. En el periodo posprandial, la insulina activa una serie de señales intracelulares que estimulan la movilización del transportador GLUT4 a la membrana plasmática de los adipocitos para que la glucosa de la circulación pueda ingresar a la célula. En el interior del adipocito, la glucosa es doblemente fosforilada en la vía de la glucólisis y metabolizada para producir dos compuestos de tres carbonos: gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato. Esta última es utilizada para generar glicerol (gliceroneogénesis), en una vía que es regulada por la acción de la enzima aldolasa (47). Durante los periodos de demanda energética, como el estado de ayuno o la actividad física intensa, el TA libera los ácidos grasos y el glicerol hacia la circulación como fuente de energía a partir de las reservas de triglicéridos, en un proceso conocido como lipólisis del TA (Figura 5) (45-47).

La lipólisis se lleva a cabo a través de la acción secuencial de tres lipasas intracelulares: la lipasa de triglicéridos del adipocito (ATGL), la lipasa sensible a hormonas (HSL) y la lipasa de monoacilglicéridos (MGL). Un porcentaje de los ácidos grasos hidrolizados se re-esterifican, de modo que la relación ácido graso-glicerol que sale de la célula suele ser inferior al teórico (3:1). El glucagón, la leptina, el cortisol y las catecolaminas como la epinefrina activan la lipólisis en los adipocitos al incrementar la concentración intracelular de AMPc. Este segundo mensajero activa a la HSL, además de promover su movimiento desde el citosol a la superficie de las vesículas lipídicas. Por el contrario, la insulina y adiponectina reducen la lipólisis al favorecer la conversión de cAMP a adenosina. Las vesículas lipídicas de los adipocitos están recubiertas



**Figura 5. Función metabólica del tejido adiposo.** Durante el posprandio, los lípidos ingeridos son absorbidos y empaquetados dentro de los quilomicrones, para ser transportados en la circulación (vía exógena de los lípidos). Entre los lípidos más abundantes están los triglicéridos, que son hidrolizados por la LPL para generar ácidos grasos libres que se usan como fuente de energía o son reesterificados para su almacenaje en el tejido adiposo. Por otro lado, los hidratos de carbono (principalmente glucosa) que no se absorben por el músculo o el tejido adiposo, son internalizados por los hepatocitos para ser almacenados. En las etapas de requerimiento energético como el ayuno prolongado o el ejercicio exhaustivo, las reservas de glucosa hepática pueden promover la generación de ácidos grasos a partir de glucosa (lipogénesis), los cuales son empaquetados dentro de las VLDL y liberadas a la circulación (vía endógena de los lípidos). Estas VLDL también son sustrato de las lipasas que liberan ácidos grasos libres para aporte energético o almacén en el tejido adiposo. Se ha descrito que la adiponectina y la leptina son importantes en los procesos de absorción, almacén y uso de los lípidos y los hidratos de carbono. LPL: lipoproteína lipasa; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad (por sus siglas en inglés). Modificado del libro *Nutritional Signaling Pathway Activities in Obesity and Diabetes*. Royal Society of Chemistry 2020.

por proteínas estructurales como la perilipina, que las estabilizan y en el estado basal previenen la hidrólisis de triglicéridos. La fosforilación de perilipina después de estimulación adrenérgica u otros estímulos hormonales induce su relocalización fuera de la membrana de las vesículas lipídicas, lo que permite la hidrólisis de los triglicéridos (21).

### Función endócrina del tejido adiposo

Además de su función como almacén de energía, el TA participa activamente en la regulación del metabolismo energético. Los adipocitos liberan una serie de hormonas y citocinas llamadas adipocinas. Entre las principales adipocinas descritas, la leptina y

adiponectina han mostrado ejercer efectos metabólicos sobre órganos periféricos como el hígado, corazón y músculo esquelético, en los que regulan la captación de glucosa y ácidos grasos libres, para ser utilizados como combustible a través de la beta-oxidación en las mitocondrias. La oxidación eficiente de los ácidos grasos limita la acumulación excesiva de grasa ectópica, así como los efectos lipotóxicos de estos lípidos sobre los órganos periféricos. Estas adipocinas también ejercen efectos sobre el sistema nervioso central, en donde modulan la actividad de las neuronas orexigénicas y anorexigénicas en el hipotálamo con objeto de regular la ingesta de alimento y el gasto energético. De este modo, la ingesta energética menor a la requerida promueve que las adipocinas incrementen el apetito, mientras que la

ingesta excesiva de energía favorece la inducción del estado de saciedad por parte de las adipocinas (48-50). Esta función endócrina del TA favorece al mantenimiento tanto del balance energético como de la cantidad de grasa corporal.

### **Función inmunitaria del tejido adiposo**

El TA es el componente más variable del organismo y va desde un pequeño porcentaje en deportistas de alto rendimiento, hasta más de la mitad del peso corporal en personas con peso corporal excesivo. Sin embargo, los adipocitos sólo constituyen un tercio de las células que componen el TA. La mayor parte del TA está compuesto por células troncales mesenquimales, preadipocitos, fibroblastos, células endoteliales, vasculares e inmunitarias (12, 18, 20, 38).

Las células de la respuesta inmunitaria innata como los macrófagos, células dendríticas y neutrófilos se activan en respuesta a patrones moleculares derivados de patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés). Los PAMPs se encuentran en la superficie de virus y bacterias que, al ingresar al organismo activan a las células inmunitarias y disparan una respuesta inflamatoria (51). Por otro lado, el sistema inmunitario también responde a moléculas liberadas por daño tisular (DAMPs). Las células del organismo tienen una vida media que puede ir desde días hasta años. Cuando ese tiempo llega a su fin, las células llevan a cabo un proceso de muerte celular programada o apoptosis, en el que la célula se fracciona en pequeñas vesículas que son capturadas por macrófagos antiinflamatorios residentes conocidos como tipo 2 (M2). Esta muerte celular se le llama “inmunológicamente silenciosa” ya que no libera DAMPs que activen la respuesta inflamatoria. Por el contrario, la necrosis es la muerte celular en la que el contenido de las células se libera al medio extracelular, lo que promueve la presencia de DAMPs y la activación de una respuesta inflamatoria (51, 52).

Estudios previos han mostrado que las adipocinas liberadas por el tejido adiposo también modulan la actividad de las células del sistema inmunitario, regulando la magnitud, duración y resolución de la respuesta inmune. En el caso de la leptina, se ha descrito que ésta favorece la activación de la respuesta inmunitaria causada por patógenos o daño tisular; mientras que la adiponectina tiene un efecto antiinflamatorio e inmunomodulador que facilita la adecuada resolución de la inflamación y la recuperación de la homeostasis (53, 54).

Es importante señalar que, aunque las células inmunitarias residentes del TA pueden modular funciones metabólicas, a través de la regulación de la

lipólisis, la síntesis y secreción de adipocinas, la adipogénesis e incluso la vía de señalización de la insulina; la actividad metabólica del TA también puede regular la actividad y composición de las células inmunes dentro de este tejido. Esta regulación se puede llevar a cabo mediante la liberación de moléculas bioactivas como los ácidos grasos, las ceramidas, los aminoácidos de cadena ramificada o las adipocinas previamente mencionadas. Estas moléculas ejercen efectos directos e indirectos sobre las células inmunes, regulando su activación, proliferación y polarización (55).

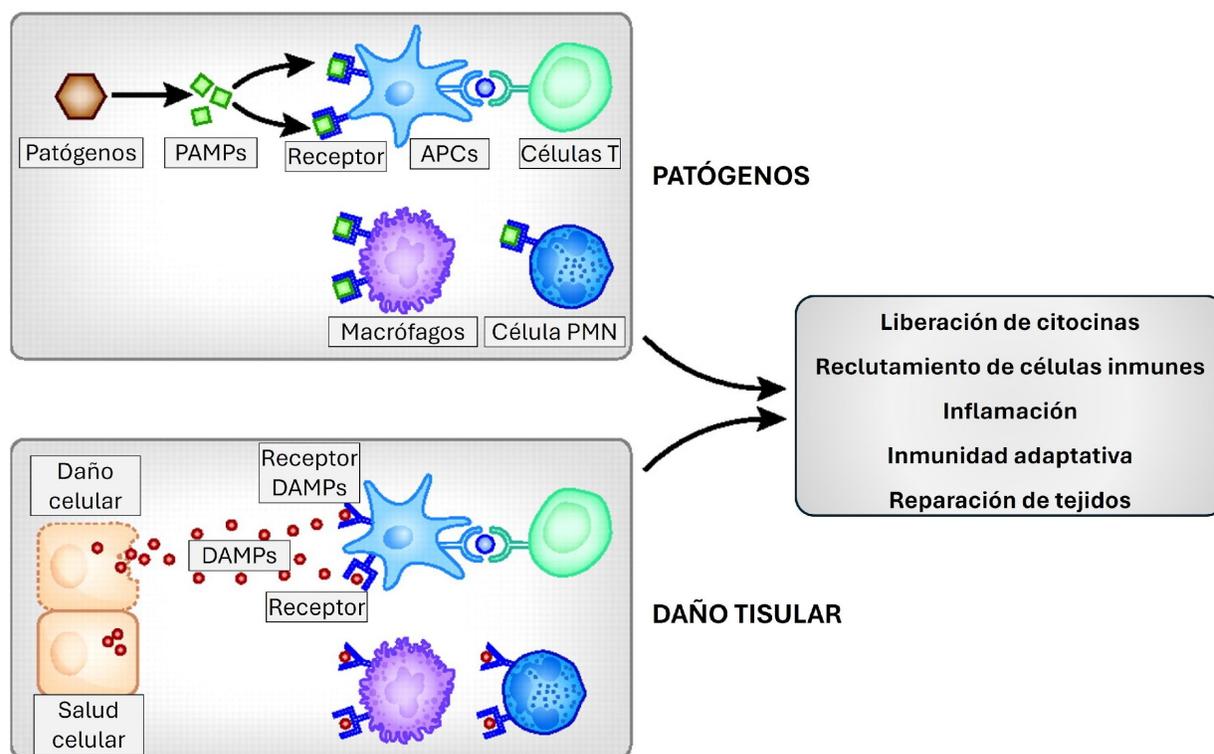
### **Fisiopatología del tejido adiposo**

El balance energético se mantiene cuando la ingesta y el gasto de energía es igual durante un tiempo determinado. Sin embargo, la combinación de la ingesta de alimentos altamente energéticos con una baja actividad física conduce a un balance energético positivo que promueve la acumulación de grasa corporal. Para almacenar el exceso de energía, el TA se expande a través del aumento en el número (hiperplasia) o en el volumen (hipertrofia) de los adipocitos (56). La hiperplasia está mediada por la diferenciación de células precursoras a adipocitos maduros, en un proceso conocido como adipogénesis que se acompaña de aumento en la vascularización. La adipogénesis ocurre principalmente en el compartimento subcutáneo y es regulada por factores de transcripción adipogénicos como la proteína de unión al potenciador CCAAT alpha (C/EBP alpha), el receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPAR gamma) y la proteína de unión a elementos de respuesta a esteroides 1 (SREBP-1) (57). Esta expansión hiperplásica del TA es considerada un mecanismo de adaptación saludable en el que se mantiene un fenotipo metabólicamente sano aún en un contexto de balance energético positivo. Contrario a esto, algunos factores genéticos y ambientales pueden reducir la actividad de C/EBP alpha, PPAR gamma y SREBP-1 en los preadipocitos, impidiendo la diferenciación de células adiposas y vasculares. Esto promueve la expansión hipertrófica del TA que da lugar a un fenotipo metabólicamente no sano (56-59).

Las consecuencias metabólicas de la expansión hipertrófica ocurren debido a que en el TA hipertrófico hay reducción en la disponibilidad de oxígeno (hipoxia), lo que promueve la disfunción mitocondrial, la liberación de especies reactivas de oxígeno y alteraciones en la integridad celular por estrés oxidante. Los adipocitos que acumulan especies reactivas de oxígeno tienen muerte celular por necrosis, lo que libera DAMPs hacia el espacio extracelular y activa los macrófagos residentes, dando

lugar a una respuesta inflamatoria local. La menor capacidad de diferenciación, la reducida vascularización y la activación de la inflamación local promueven la acumulación de adipocitos disfuncionales con una reducida capacidad para almacenar triglicéridos. Como consecuencia, hay una lipólisis excesiva y constitutiva, lo que incrementa la liberación de ácidos grasos hacia la circulación y facilita la captura de estos en los órganos periféricos (60). Por lo expuesto previamente, debido a su capacidad limitada para almacenar lípidos, los órganos periféricos oxidan los ácidos grasos que ingresan a las células para la obtención de energía (Figura 5). Sin embargo, cuando el ingreso de ácidos grasos supera la capacidad de oxidación mitocondrial de estos órganos se genera un estado de saturación de almacenamiento.

Los ácidos grasos son relativamente inertes, ya que mientras el hígado y el tejido adiposo tengan la capacidad de esterificarlos en triglicéridos, su acumulación no genera daños inmediatos. Sin embargo, la esterificación incompleta de los ácidos grasos, por exceso, estimula la síntesis de segundos mensajeros citotóxicos como las ceramidas y otros esfingolípidos. La acumulación intracelular de estos metabolitos lipídicos citotóxicos activa vías de señalización lipotóxicas como resistencia a la insulina, estrés del retículo endoplásmico y estrés mitocondrial. Estas alteraciones intracelulares favorecen la generación de radicales libres y la muerte celular por necrosis, activando la inflamación por DAMPs (Figura 6) (61, 62).



**Figura 6. Respuesta inmune a patógenos y daño tisular.** Modificado de J Am Soc Nephrol 2011;22:416-425.

En el caso del hígado, la resistencia a la insulina generada por la acumulación de metabolitos lipídicos citotóxicos favorece el aumento en la producción de glucosa y triglicéridos. En el músculo esquelético, la lipotoxicidad genera resistencia a la insulina y proteólisis, reduciendo la captación de glucosa y generando sarcopenia (63, 64). Por otro lado, la acumulación ectópica de lípidos en los islotes pancreáticos induce la disfunción y apoptosis de hasta 25% de las células beta, lo que reduce la producción

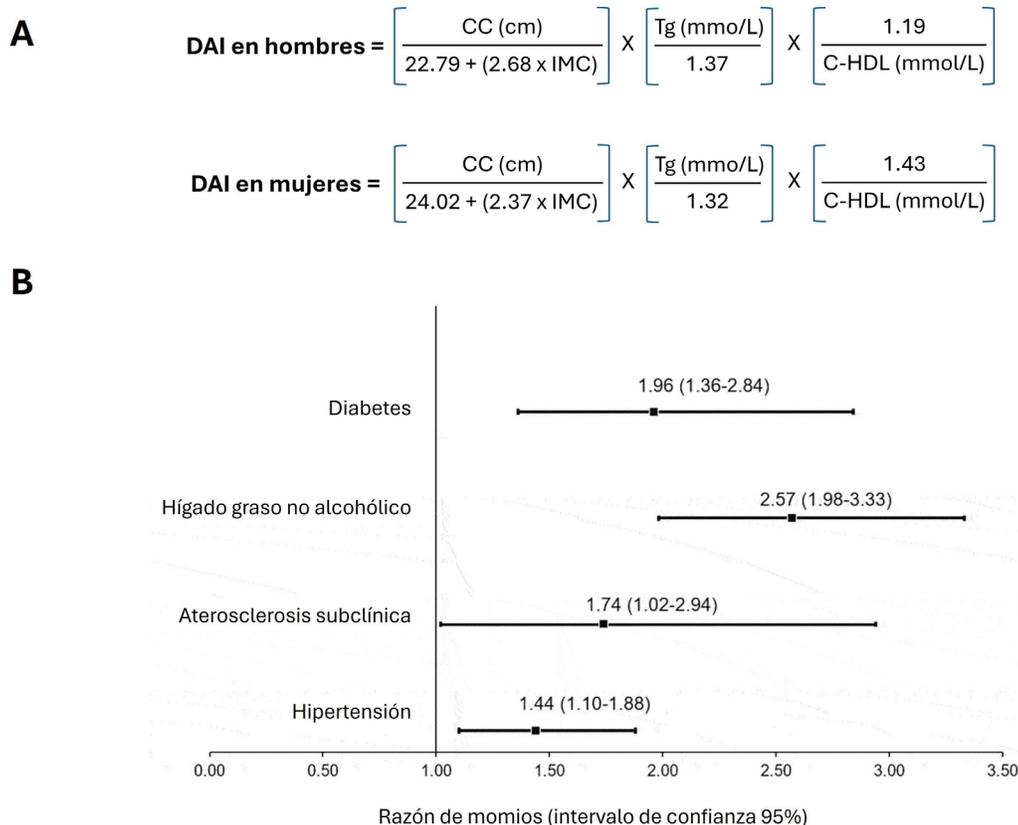
de insulina y, en conjunto con las alteraciones en el músculo esquelético e hígado, dan lugar a la diabetes tipo 2 (65-68). Estas alteraciones también se han asociado con otras enfermedades crónicas degenerativas como la hipertensión, dislipidemia, aterosclerosis, cirrosis hepática, enfermedad cardiovascular y cáncer.

Estudios clínicos han mostrado que el incremento en el contenido de TA visceral se asocia con la presencia de alteraciones metabólicas, mientras que el

aumento en la cantidad de TA subcutáneo provee cierto grado de protección a la salud. Estos datos han permitido plantear la hipótesis de que el TA subcutáneo pudiera actuar como un amortiguador metabólico, almacenando la grasa excedente originada por el balance energético positivo. La hipótesis propone que mientras el TA subcutáneo mantenga su funcionalidad amortiguadora, no habrá acumulación excesiva de TA visceral o ectópico que promueva las alteraciones metabólicas (48, 69, 70). En la actualidad se sabe que múltiples factores como la edad, el género, el uso de algunos fármacos, los patrones de alimentación y la actividad física, pueden impactar la funcionalidad del TA. Aún no es clara la direccionalidad y magnitud de estos factores sobre los procesos secuenciales o simultáneos que conducen a la disfunción del TA. Sin embargo, se ha postulado que una persona pudiera mantenerse metabólicamente sana mientras conserve la capacidad funcional de su TA subcutáneo, independientemente del contenido de grasa corporal total.

Considerando la información presentada aquí, los autores destacamos la importancia clínica de desarrollar herramientas que permitan identificar de manera precisa y temprana, la presencia de TA disfuncional. En la búsqueda de estas herramientas, nuestro equipo de trabajo (9, 12, 13, 70) y otros investigadores (10, 71, 72), hemos postulado que la disfunción del TA subcutáneo pudiera ser un indicador clave para la identificación de individuos con alto riesgo de desarrollar anomalías metabólicas; las cuales pueden progresar a enfermedades crónicas degenerativas. En una investigación diseñada para establecer un índice de TA disfuncional y conocer su asociación con las enfermedades crónicas degenerativas, nuestro equipo de trabajo estudió a dos grupos de personas ampliamente caracterizadas (70). En un grupo se incluyó a 1418 personas sin diagnóstico previo de enfermedad cardiovascular, de donde además se seleccionó un subgrupo de 340 individuos con IMC <30 kg/m<sup>2</sup> y cifras normales de glucosa, tensión arterial, triglicéridos y colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL por sus siglas en inglés). Este subgrupo permitió obtener valores de referencia para calcular un índice de disfunción de TA visceral previamente validado (72). Dicho índice propone el uso de medidas básicas en la práctica clínica como el IMC, la circunferencia de cintura (CC), los triglicéridos y el C-HDL en circulación. El índice estima la función del TA visceral en hombres y mujeres por separado, usando la fórmula:  $[CC/\text{ordenada al origen} + [\text{pendiente} * \text{IMC}]] * [\text{concentración de triglicéridos en plasma}/\text{triglicéridos}$

de referencia] \* [C-HDL de referencia/concentración de C-HDL en plasma]. Los valores de la ordenada al origen y la pendiente se obtuvieron de la regresión lineal entre la CC y el IMC de sujetos caucásicos sanos. Considerando las diferencias étnicas en las variables empleadas para el cálculo del índice, nuestro equipo calculó los valores de referencia para la población mexicana y debido a las características del análisis, se sustituyó el término índice de disfunción del TA visceral propuesto por Amato M.C. y cols. (72), por un concepto más general denominado “índice de adiposidad disfuncional” o “DAI” por sus siglas en inglés (Figura 7A). Después de establecer los valores constantes para el cálculo del DAI, se invitó a otro grupo de 340 personas sanas sin factores de riesgo cardiovascular, a quienes se les tomó una biopsia de TA subcutáneo para investigar la relación del DAI con las características morfológicas (tamaño y número de adipocitos) y funcionales (adiponectina y leptina en suero) del TA. Los resultados mostraron que el DAI correlacionó directamente con el tamaño de los adipocitos ( $r = 0.358$ ;  $p = 0.032$ ) y con la concentración de leptina ( $r = 0.433$ ;  $p = 0.008$ ), además de correlacionar inversamente con el número de adipocitos ( $r = -0.381$ ;  $p = 0.024$ ) y la concentración de adiponectina ( $r = -0.429$ ;  $p = 0.009$ ). Interesantemente, el DAI también se asoció de manera directa con otros marcadores de inflamación sistémica como la proteína quimioatrayente de monocitos ( $r = 0.381$ ;  $p = 0.022$ ), la interleucina 1-beta ( $r = 0.356$ ;  $p = 0.033$ ) y la proteína C reactiva de alta sensibilidad ( $r = 0.603$ ;  $p < 0.001$ ). Derivado de estos hallazgos, se buscó un punto de corte del DAI para identificar la presencia de TA disfuncional y se encontró que los valores de  $\text{DAI} > 1.065$  se asociaron con daño temprano en la vía de señalización de la insulina. Para confirmar la utilidad del punto de corte, se evaluó a los 1418 sujetos sin diagnóstico previo de enfermedad cardiovascular y los resultados mostraron que comparados con los sujetos que tenían DAI normal, aquellos con  $\text{DAI} > 1.065$  tuvieron significativamente mayor probabilidad de presentar hipertensión (+44%), aterosclerosis subclínica (+74%), enfermedad hepática no alcohólica (+157%) y diabetes (+96%). Es importante señalar que la relación del DAI elevado con la presencia de enfermedades crónicas degenerativas fue independiente de la adiposidad y de otros factores de riesgo tradicionales como la edad, el sexo o el consumo de tabaco (Figura 7B) (70). Estos hallazgos destacan la importancia de la evaluación de la funcionalidad del TA, para identificar a sujetos con riesgo metabólico elevado, independientemente del grado de adiposidad.



**Figura 7. Índice de adiposidad disfuncional (DAI).** A: Fórmula para calcular el DAI en hombres y mujeres. B: Asociación de DAI > 1.065 con anomalías cardiometabólicas, ajustado por edad, sexo y consumo de tabaco. Modificado de Adipocyte, 2021;10:142-152.

**Conclusiones**

El presente trabajo muestra la evolución conceptual que ha tenido el TA a través del tiempo, en su impacto sobre la aparición de las enfermedades crónicas degenerativas. Por muchos años se mantuvo el concepto exclusivo del TA como un reservorio energético para la sobrevivencia o adaptación a condiciones ambientales adversas. Sin embargo, los avances en investigación han mostrado la estrecha relación del TA con los órganos responsables de mantener la homeostasis energética e inmunitaria. Estos avances colocan al TA como una piedra angular

en la aparición de las enfermedades metabólicas, que hoy en día son las principales causas de morbi-mortalidad a nivel mundial. Esta revisión también propone al DAI como una herramienta útil para identificar a sujetos con TA disfuncional y que están en riesgo de presentar enfermedades crónicas degenerativas. La implementación del DAI en la práctica clínica cotidiana podría ayudar a enfocar las estrategias que promueven cambios conductuales enfocados a mejorar la calidad de vida de las personas, con objeto de revertir la alarmante carga en gastos y atención en salud que se asocia a la disfunción del TA.

**Referencias**

1. Woessner, M. N., Tacey, A., Levinger-Limor, A., Parker, A. G., Levinger, P., and Levinger, I. (2021) The Evolution of Technology and Physical Inactivity: The Good, the Bad, and the Way Forward. *Front Public Health* **9**, 655491.
2. Schöley, J., Aburto, J.M., Kashnitsky, I., Kniffka, M.S., Zhang, L., Jaadla, H., Dowd, J.B., and Kashyap. R. (2022) Life expectancy changes since COVID-19. *Nat Hum Behav* **6**, 1649-1659.
3. Data, O. W. i. (2016) Share of adults who are overweight or obese. <https://ourworldindata.org/grapher/share-of-adults-who-are-overweight?facet=none&country=VNM~USA~GBR~JPN~IND~BRA~NGA~MEX>.
4. Forum, W. E. (2023) Why we need public-private partnerships to address the global health challenge of obesity. <https://www.weforum.org/agenda/2023/01/put>

- blic-private-partnerships-obesity-health-davos23/?fbclid=IwAR3DqJXKiW0uW7JKuph0fH7rumroiKfK5ZB6pVtro\_thX6kWvIGgNP0NH48.
5. Mitchelson, K. A. J., O'Connell, F., O'Sullivan, J., and Roche, H. M. (2024) Obesity, Dietary Fats, and Gastrointestinal Cancer Risk-Potential Mechanisms Relating to Lipid Metabolism and Inflammation. *Metabolites* **14**.
  6. Engin, A. (2017) The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Adv Exp Med Biol* **960**, 1-17.
  7. Kawai, S., Yamakage, H., Kotani, K., Noda, M., Satoh-Asahara, N., and Hashimoto, K. (2023) Differences in metabolic characteristics between Metabolically Healthy Obesity (MHO) and Metabolically Unhealthy Obesity (MUO) in weight reduction therapy. *Endocr J* **70**, 1175-1186.
  8. Liu, Y., Zhao, A., Sun, G., Wang, R., Zhang, J., Lip, G. Y. H., and Li, G. (2024) Relationship between metabolic status, physical activity and cardiovascular disease in participants with obesity. *Int J Obes (Lond)*.
  9. Juárez-Rojas, J. G., Torre-Villalvazo, I., Medina-Urrutia, A. X., Reyes-Barrera, J., Sainz-Escarrega, V. H., Posadas-Romero, C., Macias-Cruz, A., and Jorge-Galarza, E. (2020) Participation of white adipose tissue dysfunction on circulating HDL cholesterol and HDL particle size in apparently healthy humans. *Int J Obes (Lond)* **44**, 920-928.
  10. Siklova, M., Sramkova, V., Koc, M., Krauzova, E., Cizkova, T., Ondrujova, B., Wilhelm, M., Varaliova, Z., Kuda, O., Neubert, J., Lambert, L., Elkalaf, M., Gojda, J., and Rossmeislova, L. (2024) The role of adipogenic capacity and dysfunctional subcutaneous adipose tissue in the inheritance of type 2 diabetes mellitus: cross-sectional study. *Obesity (Silver Spring)*.
  11. Ralston, J. C., Lyons, C. L., Kennedy, E. B., Kirwan, A. M., and Roche, H. M. (2017) Fatty Acids and NLRP3 Inflammasome-Mediated Inflammation in Metabolic Tissues. *Annu Rev Nutr* **37**, 77-102.
  12. Reyes-Barrera, J., Medina-Urrutia, A. X., Osorio-Alonso, H., Jorge-Galarza, E., Olvera-Mayorga, G., Sanchez-Ortiz, N. A., Arellano-Buendia, A. S., Marquez-Garcia, J. E., Santibanez-Escobar, F., Perez-Rodriguez, E., Torres-Tamayo, M., Granados-Portillo, O., Torre-Villalvazo, I., and Juárez-Rojas, J. G. (2022) Self-reported dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids are associated with adipose tissue markers and glucose metabolism in apparently healthy subjects. *Ann Hum Biol* **49**, 291-298.
  13. Medina-Urrutia, A. X., Jorge-Galarza, E., El Hafidi, M., Reyes-Barrera, J., Paez-Arenas, A., Masso-Rojas, F. A., Martinez-Sanchez, F. D., Lopez-Urbe, A. R., Gonzalez-Salazar, M. D. C., Torres-Tamayo, M., and Juárez-Rojas, J. G. (2022) Effect of dietary chia supplementation on glucose metabolism and adipose tissue function markers in non-alcoholic fatty liver disease subjects. *Nutr Hosp* **39**, 1280-1288.
  14. Hart, S. M., Keirns, B. H., Sciarrillo, C. M., Malin, S. K., Kurti, S. P., and Emerson, S. R. (2023) Cardiorespiratory fitness and submaximal exercise dynamics in normal-weight obesity and metabolically healthy obesity. *Eur J Appl Physiol*.
  15. Heshmatipour, H., Hajhashemy, Z., Mirzaei, S., Asadi, A., Akhlaghi, M., and Saneci, P. (2023) Association of legumes and nuts consumption with metabolic health status in Iranian overweight and obese adolescents. *Sci Rep* **13**, 5784.
  16. Ahima, R. S., and Flier, J. S. (2000) Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* **11**, 327-332.
  17. Kahn, C. R., Wang, G., and Lee, K. Y. (2019) Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. *J Clin Invest* **129**, 3990-4000.
  18. Gesta, S., Tseng, Y.H., and Kahn, C. R. (2007) Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell* **131**, 245-256.
  19. Nedergaard, J., Bengtsson, T., and Cannon, B. (2011) New powers of brown fat: fighting the metabolic syndrome. *Cell Metab* **13**, 238-240.
  20. Chait, A., and den Hartigh, L. J. (2020) Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med* **7**, 22
  21. Tang, W., Zeve, D., Suh, J. M., Bosnakovski, D., Kyba, M., Hammer, R. E., Tallquist, M. D., and Graff, J. M. (2008) White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature. *Science* **322**, 583-586.
  22. Ghaben, A. L., and Scherer, P. E. (2019) Adipogenesis and metabolic health. *Nat Rev Mol Cell Biol* **20**, 242-258.
  23. Fox, C. S., Massaro, J. M., Hoffmann, U., Pou, K. M., Maurovich-Horvat, P., Liu, C. Y., Vasan, R. S., Murabito, J. M., Meigs, J. B., Cupples, L. A., D'Agostino, R. B., Sr., and O'Donnell, C. J. (2007) Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* **116**, 39-48.
  24. Macotela, Y., Emanuelli, B., Mori, M. A., Gesta, S., Schulz, T. J., Tseng, Y. H., and Kahn, C. R. (2012) Intrinsic differences in adipocyte precursor cells from different white fat depots. *Diabetes* **61**, 1691-1699.
  25. Tchkonina, T., Giorgadze, N., Pirtskhalava, T., Thomou, T., DePonte, M., Koo, A., Forse, R. A., Chinnappan, D., Martin-Ruiz, C., von Zglinicki, T., and Kirkland, J. L. (2006) Fat depot-specific characteristics are retained in strains derived from single human preadipocytes. *Diabetes* **55**, 2571-2578.
  26. Arner, P., Hellstrom, L., Wahrenberg, H., and Bronnegard, M. (1990) Beta-adrenoceptor expression in human fat cells from different regions. *J Clin Invest* **86**, 1595-1600.
  27. Lafontan, M., and Girard, J. (2008) Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism. Part I: heterogeneity of adipose tissue and functional properties of visceral adipose tissue. *Diabetes Metab* **34**, 317-327.
  28. Yamamoto, Y., Gesta, S., Lee, K. Y., Tran, T. T., Saadati, P., and Kahn, C. R. (2010) Adipose depots possess unique developmental gene signatures. *Obesity (Silver Spring)* **18**, 872-878.

29. Gesta, S., Bluher, M., Yamamoto, Y., Norris, A. W., Berndt, J., Kralisch, S., Boucher, J., Lewis, C., and Kahn, C. R. (2006) Evidence for a role of developmental genes in the origin of obesity and body fat distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 6676-6681.
30. Lee, K. Y., Yamamoto, Y., Boucher, J., Winnay, J. N., Gesta, S., Cobb, J., Bluher, M., and Kahn, C. R. (2013) Shox2 is a molecular determinant of depot-specific adipocyte function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110**, 11409-11414.
31. Fruhbeck, G., and Gómez-Ambrosi, J. (2023) Adipose tissue: Structure, function and metabolism. in *Encyclopedia of Human Nutrition* (Caballero, B. ed., Fourth Edition Ed., Elsevier, Amsterdam, The Netherlands).
32. Sebo, Z. L., Jeffery, E., Holtrup, B., and Rodeheffer, M. S. (2018) A mesodermal fate map for adipose tissue. *Development* **145**.
33. Krueger, K. C., Costa, M. J., Du, H., and Feldman, B. J. (2014) Characterization of Cre recombinase activity for in vivo targeting of adipocyte precursor cells. *Stem Cell Reports* **3**, 1147-1158.
34. Sanchez-Gurmaches, J., Hsiao, W. Y., and Guertin, D. A. (2015) Highly selective in vivo labeling of subcutaneous white adipocyte precursors with Prx1-Cre. *Stem Cell Reports* **4**, 541-550.
35. Tomiyama, K., Murase, N., Stolz, D. B., Toyokawa, H., O'Donnell, D. R., Smith, D. M., Dudas, J. R., Rubin, J. P., and Marra, K. G. (2008) Characterization of transplanted green fluorescent protein+ bone marrow cells into adipose tissue. *Stem Cells* **26**, 330-338.
36. Esteve, R.M. (2014) Tejido adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinol Nutr* **61**, 100-112.
37. Rosenbaum, M., and Leibel, R. L. (2010) Adaptive thermogenesis in humans. *Int J Obes (Lond)* **34 Suppl 1**, S47-55.
38. Jiang, Y., Berry, D. C., Tang, W., and Graff, J. M. (2014) Independent stem cell lineages regulate adipose organogenesis and adipose homeostasis. *Cell Rep* **9**, 1007-1022.
39. Gupta, R. K., Mepani, R. J., Kleiner, S., Lo, J. C., Khandekar, M. J., Cohen, P., Frontini, A., Bhowmick, D. C., Ye, L., Cinti, S., and Spiegelman, B. M. (2012) Zfp423 expression identifies committed preadipocytes and localizes to adipose endothelial and perivascular cells. *Cell Metab* **15**, 230-239.
40. Lee, K. Y., Luong, Q., Sharma, R., Dreyfuss, J. M., Ussar, S., and Kahn, C. R. (2019) Developmental and functional heterogeneity of white adipocytes within a single fat depot. *EMBO J* **38**.
41. Topley, N., Brown, Z., Jorres, A., Westwick, J., Davies, M., Coles, G. A., and Williams, J. D. (1993) Human peritoneal mesothelial cells synthesize interleukin-8. Synergistic induction by interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha. *Am J Pathol* **142**, 1876-1886.
42. Darimont, C., Avanti, O., Blancher, F., Wagniere, S., Mansourian, R., Zbinden, I., Leone-Vautravers, P., Fuehrholz, A., Giusti, V., and Mace, K. (2008) Contribution of mesothelial cells in the expression of inflammatory-related factors in omental adipose tissue of obese subjects. *Int J Obes (Lond)* **32**, 112-120.
43. Sanchez-Gurmaches, J., and Guertin, D. A. (2014) Adipocyte lineages: tracing back the origins of fat. *Biochim Biophys Acta* **1842**, 340-351.
44. Guilherme, A., Rowland, L. A., Wang, H., and Czech, M. P. (2023) The adipocyte supersystem of insulin and cAMP signaling. *Trends Cell Biol* **33**, 340-354.
45. Calderon-DuPont, D., Torre-Villalvazo, I., and Diaz-Villasenor, A. (2023) Is insulin resistance tissue-dependent and substrate-specific? The role of white adipose tissue and skeletal muscle. *Biochimie* **204**, 48-68.
46. Fruhbeck, G., Mendez-Gimenez, L., Fernandez-Formoso, J. A., Fernandez, S., and Rodriguez, A. (2014) Regulation of adipocyte lipolysis. *Nutr Res Rev* **27**, 63-93.
47. Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., and Miele, C. (2019) Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *Int J Mol Sci* **20**.
48. Kane, H., and Lynch, L. (2019) Innate Immune Control of Adipose Tissue Homeostasis. *Trends Immunol* **40**, 857-872.
49. Dahik, V. D., Frisdal, E., and Le Goff, W. (2020) Rewiring of Lipid Metabolism in Adipose Tissue Macrophages in Obesity: Impact on Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci* **21**.
50. Zindel, J., and Kubers, P. (2020) DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol* **15**, 493-518.
51. Song, J., and Deng, T. (2021) Corrigendum: The Adipocyte and Adaptive Immunity. *Front Immunol* **12**, 784125.
52. Rosin, D.L., and Okusa, M.D. (2011) Dangers within: DAMP responses to damage and cell death in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* **22**, 416-425.
53. Taylor, E. B. (2021) The complex role of adipokines in obesity, inflammation, and autoimmunity. *Clin Sci (Lond)* **135**, 731-752.
54. Davanzo, G. G., Castro, G., and Moraes-Vieira, P. M. M. (2021) Immunometabolic regulation of adipose tissue resident immune cells. *Curr Opin Pharmacol* **58**, 44-51.
55. Zhao, J. Y., Zhou, L. J., Ma, K. L., Hao, R., and Li, M. (2024) MHO or MUO? White adipose tissue remodeling. *Obes Rev*, e13691.
56. Sun, L., Ji, S., Xie, X., Si, L., Liu, S., Lin, Y., Wang, Y., Song, Z., Fang, N., An, Y., and Yang, J. (2023) Deciphering the interaction between Twist1 and PPARgamma during adipocyte differentiation. *Cell Death Dis* **14**, 764.
57. Lu, Y., Luo, Z., Zhou, H., Shi, Y., Zhu, Y., Guo, X., Huang, J., Zhang, J., Liu, X., Wang, S., Shan, X., Yin, H., Du, Y., Li, Q., You, J., and Luo, L. (2024) A nanoemulsion targeting adipose hypertrophy and hyperplasia shows anti-obesity efficiency in female mice. *Nat Commun* **15**, 72.
58. Ige, S., Alaoui, K., Al-Dibouni, A., Dallas, M. L., Cagampang, F. R., Sellayah, D., Chantler, P. D., and Boateng, S. Y. (2024) Leptin-dependent differential

- remodeling of visceral and pericardial adipose tissue following chronic exercise and psychosocial stress. *FASEB J* **38**, e23325.
59. Tchernof, A., and Despres, J. P. (2013) Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev* **93**, 359-404.
60. Schaffer, J. E. (2003) Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol* **14**, 281-287.
61. Savage, D. B., Petersen, K. F., and Shulman, G. I. (2007) Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev* **87**, 507-520.
62. Szendroedi, J., and Roden, M. (2009) Ectopic lipids and organ function. *Curr Opin Lipidol* **20**, 50-56
63. Zatterale, F., Longo, M., Naderi, J., Raciti, G. A., Desiderio, A., Miele, C., and Beguinot, F. (2019) Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Physiol* **10**, 1607.
64. Heilbronn, L., Smith, S. R., and Ravussin, E. (2004) Failure of fat cell proliferation, mitochondrial function and fat oxidation results in ectopic fat storage, insulin resistance and type II diabetes mellitus. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28 Suppl 4**, S12-21
65. Chavez, J. A., and Summers, S. A. (2010) Lipid oversupply, selective insulin resistance, and lipotoxicity: molecular mechanisms. *Biochim Biophys Acta* **1801**, 252-265.
66. Lupi, R., Dotta, F., Marselli, L., Del Guerra, S., Masini, M., Santangelo, C., Patané, G., Boggi, U., Piro, S., Anello, M., Bergamini, E., Mosca, F., Di Mario, U., Del Prato, S., & Marchetti, P. (2002) Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that beta-cell death is caspase mediated, partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated. *Diabetes*, **51**, 1437-1442.
67. Katsoulis, K., Paschou, S. A., Hatzis, E., Tigas, S., Georgiou, I., and Tsatsoulis, A. (2018) TCF7L2 gene variants predispose to the development of type 2 diabetes mellitus among individuals with metabolic syndrome. *Hormones (Athens)* **17**, 359-365.
68. Hammarstedt, A., Gogg, S., Hedjazifar, S., Nerstedt, A., and Smith, U. (2018) Impaired Adipogenesis and Dysfunctional Adipose Tissue in Human Hypertrophic Obesity. *Physiol Rev* **98**, 1911-1941.
69. Booth, A. D., Magnuson, A. M., Fouts, J., Wei, Y., Wang, D., Pagliassotti, M. J., and Foster, M. T. (2018) Subcutaneous adipose tissue accumulation protects systemic glucose tolerance and muscle metabolism. *Adipocyte* **7**, 261-272.
70. Reyes-Barrera, J., Sainz-Escarrega, V. H., Medina-Urritia, A. X., Jorge-Galarza, E., Osorio-Alonso, H., Torres-Tamayo, M., Leal-Escobar, G., Posadas-Romero, C., Torre-Villalvazo, I., and Juárez-Rojas, J. G. (2021) Dysfunctional adiposity index as a marker of adipose tissue morpho-functional abnormalities and metabolic disorders in apparently healthy subjects. *Adipocyte* **10**, 142-152.
71. Smith, G. I., Mittendorfer, B., and Klein, S. (2019) Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. *J Clin Invest* **129**, 3978-3989.
72. Amato, M. C., Giordano, C., Galia, M., Criscimanna, A., Vitabile, S., Midiri, M., Galluzzo, A., and AlkaMeSy Study, G. (2010) Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care* **33**, 920-922.



**Dr. Juan Gabriel Juárez-Rojas**  
**ORCID: 0000-0001-8864-2304**

Licenciado en Biología por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Doctor en Ciencias Médicas con Mención Honorífica por la UNAM. Posdoctorado en Columbia University con sede en Nueva York, E.U.A. Investigador en Ciencias Médicas “C” por la Secretaría de Salud. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, nivel II. 60 artículos publicados en revistas arbitradas internacionalmente, con 650 citas a las publicaciones. Participación en la publicación de cuatro capítulos de libro. Actualmente dirigiendo la publicación de un libro sobre tejido adiposo. Tutor de alumnos de pregrado (5), maestría (2), doctorado (2) y especialidad (4). Profesor en la Escuela de Enfermería del INCICH, en la Facultad de Medicina de la UAEM y del programa de Maestría y Doctorado del Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# Transformando al sistema renina-angiotensina en un aliado en la diabetes

## Transforming the renin-angiotensin system into an ally in diabetes

Gallardo-Ortíz Itzell A.<sup>1</sup> , Villalobos-Molina R.<sup>1</sup>; Sigrist-Flores Santiago C.<sup>2</sup>

1. Unidad de Investigación en Biomedicina, Carrera de Enfermería, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
2. Unidad de Investigación en Biomedicina, Carrera de Médico Cirujano, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ Av. de los Barrios No.1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, México C.P. 54090. Tel: +52 (55) 5623-1333, Ext. 39795; [igallardo@comunidad.unam.mx](mailto:igallardo@comunidad.unam.mx); [itzellg@gmail.com](mailto:itzellg@gmail.com)

Editor responsable: Mercedes Esparza Perusquía  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.10>

Recibido: 13 de marzo de 2024  
Revisado: 11 de abril de 2024  
Aceptado: 16 de mayo de 2024

### Resumen

La diabetes es una enfermedad crónica con un impacto significativo en la salud cardiovascular y metabólica de los pacientes. El sistema renina-angiotensina (SRA) participa en la patogénesis de la diabetes, específicamente en la resistencia a la insulina y las complicaciones cardiovasculares, metabólicas y trastornos mentales. Esta revisión se centra en cómo el ejercicio puede modular el SRA y transformarlo en un aliado en el manejo de la diabetes y sus múltiples complicaciones. Se analiza la interacción entre el ejercicio y el SRA, destacando cómo la regulación de este sistema mediante el ejercicio puede prevenir y/o revertir la resistencia a la insulina. La inhibición del SRA clásico con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) o antagonistas de los receptores tipo I a angiotensina II (ARAs), junto con la activación del eje contra-regulador ECA2/Ang-(1-7)/Mas, mejora la sensibilidad a la insulina, y disminuye la incidencia de complicaciones vasculares, metabólicas y mentales. Se enfatiza la importancia de un enfoque integral que considere tanto la salud física como la salud mental en la diabetes. Los hallazgos sugieren que el ejercicio físico debe ser un componente central en la

### Abstract

Diabetes is a chronic disease that significantly impacts patients' cardiovascular and metabolic health. The Renin-Angiotensin System (RAS) plays a crucial role in the pathogenesis of diabetes, particularly in insulin resistance and associated cardiovascular, metabolic, and mental disorders. This review focuses on how exercise can modulate the RAS and transform it into an ally in managing diabetes and its multiple complications. It analyzes the interaction between exercise and the RAS, highlighting how the regulation of this system through exercise and its benefits in preventing and/or reversing insulin resistance can offer substantial health benefits. Inhibition of the classic RAS with ACE inhibitors and ARBs, along with activation of the counter-regulatory ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis, improves insulin sensitivity, and reduces the incidence of vascular, metabolic, and mental complications. The importance of an integral approach that considers both physical and mental health in diabetes is emphasized. The findings suggest that physical exercise should be a central component in the prevention and management of insulin resistance and diabetes, not only for its impact on the glycemic and lipid profile but also for

prevención y el manejo de la resistencia a la insulina y la diabetes, no solo por su impacto en el perfil glucémico y lipídico, sino también por su influencia en la regulación del SRA. Este trabajo subraya la necesidad de comprender la interacción entre el ejercicio, el SRA y la resistencia a la insulina para optimizar el tratamiento de la diabetes y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

*Palabras claves:* ansiedad, depresión, diabetes, ejercicio, sistema renina-angiotensina.

its influence on the RAS regulation. This work underscores the need to understand the interaction between exercise, the RAS, and insulin resistance to optimize diabetes treatment and improve the quality of life for patients.

*Keywords:* Anxiety, Depression, Diabetes, Renin-Angiotensin System, Exercise.

## Introducción

La diabetes es una de las enfermedades crónicas no transmisibles con mayor prevalencia en el mundo, representando un desafío significativo en el ámbito de la salud pública. Actualmente, alrededor de 537 millones de adultos entre 20 y 79 años tienen diabetes, lo que representa el 9.3% de la población mundial, y se estima que para el 2030 la cantidad de diabéticos aumente a 643 millones y a 783 millones en 2045 (1). Además, la prevalencia ha aumentado más rápidamente en los países de ingresos bajos y medianos en comparación con los países de ingresos altos (2 - 4). Por otro lado, la diabetes es una de las principales causas de mortalidad y discapacidad en América. La carga en salud de la diabetes ha aumentado drásticamente en las últimas tres décadas, debido al aumento de la obesidad, dieta poco saludable y la exposición a factores de riesgo metabólicos, nutricionales y conductuales (5). En México se registraron 8.5 millones de diabéticos en 2021 (10.3% mayores de 20 años), lo que implica que esas personas tendrán deficiente calidad de vida por la aparición de complicaciones, disminuirá su esperanza de vida y aumentará su gasto familiar en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (1).

La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada por glucosa elevada en sangre, conocida como hiperglucemia. Esta condición resulta de un conjunto de trastornos metabólicos que involucran una producción deficiente o inexistente de insulina, y/o el organismo no puede utilizar de manera eficaz la insulina generada por el páncreas, fenómeno conocido como resistencia a la insulina. La insulina, una hormona esencial producida por las células  $\beta$  del páncreas, facilita el ingreso de glucosa del torrente sanguíneo hacia las células del organismo (tejido adiposo y músculo esquelético), a través del transportador Glut4, donde se metaboliza y una fracción se transforma en energía metabólica necesaria para el funcionamiento del cuerpo. Además, la insulina, que es una hormona anabólica, tiene una función crucial en el metabolismo de proteínas y lípidos. La ausencia de insulina, o una respuesta celular inadecuada a la misma, conduce a

una concentración alta de glucosa en sangre, un signo distintivo de la diabetes. A la fecha se desconoce la etiología exacta de la diabetes, aunque se han asociado factores de riesgo modificables y no modificables que están involucrados con el desarrollo de esta enfermedad. Entre los factores modificables se incluyen la dieta, la actividad física (disminuir el sedentarismo), los valores elevados de colesterol y triglicéridos (dislipidemias), la presión arterial alta, el sobrepeso y la obesidad. Mientras que, como factores no modificables se incluyen a la edad, el género, las mutaciones genéticas y la raza. En este sentido, se ha observado que ciertos grupos étnicos, como africanos, nativos de Alaska, poblaciones americanas (indígenas, mestizos), asiáticos y personas de ascendencia de las islas del Pacífico, tienen mayor riesgo de desarrollar diabetes (6).

Las investigaciones sugieren que la detección de la diabetes en sus etapas iniciales es poco frecuente, resaltando la importancia de promover el diagnóstico temprano. Adicionalmente, el manejo de la diabetes en pacientes de edad avanzada presenta grandes desafíos, ya que la concentración de glucosa en sangre en personas con diabetes aumenta con la edad, además de que la adherencia a los tratamientos terapéuticos suele ser menor, lo que incrementa el riesgo de complicaciones cardiovasculares en este grupo poblacional (3, 7).

## Tipos de diabetes

La Asociación Americana de la Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), han clasificado a la diabetes en 4 tipos principales (8, 9):

- **Diabetes tipo 1.** Enfermedad autoinmune que produce la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas, originando deficiencia absoluta de insulina. Este tipo se identifica frecuentemente en niños y adolescentes, quienes usan insulina para controlar su glucemia. Sin embargo, algunos adultos tienen un inicio insidioso llamado diabetes autoinmune latente en adultos (Diabetes tipo LADA), en la que la necesidad de insulina es mucho más tardía.

- **Diabetes tipo 2 (no autoinmune).** Se presenta debido a la pérdida progresiva de la síntesis/secreción de insulina por disfunción de las células  $\beta$  del páncreas. Este tipo de diabetes se diagnostica con mayor frecuencia en adultos, sin embargo, ahora también se presenta en niños, y está relacionada con la obesidad, la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico. El tratamiento incluye cambios en el estilo de vida (alimentación saludable y ejercicio), pero con frecuencia también requiere tratamiento farmacológico (hipoglucemiantes y/o insulina).
- **Diabetes gestacional.** Diagnosticada en el segundo o tercer trimestre del embarazo, que no era manifiesta antes de la gestación. Su tratamiento incluye cambios en el estilo de vida e insulina.
- **Otros tipos de diabetes.** Son tipos específicos de diabetes originados por otras causas, por ejemplo, síndromes de diabetes monogénica (como la diabetes neonatal y la diabetes de inicio en la madurez en los jóvenes), enfermedades del páncreas exócrino (como la fibrosis quística y la pancreatitis) y las inducidas por fármacos como el uso de glucocorticoides, anticonceptivos orales con estrógenos y progestágenos, antidepresivos tricíclicos, antipsicóticos atípicos, fármacos simpático-miméticos, inhibidores de la proteasa del VIH, estatinas y agentes inmunosupresores<sup>10</sup>. De estas, la diabetes tipo 2 es el tipo más común y representa el 90% de los casos de diabetes en todo el mundo (2).

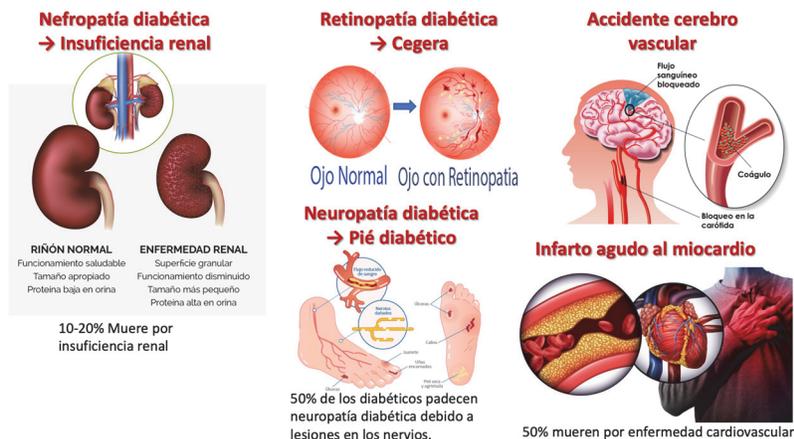
### Complicaciones debidas a la diabetes

La diabetes es un trastorno metabólico complejo con complicaciones a largo plazo, que afectan prácticamente todos los sistemas del cuerpo, resultando en complicaciones de salud incapacitantes y potencialmente mortales. Entre las complicaciones más destacadas se encuentran las microvasculares, como la nefropatía, que puede conducir a insuficiencia renal crónica y la necesidad de diálisis; la retinopatía, principal causa de ceguera en adultos en edad laboral; la neuropatía, que puede resultar en la pérdida de sensibilidad en las extremidades

inferiores, contribuyendo al desarrollo del pie diabético y aumentando el riesgo de amputaciones (Figura 1). Las complicaciones macrovasculares incluyen enfermedades cardiovasculares, como la cardiopatía isquémica, el accidente cerebrovascular y la enfermedad vascular periférica, que son la principal causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes con diabetes. Estas complicaciones son el resultado de un proceso aterosclerótico acelerado inducido por la hiperglucemia crónica, la dislipidemia, la hipertensión y la presencia de un estado proinflamatorio y protrombótico asociado a la diabetes (Figura 1) (3, 6, 9, 11).

Por otro parte, también la diabetes puede conducir a complicaciones metabólicas agudas, que consisten en hipoglucemia, cetoacidosis e hiperglucemia hiperosmolar no cetósica. Por otro lado, las mitocondrias están involucradas en el metabolismo de la glucosa y son la principal fuente de especies reactivas de oxígeno (ROS) en las células, y sus cambios están estrechamente relacionados con la glucemia, lo que puede causar estrés oxidativo. Se sabe que la hiperglucemia se produce por la producción excesiva de peróxido de hidrogeno en la cadena de transporte de electrones mitocondrial, y se cree que la presión oxidativa desempeña una función mediadora clave en el desarrollo de la diabetes y sus complicaciones, debido a la producción excesiva de radicales libres y la deteriorada capacidad antioxidante (9).

Por otro lado, existe una asociación bidireccional compleja y significativa entre la diabetes y los trastornos mentales, donde la presencia de uno puede aumentar la susceptibilidad y la gravedad del otro. Los pacientes con diabetes tienen un mayor riesgo de desarrollar una gama de trastornos mentales, incluyendo depresión, ansiedad, trastornos alimentarios o trastornos cognitivos. La depresión es la más común de estas comorbilidades psiquiátricas, afectando aproximadamente al doble a los diabéticos en comparación con la población general. Esta relación es particularmente preocupante debido a que la depresión puede afectar negativamente el autocuidado y el manejo de la diabetes, empeorando el control glucémico y aumentando el riesgo de complicaciones. La ansiedad también es prevalente



**Figura 1. Complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.** Estas representaciones subrayan el impacto sistémico de la diabetes en órganos y sistemas clave, resaltando la importancia de un manejo óptimo de la enfermedad para prevenir eventos adversos y mejorar los resultados clínicos.

en individuos con diabetes y puede manifestarse a través de la preocupación excesiva sobre el manejo de la enfermedad, el miedo a las complicaciones y la hipoglucemia. Los trastornos alimentarios, en particular, pueden presentarse como una conducta alimentaria desordenada, provocada por el estrés del manejo dietético continuo que requiere la diabetes. Los trastornos cognitivos, incluyendo la disminución en la velocidad de procesamiento cognitivo y la flexibilidad mental, también se observan con mayor frecuencia en la población diabética. La hiperglucemia crónica contribuye a la disfunción cognitiva y puede acelerar el declive cognitivo y la aparición de demencia (12). En este sentido, la diabetes y la enfermedad de Alzheimer también están potencialmente conectadas; investigaciones sugieren que las anomalías en la insulina cerebral, característicos de la diabetes tipo 2, podrían contribuir al desarrollo de Alzheimer. Este vínculo ha llevado a la conceptualización de la enfermedad de Alzheimer como una posible "diabetes tipo 3". La relevancia de este hallazgo radica en la posibilidad de estrategias terapéuticas que aborden tanto la resistencia a la insulina como la neurodegeneración (Figura 2) (13).

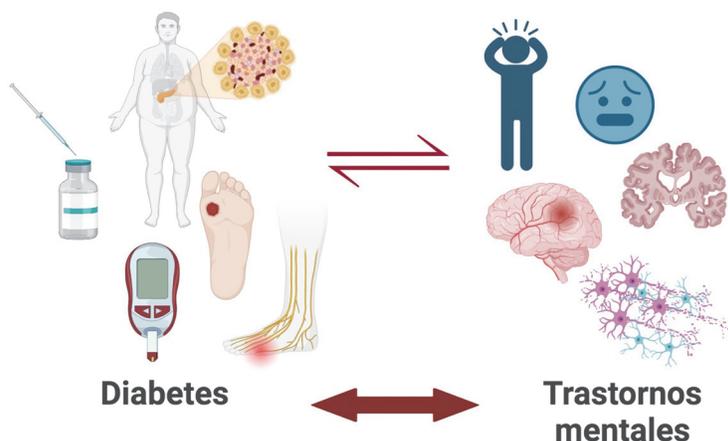
Las complicaciones de la diabetes se pueden retrasar o prevenir con un estilo de vida saludable como actividad física, dieta balanceada y un tratamiento farmacológico adecuado. En el caso de diabetes tipo 1 se requiere insulina, mientras que la diabetes tipo 2 puede controlarse mediante cambios en el estilo de vida; aunque, si las modificaciones en el estilo de vida no son efectivas, los pacientes pueden requerir tratamiento farmacológico (hipoglucemiantes orales y/o insulina).

### Factores de riesgo y manejo de la resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina puede aumentar la síntesis de triacilglicéridos generando hígado graso, además es responsable de estimular la producción de adipocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina-6, y suprime a las enzimas reguladoras implicadas en la gluconeogénesis alterando así la homeostasis de la glucosa hepática y la lipogénesis de novo (14). De ahí que la resistencia a la insulina es fundamental en el desarrollo y progresión de patologías metabólicas como la diabetes, el síndrome metabólico y el de ovario poliquístico, la hipertensión, ciertos tumores y el hígado graso no alcohólico, por lo que es importante conocer sus factores de riesgo.

Esta condición es influenciada por múltiples factores de riesgo: la obesidad, con su alta liberación de citocinas proinflamatorias y adipocinas, y un estilo de vida sedentario, deteriorando la señalización de la insulina. Además, la genética y desequilibrios hormonales, como el síndrome de ovario poliquístico y el síndrome de Cushing, pueden agravar la resistencia a la insulina.

La resistencia a la insulina aumenta con la edad, así como por el uso de ciertos medicamentos, problemas de sueño, lo cual se exagera por el consumo de dietas poco equilibradas, lo cual es motivo de alarma debido a los cambios fisiológicos asociados al envejecimiento. Por ende, es fundamental reducir estos factores de riesgo para prevenir la diabetes tipo 2 y sus complicaciones cardiovasculares. Esto subraya la necesidad de enfocarse en la prevención y una gestión proactiva



**Figura 2. Interrelación entre diabetes y trastornos mentales.** El esquema representa la interconexión entre la diabetes y los trastornos mentales, sugiriendo una relación bidireccional entre las dos condiciones, donde la diabetes puede exacerbar problemas de salud mental y viceversa, cómo en el Alzheimer, frecuentemente referida como "diabetes del cerebro" o "diabetes tipo 3", destacando la relevancia de una comprensión integrada para mejorar las estrategias de tratamiento y prevención. Modificada de 12 y 61. Imagen creada en BioRender.com

para combatir la resistencia a la insulina en el ámbito de la medicina y salud pública (Figura 3) (15).

Es importante destacar que el tratamiento de la resistencia a la insulina no solo puede prevenir la diabetes tipo 2, sino que también puede mejorar la salud en general y reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Entre las estrategias terapéuticas para combatir a la resistencia a la insulina se incluyen, principalmente, cambios en el estilo de vida como el ejercicio y alimentación saludable. Si dichos cambios son insuficientes, se incluyen tratamientos farmacológicos como biguanidas, agonistas del péptido-1 similar al glucagón (GLP-1) (15, 16), y fármacos que inhiben el sistema renina-angiotensina (SRA) como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) o los antagonistas del receptor tipo 1 de angiotensina II (ARAs). Por lo que es fundamental que los pacientes con resistencia a la insulina reciban un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado para prevenir complicaciones.

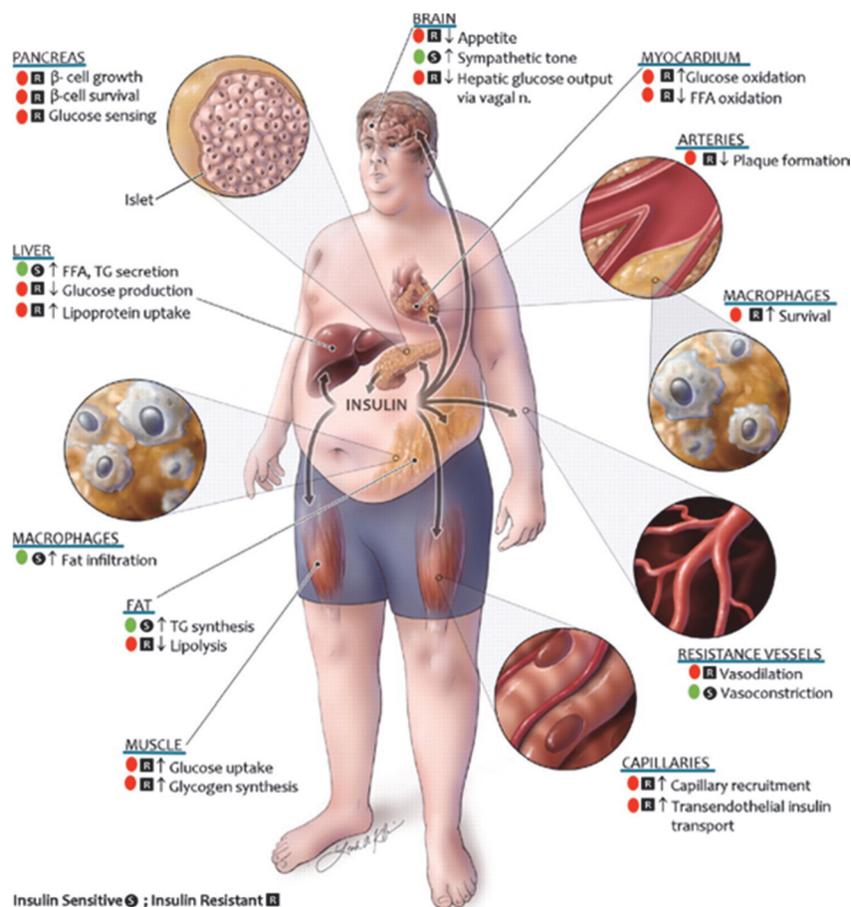
#### **Sistema renina-angiotensina en la dinámica de la resistencia a la insulina y su impacto en la diabetes**

El SRA es reconocido por regular la presión arterial y el equilibrio de fluidos y hay evidencias que muestran su participación en la génesis y progresión de la resistencia a la insulina y la diabetes (17, 18).

Clásicamente, el SRA se basa en la conversión de angiotensina I (Ang I) en angiotensina II (Ang II) a través de la acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), seguida de la unión de la Ang II a su receptor tipo 1, constituyendo así al eje ECA/Ang II/AT1. Este eje clásico es el responsable de

promover la inflamación, el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina (19, 20). En la visión actual del SRA existe un eje contrarregulador, que involucra una enzima similar a la ECA, denominada ECA2, quien metaboliza a la Ang I (indirectamente) o a la Ang II (directamente) para producir angiotensina-(1-7), que se une al receptor Mas (Figura 4). El eje ECA2/(Ang-(1-7)/Mas induce respuestas opuestas a los efectos nocivos de la hiperactividad del eje clásico del SRA, particularmente mejorando la sensibilidad a la insulina (21, 22).

La comorbilidad de diabetes con hipertensión, retinopatía, nefropatía o enfermedad cardiovascular ha implicado al SRA en la génesis y la progresión de estas complicaciones durante la evolución de la diabetes (23, 24). Esta participación ha sido demostrada por ensayos clínicos, los que demuestran que la inhibición del SRA (con IECAs y ARAs) disminuyen la incidencia de complicaciones vasculares en diabéticos. La Ang II, el mediador primario del SRA, ejerce diversos efectos perjudiciales en individuos con diabetes, incluyendo el aumento de la resistencia a la insulina, el daño endotelial y el deterioro de la función renal (24, 25). Además de los efectos sistémicos, la actividad del SRA también se puede observar de forma local, en diversas células y tejidos, incluyendo neuronas, glía, corazón, tejido adiposo, músculo esquelético, hígado, riñón, etc. Se ha reportado que el balance entre los ejes del SRA, ECA/Ang II/AT1 y ECA2/Ang-(1-7)/Mas, es crucial para regular numerosos procesos fisiológicos como la respuesta inmune, la función respiratoria, la función gastrointestinal, la salud cardiovascular, el metabolismo, entre otras (26).



**Figura 3. Efectos fisiológicos de la insulina.** Efectos fisiológicos en condiciones de homeostasis (sensibilidad a la insulina; etiquetados en verde) y en estados de resistencia a la insulina (etiquetados en rojo). TG indica triglicéridos; FFA ácidos grasos libres; FAT tejido adiposo. Modificada de 62.

Es importante resaltar que en la literatura se ha demostrado que los IECAs y los ARAs incrementan la expresión de la ECA2 (27) y, en consecuencia, aumentan significativamente la producción sistémica y/o local de Ang-(1-7) (28). Estos hallazgos han llevado a proponer que algunos de los beneficios de los IECAs y los ARAs pueden estar mediados por el eje contrarregulador del SRA (29).

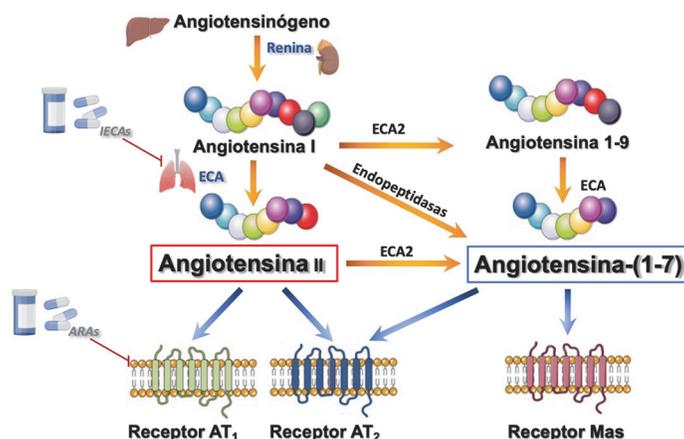
### El ejercicio como regulador del sistema renina angiotensina para contrarrestar la resistencia a la insulina

El ejercicio físico es un pilar fundamental en el manejo de la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. Más allá del control glucémico y la mejora en el perfil lipídico, proporciona beneficios significativos, tales como la reducción de la resistencia a la insulina y el aumento de la capacidad aeróbica, la fuerza muscular, la composición corporal y la función endotelial (30). La actividad física regula el SRA, beneficiando la salud cardiovascular y metabólica (31). Aunque los mecanismos involucrados en estos

beneficios se siguen explorando, se ha reportado que el ejercicio disminuye la actividad del SRA, reduciendo la producción de renina y la liberación de Ang II, lo que tiene un impacto positivo en la salud cardiovascular (32).

El ejercicio induce adaptaciones en el tejido muscular y adiposo, como el incremento en la expresión o actividad de las proteínas involucradas en la transducción de señales de la insulina (33) y de transportadores de glucosa tipo 4 (Glut4) en el músculo (34), potenciando la captación y utilización de glucosa, además, favorece la oxidación de ácidos grasos y mejora el perfil de lípidos, lo que puede prevenir o revertir la resistencia a la insulina.

La activación crónica del eje SRA clásico, caracterizada por el aumento en la concentración de Ang II, se asocia con la resistencia a la insulina (14); mientras que la activación del eje SRA no clásico, y en particular el aumento de Ang-(1-7), ha demostrado mejorar la sensibilidad a la insulina (31). En este sentido, estudios muestran que la actividad física



**Figura 4.** Vías enzimáticas del sistema renina-angiotensina. Vías enzimáticas de la síntesis de Ang II y Ang-(1-7), y sus receptores específicos, así como los blancos farmacológicos para inhibir el eje clásico (ECA/Ang II/AT1) del SRA a través de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) y de los antagonistas del receptor de angiotensina II tipo 1 (ARAs). Modificada de 63.

regula a la baja el eje ACE/Ang II/AT1 y regula al alza el eje ACE2/Ang-(1-7)/Mas en diversos tejidos, como en los músculo cardíaco y esquelético e hígado (36). Este cambio favorece la vasodilatación mediada por insulina, el reclutamiento microvascular y el transporte transendotelial de insulina al intersticio muscular, aumentando la captación de glucosa estimulada por insulina en el músculo esquelético (37), y en hígado contribuye a reducir la progresión del hígado graso no alcohólico (36).

Por lo tanto, el ejercicio puede considerarse como una herramienta terapéutica, no farmacológica, en el manejo de la resistencia a la insulina asociada a complicaciones de la diabetes a través de modular al SRA.

#### El ejercicio como regulador del sistema renina-angiotensina para contrarrestar el dolor neuropático

El dolor neuropático es una alteración del sistema sensorial somático que involucra sensaciones de hormigueo, ardor e inflamación y habitualmente se trata con fármacos. Los pacientes que cursan con dolor neuropático experimentan síntomas como hiperalgesia (respuesta exacerbada ante un estímulo doloroso), alodinia (dolor causado por un estímulo inocuo, por ej. tocamiento ligero) y dolor espontáneo (sensaciones eléctricas y quemantes, hormigueo y entumecimiento). Estos individuos también presentan trastornos del sueño, ansiedad y depresión, causando un impacto negativo en su calidad de vida (38).

La resistencia a la insulina, distintiva de la diabetes tipo 2, está asociada con el desarrollo del dolor neuropático en pacientes diabéticos. Los receptores de insulina en los nervios periféricos, que facilitan las funciones neurotróficas y neuroprotectoras de la insulina más allá de su papel

en la regulación de la glucosa sistémica, son esenciales en la patogénesis del dolor neuropático. Por lo tanto, mejorar la sensibilidad a la insulina a nivel neural podría atenuar el dolor neuropático en pacientes diabéticos. Así, estudios han demostrado que un mejor control en la glucemia, que implica el incremento de la sensibilidad a la insulina, puede ralentizar la progresión de la neuropatía en la diabetes tipos 1 y 2. Sin embargo, es crucial reconocer que, además de la resistencia a la insulina, otros factores como la hiperglucemia crónica (que genera glucotoxicidad en el sistema nervioso) también desempeña un papel significativo en la evolución y severidad de la neuropatía diabética y el dolor asociado (39). En otras palabras, mejorar la sensibilidad a la insulina en los nervios periféricos puede tener un potencial terapéutico para reducir el dolor neuropático en pacientes diabéticos, aunque es fundamental considerar la naturaleza multifactorial de la neuropatía y el aporte de otros factores en su desarrollo y progresión. En este sentido, en la búsqueda de alternativas terapéuticas se ha visto que el ejercicio reduce la alodinia y la hiperalgesia en humanos con diabetes y en modelos animales de dolor neuropático (40 - 44). En línea con esta idea, Echeverría-Rodríguez y colaboradores (43), demostraron que una sesión de ejercicio revirtió temporalmente la alodinia inducida por la ligadura de los nervios espinales lumbares L5 y L6 en rata, y que el ejercicio crónico normalizó el umbral de nocicepción en las ratas neuropáticas. En ese mismo estudio, también se demostró que la Ang-(1-7) participa en el efecto antialodínico inducido por el ejercicio agudo y crónico en ratas con dolor neuropático (43), reforzando con ello las evidencias previas sobre la eficacia del ejercicio como estrategia terapéutica para el tratamiento del dolor neuropático (45 - 46).

### El ejercicio como regulador del sistema renina-angiotensina para contrarrestar los trastornos mentales (Propuesta)

Aunque aún no se comprenden por completo los mecanismos por los cuales el ejercicio puede reducir la aparición y/o progresión de afecciones de salud mental, está demostrado que es útil para prevenir y tratar algunos trastornos como la depresión y la ansiedad (47). La actividad física disminuye los efectos negativos de la depresión y mejora el bienestar general, incluyendo la satisfacción con la vida y el estado de ánimo (48). También se asocia con un mejor autoconcepto e imagen corporal (49). En individuos con trastornos mentales graves, el ejercicio puede mejorar la función física y la salud general (50). La actividad física regular se vincula con un mayor bienestar mental y tiene efectos preventivos sobre la depresión, los trastornos de ansiedad y los trastornos del sueño (51). Además, el ejercicio también puede tener efectos antidepresivos y mejora en los síntomas de los trastornos antidepresivos, y mejorar los síntomas en los trastornos de ansiedad y esquizofrenia (52). Por lo tanto, promover el ejercicio debería ser una recomendación constante como tratamiento y medida preventiva para los trastornos mentales, enfatizando su promoción en la práctica psiquiátrica clínica.

Es fundamental reconocer que la actividad física, a través del movimiento corporal, provoca gasto energético y, cuando se estructura como ejercicio frecuente o rutinario, promueve beneficios en la salud pública, previniendo y/o tratando una gran variedad de condiciones, incluyendo alteraciones cardiovasculares, metabólicas y de salud mental (49, 53 - 54). Por otro lado, la hiperactividad del SRA, que induce hipertensión, también favorece alteraciones asociadas a la salud mental como depresión, ansiedad (2 condiciones de alta prevalencia y morbilidad en el mundo) (55) y adicciones (56), a través de neuroinflamación y estrés oxidativo, y también se ha relacionado con suicidio (55, 57). Así, surge la hipótesis de que el ejercicio físico, al modular el eje ECA2/Ang (1-7)/Mas, podría ser una terapia no farmacológica eficaz para prevenir, disminuir y/o revertir algunos trastornos emocionales como la depresión, la ansiedad, la esquizofrenia y el déficit de atención (58 - 60). Así, la propuesta de esta revisión incluye invitar a individuos aparentemente sanos (física y mentalmente) como a aquellos con alguna alteración mental de las descritas, y en ellos determinar las concentraciones sanguíneas de Ang II y de Ang-(1-7), antes y después de una sesión de ejercicio intenso (condición aguda) o tras varios días de ejercicio moderado constante. Se esperaría obtener un aumento de Ang-(1-7) y una disminución de Ang II al final del

periodo de ejercicio, lo que soportaría la hipótesis de que el SRA alterno (ECA2/Ang-(1-7)/Mas) modifica el estado emocional de los individuos.

### Agradecimientos:

Los autores agradecen a la DGAPA, UNAM, por el apoyo otorgado a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) a los proyectos IN221123-IAGO y IN210222-RVM.

### Referencias

1. Gobierno de México. 14 de noviembre. Día Mundial de la Diabetes. Disponible en: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/14-de-noviembre-dia-mundial-de-la-diabetes-319474?state=published>. Accedido el 9 de Febrero 2024.
2. International Diabetes Federation. Atlas de la Diabetes de la FID (2020) Disponible en: [https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133352\\_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf](https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf)
3. Russo, M.P., Grande-Ratti, M.F., Burgos, M.A., Molaro, A.A., and Bonella, M.B. (2023) Prevalence of diabetes, epidemiological characteristics and vascular complications. *Arch. Cardiol. Mex.* 93(1), 30-36.
4. WHO. Diabetes. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Accedido el 9 de Febrero 2024
5. PAHO. The burden of Diabetes mellitus in the Region of the Americas, 2000-2019. Pan American Health Organization. 2021. Disponible en: <https://www.paho.org/en/enlace/burden-disease-diabetes>. Accedido el 9 de Febrero 2024.
6. Ibrahim, N.A.B. (2023) An Introduction to Diabetes. *Frontiers in Health Informatics*, 12, 129.
7. Chen-Ku, C.H., Gonzalez-Galvez, G., Vásquez, M., Fuente, G., Nakazone, M.A., Giordano, A.I.S., and de Sa Pereira, M.H. (2019) Vascular Complications in Patients with Type 2 Diabetes: Prevalence and Comorbidities in 6 Countries of Latin America (a Cohort of the Discover Study Program). *Endocr. Pract.* 25(10), 994-1002.
8. ElSayed, N.A., Aleppo, G., Aroda, V.R., Bannuru, R.R., Brown, F.M., Bruemmer, D., Collins, B.S., Hilliard, M.E., Isaacs, D., Johnson, E.L., Kahan, S., Khunti, Leon, J., Lyons, S.K., Perry, M.L., Prahallad, P., Pratley, R.E., Seley, J.J., Stanton, R.C., and Gabbay, R.A. (2023) 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023, *Diabetes Care.* 46(Suppl 1), S19-S40.
9. Franjić, S. (2023) Complications in Diabetes are Serious Disorders in Tissues and Organs. *Annals of Urology & Nephrology.* 3(5).
10. Vanya V.U. (2021) Drug Induced Diabetes. *J. Clin. Pharm. Res.* 1(3), 57-60.
11. Reddy, P.H. (2017) Can diabetes be controlled by lifestyle activities? *Curr. Res. Diabetes. Obes. J.* 1(4), 555568.

12. Abrahamian, H., Kautzky-Willer, A., Rießland-Seifert, A., Fasching, P., Ebenbichler, C., Kautzky, A., Hofmann, P., and Toplak, H. (2023) Mental disorders and diabetes mellitus (Update 2023). *Wien. Klin. Wochenschr.* 131(Suppl 1), 186-195.
13. Janoutová, J. Machaczka, O., Zatloukalová, A., and Janout, V. (2022) Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? *Cent. Eur. J. Public. Health.* 30(3), 139-143.
14. Frantz, E.D.C., Medeiros, R.F, Gomes Giori, I., Silveira Lima, J.B., Bento-Bernardes, T., Gaique, T.G. Fernandes-Santos, C., Fernandes, T., Menezes Oliveira, E., Paulo Vieira, C., Conte-Junior, C.A., Oliveira, K.J., and Nobrega, A.C.L. (2017). Exercise Training Modulates the Hepatic Renin-Angiotensin System in Fructose-Fed Rats. *Exp. Physiol.* 102(9), 1208-1220.
15. Zhao, X., An, X., Yang, C., Sun, W., Ji, H., and Lian, F. (2023). The Crucial Role and Mechanism of Insulin Resistance in Metabolic Disease. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 14, 1149239.
16. Rojas-Henao, N.A., and Granados-Vega, E.J. (2018). Glucagon Like Peptide 1 Receptor Agonists: A Therapy for Diabetes Management. *Rev. CES. Med.* 32(1), 23-30.
17. Perkins, J.M., and Davis, S.N. (2008) The renin-angiotensin-aldosterone system: a pivotal role in insulin sensitivity and glycemic control. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 15, 147-152.
18. Putnam, K., Shoemaker, R., Yiannikouris, F., and Cassis, L.A. (2012) The renin-angiotensin system: a target of and contributor to dyslipidemias, altered glucose homeostasis, and hypertension of the metabolic syndrome. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 302(6), H1219-H1230.
19. Velloso, L.A., Folli, F., Perego, L., and Saad, M. J. (2006) The multi-faceted cross-talk between the insulin and angiotensin II signaling systems. *Diabetes. Metab. Res. Rev.* 22(2), 98-107.
20. Santos, R.A., Ferreira, A.J., and Simões e Silva, A.C. (2008) Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin-(1-7)-Mas axis. *Exp. Physiol.* 93(5), 519-527.
21. Cao, X., Yang, F.Y., Xin, Z., Xie, R.R., and Yang, J.K. (2014). The ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis can inhibit hepatic insulin resistance. *Mol. Cell. Endocrinol.* 393(1-2), 30-38.
22. Giani, J.F., Mayer, M.A., Muñoz, M.C., Silberman, E.A., Höcht, C., Taira, C.A., Gironacci, M.M., Turyn, D., and Dominici, F.P. (2009) Chronic infusion of angiotensin-(1-7) improves insulin resistance and hypertension induced by a high-fructose diet in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296(2), E262-E271.
23. Das, U.N. (2016) Renin-angiotensin-aldosterone system in insulin resistance and metabolic syndrome. *J. Transl. Int. Med.* 4(2), 66-72
24. Simões e Silva, A.C., Ferreira, R.N., and Miranda, A.S. (2017) The renin angiotensin system and diabetes. In Kartha, C., Ramachandran, S., Pillai, R. (eds.) *Mechanisms of Vascular Defects in Diabetes Mellitus. Advances in Biochemistry in Health and Disease*, vol. 17. Springer, Cham.
25. Motoshima, H., and Araki, E. (2012) RAAS and insulin resistance. *Nihon. Rinsho.* 70(9), 1542-9.
26. Paul, M., Poyan Mehr, A., and Kreutz, R. (2006). Physiology of Local Renin-Angiotensin Systems. *Physiol. Rev.* 86(3), 747-803.
27. Sukumaran, V., Veeraveedu, P.T., Gurusamy, N., Yamaguchi, K., Lakshmanan, A.P., Ma, M., Suzuki, K., Kodama, M., and Watanabe, K. (2011) Cardioprotective effects of telmisartan against heart failure in rats induced by experimental autoimmune myocarditis through the modulation of angiotensin-converting enzyme-2/angiotensin 1-7/Mas receptor axis. *Int. J. Biol. Sci.* 7(8), 1077-1092.
28. Iyer, S.N., Ferrario, C.M., and Chappell, M.C. (1998) Angiotensin-(1-7) contributes to the antihypertensive effects of blockade of the renin-angiotensin system. *Hypertension.* 31(1 Pt 2), 356-361.
29. Iyer, S.N., Chappell, M.C., Averill, D.B., Diz, D.I. and Ferrario, C.M., (1998). Vasodepressor Actions of Angiotensin-(1-7) Unmasked During Combined Treatment with Lisinopril and Losartan. *Hypertension.* 31(2), 699-705.
30. Keshel, T.E., and Coker, R.H. (2015) Exercise training and insulin resistance: A current review. *J. Obes. Weight. Loss. Ther.* 2015 5(Suppl 5), S5-003.
31. Echeverría-Rodríguez, O., Gallardo-Ortiz, I.A., Del Valle-Mondragón, L., and Villalobos-Molina, R. (2020) Angiotensin-(1-7) participates in enhanced skeletal muscle insulin sensitivity after a bout of exercise. *J. Endocr. Soc.* 4(2), bvaa007.
32. Dimeo, F., Pagonas, N., Seibert, F., Arndt, R., Zidek, W., and Westhoff, T.H. (2012) Aerobic exercise reduces blood pressure in resistant hypertension. *Hypertension.* 60(3), 653-658.
33. Hawley, J.A. (2004) Exercise as a therapeutic intervention for the prevention and treatment of insulin resistance. *Diabetes. Metab. Res. Rev.* 20(5), 383-393.
34. García-Hermoso, A., Saavedra, J.M., Escalante, Y., Sánchez-López, M., Martínez-Vizcaino, V. (2014) Endocrinology and Adolescence: aerobic exercise reduces insulin resistance markers in obese youth: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Endocrinol.* 171(4), R163-R171.
35. Pedersen, B.K., and Febbraio, M.A. (2012) Muscles, exercise and obesity: Skeletal muscle as a secretory organ. *Nat. Rev. Endocrinol.* 8(8), 457-465.
36. Fiorino, P., and Evangelista, F.S. (2014) Complications of type 1 diabetes mellitus are associated with renin angiotensin system: The role of physical exercise as therapeutic tool. *Pancreatic disorders & therapy.* 4, 1-7.
37. Wagenmakers, A.J.M., Strauss, J.A., Shepherd, S.O., Keske, M.A., and Cocks, M. (2016). Increased muscle blood supply and transendothelial nutrient and insulin transport induced by food intake and exercise: effect of obesity and ageing. *J. Physiol.* 594(8), 2207-2222.
38. Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A.H., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N.B., Eccleston, C., Kalso, E., Bennett, D.L. Dworkin, R.H., and Raja, S.N. (2017) *Nat. Rev. Dis. Primers.* 3, 17002.
39. Calcutt, N.A. (2020) Diabetic neuropathy and neuropathic pain: A (con)fusion of pathogenic mechanisms? *Pain.* 161(Suppl 1), S65-S86.

40. Hamed, N.S., and Raof, N.A. (2014) Effect of high intensity interval training on diabetic obese women with polyneuropathy: A randomized controlled clinical trial. *Physical Therapy and Rehabilitation.* 1(4), 2055-2386.
41. Kluding, P.M., Pasnoor, M., Singh, R., Jernigan, S., Farmer, K., Rucker, J., Sharma, N.K., and Wright, D.E. (2012) The effect of exercise on neuropathic symptoms, nerve function, and cutaneous innervation in people with diabetic peripheral neuropathy. *J. Diabetes Complications.* 26(5), 424-429.
42. Stanford, K.I. and Goodyear, L.J. (2014) Exercise and type 2 diabetes: Molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Adv. Physiol. Educ.* 38(4), 308-314.
43. Echeverría-Rodríguez, O., Godínez-Chaparro, B., Gómez-García, M.V., Mata-Bermúdez, A., Del Valle-Mondragón, L., Gallardo-Ortiz, I.A., and Villalobos-Molina, R. (2021). Participation of Angiotensin-(1-7) in Exercise-Induced Analgesia in Rats with Neuropathic Pain. *Peptides.* 146, 170670.
44. Leitzelar, B.N. and Koltyn, K.F. (2021). Exercise and Neuropathic Pain: A General Overview of Preclinical and Clinical Research. *Sports Med. Open.* 7(1), 21.
45. Cooper, M.A., Kluding, P.M., and Wright, D.E. (2016) Emerging relationships between exercise, sensory nerves, and neuropathic pain. *Front. Neurosci.* 10, 372.
46. Kami, K., Tajima, F., and Senba, E. (2017) Exercise-induced hypoalgesia: Potential mechanisms in animal models of neuropathic pain. *Anat. Sci. Int.* 92(1), 79-90.
47. Marconcin, P., Rúbio Gouveia, É., de Maio Nascimento, M., Ferrari, G., and Marques, A. (2023). Mental Health Conditions and Exercise, Chapter 5, In *Mental Health-Preventive Strategies*, IntechOpen: London, UK (2023). doi: 10.5772/intechopen.111505
48. Li, C., Ning, G., Xia, Y., and Liu, Q. (2022). Health benefits of physical activity for people with mental disorders: From the perspective of multidimensional subjective wellbeing. *Front. Psychiatry.* 13, 105.
49. Mahindru, A., Patil, P., and Agrawal, V. (2023). Role of Physical Activity on Mental Health and Well-Being: A Review. *Cureus,* 15(1), e33475.
50. Brobakken, M.F., Nygård, M., and Wang, E. (2022). Physical Health Impairment and Exercise as Medicine in Severe Mental Disorders: A Narrative Review. *Sports Med. Open.* 8, 115.
51. Imboden, C., Claussen, M. C., Seifritz, E., and Gerber, M. (2022) The importance of physical activity for mental health. *Praxis (Bern 1994).* 110(4), 186-191.
52. Kim, M., Lee, Y., and Kang, H. (2023) Effects of exercise on positive symptoms, negative symptoms, and depression in patients with schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 20(4), 3719.
53. Guo, Z., and Zhang, Y. (2022) Study on the interactive factors between physical exercise and mental health promotion of teenagers. *J. Healthc. Eng.* 4750133.
54. Schuch, F.B. and Vancampfort, D. (2021). Physical activity, exercise, and mental disorders: it is time to move on. *Trends Psychiatry Psychother.* 43(3), 177-184.
55. Gong, S. and Deng, F. (2023). Renin Angiotensin System: The Underlying Mechanisms and Promising Therapeutic Target for Depression and Anxiety. *Front. Immunol.* 13, 1053136.
56. Oros-González, A., Gallardo-Ortiz, I.A., Montes, S., Del Valle-Mondragón, L., and Páez-Martínez, N. (2022) Captopril and losartan attenuate behavioural sensitization in mice chronically exposed to toluene. *Behav. Brain Res.* 418, 113640.
57. Sanches, M. and Teixeira, A.L. (2021). The Renin-Angiotensin System, Mood, and Suicide: Are there Associations? *World J. Psychiatry.* 11(9), 581-588.
58. Mehren, A., Reichert, M., Coghill, D., Müller H.H.O, Braun, N., and Philipsen, A. (2020) Physical exercise in attention deficit hyperactivity disorder - evidence and implications for the treatment of borderline personality disorder. *Borderline Personal Disord. Emot. Dysregul.* 7, 1.
59. Viljoen, M., and Roos, J. (2020) Physical exercise and the patient with schizophrenia. *Aust. J. Gen. Pract.* 49(12), 803-808.
60. Girdler, S.J., Confino, J.E., and Woesner, M.E. (2019) Exercise as a treatment for schizophrenia: A review. *Psychopharmacol. Bull.* 49(1), 56-69.
61. Janoutová, J., Machaczka, O., Zatloukalová, A., & Janout, V. (2022). Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? A review. *Central European journal of public health,* 30(3), 139-143.
62. Rask-Madsen, C., and Kahn, C. R. (2012). Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32(9), 2052-2059.
63. Passos-Silva, D.G., Verano-Braga, T., and Santos, R.A. (2013). Angiotensin-(1-7): beyond the cardio-renal actions. *Clinical science (London, England: 1979),* 124(7), 443-456.



**Dra. Itzell A. Gallardo Ortíz**  
**ORCID: 0000-0003-3879-0821**

La Dra. Gallardo es profesora de Carrera en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FESI-UNAM) y se encuentra ubicada en la Unidad de Biomedicina. La

Dra. es Químico Farmacéutico Biólogo por la Universidad Veracruzana. Estudió la Maestría en Ciencias en el área de Farmacología en el CINVESTAV-IPN y el Doctorado en Ciencias en Investigación en Medicina en la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Desde el 2006 ha impartido docencia en las Carreras de Médico Cirujano y Enfermería en la FESI-UNAM. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel II, ha publicado diversos artículos internacionales y nacionales con más de 500 citas, 2 capítulos en libros, 2 patentes otorgadas y ha titulado alumnos de licenciatura, maestría y doctorado. Es miembro activo de la Sociedad Americana de Fisiología (APS) y de la Sociedad Americana de Farmacología y Terapéutica Experimental (ASPET). Durante sus estudios y hasta ahora, su línea de investigación se relaciona con el discernimiento de los mecanismos involucrados en la comunicación entre la Angiotensina II y los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos en el desarrollo de la hipertrofia vascular y cardíaca durante la hipertensión arterial.





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Creando tumores en el laboratorio

### Creating tumors in the laboratory

Espinosa Castilla, Magali ; Ceballos Cancino, Gisela.

Laboratorio de Genómica Funcional del Cáncer, Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).

✉ Periférico Sur 4809, Arenal Tepepan, Tlalpan, 14610 Ciudad de México, CDMX.  
Tel. +52 (55) 5350 1900 Ext 1967, [mespinosa@inmegen.gob.mx](mailto:mespinosa@inmegen.gob.mx)

Editor responsable: Noemi Meraz Cruz  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.11>

Recibido: 20 de abril de 2024  
Revisado: 15 de mayo de 2024  
Aceptado: 24 de mayo de 2024

#### Resumen

El cáncer es un grupo de enfermedades que se caracterizan por el crecimiento y la proliferación descontrolada de células anormales. Estos cambios en las células les permiten crecer, formar tumores, invadir y metastatizar a otros sitios del cuerpo. Además de los cambios en las células, el microambiente tumoral también tiene un papel importante en el comportamiento del tumor, lo que hace al estudio del cáncer un tema desafiante. Algunos de los modelos que utilizamos para “crear tumores en el laboratorio”, son los esferoides tumorales multicelulares y la microinyección en el pez cebra. Los esferoides son un modelo in vitro que recrea a los tumores en sus etapas iniciales, y la microinyección de células de cáncer en el pez cebra nos proporciona un entorno in vivo para analizar su comportamiento. De esta manera los modelos in vitro e in vivo nos permiten estudiar las relaciones entre las células y las relaciones de estas con su ambiente, para así, proponer opciones de tratamientos más dirigidos y seguros, y contribuir en el pronóstico y/o diagnóstico del cáncer.

*Palabras claves: cáncer, esferoides tumorales multicelulares, pez cebra, xenoinjertos*

#### Abstract

Cancer is a group of diseases characterized by the uncontrolled growth and proliferation of abnormal cells. These changes in the cells allow them to grow, form tumors, invade and metastasize to other sites in the body. In addition to changes in cells, the tumor microenvironment also plays an important role in tumor behavior, making the study of cancer a challenging topic. Some of the models we use to “create tumors in the lab” are multicellular tumor spheroids and microinjection in zebrafish. Spheroids are an in vitro model that recreates tumors in their early stages, and microinjection of cancer cells into zebrafish provides us with an in vivo environment to analyze their behavior. In this way, in vitro and in vivo models allow us to study the relationships between cells and their relationships with their environment, in order to propose more targeted and safer treatment options, and to contribute to the prognosis and/or diagnosis of cancer.

*Keywords: Cancer, multicellular tumoral spheroids, zebrafish, xenograft*

## Introducción

### Cáncer

El cáncer es una enfermedad compleja y heterogénea que abarca un conjunto diverso de más de 100 enfermedades, cada una con características únicas en términos de origen, desarrollo, comportamiento clínico y respuesta a los tratamientos. Los diferentes tipos de cáncer se originan a partir de células con una división celular descontrolada, algunas de estas células tienen la capacidad de invadir tejidos normales y esparcirse a lugares diferentes al de su origen [1].

A lo largo del desarrollo del cáncer, las células cancerígenas adquieren una serie de características biológicas comunes que les confieren capacidades hasta alcanzar un grado tumorigénico y finalmente maligno [2].

Estas características le confieren a la célula ventajas adaptativas como: la inestabilidad genómica, la evasión del sistema inmune, una respuesta inflamatoria generadora de tumores, independencia de señales de proliferación y crecimiento, la evasión de señales de arresto del ciclo celular y de la apoptosis (muerte celular programada), la modificación del metabolismo, la invasión y la metástasis (migración de células a un tejido diferente al de su origen), y la angiogénesis (formación de nuevo tejido vascular) [2].

### Desarrollo tumoral

El desarrollo del cáncer implica la acumulación progresiva de cambios genéticos y epigenéticos en una célula que promuevan la carcinogénesis, es decir, la formación y el desarrollo de tumores malignos. Estos cambios afectan a genes clave, oncogenes y genes supresores de tumor, y alteran su función de manera que contribuyen a la adquisición de las características biológicas del cáncer. Después de que la célula adquiere mutaciones que la convierten en cancerígena, comienza a proliferar de una manera descontrolada, formando una población de células anormales, pero que pueden parecer morfológicamente normales en una etapa temprana. Esta fase inicial de proliferación celular anormal, se conoce como hiperplasia [3].

A medida que las células continúan proliferando y se siguen acumulando daños en el genoma y en el epigenoma, puede ocurrir la displasia, lo que resulta en células con forma anormal y una estructura anómala.

Las células displásicas continuarán proliferando, su apariencia se volverá más anormal y la estructura del tejido estará perturbada. Este proceso da lugar a la formación de una neoplasia o tumor, que es un término general para describir un crecimiento anormal de células. Si la neoplasia permanece confinada dentro de los límites del tejido donde se originó y no invade ni

se extiende a tejidos circundantes, se le llama carcinoma *in situ*.

Finalmente, si los cambios genéticos y epigenéticos lo permiten, el tumor empezará a invadir el tejido adyacente e ingresará al torrente sanguíneo; las células que logren escapar tendrán la capacidad de establecer nuevos tumores en otras partes del cuerpo, ya que han adquirido la capacidad de volverse malignas y generar metástasis [3].

Los tumores pueden ser benignos o malignos. Los tumores benignos son aquellos que permanecen en su localización primaria, no son cancerosos y no se propagan a otras partes del cuerpo. Los tumores malignos, invaden otras zonas del cuerpo y se extienden a lugares distantes a través del torrente sanguíneo o del sistema linfático. Los tumores malignos pueden diseminarse rápidamente y requieren tratamiento para evitar su propagación [4].

El crecimiento de células cancerosas en órganos distantes del lugar de origen, es la metástasis. La metástasis es un proceso que implica la adquisición progresiva de capacidades invasivas por parte de las células de un tumor. Estas células pueden invadir tejidos, diseminarse a través de los vasos sanguíneos y linfáticos, y colonizar órganos distantes reiniciando la proliferación y formando otro tumor. Cabe mencionar que la mayoría de los pacientes de cáncer mueren como consecuencia de una enfermedad metastásica [5].

### Microambiente tumoral

A medida que las células tumorales siguen proliferando, el tumor aumenta de tamaño y el microambiente tumoral sufre una remodelación. Esta remodelación es inducida por la hipoxia, el estrés oxidativo y la acidosis, que son causados por una alteración en el metabolismo de las células tumorales. Esta alteración da lugar a la displasia, que es la aparición de una población heterogénea de células tumorales con diferentes rasgos genéticos y fenotípicos [6].

El microambiente tumoral está formado por diversos componentes, como la matriz extracelular, las células estromales (como fibroblastos, células estromales mesenquimales, pericitos), citocinas y quimiocinas, redes vasculares sanguíneas y linfáticas, y células inmunitarias (como linfocitos T y B, células asesinas naturales y macrófagos asociados al tumor [7, 8].

En el microambiente tumoral hay comunicaciones autocrinas y paracrinas con las células estromales y el sistema inmunitario adyacente al tumor, todo esto unido a un aumento de la presión del líquido intersticial. La comunicación entre las células de este microambiente, induce la progresión tumoral y a un cambio de este ambiente. Esto conduce a un aumento en la rigidez de la matriz extracelular, la formación de

vasos sanguíneos y linfáticos, y la posible aparición de regiones necróticas y la metástasis [2].

Además de estudiar las alteraciones genéticas y epigenéticas que acumulan las células cancerosas, es necesario entender cómo cambia la composición del microambiente tumoral debido a que éste influye en el pronóstico y en la eficacia de la quimioterapia [9].

### Resistencia a quimioterapia

La quimioterapia sigue siendo una de las principales terapias contra el cáncer y a menudo se combina con cirugía y/o radioterapia dependiendo del tipo y estadio del tumor. La resistencia a la quimioterapia se refiere a la capacidad de las células cancerígenas para resistir al tratamiento de fármacos citotóxicos, lo que frecuentemente termina con la recaída del tumor y una baja calidad de vida de los pacientes. Esta resistencia puede surgir por los procesos que se alteran en las células cancerosas, tales como la sobreexpresión de proteínas de transporte de fármacos que bombean los agentes quimioterapéuticos fuera de las células, por la activación de vías de señalización que promuevan la supervivencia celular y la reparación del ADN, y por la presencia de células madre tumorales que son inherentemente resistentes a la quimioterapia [10, 11]; así como también por el efecto del microambiente tumoral.

### Modelos para estudiar el cáncer

La capacidad limitada de las células humanas para replicarse en cultivo, puede ser un desafío en la construcción de modelos para estudiar el cáncer *in vitro*. Por esta razón, las células inmortalizadas que tienen la capacidad de superar estas barreras replicativas son herramientas valiosas en la investigación del cáncer.

Las células inmortalizadas, como las líneas celulares establecidas a partir de tumores humanos, ofrecen una fuente estable y reproducible de células para estudiar los procesos de transformación celular y la progresión del cáncer [12].

A lo largo del tiempo se han desarrollado varios modelos para cultivar las líneas celulares de cáncer en el laboratorio:

*Cultivo en monocapa, 2D:* las células se cultivan en placas de cultivo, como una placa Petri o un frasco de cultivo celular. Las células adherentes crecen formando una monocapa sobre la superficie, mientras que las células no adherentes se mantienen en suspensión. Este método es el más simple, pero no refleja el entorno tridimensional de los tumores *in vivo*.

*Cultivo en esferoides, 3D:* las líneas celulares se cultivan en una suspensión y son independientes de anclaje, forman estructuras esféricas. Este cultivo se asemeja a las condiciones *in vivo* de los tumores.

*Xenoinjerto en modelos animales:* Las células se inyectan en animales para formar un tumor en un ambiente *in vivo*. Este modelo nos permite estudiar la progresión del tumor y la interacción con el sistema inmunológico del animal.

*Modelos de organoides:* las líneas celulares se cultivan en matrices tridimensionales que imitan la arquitectura tisular y la función de los órganos humanos. Este modelo nos permite modelar la vascularización tumoral.

*Dispositivo de microfluidicos:* las células se ponen en un dispositivo de microfluidos que mimetiza la microarquitectura y el microambiente de algunos órganos, como el pulmón o algunos tejidos tumorales [13].

En nuestro laboratorio tenemos varios proyectos enfocados en estudiar los genes, las vías de señalización y los procesos biológicos importantes para distintos tipos de cáncer, y utilizamos varios modelos para este fin. De esta manera, tenemos esferoides tumorales multicelulares y modelos en donde ocupamos a seres vivos, como el pez cebra.

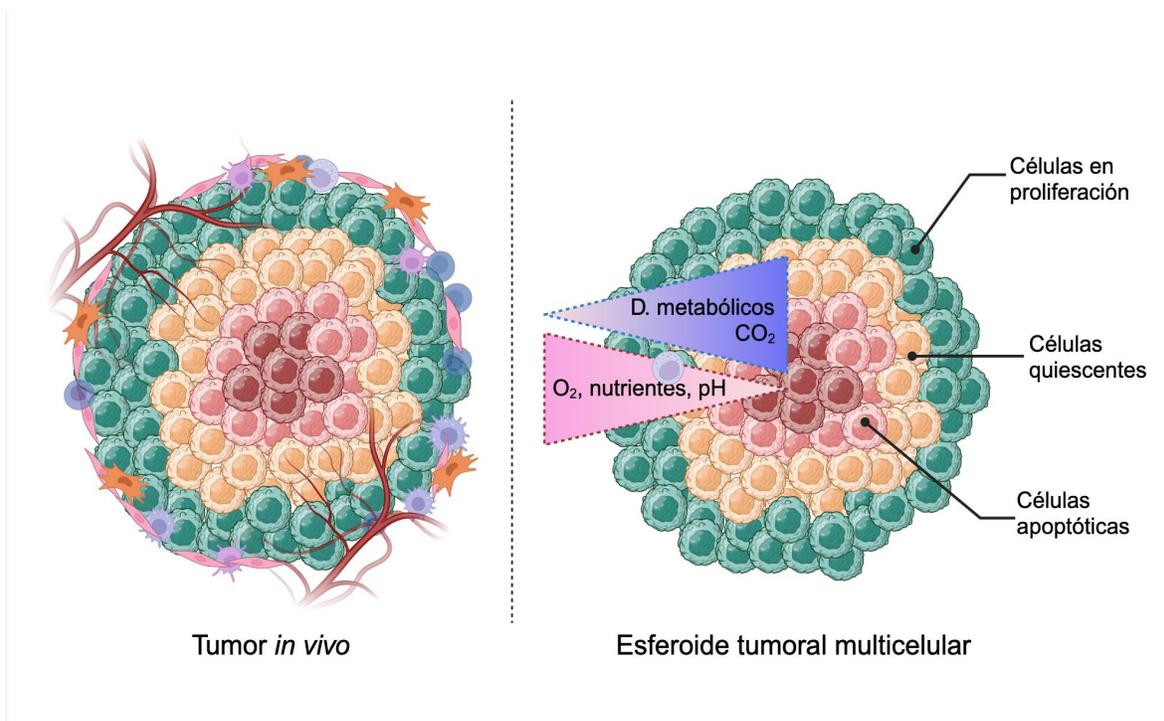
### Esferoides tumorales multicelulares

Los esferoides tumorales multicelulares (MTS, por sus siglas en inglés Multicellular Tumoral Spheroids), son agrupaciones celulares esféricas a microescala formadas por autoensamblaje, son uno de los métodos más comunes y usados de cultivo de células en tres dimensiones.

Los esferoides son de especial interés para la investigación en el cáncer debido a la heterogeneidad de sus poblaciones celulares. Estas células muestran un gradiente de actividad proliferativa, con células en la superficie del esferoide que experimentan una rápida proliferación y células en el núcleo del esferoide que muestran quiescencia. Este fenómeno se atribuye al transporte limitado de oxígeno y nutrientes dentro del esferoide [14]. Conforme avanza el tamaño del esferoide (más de 500 micras de diámetro), se encontrarán células necróticas en el centro, como puede observarse en algunos cánceres *in vivo* (Fig. 1) [15].

Este tipo de cultivo posee características que asemejan a un tumor *in vivo* en sus etapas iniciales, como las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular, la tasa de proliferación [16] y los perfiles genómicos [17].

Los esferoides se han utilizado como modelos para evaluar la sensibilidad y la resistencia a los fármacos, y suelen ser más resistentes a las quimioterapias y radioterapias que las células cultivadas como monocapas bidimensionales.



**Figura 1. Estructura de un esferoide tumoral multicelular.** Panel izquierdo: tumor *in vivo* con su microambiente tumoral. Panel derecho: esferoide tumoral multicelular avascular de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$ , en donde se representan las tres capas: la de células proliferativas, la de células quiescentes y el centro hipóxico con células apoptóticas y necróticas. D. metabólicos, desechos metabólicos. Creado en BioRender

### Xenoinjerto en los embriones del pez cebra.

Un xenoinjerto es la transferencia de células, tejidos u órganos de un animal de una especie a otro de una especie diferente. Los xenoinjertos ortotópicos implican el trasplante de células tumorales al mismo tipo de órgano en el que se originó el cáncer. Por el contrario, los xenoinjertos heterotópicos implican el trasplante de células tumorales a un tejido diferente del que se originaron las células. Se ha demostrado que la larva del pez cebra es un sistema óptimo para los estudios de xenoinjerto del cáncer humano. El uso de marcaje fluorescente permite la visualización continua de las células trasplantadas, de la progresión tumoral y de la metástasis [18] (Fig. 2).

El pez cebra es un modelo apropiado para investigar la biología del cáncer humano y la metástasis debido a varios atributos. Uno de los principales factores es la conservación de algunos procesos biológicos entre el pez cebra y los humanos, como la progresión tumoral. El genoma del pez cebra contiene 26,206 genes codificadores de proteínas. Una comparación de los genomas humano y del pez cebra mostró que el 71,4% de los genes humanos tenían al menos un ortólogo en el pez cebra, mientras que el 82% de los genes humanos relacionados con enfermedades tenían al menos un ortólogo en el pez cebra [19].

Además de ser un modelo de investigaciónpreciado por su conservación genómica y transparencia embrionaria, presenta características biológicas que lo hacen aún más atractivo para la investigación científica.

El pez cebra es pequeño y relativamente fácil de criar, y se puede mantener en grandes cantidades a bajo costo. Los peces cebra de laboratorio se alojan en un sistema de peceras que asegura un entorno estable y reproducible para los experimentos. El desarrollo embrionario es rápido, en 24 horas el cigoto unicelular se convierte en un embrión móvil y transparente con la clásica estructura corporal de los vertebrados [20].

### Creando los tumores

Para entender y abordar el cáncer de manera efectiva, es importante conocer en detalle cómo funcionan las células, qué señales regulan su crecimiento y división, y cuáles vías están involucradas en la regulación del ciclo celular y en la apoptosis.

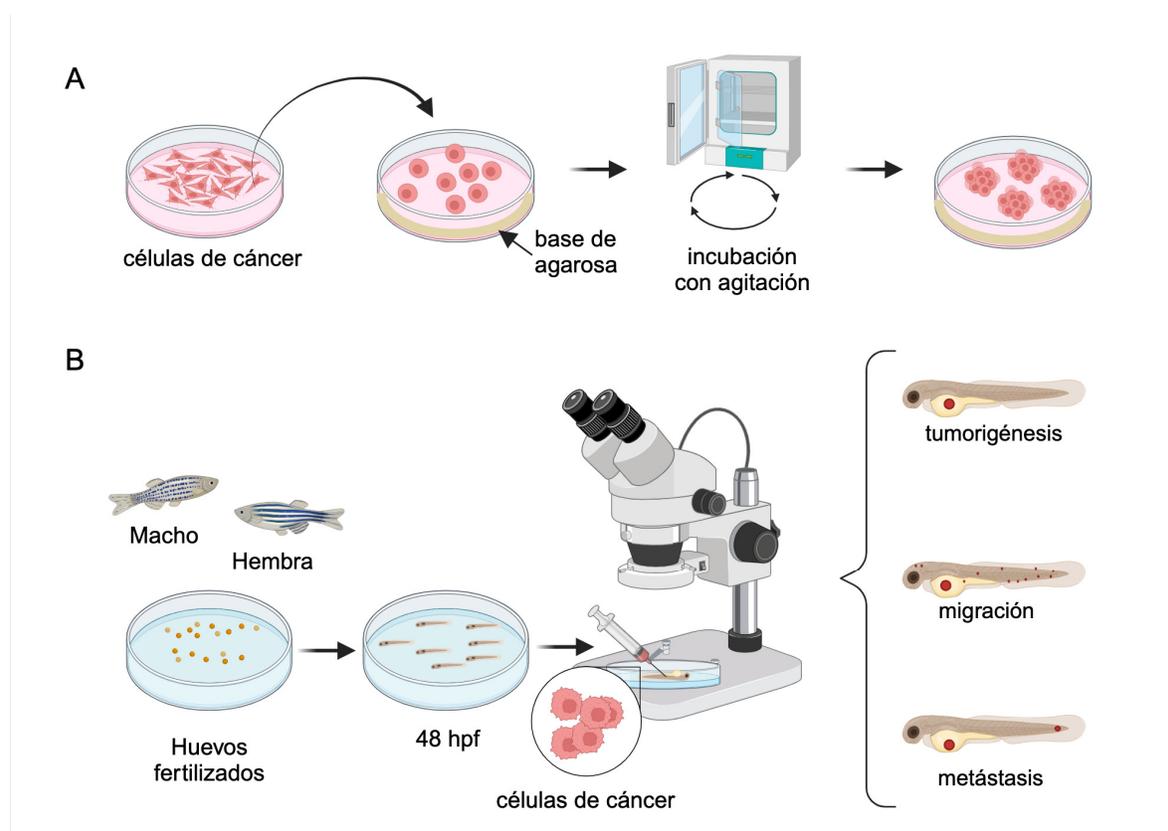
Al entender mejor a las células y a los procesos que se encuentran en la carcinogénesis, podremos desarrollar estrategias más efectivas para prevenir, diagnosticar y tratar al cáncer.

Generalmente las técnicas que utilizamos en nuestro laboratorio para obtener estos modelos son la técnica

de “Liquid overlay” para los MTS y la técnica de microinyección de embriones de pez cebra (Fig. 2). La técnica de “Liquid overlay” [21], consiste en la inhibición de la adhesión celular a las superficies de los materiales que suelen utilizarse para el cultivo celular. Estas superficies tienen propiedades no adherentes, que dan lugar a más interacciones célula-célula, que las que se dan en el cultivo en monocapa. En consecuencia, las células se agregan, dando lugar a la formación de esferoides en un plazo de 1 a 3 días para la mayoría de las líneas celulares. Posteriormente, estos agregados se colocan en una

incubadora con movimientos circulares para favorecer la formación de las esferas [22] (Fig. 2).

La microinyección en el pez cebra la realizamos en embriones de dos días post fertilización mantenidos a 28°C. Las células son microinyectadas en el centro de la región del saco vitelino embrionario a una concentración final, que va desde las 75 hasta las 300 células por embrión. Los embriones se monitorean a las 24 horas después de la inyección, para analizar la migración celular y a los 4 días para analizar la tumorigenicidad (Fig. 2).



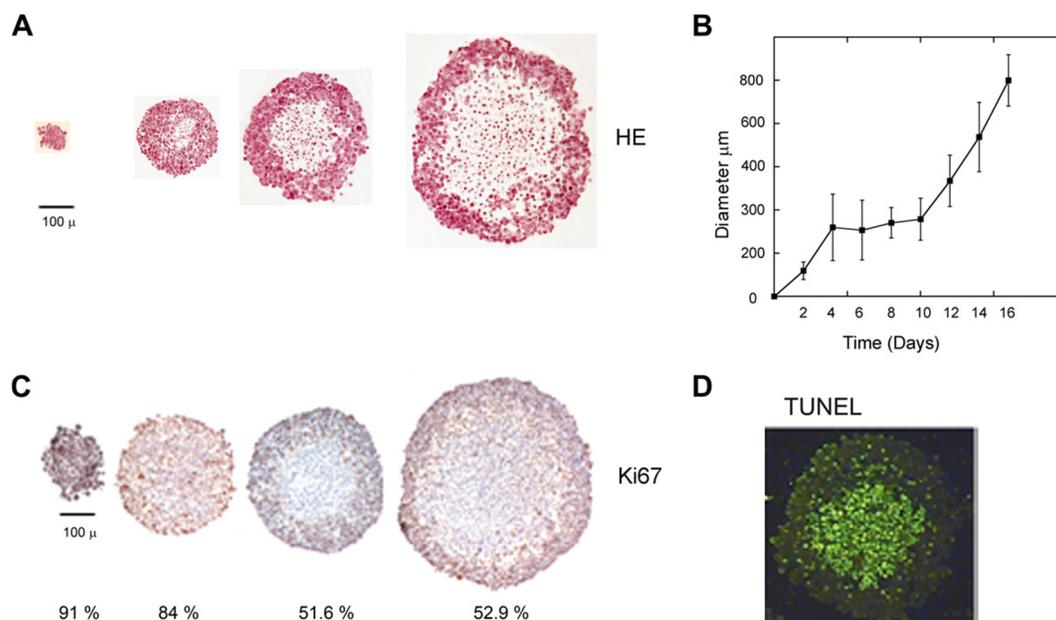
**Figura 2. Modelos de tumores en el laboratorio.** A) Modelo de “liquid overlay” para la formación de esferoides tumorales multicelulares. Las células son cultivadas en monocapa, posteriormente se cultivan en una superficie no adherente, la cual se forma con agarosa. Para inducir la formación de los esferoides las placas de cultivo son incubadas a 37°C con agitación constante. B) Xenoinjertos en pez cebra. Los huevos fertilizados son utilizados para los xenoinjertos 48 hpf. Las células son inyectadas en los embriones de pez cebra en la parte del vitelo. Con este tipo de ensayos podemos medir la formación de tumores, la migración de las células tumorales y la formación de micrometástasis. Creado en BioRender.

En el laboratorio estandarizamos el cultivo de MTS con varias líneas celulares. En la Fig. 3 podemos observar la caracterización de los MTS de la línea celular HeLa de cáncer cervicouterino (Fig. 3A). Los esferoides de células HeLa crecieron con facilidad y alcanzaron las 550 micras tras 16 días de cultivo (Fig. 3B). Para caracterizar aún más los cambios proliferativos durante el crecimiento, realizamos

cortes de los MTS de células HeLa embebidos en parafina y también realizamos la inmunotinción para el marcador de proliferación Ki-67. Encontramos que el porcentaje de células Ki-67 positivas disminuye a medida que aumenta el tamaño de los esferoides (85,5%, 65,3%, 60,2% y 60%). Las células de las capas más externas de los esferoides eran comúnmente Ki-67 positivas (Fig. 3C).

Además, realizamos un ensayo de TUNEL para identificar las células apoptóticas en el esferoide. En la apoptosis, el ADN se fragmenta, primero se producen grandes fragmentos de 300 kb y 50 kb por degradación endonucleolítica de la organización estructural de la cromatina de orden superior. Las roturas de la cadena de ADN se detectan marcando enzimáticamente los extremos libres 3'-OH con

nucleótidos modificados. Estos nuevos extremos de ADN que se generan tras su fragmentación suelen localizarse en núcleos y en cuerpos apoptóticos morfológicamente identificables [23]. En la figura 3D, podemos observar la tinción positiva en la zona central del esferoide, que concuerda con lo reportado en este tamaño de MTS [24].



**Figura 3. Crecimiento y caracterización de esferoides tumorales multicelulares.** Las células HeLa se cultivaron como esferoides con la técnica de “Liquid overlay”. A) Características morfológicas de los MTS. La barra representa 100  $\mu$ m, HE: hematoxilina y eosina. B) Curva de crecimiento de los MTS de la línea celular HeLa. A los tiempos indicados se midieron 30 esferoides con una regla microscópica. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar (DE) de tres experimentos independientes. C) Inmunocitoquímica de los MTS representativos que muestran la expresión de Ki67. Se muestran las secciones del porcentaje de células positivas a esta proteína. La barra representa 100  $\mu$ m D) Ensayo TUNEL para revelar la presencia de células apoptóticas [31].

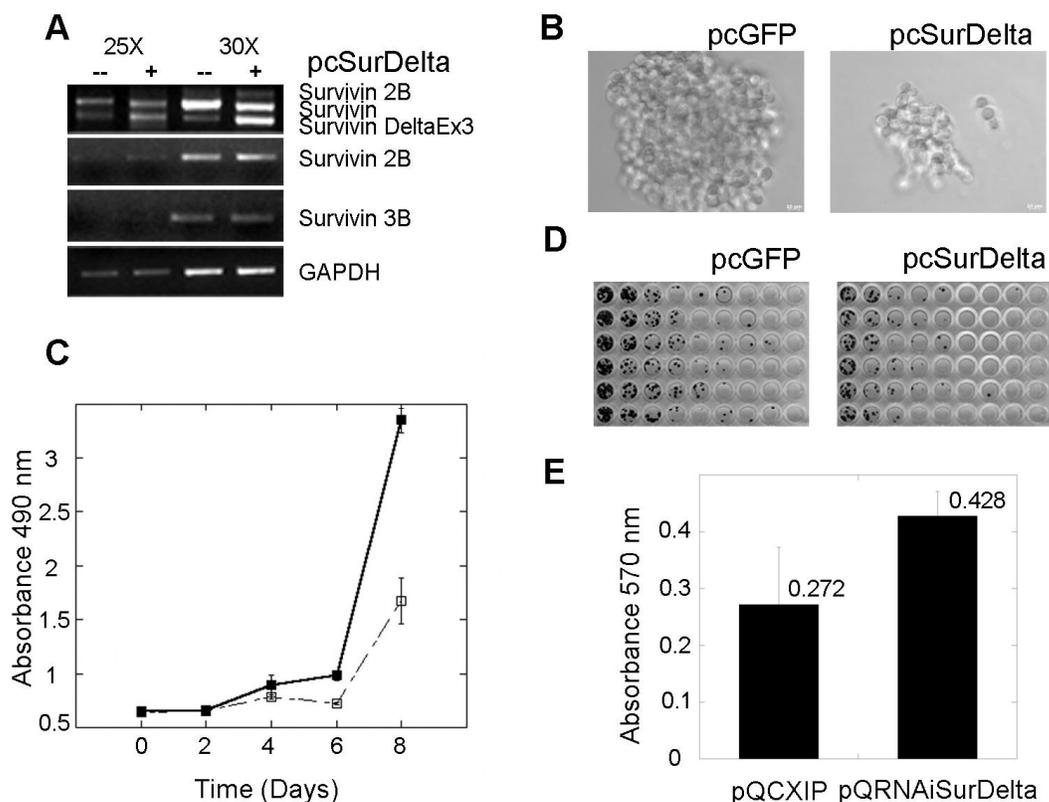
### Esferoides Tumorales Multicelulares en el laboratorio

En uno de nuestros proyectos utilizamos este modelo MTS para analizar la expresión de las isoformas de la survivina. La survivina es una proteína multifuncional con un doble papel, como inhibidora de la apoptosis y reguladora del ciclo celular [25]. La survivina se expresa en seis isoformas que se generan por splicing alternativo (survivina tipo, survivina 2 $\alpha$ , survivina 3 $\alpha$ , survivina 2B, survivina Delta Ex3, y survivina 3B) [26]. El splicing alternativo permite obtener diferentes ARN mensajeros a partir de un mismo transcrito, lo cual amplía el repertorio de posibles proteínas a partir de un solo gen [27]. Se ha demostrado que la survivina tipo y la survivina Delta Ex3 son proteínas antiapoptóticas [28]. También se han reportado estudios clínicos de muestras de cáncer que han mostrado una correlación entre la

proliferación del cáncer y los niveles de expresión de la survivina tipo y de la survivina Delta Ex3 [29, 30]. Para averiguar si la survivina Delta Ex3 es realmente importante para la formación de MTS, sobreexpresamos a esta isoforma en las células HeLa. Analizamos la expresión de las isoformas de la survivina mediante PCR semicuantitativa y observamos que solamente se sobreexpresó la survivina Delta Ex3 (Fig. 4A). Como se muestra en la Fig. 4B, las células que sobreexpresaban a la survivina Delta Ex3 no formaron esferoides. Por el contrario, sólo fueron capaces de agregarse en pequeñas cantidades. Queríamos investigar las posibles razones de esta agregación y descubrimos que la sobreexpresión de la survivina Delta Ex3 inhibe el crecimiento celular (Fig. 4C). Dado que la formación de los esferoides no sólo depende de la capacidad de las células para proliferar, sino también de su

capacidad para sobrevivir como clon, decidimos realizar ensayos de clonogenicidad. Como se muestra en la Fig. 4D, las células que sobreexpresan a la survivina Delta Ex3 son menos clonogénicas que las células de control. Aunado a esto, realizamos el ensayo de clonogenicidad con la línea celular HeLa con la inhibición de la survivina Delta Ex3 por RNA

de interferencia y observamos que la clonogenicidad aumentaba en esta línea (Fig. 4E). Por lo que pudimos concluir que la sobreexpresión de la survivina Delta Ex3, al inhibir el crecimiento celular y la clonogenicidad, afecta la formación de los esferoides tumorales [31].



**Figura 4. Efecto de la sobreexpresión de la survivina Delta Ex3 en el crecimiento de los esferoides tumorales, la proliferación y la clonogenicidad.** A) Las células HeLa se transfectaron de forma estable con un vector control (pcGFP) o con survivina Delta Ex3 (pcSurDelta). La especificidad de la sobreexpresión de la survivina Delta Ex3 (aumento de 3,68 veces) se verificó analizando los niveles de expresión de las isoformas de survivina mediante RT-PCR. La expresión de GAPDH se utilizó como control de carga. B) Los esferoides de las células transfectadas de forma estable se cultivaron durante 3 días y se observaron al microscopio óptico. C) Proliferación celular en las células pcGFP (cuadrados negros) y pcSurDelta (cuadrados vacíos) durante 8 días. Las barras de error representan la DE del triplicado de los experimentos. D) Ensayos de clonogenicidad en las líneas pcGFP y pcSurDelta, durante más de 12 días. (E) Ensayos de clonogenicidad en la línea HeLa inhibiendo a la survivina Delta Ex3 (pQRNAiSurDelta) y en la línea control (pQCXIP), durante más de 14 días. En este caso, las células de la dilución 1:64 se tiñeron con cristal violeta y se midió la absorbancia a 570 nm [31].

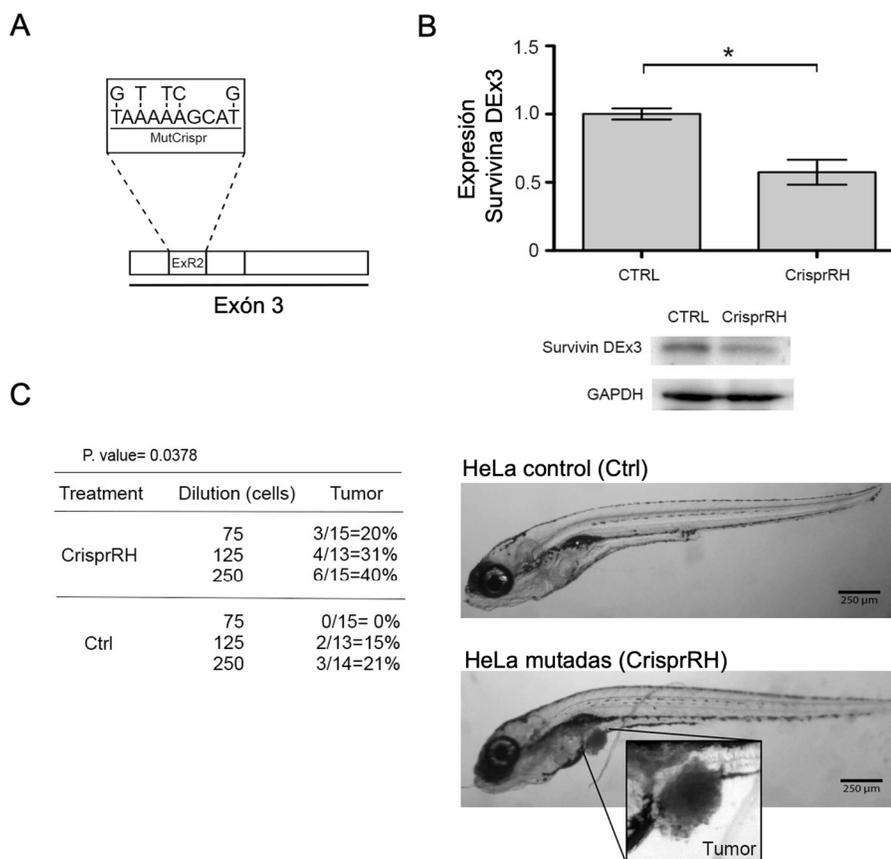
### Xenoinjerto en el pez cebra para estudiar tumorigénesis

En el laboratorio también hemos investigamos sobre los mecanismos que regulan la expresión de la survivina Delta Ex3, la cual se caracteriza por la ausencia del exón 3. Este nuevo transcrito posee características estructurales y funcionales distintas a las de la survivina tipo [31]. Se ha reportado que la survivina Delta Ex3 se expresa en mayores niveles en

etapas avanzadas de tumores de mama y de cérvix. Por esta razón estudiamos los mecanismos que conducen a la pérdida del exón 3 en la survivina [32]. A través de una combinación de análisis bioinformáticos y experimentos *in vitro* encontramos que los primeros 22 nucleótidos del exón 3 de la survivina contienen secuencias importantes que determinan la presencia o ausencia de este exón en el transcrito final. Por lo que parte de esta secuencia de

22 nucleótidos fue mutada con la técnica de CRISPR/Cas9 (Fig. 5A) en una línea celular HeLa, con el objetivo de reducir la expresión de la survivina Delta Ex3 (Fig. 5B). Para demostrar si este mecanismo era fisiológicamente relevante, realizamos xenotransplantes en el pez cebra con las

células HeLa mutadas. Como esperábamos, las células con la mutación formaron más tumores que las células control (Fig. 5C). Gracias a este modelo pudimos determinar que la alteración en la expresión de las isoformas de la survivina puede afectar la formación de tumores *in vivo* [32].



**Figura 5. Análisis del splicing alternativo de la survivina DEX3 y su efecto en la formación de tumores en el pez cebra.** A) Esquema de la región del exón 3 que fue mutada con la técnica de CRISPR/Cas9. B) Análisis de la expresión de la survivina DEX3 por medio de qRT-PCR. Esquema inferior, análisis de la expresión de la proteína de Survivina DEX3 por Western blot. C) Ensayos de xenotransplante en el pez cebra. Panel izquierdo: se inyectaron diferentes cantidades de las dos líneas celulares de HeLa, la línea control (Ctrl) y la línea con la mutación (CrisprRH), y se cuantificó la presencia de tumores. Panel derecho: imagen representativa de los tumores desarrollados en los peces [32].

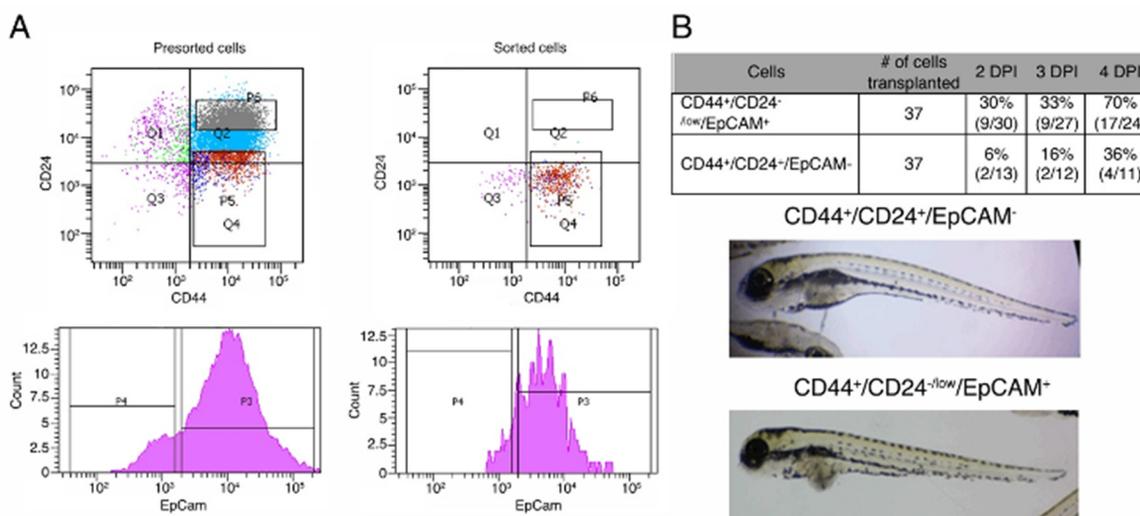
En otro trabajo también utilizamos el modelo de xenoinjerto en el pez cebra para estudiar la función de la metaloproteasa de matriz MT4-MMP en el cáncer de mama. La MT4-MMP degrada pocos sustratos de la matriz extracelular, se sabe que únicamente degrada a la gelatina, el fibrinógeno y la fibrina [33]; pero a pesar de procesar pocos componentes de la matriz extracelular se ha reportado que promueve la metástasis del cáncer de mama por mecanismos aún no descritos completamente [34]. En nuestro grupo de trabajo creamos una línea celular de cáncer de mama con altos niveles de expresión de la MT4-MMP, la cual inyectamos en los peces cebra y encontramos que incrementa la formación de tumores en este

modelo. Adicionalmente, encontramos que la MT4-MMP puede regular la expresión de microRNAs relacionados con el desarrollo y la progresión tumoral, agregando un posible mecanismo que pudiera explicar, en parte, su participación en estos procesos [35].

En otro de nuestros artículos, analizamos el transcriptoma de las células madre de cáncer de mama (BCSC, por sus siglas en inglés Breast Cancer Stem Cells), derivadas de la línea celular de cáncer de mama basal MDA-MB-468 y descubrimos un enriquecimiento en redes génicas asociadas a varias cascadas de señalización relacionadas al mantenimiento del fenotipo troncal, incluidas las vías

activadas por interferón y TGF $\beta$ . También, identificamos un nuevo módulo formado por genes que codifican proteínas que participan en la segregación de los cromosomas durante el ciclo celular, como la survivina, INCENP y AURKB [36]. Las células madre del cáncer (CSC, por sus siglas en inglés Cancer Stem Cells), se aislaron mediante citometría a partir de la línea celular de cáncer de mama triple negativo MDA-MB-468, empleando una

combinación de marcadores (CD44, CD24 y EpCam) (Fig. 6A). Para validar la eficacia de estos marcadores de superficie en la identificación de las CSC, realizamos análisis de xenotrasplante en el pez cebra. Como habíamos previsto, observamos que las células MDA-MB-468 CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>low</sup>/EpCAM<sup>+</sup> mostraron una mayor capacidad de iniciación tumoral en este modelo (Fig. 6B).



**Figura 6. Aislamiento de células madre de cáncer de mama.** A) Paneles izquierdos: análisis de citometría de flujo de las células MDA-MB-468 antes de la separación. El panel superior muestra un gráfico de puntos con la intensidad de la fluorescencia de CD44 frente a CD24 y los campos seleccionados para la clasificación (CD44 alto y CD24 bajo). El panel inferior muestra el tercer marcador utilizado (EpCam). Paneles derechos: los gráficos muestran la población purificada obtenida. (B) Ensayos de tumorigenicidad utilizando un modelo de xenotrasplante de pez cebra. Panel superior: Tumor desarrollado por MDA-MB-468 células madre no cancerosas (CSCs; CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-</sup>EpCAM<sup>-</sup>) y CSCs (CD44<sup>+</sup>CD24<sup>low</sup>EpCAM<sup>+</sup>) a los 2, 3 y 4 días después de la inyección (dpi). Para cada experimento se utilizaron 30 embriones y sólo se evaluaron los embriones informativos (es decir, los supervivientes). #: Número de células trasplantadas a los embriones. Panel inferior: Imagen representativa tomada a 2 dpi, que muestra tumores abdominales (flechas) en embriones de pez cebra trasplantados con MDA-MB-468 no CSC y MDA-MB-468 CSC [36].

### Xenoinjerto en el pez cebra para estudiar la migración celular

En el laboratorio, uno de los proyectos que estamos realizando es el de analizar el papel de CBF $\beta$  (CBF $\beta$ , por sus siglas en inglés, Core-Binding Factor subunit beta) como un gen supresor de tumores y cuál es su participación conjunta con miembros de la familia RUNX en el cáncer mamario. En la actualidad se desconocen las vías de señalización involucradas en la regulación de su expresión, así como su papel efector en los estímulos que desencadenan la proliferación celular desregulada, particularmente en el cáncer de mama.

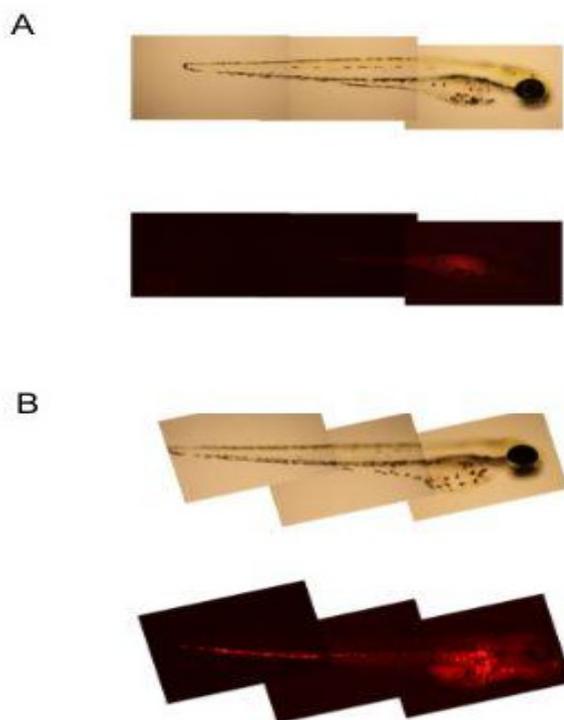
CBF $\beta$  se ha encontrado expresado en células de cáncer de mama metastásico y es esencial para la invasión celular. Además, se ha visto, que varios genes blanco de Runx2 (Regulador de la diferenciación osteoblástica) que están involucrados en la invasión celular, requieren a CBF $\beta$  [37, 38].

Banerji y col., analizaron mutaciones y translocaciones en 108 muestras de pacientes con cáncer de mama que no habían recibido tratamiento y las parearon con ADN normal usando secuenciación del genoma completo. En su análisis, verificaron que las mutaciones en los genes como TP53, PIK3CA y MAP3K1 fueron comunes. Interesantemente, encontraron mutaciones en el factor CBF $\beta$  que fueron significativas [39]. En el mismo año, Ellis y su grupo, realizaron un análisis en biopsias de cáncer de mama, en el que reportaron mutaciones en CBF $\beta$  [40].

En nuestro grupo de trabajo, decidimos realizar la caracterización de CBF $\beta$  en el cáncer de mama y uno de nuestros objetivos fue analizar el efecto de la inhibición de este gen por la técnica de CRISPR-Cas en la migración de las células de cáncer de mama en el pez cebra. Lo que pudimos observar fue que las células que tenían inhibido a CBF $\beta$  poseían una mayor capacidad migratoria en comparación con las células con el vector control, lo que refuerza la

hipótesis de que este gen sea un supresor tumoral (Fig. 7). Como se puede observar, la transparencia de los embriones de pez cebra, combinada con el uso de colorantes fluorescentes, permite que el pez cebra sea

un modelo ideal para obtener las imágenes de la migración de las células tumorales (Datos no publicados).



**Figura 7. Efecto de la inhibición de CBF $\beta$  en el modelo de pez cebra.** Imágenes de embriones de pez cebra 3 dpf con 300 células. A) Línea MCF-7 CRISPR/Scr, como control. B) Línea MCF-7 CRISPR/CBF $\beta$ , con CBF $\beta$  inhibido. Se muestran las imágenes de campo claro y las imágenes correspondientes en fluorescencia (Objetivo 10X).

### Conclusiones

La combinación del uso de modelos *in vitro* e *in vivo* para el estudio del cáncer es fundamental para comprender mejor los mecanismos que dirigen el crecimiento de los tumores. Los modelos *in vitro*, que implican estudios en células cancerosas cultivadas en laboratorio, y los modelos *in vivo*, que involucran estudios en animales vivos, proporcionan perspectivas complementarias sobre cómo se desarrolla y progresa un tumor, cuáles son las proteínas y los mecanismos que interactúan.

Estos modelos nos proporcionan ventajas porque recapitulan las interacciones célula-célula, célula-

estroma, la heterogeneidad genética y celular, las estructuras tridimensionales específicas de los tejidos y en el caso del pez cebra, la participación de los componentes celulares de un organismo completo.

Debido a que los tumores son muy complejos, su estudio en el laboratorio requiere de modelos que se asemejen lo más posible a los tumores que se presentan en los pacientes. De esta forma, los resultados que se obtengan de las investigaciones pueden tener una aplicación más certera para el manejo clínico de este grupo de enfermedades.

### Referencias

1. Stratton, M.R., P.J. Campbell, and P.A. Futreal, The cancer genome. *Nature*, 2009. 458(7239): p. 719-24.
2. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011. 144(5): p. 646-74.
3. Umar, A., B.K. Dunn, and P. Greenwald, Future directions in cancer prevention. *Nat Rev Cancer*, 2012. 12(12): p. 835-48.
4. Patel, A., Benign vs Malignant Tumors. *JAMA Oncol*, 2020. 6(9): p. 1488.
5. Massague, J. and K. Ganesh, Metastasis-Initiating Cells and Ecosystems. *Cancer Discov*, 2021. 11(4): p. 971-994.
6. Catalano, V., et al., Tumor and its microenvironment: a synergistic interplay. *Semin Cancer Biol*, 2013. 23(6 Pt B): p. 522-32.

7. Lu, P., V.M. Weaver, and Z. Werb, The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol*, 2012. 196(4): p. 395-406.
8. Chen, F., et al., New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Med*, 2015. 13: p. 45.
9. Netea-Maier, R.T., J.W.A. Smit, and M.G. Netea, Metabolic changes in tumor cells and tumor-associated macrophages: A mutual relationship. *Cancer Lett*, 2018. 413: p. 102-109.
10. Mirzaei, S.A., et al., Inflammatory pathway interactions and cancer multidrug resistance regulation. *Life Sci*, 2019. 235: p. 116825.
11. Chen, W., et al., Cancer Stem Cell Quiescence and Plasticity as Major Challenges in Cancer Therapy. *Stem Cells Int*, 2016. 2016: p. 1740936.
12. Boehm, J.S. and W.C. Hahn, Immortalized cells as experimental models to study cancer. *Cytotechnology*, 2004. 45(1-2): p. 47-59.
13. Atat, O.E., et al., 3D modeling in cancer studies. *Hum Cell*, 2022. 35(1): p. 23-36.
14. Mehta, G., et al., Opportunities and challenges for use of tumor spheroids as models to test drug delivery and efficacy. *J Control Release*, 2012. 164(2): p. 192-204.
15. Kunz-Schughart, L.A., et al., The use of 3-D cultures for high-throughput screening: the multicellular spheroid model. *J Biomol Screen*, 2004. 9(4): p. 273-85.
16. dit Faute, M.A., et al., Distinctive alterations of invasiveness, drug resistance and cell-cell organization in 3D-cultures of MCF-7, a human breast cancer cell line, and its multidrug resistant variant. *Clin Exp Metastasis*, 2002. 19(2): p. 161-8.
17. De Witt Hamer, P.C., et al., The genomic profile of human malignant glioma is altered early in primary cell culture and preserved in spheroids. *Oncogene*, 2008. 27(14): p. 2091-6.
18. Ignatius, M.S. and D.M. Langenau, Fluorescent imaging of cancer in zebrafish. *Methods Cell Biol*, 2011. 105: p. 437-59.
19. Howe, K., et al., The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 2013. 496(7446): p. 498-503.
20. Kimmel, C.B., et al., Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev Dyn*, 1995. 203(3): p. 253-310.
21. Yuhas, J.M., A.E. Tarleton, and K.B. Molzen, Multicellular tumor spheroid formation by breast cancer cells isolated from different sites. *Cancer Res*, 1978. 38(8): p. 2486-91.
22. Costa, E.C., et al., Spheroids Formation on Non-Adhesive Surfaces by Liquid Overlay Technique: Considerations and Practical Approaches. *Biotechnol J*, 2018. 13(1).
23. Loo, D.T., In situ detection of apoptosis by the TUNEL assay: an overview of techniques. *Methods Mol Biol*, 2011. 682: p. 3-13.
24. Bell, H.S., et al., The development of necrosis and apoptosis in glioma: experimental findings using spheroid culture systems. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2001. 27(4): p. 291-304.
25. Mita, A.C., et al., Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics. *Clin Cancer Res*, 2008. 14(16): p. 5000-5.
26. Martinez-Montiel, N., et al., Alternative Splicing in Breast Cancer and the Potential Development of Therapeutic Tools. *Genes (Basel)*, 2017. 8(10).
27. Wright, C.J., C.W.J. Smith, and C.D. Jiggins, Alternative splicing as a source of phenotypic diversity. *Nat Rev Genet*, 2022. 23(11): p. 697-710.
28. Mahotka, C., et al., Survivin-deltaEx3 and survivin-2B: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties. *Cancer Res*, 1999. 59(24): p. 6097-102.
29. Takashima, H., et al., In vivo expression patterns of survivin and its splicing variants in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Liver Int*, 2005. 25(1): p. 77-84.
30. Nakano, J., et al., The clinical significance of splice variants and subcellular localisation of survivin in non-small cell lung cancers. *Br J Cancer*, 2008. 98(6): p. 1109-17.
31. Espinosa, M., et al., Survivin isoform Delta Ex3 regulates tumor spheroid formation. *Cancer Lett*, 2012. 318(1): p. 61-7.
32. Gaytan-Cervantes, J., et al., Protein Sam68 regulates the alternative splicing of survivin DEX3. *J Biol Chem*, 2017. 292(33): p. 13745-13757.
33. Yip, C., et al., MT4-MMP: The GPI-Anchored Membrane-Type Matrix Metalloprotease with Multiple Functions in Diseases. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(2).
34. Chabottaux, V., et al., Membrane-type 4 matrix metalloproteinase promotes breast cancer growth and metastases. *Cancer Res*, 2006. 66(10): p. 5165-72.
35. Cervantes-Garduno, A., et al., MT4-MMP Modulates the Expression of miRNAs in Breast Cancer Cells. *Arch Med Res*, 2018. 49(7): p. 471-478.
36. Schwarz-Cruz, Y.C.A., et al., Basal-Type Breast Cancer Stem Cells Over-Express Chromosomal Passenger Complex Proteins. *Cells*, 2020. 9(3).
37. Komori, T., Regulation of skeletal development by the Runx family of transcription factors. *J Cell Biochem*, 2005. 95(3): p. 445-53.
38. Mendoza-Villanueva, D., et al., The Runx transcriptional co-activator, CBFbeta, is essential for invasion of breast cancer cells. *Mol Cancer*, 2010. 9: p. 171.
39. Banerji, S., et al., Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature*, 2012. 486(7403): p. 405-9.
40. Ellis, M.J., et al., Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature*, 2012. 486(7403): p. 353-60.



**Dra. Magali Espinosa Castilla**  
**ORCID: 0000-0003-4657-6382**

Cursó la licenciatura en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco; obtuvo el grado de Maestría en Ciencias en el Instituto Politécnico Nacional en la escuela de Medicina y el Doctorado en el Posgrado en Ciencias Biomédicas en la Universidad Autónoma de México. Actualmente es Investigadora en Ciencias Médicas “D” y miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SNI) Nivel I.

Trabajó con los temas de apoptosis y vías de señalización del cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología desde 1998 y hasta el 2007. A partir del 2008, colabora en la línea de investigación de Genómica del cáncer, englobando proyectos dirigidos a Cáncer, Medicina genómica entre otros temas, como adscrita al laboratorio de Genómica Funcional del Cáncer del INMEGEN. Ha publicado 28 artículos de investigación en revistas internacionales y nacionales. Muchos de los resultados de la línea mencionados, se han publicado en revistas del más alto impacto, tales como *Nature*, *EMBO Reports*, *Oncogene*, *Cancer Letters* y cuenta con cerca de 1739 citas. Ha dirigido tesis de maestría y de licenciatura.

---



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# Heterogeneidad tumoral en cáncer de mama: implicaciones en metástasis y tratamiento

## Tumour heterogeneity in breast cancer: implications for metastasis and treatment

Esparza-López, José  ; Ibarra-Sánchez, María de Jesús.

Laboratorio de Señalización en Cáncer, Unidad de Bioquímica “Guillermo Soberón Acevedo”, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”.

✉ Vasco de Quiroga 15, Belisario Domínguez Sección XVI, Alcaldía Tlalpan, CP.14080, CDMX, México.  
Tel. +52 (55) 5554870900, Ext.2606; [jose.esparzal@incmnsz.mx](mailto:jose.esparzal@incmnsz.mx)

Editor responsable: Noemi Meraz Cruz

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.12>

Recibido: 30 de julio de 2024

Revisado: 7 de agosto de 2024

Aceptado: 10 de agosto de 2024

### Resumen

Estudios recientes de tumores de cáncer de mama han revelado una amplia variación genética y no genética en diferentes regiones geográficas de un tumor o en diferentes etapas de la progresión del tumor, por ejemplo durante la generación de metástasis. Esta diversidad celular es lo que se conoce como heterogeneidad intratumoral. Varias causas contribuyen a este fenómeno, incluida la inestabilidad genómica, alteraciones epigenéticas, expresión génica aberrante, transducción de señales y las diferencias en el microambiente tumoral.

Estas variaciones de célula a célula se reconocen en casi todos los tipos de cáncer. Sin embargo, las terapias actuales tratan el cáncer como una enfermedad homogénea. Se han desarrollado fármacos dirigidos contra firmas moleculares aberrantes únicas o múltiples basándose en poblaciones mixtas de células cancerosas, en la mayoría de los casos de una sola biopsia. Por tanto, no sorprende que la resistencia a los medicamentos, tanto intrínseca como adaptativa, se produzca de forma generalizada en todos los tipos de cáncer. Comprender el entorno molecular específico detrás de los diferentes subtipos de heterogeneidad intratumoral facilitará una mejor comprensión de la

### Abstract

Recent studies of breast cancer tumors have revealed extensive genetic and non-genetic variation in different geographic regions of a tumor or at different stages of tumor progression, for example during the generation of metastases. This cellular diversity is what is known as intratumor heterogeneity. Several causes contribute to this phenomenon, including genomic instability, epigenetic alterations, aberrant gene expression, signal transduction, and differences in the tumor microenvironment.

These cell-to-cell variations are recognized in almost all types of cancer. However, current therapies treat cancer as a homogeneous disease. Drugs targeting single or multiple aberrant molecular signatures have been developed based on mixed populations of cancer cells, in most cases from a single biopsy. It is therefore not surprising that drug resistance, both intrinsic and adaptive, occurs widely across all cancer types. Understanding the specific molecular environment behind the different subtypes of intratumor heterogeneity will facilitate a better understanding of the nature of cancer and provide insights for developing more effective therapies.

naturaleza del cáncer y proporcionará información para el desarrollo de terapias más efectivas.

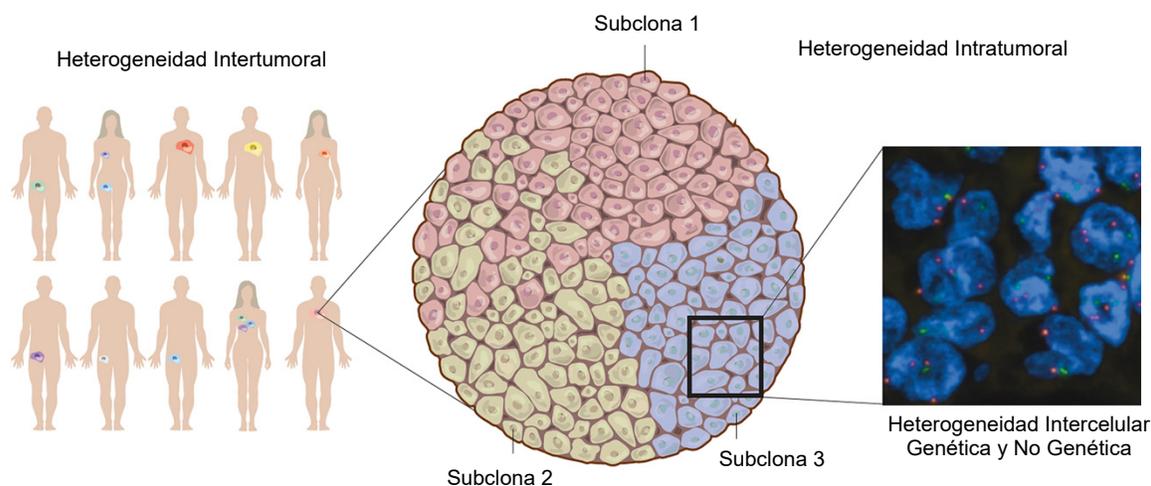
*Palabras clave:* Cáncer de mama, cultivos primarios, heterogeneidad tumoral, metástasis, resistencia a quimioterapia

*Keywords:* Breast cancer, primary cultures, tumor heterogeneity, metastasis, chemotherapy resistance

## Introducción

El cáncer de mama es el más común entre las mujeres en todo el mundo, con una incidencia cada vez mayor. Debido a su heterogeneidad (1), también es la segunda causa principal de muertes relacionadas a cáncer en mujeres (2). La heterogeneidad del cáncer de mama se atribuye a la inestabilidad genética, y también a diferencias epigenéticas, transcriptómicas y

proteómicas de las células cancerosas. Estos factores afectan las capacidades del tumor como proliferación, apoptosis, metástasis y resistencia a fármacos. Esta heterogeneidad también se observa en tejidos tumorales de diferentes pacientes o diferentes metástasis (heterogeneidad intertumoral) y dentro del tumor individual del mismo paciente (heterogeneidad intratumoral) (Figura 1) (3).



**Figura 1. Heterogeneidad intertumoral e intratumoral.** La heterogeneidad intertumoral se observa como variación genética y fenotípica entre tumores de diferentes tejidos y tipos de células, así como entre individuos con el mismo tipo de tumor. En la heterogeneidad intratumoral se puede observar diversidad subclonal dentro de un tumor. Las subclonas pueden entremezclarse como las subclonas 1 y 2 o estar separados espacialmente como lo muestra la subclona 3. La sección tumoral con la sonda fluorescente para los centrómeros de dos cromosomas muestra la variación genética y no genética intercelular, por ejemplo, en el número de copias de cromosomas, mutaciones puntuales somáticas o modificaciones epigenéticas que dan lugar a diversidad fenotípica. Modificado de Burrell, R. et.al. Nature 501, 338–345 (2013).

La heterogeneidad también es espaciotemporal. Esto se refiere al constante recambio en la expresión de diferentes moléculas de las células cancerosas durante la progresión del tumor (4). Por otro lado, la heterogeneidad espacial se refiere a la distribución e interacciones de diferentes poblaciones celulares en estructuras tumorales complejas. Varios estudios sugieren que el cáncer de mama es el cáncer más heterogéneo en mujeres en todo el mundo (5). Lo anterior aumenta la dificultad del diagnóstico precoz, la elección del tratamiento y por tanto la predicción del pronóstico. Por ejemplo, la recurrencia in situ, la metástasis a distancia y muchos problemas clínicos en el tratamiento del cáncer de mama surgen debido a la

heterogeneidad (6). En esta revisión analizamos algunos de los factores que contribuyen a los diferentes niveles de heterogeneidad, su influencia en la progresión del cáncer de mama, y los mecanismos subyacentes que la favorecen. Por otro lado, analizaremos la heterogeneidad tumoral del cáncer de mama desde el punto de vista de la expresión de receptores celulares y como estos patrones de expresión contribuyen a la generación de resistencia a fármacos de quimioterapia.

## Diferentes Niveles de Heterogeneidad

Las causas esenciales de la heterogeneidad del cáncer de mama son las alteraciones genómicas,

epigenómicas, transcriptómicas y proteómicas expresadas en tiempo y espacio. A nivel genómico, la heterogeneidad se compone de mutaciones (7) y aberraciones en el número de copias (8). En lo que refiere al nivel epigenómico, puede generarse por varias causas que involucran a la cromatina accesible a la transposasa (8), sitios hipersensibles a DNasa (9), la frecuencia de ocupación de nucleosomas (10), el metiloma (10), etc. A nivel transcriptómico, se refiere a la expresión genética al azar (7). En cuanto al nivel proteómico, se compone de modificaciones de proteínas y la transducción de señales (11, 12). La heterogeneidad intertumoral e intratumoral también puede incluir variaciones temporales y espaciales, las cuales se han visto reflejadas en los análisis unicelulares de tumores y en varias bases de datos (13-15). La heterogeneidad pueden reflejarse en diversos aspectos, como biomarcadores, alteración del metabolismo, modificaciones del ciclo celular, interacciones con el microambiente tumoral (TME), transición epitelio-mesénquima (TEM), aparición de células tumorales circulantes (CTC), que se ven reflejados en la generación de resistencia a tratamientos junto con patologías clínicas.

### Biomarcadores

En cuanto a la heterogeneidad de los biomarcadores, la Sociedad Americana de Oncología Clínica y el Colegio Americano de Patólogos recomienda determinar los niveles de expresión del receptor de estrógeno (ER), del receptor de progesterona (PR) y el receptor tipo 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) en todos los carcinomas de mama invasivos por inmunohistoquímica (16, 17). A menudo se hace referencia a ER y PR en conjunto como receptores hormonales (HR). ER es producido por tres genes, denominados ER $\alpha$ , ER $\beta$  y del receptor de membrana acoplado a proteína G 30 (GPR30) (18). PR es producido por dos genes, PRA y PRB (19). HER2 es producido por ERBB2 (20). Según estos biomarcadores, los cánceres de mama suelen ser clasificados en cuatro subtipos: luminal A (RE+, PR+, y HER2-), luminal B ( RE+, PR+, y HER2+), HER2-enriquecido ( ER-, PR-, y HER2+), y cáncer de mama triple negativo (TNBC) (ER-, PR-, y HER2-) (21-23). Según el criterio de clasificación del Centro Oncológico de Shanghai de la Universidad Fudan, TNBC se puede dividir aún más en varios subtipos: inmunomodulador (IM), receptor andrógeno luminal (LAR), de tipo mesenquimatoso (MES), y de tipo basal inmunosuprimido (BLIS) (24). Recientemente, el subtipo Claudin-low se ha definido como mesenquimatoso, similar a una célula madre y tiene alta expresión de genes de respuesta inmune (25). Se ha demostrado que el subtipo Claudin-low es

un fenotipo adicional complejo que puede inundar a los tumores de mama de diferentes subtipos (26). Además, los tumores HR+/ HER2+ se comportan de manera diferente, y algunos se parecen más a un subtipo luminal, y otros que se asemejan al subtipo HER2 enriquecido (27). El tratamiento del cáncer de mama se basa en el estado de ER, PR y HER2 en cáncer primario. Sin embargo, cada vez hay más datos que demuestran discordancia sustancial entre los sitios primarios o los perfiles de receptores de los cánceres de mama primarios y sus metástasis a distancia (28-31). Esta discordancia también puede observarse entre diferentes sitios metastásicos (32). Por lo tanto, es importante considerar la heterogeneidad tumoral y los biomarcadores en el cáncer de mama al tomar decisiones sobre el plan de tratamiento de cada paciente, especialmente cuando se ha generado metástasis.

### Transición Epitelio Mesénquima (TEM), Células Madre Cancerosas (CMC) y las Células Tumorales Circulantes (CTC)

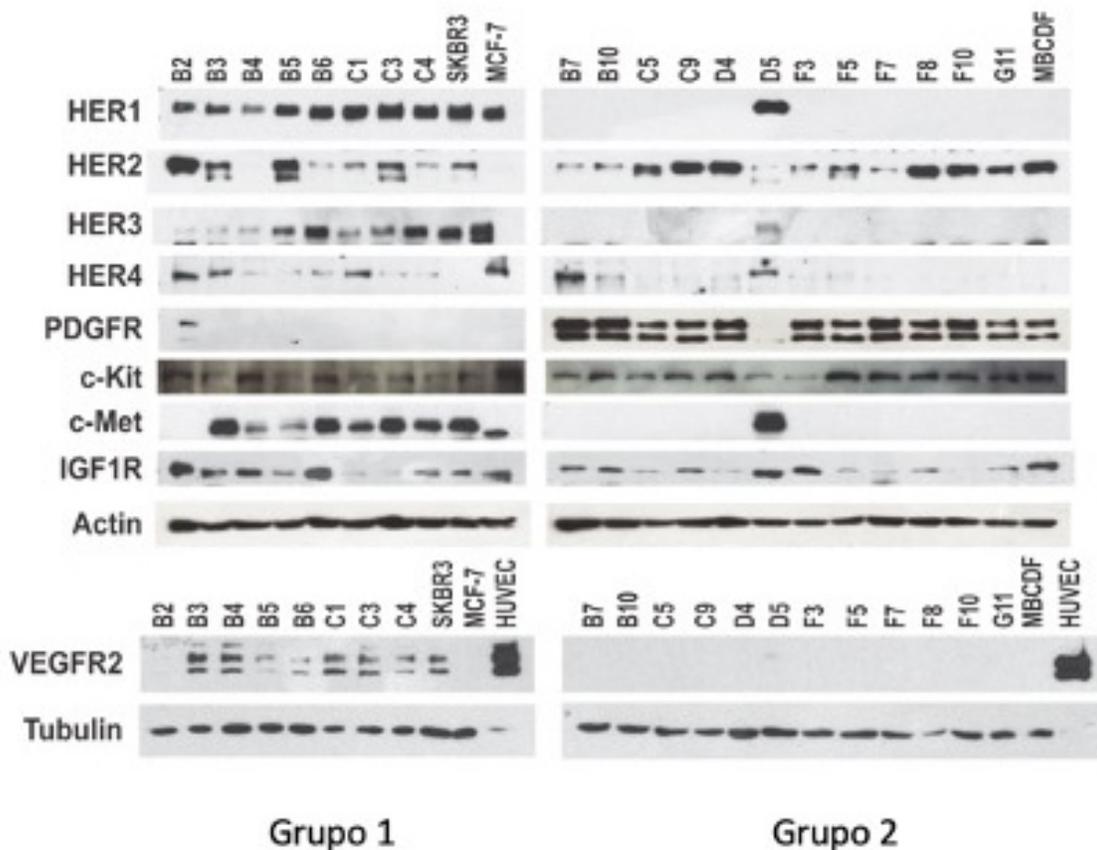
Generalmente, la TEM se considera el primer paso y el más importante en el inicio de la metástasis del cáncer (33, 34). Se considera un fenómeno heterogéneo (35) que se asemeja al que ocurre durante el desarrollo embrionario y la cicatrización de heridas. La TEM se correlaciona con la plasticidad de las células madre cancerosas (CMC) y resistencia terapéutica (36). Cada vez hay más evidencia que señala a la TEM como promotora de la metástasis del cáncer de mama (37). Ésta serie de eventos es un proceso en el que las células epiteliales sufren cambios bioquímicos para transformarse a células mesenquimatosas, se pierden las uniones intercelulares y por lo tanto se vuelven alargadas y no polarizadas, lo que les permite moverse a través de la matriz extracelular, con lo cual generan un nuevo tejido con una polaridad diferente al epitelio que le dio origen. La TEM se encuentra implicada en la tumorigénesis, explicando la progresión de un carcinoma in situ a uno invasor (38). También se ha asociado con la resistencia a la apoptosis y a fármacos de quimioterapia (39). El papel de la TEM en cáncer ya está bien establecido, y se asume es un componente indispensable para la metástasis. Una vez que las células tumorales alcanzaron el sitio de metástasis distante, retoman el fenotipo del tumor primario a través de un proceso llamado transición mesénquima-epitelio (TME). Por lo tanto, los pasos de la TEM parecen ser reversibles, indicando la existencia de componentes dinámicos en la progresión tumoral (37).

Por otro lado, las CTC representan la etapa intermedia de la metástasis. Estas se encuentran en la sangre periférica de pacientes con cáncer de la mama con lesiones metastásicas, y pueden derivarse tanto de

sitios primarios como de sitios metastásicos (40). Las CTC exhiben una alta heterogeneidad intrapaciente como interpaciente en comparación con las células del tumor primario (41). Las CTC resultan útiles para monitorear los cambios moleculares a medida que la enfermedad progresa y, la generación de resistencia al tratamiento (42). Por lo tanto, las CTC son una útil herramienta para comprender la heterogeneidad tumoral entre las células del sitio primario y del sitio metastásico

### El Microambiente Tumoral y la Heterogeneidad Tumoral

La tumorigénesis no sólo depende de alteraciones genéticas o modificaciones epigenéticas en las células cancerosas, sino que también está regulada por el microambiente tumoral (MAT) (43). El MAT está compuesto por fibroblastos, adipocitos, células del sistema inmune, células epiteliales, pericitos, y endotelios; cada uno de ellos capaz de comunicarse con las células cancerosas de forma dinámica.



**Figura 2. Expresión de receptores de tirosina quinasa y receptores hormonales en subpoblaciones de subclonas aisladas de un tumor primario.** La expresión de todos los receptores se analizó mediante Western blot. La subclona B2 y D5 se incluyeron en su grupo opuesto como controles. La línea celular de cáncer de mama SKBR3 se utilizó como control de la expresión de HER2. Se muestra la expresión diferencial de HER1, HER2, HER3, HER4, PDGFR, c-Kit, c-Met, IGF1R y VEGFR2 en los 2 grupos de subclonas aisladas. Se utilizó actina y tubulina como control de carga.

Por lo general, el impacto orquestado por los componentes del microambiente sobre las células cancerosas se caracteriza por las diferentes regiones, la tumorigénesis está modulada por la heterogeneidad regional creada por la hipoxia, la acidez y las citocinas en el entorno tumoral (44, 45). Además, los fibroblastos asociados al cáncer (FAC) se encuentran entre los componentes más abundantes del MAT y contribuyen al fenotipo maligno en todos los niveles

(46, 47). Los FAC comprenden grupos heterogéneos con funciones distintas, como favorecer el crecimiento tumoral, participar en el proceso angiogénico y la remodelación del estroma, la resistencia a los medicamentos y la metástasis tumoral (48). Los grupos de FAC tienen efectos supresores de tumores o efectos promotores de tumores (49). Esta heterogeneidad podría deberse a numerosas causas, como la interacción dinámica entre las células

tumorales y las células estromales, la matriz extracelular, las citocinas y factores de crecimiento secretados en el MAT (50).

### Heterogeneidad y Metabolismo

Estudios recientes han demostrado que los niveles metabólicos difieren entre las células de una masa tumoral, como resultado de divergencias en diversas vías metabólicas (51). El grado de la positividad del biomarcador utilizado para el diagnóstico correlaciona negativamente con la intensidad del metabolismo y un comportamiento clínico más agresivo (52). Por ejemplo, un tumor TNBC con un curso clínico más agresivo, mostró una mayor demanda de nicotinamida, 1-ribosil-nicotinamida y NAD<sup>+</sup> que otros tipos de cáncer de mama. En comparación con las células del tumor primario, las células metastásicas cambian sus niveles metabólicos a un consumo de baja de glucosa. Las células metastásicas tienen un mayor nivel de fumarato, malato y succinil-carnitina. Además, las células metastásicas tienen mayor cantidad de ácidos grasos y metabolismo de aminoácidos que las células cancerosas primarias (53).

### Receptores de Tirosina Cinasas (RTK) y cáncer

El cáncer de mama es una enfermedad multifactorial que se ve impulsada por una regulación aberrante de las vías de señalización celular por la adquisición de cambios genéticos y epigenéticos. Una serie de factores de crecimiento y sus receptores están involucrados en el desarrollo del cáncer y la metástasis. Los receptores de tirosina cinasa (RTK) constituyen una clase de receptores que desempeñan un papel importante en la progresión del cáncer. Los RTK son receptores de superficie celular con características biológicas y estructurales especializadas que responden a señales ambientales iniciando cascadas de señalización diversas en las células tumorales. Se sabe que los RTK regulan varias vías de señalización descendentes, como son la vía de MAPK, PI3K/Akt y JAK/STAT. Estas vías tienen un papel fundamental en la regulación de la pluripotencialidad del cáncer, la angiogénesis y la metástasis. Estas vías también son imperativas para una interacción recíproca entre las células tumorales y microambiente tumoral. El papel multifacético de los RTK los hace susceptibles de terapia en el cáncer de mama. Sin embargo, las mutaciones estructurales, la amplificación genética y la activación de vías alternativas plantean desafíos para la terapia anti-RTK. Otro papel importante de los RTK es que contribuyen a la heterogeneidad tumoral del cáncer de mama, la cual se ha analizado poco.

### Diferencias en el Patrón de Expresión de RTK Contribuyen a la Heterogeneidad Intratumoral.

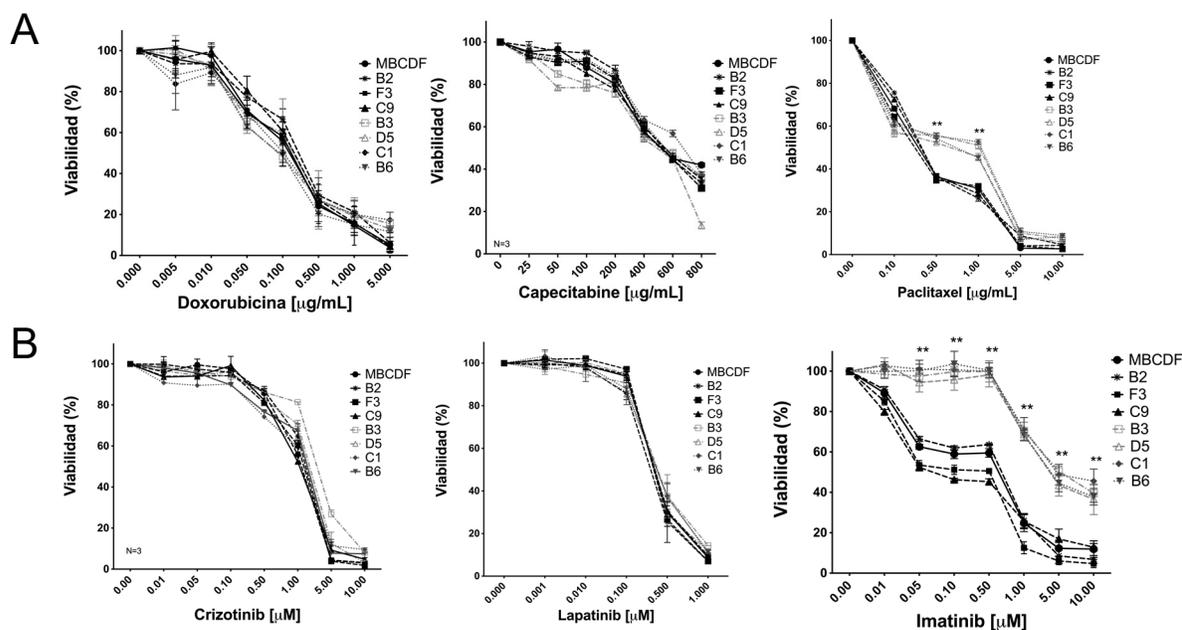
La heterogeneidad intratumoral del cáncer de mama afecta a varios procesos biológicos, como la proliferación, la migración y la muerte celular, y también podría contribuir a la resistencia a la quimioterapia. La expresión de RTK no se ha analizado en el contexto de la heterogeneidad intratumoral en cultivos primarios de cáncer de mama. Los tumores de cáncer de mama presentan diferentes subpoblaciones que pueden surgir de cambios genéticos o epigenéticos que resultan en heterogeneidad intratumoral (54). Los avances en la comprensión de la progresión tumoral han sido esenciales para encontrar biomarcadores que han sido útiles para determinar el pronóstico, así como los objetivos para el desarrollo de fármacos. Las cinasas de tirosina asociadas a receptor y las no receptoras se han destacado como posibles biomarcadores, como es el caso de HER2 que se ha descrito como un marcador pronóstico y predictivo del cáncer de mama. El gen *HER2* se amplifica en el 15-20 % de los tumores de mama con sobreexpresión concomitante de HER2 (55). Para tratar el cáncer de mama, asociado a HER2, se desarrollaron terapias utilizando Trastuzumab, Pertuzumab y Lapatinib, que inhiben la actividad de HER2, lo que permite detener el crecimiento tumoral (56). Otros RTK se han asociado con un mal pronóstico en carcinomas mamarios invasivos. El EGFR/HER1 se expresa altamente en el triple negativo en comparación con otros subtipos y se ha asociado con resistencia a la terapia endocrina (57). c-Met es otro RTK que se sobre expresa en el 20-30% de los tumores de cáncer de mama (58,59). La asociación entre HER2 y c-Met contribuye a la resistencia a la terapia dirigida a HER2 (60). Los receptores del factor derivado de plaquetas (PDGFR) también se han asociado con cáncer de mama agresivo en etapas avanzadas (61). La expresión de PDGFR ya sea en el tumor o en el estroma se correlaciona con un fenotipo agresivo y un mal pronóstico (62-64).

A pesar de la importancia de RTK, su expresión no se ha analizado en el contexto de la heterogeneidad intratumoral en el cáncer de mama. Por lo que en nuestro laboratorio, hemos aislado subpoblaciones de un cultivo de células de cáncer de mama primario. Analizamos el patrón de expresión de RTK y luego lo correlacionamos con procesos biológicos como la proliferación, la migración y el crecimiento celular independiente del anclaje, así como la respuesta a la quimioterapia citotóxica y los inhibidores de tirosina cinasa.

Al momento de analizar las clonas aisladas observamos que las subpoblaciones se podían dividir en dos grupos según su morfología y su patrón de RTK. Los grupos tienen un patrón de expresión de

RTK excluyente, donde el grupo 1 expresa HER1, HER3, c-Met y el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 (VEGFR2), pero no expresa PDGFR, y el grupo 2 expresa PDGFR, pero HER1, HER3, c-Met y VEGFR2 no estaban presentes. HER2, HER4, c-Kit y el receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF1-R) están presentes en todas las subpoblaciones en cantidades variables (Figura 2). Las subpoblaciones PDGFR positivas tienen la tasa

más alta de proliferación celular, migración y crecimiento celular independiente del anclaje, y son altamente sensibles a Imatinib y Paclitaxel. Otros medicamentos de quimioterapia como Doxorubicina y Capecitabina, así como Lapatinib y Crizotinib tienen efectos similares sobre la viabilidad celular en todas las subpoblaciones analizadas (Figura 3).



**Figura 3. (A).** Efecto de la Doxorubicina, la Capecitabina y el Paclitaxel sobre la viabilidad celular de subpoblaciones B2, F3 (grupo 2), B3, B6, C1, D5 (grupo 1). Se sembraron 10,000 células/cm<sup>2</sup> y se utilizó doxorubicina a 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 y 5 µg/mL. Se añadió capecitabina a 0, 25, 50, 100, 200, 400, 600 y 800 µg/mL. Se añadió paclitaxel a 0, 0.5, 1, 5 y 10 µg/mL. **(B).** Efecto de Crizotinib, Lapatinib, e Imatinib en la viabilidad celular de subpoblaciones B2, F3, C9 (Grupo 2), B3, D5, C1, B6 (Grupo 1). Se utilizó Lapatinib en las siguientes concentraciones: 0, 0.001, 0.01, 0.1, 0.5 y 1 µM. Se añadió Crizotinib en 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 y 10 µM. Se utilizaron las siguientes concentraciones para Imatinib: 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 y 10 µM. La viabilidad se evaluó 48 h después de la adición de los fármacos mediante el ensayo de Cristal Violeta. Los datos representan la media ± SEM de tres experimentos independientes sembrados por triplicado. \*\*P < 0,001

Estos resultados sugieren que los RTK se expresan de manera excluyente en subpoblaciones de un cultivo de células primarias de cáncer de mama heterogéneo donde la presencia de PDGFR confiere un fenotipo más agresivo. En conjunto, estos datos ratifican que la heterogeneidad intratumoral del cáncer de mama puede contribuir a la invasión, metástasis y resistencia a la terapia debido a diferentes características biológicas de las subpoblaciones (65).

## Conclusiones

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea. Existe un alto grado de diversidad entre los tumores y dentro de ellos, así como entre los individuos que padecen cáncer, y todos estos factores juntos determinan el riesgo de progresión de la

enfermedad y la resistencia terapéutica. El cáncer de mama es uno de los pocos tipos de tumores en los que se ha utilizado con éxito la clasificación molecular para el diseño de terapias individualizadas, lo que ha dado lugar a mejoras significativas en la supervivencia específica de la enfermedad. Sin embargo, debido a su heterogeneidad definir la “célula de origen” y la vía evolutiva del tumor es una tarea casi imposible, ya que rara vez podemos diagnosticar tumores en sus etapas más tempranas y seguir su evolución molecular. Es por ello que los análisis a nivel molecular (como por ejemplo el patrón de expresión de RTK) podrían ser relevantes sólo en la predicción del riesgo y los estudios de quimio prevención. Sin embargo, si la “célula de origen” tiene una influencia importante en la trayectoria evolutiva de un tumor en lo que se

relaciona con la identidad y frecuencia de los eventos transformadores adquiridos, entonces su caracterización también sería importante para comprender mejor los subtipos de tumores de mama. A pesar de los avances en el tratamiento del cáncer de mama, la mortalidad de esta enfermedad sigue siendo alta, debido al desarrollo de resistencia a la terapia citotóxica o a la terapia dirigida. Los tumores heterogéneos pueden contener subclones con resistencia intrínseca o adquirida. Además, las subpoblaciones bajo presión selectiva por el

tratamiento pueden dar lugar a nuevas células cancerosas con el potencial de impulsar la progresión de la enfermedad. A primera vista, la tremenda heterogeneidad y la naturaleza en constante evolución de los tumores parecen desalentadoras y hacen que curar o incluso controlar eficazmente el cáncer sea una tarea casi imposible. Sin embargo, la comprensión profunda de la evolución de los tumores conducirá a la erradicación y tal vez incluso a la prevención de esta enfermedad.

## Referencias

- Kravchenko, J., Akushevich, I., Seewaldt, V. L., Abernethy, A. P., and Lyerly, H. K. (2011) Breast cancer as heterogeneous disease: contributing factors and carcinogenesis mechanisms. *Breast Cancer Res Treat* 128, 483-493
- Wilkinson, L., and Gathani, T. (2022) Understanding breast cancer as a global health concern. *Br J Radiol* 95, 20211033
- Roulot, A., Hequet, D., Guinebretiere, J. M., Vincent-Salomon, A., Lerebours, F., Dubot, C., and Rouzier, R. (2016) Tumoral heterogeneity of breast cancer. *Ann Biol Clin (Paris)* 74, 653-660
- Venning, F. A., Zornhagen, K. W., Wullkopf, L., Sjolund, J., Rodriguez-Cupello, C., Kjellman, P., Morsing, M., Hajkarim, M. C., Won, K. J., Erler, J. T., and Madsen, C. D. (2021) Deciphering the temporal heterogeneity of cancer-associated fibroblast subpopulations in breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 40, 175
- Joseph, C., Papadaki, A., Althobiti, M., Alsalem, M., Aleskandarany, M. A., and Rakha, E. A. (2018) Breast cancer intratumour heterogeneity: current status and clinical implications. *Histopathology* 73, 717-731
- Zardavas, D., Irrthum, A., Swanton, C., and Piccart, M. (2015) Clinical management of breast cancer heterogeneity. *Nat Rev Clin Oncol* 12, 381-394
- Kashyap, A., Rapsomaniki, M. A., Barros, V., Fomitcheva-Kharchenko, A., Martinelli, A. L., Rodriguez, A. F., Gabrani, M., Rosen-Zvi, M., and Kaigala, G. (2022) Quantification of tumor heterogeneity: from data acquisition to metric generation. *Trends Biotechnol* 40, 647-676
- Liu, Y. (2020) Clinical implications of chromatin accessibility in human cancers. *Oncotarget* 11, 1666-1678
- Gao, W., Ku, W. L., Pan, L., Perrie, J., Zhao, T., Hu, G., Wu, Y., Zhu, J., Ni, B., and Zhao, K. (2021) Multiplex indexing approach for the detection of DNase I hypersensitive sites in single cells. *Nucleic Acids Res* 49, e56
- Pott, S. (2017) Simultaneous measurement of chromatin accessibility, DNA methylation, and nucleosome phasing in single cells. *Elife* 6
- Malinowsky, K., Raychaudhuri, M., Buchner, T., Thulke, S., Wolff, C., Hofler, H., Becker, K. F., and Avril, S. (2012) Common protein biomarkers assessed by reverse phase protein arrays show considerable intratumoral heterogeneity in breast cancer tissues. *PLoS One* 7, e40285
- Inda, M. A., van Swinderen, P., van Brussel, A., Moelans, C. B., Verhaegh, W., van Zon, H., den Biezen, E., Bikker, J. W., van Diest, P. J., and van de Stolpe, A. (2021) Heterogeneity in Signaling Pathway Activity within Primary and between Primary and Metastatic Breast Cancer. *Cancers (Basel)* 13
- Cancer Genome Atlas, N. (2012) Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 490, 61-70
- Curtis, C., Shah, S. P., Chin, S. F., Turashvili, G., Rueda, O. M., Dunning, M. J., Speed, D., Lynch, A. G., Samarajiwa, S., Yuan, Y., Graf, S., Ha, G., Haffari, G., Bashashati, A., Russell, R., McKinney, S., Group, M., Langerod, A., Green, A., Provenzano, E., Wishart, G., Pinder, S., Watson, P., Markowitz, F., Murphy, L., Ellis, I., Purushotham, A., Borresen-Dale, A. L., Brenton, J. D., Tavare, S., Caldas, C., and Aparicio, S. (2012) The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature* 486, 346-352
- Wang, Y., Waters, J., Leung, M. L., Unruh, A., Roh, W., Shi, X., Chen, K., Scheet, P., Vattathil, S., Liang, H., Multani, A., Zhang, H., Zhao, R., Michor, F., Meric-Bernstam, F., and Navin, N. E. (2014) Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature* 512, 155-160
- Hammond, M. E., Hayes, D. F., Dowsett, M., Allred, D. C., Hagerty, K. L., Badve, S., Fitzgibbons, P. L., Francis, G., Goldstein, N. S., Hayes, M., Hicks, D. G., Lester, S., Love, R., Mangu, P. B., McShane, L., Miller, K., Osborne, C. K., Paik, S., Perlmutter, J., Rhodes, A., Sasano, H., Schwartz, J. N., Sweep, F. C., Taube, S., Torlakovic, E. E., Valenstein, P., Viale, G., Visscher, D., Wheeler, T., Williams, R. B., Wittliff, J. L., and Wolff, A. C. (2010) American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 28, 2784-2795
- Wolff, A. C., Hammond, M. E., Hicks, D. G., Dowsett, M., McShane, L. M., Allison, K. H., Allred, D. C., Bartlett, J. M., Bilous, M., Fitzgibbons, P., Hanna, W., Jenkins, R. B., Mangu, P. B., Paik, S., Perez, E. A., Press, M. F., Spears, P. A., Vance, G. H., Viale, G., Hayes, D. F., American Society of Clinical, O., and College of American, P. (2014) Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical

- practice guideline update. *Arch Pathol Lab Med* 138, 241-256
18. Tang, Z. R., Zhang, R., Lian, Z. X., Deng, S. L., and Yu, K. (2019) Estrogen-Receptor Expression and Function in Female Reproductive Disease. *Cells* 8
  19. Graham, J. D., Yeates, C., Balleine, R. L., Harvey, S. S., Milliken, J. S., Bilous, A. M., and Clarke, C. L. (1995) Characterization of progesterone receptor A and B expression in human breast cancer. *Cancer Res* 55, 5063-5068
  20. Petrelli, F., Tomasello, G., Barni, S., Lonati, V., Passalacqua, R., and Ghidini, M. (2017) Clinical and pathological characterization of HER2 mutations in human breast cancer: a systematic review of the literature. *Breast Cancer Res Treat* 166, 339-349
  21. Prakash, O., Hossain, F., Danos, D., Lassak, A., Scribner, R., and Miele, L. (2020) Racial Disparities in Triple Negative Breast Cancer: A Review of the Role of Biologic and Non-biologic Factors. *Front Public Health* 8, 576964
  22. Gao, J. J., and Swain, S. M. (2018) Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist* 23, 556-565
  23. Swain, S. M., Shastri, M., and Hamilton, E. (2023) Targeting HER2-positive breast cancer: advances and future directions. *Nat Rev Drug Discov* 22, 101-126
  24. Liu, Y. R., Jiang, Y. Z., Xu, X. E., Yu, K. D., Jin, X., Hu, X., Zuo, W. J., Hao, S., Wu, J., Liu, G. Y., Di, G. H., Li, D. Q., He, X. H., Hu, W. G., and Shao, Z. M. (2016) Comprehensive transcriptome analysis identifies novel molecular subtypes and subtype-specific RNAs of triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 18, 33
  25. Prat, A., Parker, J. S., Karginova, O., Fan, C., Livasy, C., Herschtkowitz, J. I., He, X., and Perou, C. M. (2010) Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res* 12, R68
  26. Fougner, C., Bergholtz, H., Norum, J. H., and Sorlie, T. (2020) Re-definition of claudin-low as a breast cancer phenotype. *Nat Commun* 11, 1787
  27. Kay, C., Martinez-Perez, C., Meehan, J., Gray, M., Webber, V., Dixon, J. M., and Turnbull, A. K. (2021) Current trends in the treatment of HR+/HER2+ breast cancer. *Future Oncol* 17, 1665-1681
  28. Schrijver, W., Suijkerbuijk, K. P. M., van Gils, C. H., van der Wall, E., Moelans, C. B., and van Diest, P. J. (2018) Receptor Conversion in Distant Breast Cancer Metastases: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 110, 568-580
  29. Turner, N. H., and Di Leo, A. (2013) HER2 discordance between primary and metastatic breast cancer: assessing the clinical impact. *Cancer Treat Rev* 39, 947-957
  30. Kroigard, A. B., Larsen, M. J., Thomassen, M., and Kruse, T. A. (2016) Molecular Concordance Between Primary Breast Cancer and Matched Metastases. *Breast J* 22, 420-430
  31. Yeung, C., Hilton, J., Clemons, M., Mazzarello, S., Hutton, B., Haggard, F., Addison, C. L., Kuchuk, I., Zhu, X., Gelmon, K., and Arnaout, A. (2016) Estrogen, progesterone, and HER2/neu receptor discordance between primary and metastatic breast tumours—a review. *Cancer Metastasis Rev* 35, 427-437
  32. Silva, D. J., Miranda, G., and Mesquita, A. (2022) Clinical relevance of receptor conversion in metastatic breast cancer: Case report. *Medicine (Baltimore)* 101, e29136
  33. Gupta, G. P., and Massague, J. (2006) Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 127, 679-695
  34. Davis, F. M., Azimi, I., Faville, R. A., Peters, A. A., Jalink, K., Putney, J. W., Jr., Goodhill, G. J., Thompson, E. W., Roberts-Thomson, S. J., and Monteith, G. R. (2014) Induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in breast cancer cells is calcium signal dependent. *Oncogene* 33, 2307-2316
  35. Thiery, J. P., Acloque, H., Huang, R. Y., and Nieto, M. A. (2009) Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 139, 871-890
  36. Tanabe, S., Quader, S., Cabral, H., and Ono, R. (2020) Interplay of EMT and CSC in Cancer and the Potential Therapeutic Strategies. *Front Pharmacol* 11, 904
  37. Bakir, B., Chiarella, A. M., Pitarresi, J. R., and Rustgi, A. K. (2020) EMT, MET, Plasticity, and Tumor Metastasis. *Trends Cell Biol* 30, 764-776
  38. Knudsen, E. S., Ertel, A., Davicioni, E., Kline, J., Schwartz, G. F., and Witkiewicz, A. K. (2012) Progression of ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer is associated with gene expression programs of EMT and myoepithelia. *Breast Cancer Res Treat* 133, 1009-1024
  39. Ashrafzadeh, M., Zarrabi, A., Hushmandi, K., Kalantari, M., Mohammadinejad, R., Javaheri, T., and Sethi, G. (2020) Association of the Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) with Cisplatin Resistance. *Int J Mol Sci* 21
  40. Micalizzi, D. S., Maheswaran, S., and Haber, D. A. (2017) A conduit to metastasis: circulating tumor cell biology. *Genes Dev* 31, 1827-1840
  41. Pineiro, R., Martinez-Pena, I., and Lopez-Lopez, R. (2020) Relevance of CTC Clusters in Breast Cancer Metastasis. *Adv Exp Med Biol* 1220, 93-115
  42. Deger, T., Mendelaar, P. A. J., Kraan, J., Prager-van der Smissen, W. J. C., van der Vlugt-Daane, M., Bindels, E. M. J., Siewuerts, A. M., Sleijfer, S., Wilting, S. M., Hollestelle, A., and Martens, J. W. M. (2022) A pipeline for copy number profiling of single circulating tumour cells to assess inpatient tumour heterogeneity. *Mol Oncol* 16, 2981-3000
  43. Anderson, N. M., and Simon, M. C. (2020) The tumor microenvironment. *Curr Biol* 30, R921-R925
  44. Gillies, R. J., Verduzco, D., and Gatenby, R. A. (2012) Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. *Nat Rev Cancer* 12, 487-493
  45. Junttila, M. R., and de Sauvage, F. J. (2013) Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature* 501, 346-354
  46. Sahai, E., Astsaturov, I., Cukierman, E., DeNardo, D. G., Egeblad, M., Evans, R. M., Fearon, D., Gretchen, F. R., Hingorani, S. R., Hunter, T., Hynes, R. O., Jain, R. K., Janowitz, T., Jorgensen, C., Kimmelman, A. C., Kolonin, M. G., Maki, R. G., Powers, R. S., Pure, E., Ramirez, D. C., Scherz-Shouval, R., Sherman, M. H., Stewart, S., Tlsty, T. D., Tuveson, D. A., Watt, F. M., Weaver, V., Weeraratna, A. T., and Werb, Z. (2020) A

- framework for advancing our understanding of cancer-associated fibroblasts. *Nat Rev Cancer* 20, 174-186
47. Kalluri, R. (2016) The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 16, 582-598
  48. Mhaidly, R., and Mechta-Grigoriou, F. (2020) Fibroblast heterogeneity in tumor micro-environment: Role in immunosuppression and new therapies. *Semin Immunol* 48, 101417
  49. Raz, Y., Cohen, N., Shani, O., Bell, R. E., Novitskiy, S. V., Abramovitz, L., Levy, C., Milyavsky, M., Leider-Trejo, L., Moses, H. L., Grisaru, D., and Erez, N. (2018) Bone marrow-derived fibroblasts are a functionally distinct stromal cell population in breast cancer. *J Exp Med* 215, 3075-3093
  50. Dzobo, K., and Dandara, C. (2020) Architecture of Cancer-Associated Fibroblasts in Tumor Microenvironment: Mapping Their Origins, Heterogeneity, and Role in Cancer Therapy Resistance. *OMICS* 24, 314-339
  51. Dias, A. S., Almeida, C. R., Helguero, L. A., and Duarte, I. F. (2019) Metabolic crosstalk in the breast cancer microenvironment. *Eur J Cancer* 121, 154-171
  52. Willmann, L., Schlimpert, M., Halbach, S., Erbes, T., Stickeler, E., and Kammerer, B. (2015) Metabolic profiling of breast cancer: Differences in central metabolism between subtypes of breast cancer cell lines. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1000, 95-104
  53. Davis, R. T., Blake, K., Ma, D., Gabra, M. B. I., Hernandez, G. A., Phung, A. T., Yang, Y., Maurer, D., Lefebvre, A., Alshetaiwi, H., Xiao, Z., Liu, J., Locasale, J. W., Digman, M. A., Mjolsness, E., Kong, M., Werb, Z., and Lawson, D. A. (2020) Transcriptional diversity and bioenergetic shift in human breast cancer metastasis revealed by single-cell RNA sequencing. *Nat Cell Biol* 22, 310-320
  54. Marusyk, A., Almendro, V., and Polyak, K. (2012) Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nat Rev Cancer* 12, 323-334
  55. Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A., and McGuire, W. L. (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235, 177-182
  56. Slamon, D., Eiermann, W., Robert, N., Pienkowski, T., Martin, M., Press, M., Mackey, J., Glaspy, J., Chan, A., Pawlicki, M., Pinter, T., Valero, V., Liu, M. C., Sauter, G., von Minckwitz, G., Visco, F., Bee, V., Buysse, M., Bendahmane, B., Tabah-Fisch, I., Lindsay, M. A., Riva, A., Crown, J., and Breast Cancer International Research, G. (2011) Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 365, 1273-1283
  57. Massarweh, S., Osborne, C. K., Creighton, C. J., Qin, L., Tsimelzon, A., Huang, S., Weiss, H., Rimawi, M., and Schiff, R. (2008) Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res* 68, 826-833
  58. Ghossein, R. A., Dillon, D. A., D'Aquila, T., Rimm, E. B., Fearon, E. R., and Rimm, D. L. (1998) Expression of c-met is a strong independent prognostic factor in breast carcinoma. *Cancer* 82, 1513-1520
  59. Edakuni, G., Sasatomi, E., Satoh, T., Tokunaga, O., and Miyazaki, K. (2001) Expression of the hepatocyte growth factor/c-Met pathway is increased at the cancer front in breast carcinoma. *Pathol Int* 51, 172-178
  60. Paulson, A. K., Linklater, E. S., Berghuis, B. D., App, C. A., Oostendorp, L. D., Paulson, J. E., Pettinga, J. E., Melnik, M. K., Vande Woude, G. F., and Graveel, C. R. (2013) MET and ERBB2 are coexpressed in ERBB2+ breast cancer and contribute to innate resistance. *Mol Cancer Res* 11, 1112-1121
  61. Seymour, L., Dajee, D., and Bezwoda, W. R. (1993) Tissue platelet derived-growth factor (PDGF) predicts for shortened survival and treatment failure in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 26, 247-252
  62. Bhardwaj, B., Klassen, J., Cossette, N., Sterns, E., Tuck, A., Deeley, R., Sengupta, S., and Elliott, B. (1996) Localization of platelet-derived growth factor beta receptor expression in the periepithelial stroma of human breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2, 773-782
  63. Coltrera, M. D., Wang, J., Porter, P. L., and Gown, A. M. (1995) Expression of platelet-derived growth factor B-chain and the platelet-derived growth factor receptor beta subunit in human breast tissue and breast carcinoma. *Cancer Res* 55, 2703-2708
  64. Carvalho, I., Milanezi, F., Martins, A., Reis, R. M., and Schmitt, F. (2005) Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in breast cancer is associated with tumour progression. *Breast Cancer Res* 7, R788-795
  65. Esparza-Lopez, J., Ramos-Elias, P. A., Castro-Sanchez, A., Rocha-Zavaleta, L., Escobar-Arriaga, E., Zentella-Dehesa, A., Leon-Rodriguez, E., Medina-Franco, H., and Ibarra-Sanchez Mde, J. (2016) Primary breast cancer cell culture yields intra-tumor heterogeneous subpopulations expressing exclusive patterns of receptor tyrosine kinases. *BMC Cancer* 16, 740



**Dr. José Esparza-López**  
**ORCID: 0000-0003-3701-6607**

Investigador en Ciencias Médicas “C” en la Unidad de Bioquímica del INCMNSZ. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I. Químico Bacteriólogo y Parasitólogo en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. con Mención honorífica. Maestría en Ciencias con

especialidad en Inmunología en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. Doctorado en Ciencias Biomédicas en el Instituto de Fisiología Celular, en la UNAM. Del 2002 al 2009 realizó estancias posdoctorales, en el Instituto de Investigaciones Biomédicas con la Dra. Gloria Soldevila y en el INCMNSZ con la Dra. Teresa Tusié y Dr. Gerardo Gamba. El Dr. Esparza cuenta con más de 20 publicaciones en revistas indizadas y no indizadas y ha recibido numerosas distinciones entre las cuales destacan:

Premio Nacional de Investigación en Oncología Médica (2014) y Premio Nacional de Oncología Dr. Guillermo Montaña (2015).

Las líneas de investigación que trabaja el Dr. Esparza son:

- Cáncer de mama, proteínas con actividad de tirosina cinasa y fosfatasas, nuevas combinaciones de fármacos para el tratamiento de cancer de mama, generación de cultivos primarios a partir de biopsias de tumores.
- Papel de la metformina en la transición epitelio mesenquima y su relación con el cáncer de mama.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Relevancia de la glicosilación en los códigos de comunicación de la respuesta inmune

### Relevance of glycosylation in the communication codes of the immune response

Gómez-Henao, Wilton<sup>1</sup>; Pérez-Cervera, Yobana<sup>2,3</sup>; Pina-Canseco, Socorro<sup>3</sup>; Escobar, Adelma<sup>4</sup>; Solórzano Mata, Carlos<sup>2</sup>; Zenteno, Edgar.<sup>5</sup>  

1. Glycobiology, Cell Growth and Tissue Repair Research Unit (Gly-CRRET), Univ Paris Est Creteil (UPEC), F-94010 Creteil, France.
2. Facultad de Odontología, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca.
3. Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca.
4. Grupo de Investigación Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
5. Departamento Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

✉ Facultad de Medicina. Torre de Investigación 3er piso. Av. Universidad 3000, C.U., Coyoacán, 04360 Ciudad de México, CDMX. Tel: +52 (55) 56232269; [ezenteno@unam.mx](mailto:ezenteno@unam.mx)

Editor responsable: Héctor Vazquez-Meza  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.13>

Recibido: 26 de abril de 2024  
Revisado: 12 de junio de 2024  
Aceptado: 15 de junio de 2024

#### Resumen

La glicosilación es una modificación postraduccional de proteínas, lípidos o ácidos nucleicos, que puede modular las funciones biológicas de estas biomoléculas y su interacción con receptores específicos presentes en grupos celulares. La respuesta inmune depende de la interacción de moléculas de superficie entre linfocitos T y las células presentadoras de antígeno. También participan diversas moléculas coestimuladoras, muchas de las cuales son glicoproteínas que modifican en su porción glicosídica, conforme al cambio en el fenotipo y función celular. En este sentido, las moléculas glicosiladas codifican información determinante en la maduración, activación y muerte celular que son procesos críticos en la respuesta inmunológica. En este estudio pretendemos identificar la participación e importancia de los glicanos en las principales moléculas que forman parte de las interacciones de células de la respuesta inmune y algunas de las

#### Abstract

Glycosylation is a post-translational modification of proteins, lipids or nucleic acids, which can modulate the biological functions of these biomolecules and their interaction with specific receptors present in cell groups. The immune response depends on the interaction of surface molecules between T lymphocytes and antigen-presenting cells. Various costimulatory molecules also participate, many of which are glycoproteins that modify their glycosidic portion, according to the change in cell phenotype and function. In this sense, glycosylated molecules encode information that determines cell maturation, activation and death, which are critical processes in the immune response. In this article we aim to identify the participation and importance of glycans in the main molecules that are part of the cell interactions of the immune response and some of the biological consequences in the absence of glycans.

consecuencias biológicas en ausencia de dichos azúcares.

**Palabras claves:** Respuesta Inmune, glicosilación, inmunodeficiencias, inflamación.

**Keywords:** Immune response, glycosylation, immunodeficiencies, inflammation.

## Introducción

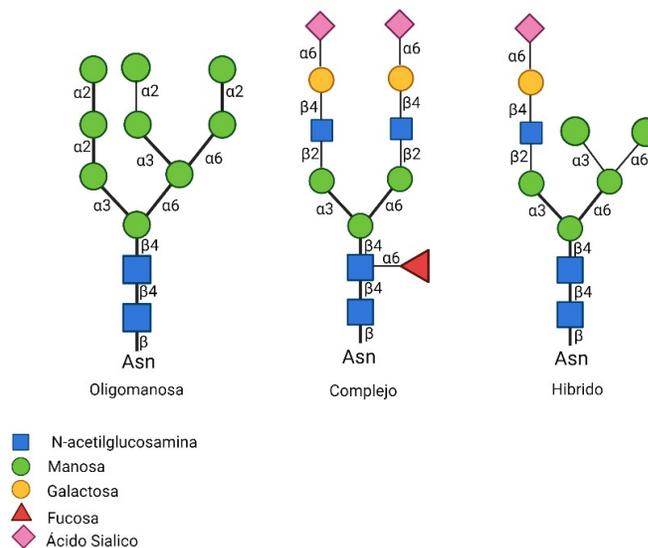
La superficie de todas las células está cubierta por estructuras sacarídicas (glicanos) unidas a lípidos, proteínas o ácidos nucleicos, formando glicoconjugados. La relevancia de estos glicoconjugados en algunos procesos celulares se ha reconocido recientemente, pues se ha determinado su participación en la estabilización de la conformación tridimensional de proteínas y en la protección de los polipéptidos contra los efectos de diversas proteasas.

Los glicanos celulares también han sido identificados como receptores de diversos patógenos como los virus, bacterias y hongos, donde la composición y organización de estas estructuras oligosacarídicas se modifica de manera importante durante el ciclo celular o el estado de maduración del patógeno. En el caso de los virus al utilizar la maquinaria sintética del huésped puede modular la naturaleza de los sitios antigénicos de la envoltura viral, encriptando los sitios inmunogénicos. En general los oligosacáridos poseen baja antigenicidad y reactividad ante anticuerpos, favoreciendo el desarrollo de anticuerpos de tipo M (IgM) y sin posibilidad de generar memoria inmunológica, pero participan activamente en funciones reguladoras de la respuesta inmune. Para lograr esta multifuncionalidad, la maquinaria de la glicosilación requiere una amplia robustez con el fin de sintetizar estructuras diversas y complejas en respuesta a los contextos celulares. Esto

hace de la glicosilación un mecanismo de codificación de información que regula y direcciona los procesos biológicos.

## La glicosilación

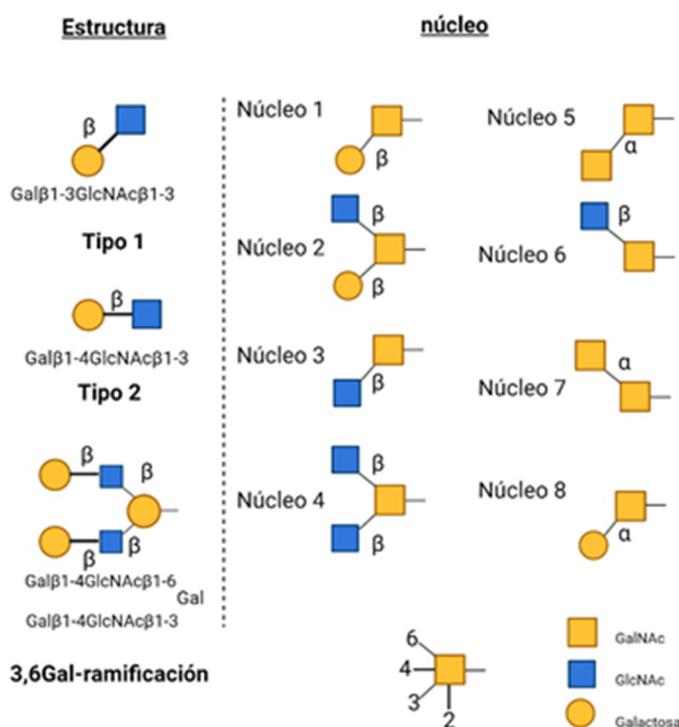
La glicosilación de proteínas es un proceso compartimentalizado y puede ocurrir en el citosol, la membrana del sarcolema, el retículo endoplasmático (RE) y el Aparato de Golgi (AG). La glicosilación es un proceso co- y postraduccional en donde los carbohidratos son unidos por enlaces covalentes a polipéptidos, lípidos, polinucleótidos, mediante glicosiltransferasas. La glicosilación de las glicoproteínas se clasifica según el tipo de enlace con los aminoácidos en *N*-, *O*- glicosilación y la *O*-GlcNAcación. La *N*-glicosilación inicia en el RE, por adición de la *N*-acetilglucosamina (GlcNAc) unida al NH<sub>2</sub> de asparagina (GlcNAcβ1-Asn); en este tipo de glicosilación se requiere una secuencia consenso Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, donde X es cualquier aminoácido excepto Pro. Después inicia el proceso de elongación mediado por transferasas que favorecen la generación de diferentes estructuras del tipo oligomanosas o estructuras de tipo complejo o híbridas que contienen otros carbohidratos transferidos en el AG incluidos galactosa (Gal), fucosa (Fuc) y ácido siálico (Sia) (Figura 1); cada tipo de estructura posee un código estructural con un potencial químico de información biológica (1).



**Figura 1. N- glicosilación.** Los *N*-glicanos tienen un núcleo básico constituido por dos residuos de GlcNAc y por lo menos 3 residuos de manosa (Man) en enlaces  $\alpha$ -glicosídicos.

Los *O*-glicanos, también llamados del tipo mucina son caracterizados porque contienen una estructura de base  $\text{GalNAc}\alpha 1$ , *O*-Ser/Thr, esta glicosilación es un evento postraduccional que se realiza en diferentes dominios o regiones del AG. En el dominio Cis, la transferasa de *N*-acetil-galactosamina (GalNAcT) cataliza el enlace con el hidroxilo (-OH) de la Ser/Thr del polipéptido. No existen secuencias peptídicas consenso, sin embargo, se ha identificado que es relevante la cercanía de una prolina. Otros residuos, como la galactosa (Gal) o el ácido siálico (Sia), se agregan en las cisternas intermedias y en el dominio trans, respectivamente, por Gal-transferasas (GalT) o

Sialil-transferasas (ST). Se les denomina de tipo mucina porque son típicas de esta glicoproteína y pueden desarrollar múltiples sustituciones con otros carbohidratos, en algunos casos, como en la mucina gástrica, la glicosilación representa más del 80% de la masa de esta glicoproteína o en algunos marcadores de linfocitos T, como CD43 casi el 40% de su peso (2). Las mucinas se clasifican en secretadas y transmembrana y el componente más importante de la capa mucosa es la mucina 2 secretada como el antígeno denominado Muc2 (Figura 2).

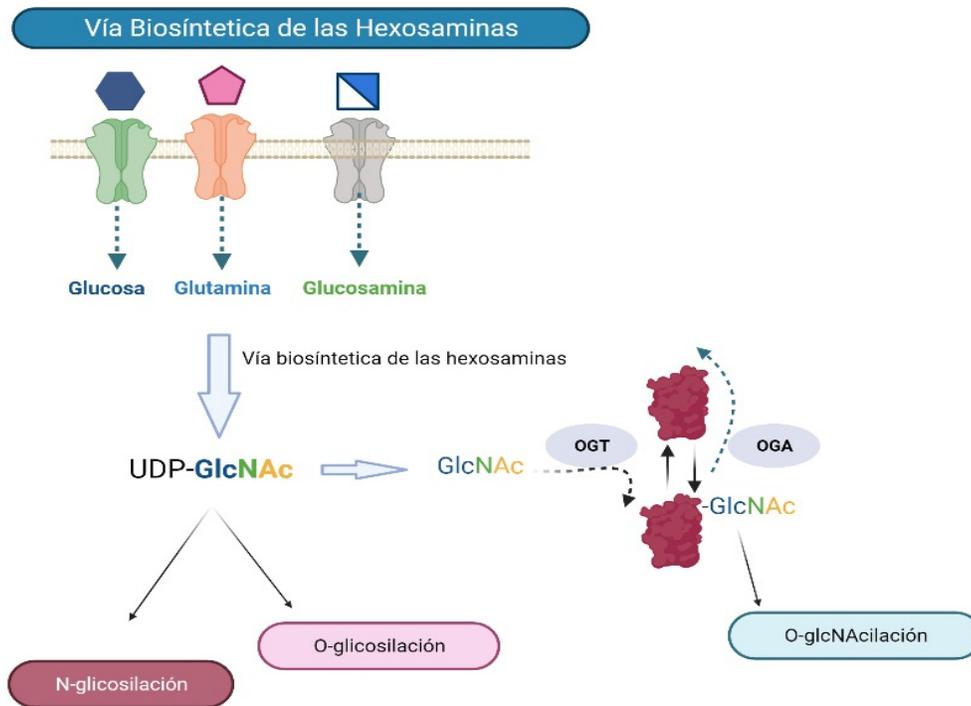


**Figura 2. O-glicosilación de tipo mucínico.** Estas glicanos poseen un núcleo común  $\text{GalNAc}\alpha 1$ , *O*-Ser/Thr que puede ser sustituido en los carbonos 2,3,4 o 6 de esta hexosamina y favorecer la adición de alguna de las estructuras indicadas y que formarán secuencias complejas.

### La *O*-GlcNAcilación

La *O*-GlcNAcilación (*N*-acetil-glucosaminilación) es una modificación postraduccional generada por la adición de GlcNAc a residuos de Ser o Thr a nivel nuclear, citoplasmático o mitocondrial. A diferencia de otras glicosilaciones, en este tipo la GlcNAc no se prolonga en estructuras complejas. La *O*-GlcNAcilación altera las propiedades funcionales de las proteínas modificadas, incluidos los factores de transcripción y los reguladores epigenéticos. Debido a que esta modificación depende de la concentración de glucosa (Glc), constituye un mecanismo para regular las actividades de las proteínas según la disponibilidad de Glc. Este proceso es reversible, altamente

dinámico, no requiere de secuencias consenso y frecuentemente, en el caso de la Ser, existe un equilibrio entre la adición de la *O*-GlcNAcilación y la fosforilación sobre el grupo -OH del aminoácido. La *O*-GlcNAcilación es regulada por la *O*-GlcNAc-transferasa (OGT) y por la *O*-GlcNAc-hexosaminidasa (OGA) que escinde al carbohidrato. La *O*-GlcNAcilación puede considerarse un mecanismo regulador de las vías de transducción de señales, a través de diferentes vías dependientes del estado nutricional de la célula (3). La actividad de la OGT es dependiente de la concentración de UDP-GlcNAc, que se produce por la vía biosintética de la hexosamina (figura 3).



**Figura 3. Vía de las hexosaminas y la O-GlcNAcilación.** La vía biosintética de las hexosaminas es la responsable de la producción de UDP-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc), el sustrato para la O-GlcNAcilación de proteínas.

### Relevancia de la glicosilación en el sistema inmune

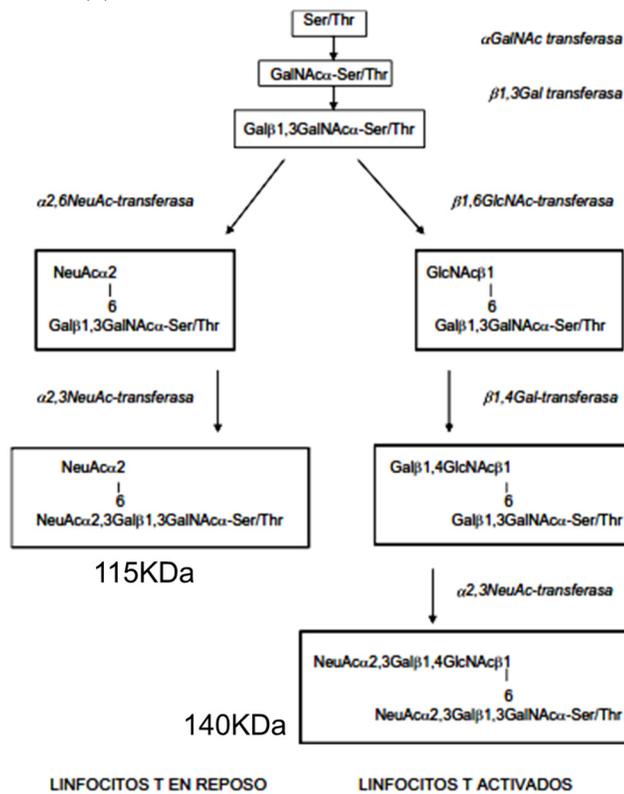
Se ha identificado que las inmunoglobulinas (Igs) sintetizadas por las células B y por las células plasmáticas, son moléculas glicosidasas; la función de la glicosilación en las Igs está relacionada con mecanismos de control de calidad durante la biosíntesis y su secreción, como estabilizador de la estructura proteica y como mediador en la interacción antígeno-anticuerpo. Errores en la activación de linfocitos B provoca deficiencias en la glicosilación de Igs y las calnexinas inhiben el tránsito de las Igs fuera del RE (control calidad de la biosíntesis), provocando la inmunodeficiencia denominada Agammaglobulinemia de Bruton (4).

Otro ejemplo es la glicosilación del correceptor CD4, necesaria para que sea expresado en la superficie de los linfocitos T cooperadores. Además, se conoce que residuos de ácido siálico en la membrana del linfocito T son reconocidos por moléculas denominadas SigLeCs (proteínas de la superficie celular que se unen al ácido siálico), que son lectinas de la superfamilia de las inmunoglobulinas en los linfocitos B, como el marcador fenotípico CD22, lo que favorece la interacción y cooperación entre estas dos estirpes de linfocitos (5)

Las estructuras de los carbohidratos tienen cambios característicos durante la maduración y en los procesos de activación celular. Existen

modificaciones en la glicosilación de marcadores específicos entre linfocitos T en reposo y activados como se ha demostrado en el CD43, conocido como leucosialina o sialoforina. CD43, una importante sialoglicoproteína en la superficie de los linfocitos T humanos, monocitos, granulocitos y linfocitos B. En los linfocitos T humanos se ha identificado que CD43 es una proteína integral de membrana que contiene un enlace N-glicano y 90 sitios de O-glicosilación en la porción extracelular de esta molécula. El peso molecular oscila entre los 115 a 140 kDa, utilizando anticuerpos y lectinas se ha identificado que la diferencia de peso se debe a cambios estructurales de las porciones glicosídicas durante la activación, exclusivamente en los linfocitos T y no en los linfocitos B humanos. Como se aprecia en la figura 4, las modificaciones en la estructura y organización de los glicanos está relacionada íntimamente con la participación de diversas transferasas, lo que sugiere que la expresión de estas enzimas está ligada a los mecanismos de transducción de señales, en los que participan diversos receptores en la membrana de los linfocitos (6). CD43 regula de manera importante el tráfico de los linfocitos T CD4+ (7). En el caso de los linfocitos T CD8+ se ha identificado que la sialiltransferasa ST3Gal-I controla la homeostasis de estos linfocitos por la modulación biosíntesis de los O-glicanos en CD43 (8). Los

defectos en CD43 están asociados con el desarrollo del síndrome de Wiskott-Aldrich (9).



**Figura 4. Perfil de glicosilación de CD43 en linfocitos en reposo y activados.** El incremento de la glicosilación en los linfocitos activados se debe principalmente a la activación en la expresión de enzimas como la  $\beta$ 1,6 GlcNAc-transferasa y la  $\beta$ 1,4 Gal-transferasa. La actividad de la  $\alpha$ GalNAc-transferasa y la NeuNAc(Sia) $\alpha$ 2,3/2,6-transferasa se mantienen constantes (Modificado de 6).

### La relevancia de la glicosilación en el TCR

Los linfocitos T son fundamentales en la regulación de la respuesta inmune y para generar respuesta específica contra patógenos o células cancerígenas. Los linfocitos T poseen un receptor (TCR) que reconoce al antígeno peptídico presentado por las moléculas de histocompatibilidad (MHC) de las células presentadoras de antígeno. La interacción TCR-pMHC favorece la remodelación y reorganización de las moléculas asociadas a la membrana celular, aumenta la fluidez de la membrana celular y la formación de la sinapsis inmunológica. La convergencia molecular se caracteriza por la formación de un complejo supramolecular de activación celular (SMAC) que promueve la señalización que desencadena la respuesta de los mecanismos efectoros del linfocito T.

El 95% de los linfocitos T en circulación poseen un heterodímero  $\alpha\beta$ TCR. En los humanos la cadena  $\alpha$  es una glicoproteína de 49 kDa que posee 4 sitios N-glicosilados y la cadena  $\beta$  es de 43 kDa con 1 N-glicano. La formación del complejo TCR-pMHC

estimula también la convergencia co-receptores como el CD28 en la membrana, que mantienen el equilibrio en el umbral de activación de los linfocitos T y es necesario para desencadenar las respuestas efectoras. En modelos experimentales que carecen de la enzima  $\beta$ 1,6 N-acetilglucosaminotrasferasa V, que participa en la vía de síntesis de N-Glicanos, se aprecia que se inhibe la fluidez y la convergencia de este y otros co-receptores en la membrana durante la activación inmunológica, generando mayor susceptibilidad para enfermedades autoinmunes (10). Deleciones puntuales de sitios potencialmente N-glicosilables; por mutagénesis dirigida en la cadena  $\alpha$  y  $\beta$ , favorecen un aumento de la avidéz en la interacción del TCR con el complejo pMHC en comparación con el control TCR, fisiológicamente esto provocaría la selección negativa y eliminación de estas estirpes celulares. Esto sugiere que el control de la N-glicosilación sobre TCR es una estrategia en el reconocimiento de manera específica y por la avidéz por péptidos antigénicos específicos podría ser de utilidad en inmunoterapia contra algunos tipos de cáncer (11).

Análisis estructurales han permitido sugerir que la glicosilación en las cadenas constantes del TCR favorecen su orientación de manera perpendicular a la membrana celular, lo cual facilita la formación del complejo TCR-MHC y restringe la interacción no específica del TCR con las proteínas adyacentes y las propias del linfocito T (12). Los *N*-glicanos del TCR son del tipo complejo con lactosamina (Gal  $\beta$ 1,4 GlcNAc), se ha demostrado que la adición de fucosa (Fuc) al núcleo GlcNAc de los *N*-Glicanos favorece la producción de citocinas proinflamatorias en los linfocitos T, como se ha demostrado en la progresión de enfermedades como colitis (13).

La unión TCR-MHC inicia el proceso de activación del linfocito T, sin embargo, el TCR posee dominios citosólicos muy cortos y limita su capacidad de transducir la señalización de activación al interior del linfocito T, por lo tanto el receptor está asociado íntimamente a otras proteínas de membrana que favorecen la activación de las cascadas de señalización intracelulares que desencadenan en la respuesta efectora de la célula T (14). El TCR forma un complejo multiprotéico con los heterodímeros CD3 $\gamma\epsilon$ , CD3 $\delta\epsilon$  y un homodímero  $\zeta\zeta$  denominados colectivamente como CD3 y por el  $\alpha\beta$ TCR (15), la cadena  $\zeta$  es un polipéptido no glicosilado de 17 kDa y posee 3 dominios ITAM (16); la cadena  $\epsilon$ , un polipéptido de 20 kDa no está glicosilada (17). Las

cadenas  $\gamma$ ,  $\delta$  de 25 kDa y 20 kDa los heterodímeros CD3 $\gamma\epsilon$ , CD3 $\delta\epsilon$  son glicoproteínas con un dominio citosólico con motivos ITAM, poseen un dominio transmembranal y un dominio extracelular que es de la familia de las Igs, que expresa *N*-Glicanos tabla 1(18).

Se han desarrollado anticuerpos monoclonales anti-CD3 que inducen la activación del linfocito T dependientes de la glicosilación del CD3 (20). Se ha propuesto que la glicosilación del CD3 está implicada en la propagación de la señalización del linfocito T inducida por la interacción TCR-pMHC. Ensayos *in vitro* han demostrado que la lectina Concanavalina A específica por estructuras de tipo oligomanosídico, es mitogénica, favorece el flujo de calcio intracelular y la activación de las vías de señalización propias de la respuesta del linfocito T, ya que reconoce a los *N*-glicanos en CD3 (21). Estos hallazgos sugieren que si bien CD3 es complejo molecular descrito desde hace tiempo, aún falta mucho por elucidar acerca de la relación estructura/actividad no solo de la estructura proteica sino además de las modificaciones postraduccionales asociadas a ellas, y más aún cuando se ha pensado en el CD3 como un posible blanco terapéutico en el diseño y desarrollo de inmunoterapias que permitan la manipulación de la activación del linfocito T de forma controlada.

**Tabla 1. Glicosilaciones asociadas a las cadenas CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$  de linfocitos humanos.** Las *N*-glicosilaciones en la cadena  $\delta$  del CD3 tienen un papel importante en la formación del complejo TCR y para el ensamblaje del CD3 $\delta\epsilon$ , sin embargo la glicosilación de las cadenas  $\delta$  y  $\gamma$  no son necesarias para este ensamblaje y su interacción con CD3 $\gamma\epsilon$  (19).

Cadena	<i>N</i> -Glicanos			<i>O</i> -glicanos
	Total	Posición	Tipos	Total
Delta (CD3 $\delta$ )	2	Asn <sup>36</sup>	No caracterizado	0
		Asn <sup>53</sup>		0
Gamma (CD3 $\gamma$ )	2	Asn <sup>52</sup>	Man <sub>5-9</sub> GlcNAc <sub>2</sub>	xxxx
		Asn <sup>92</sup>		

### La glicosilación en la presentación antigénica en el contexto MHC-TCR

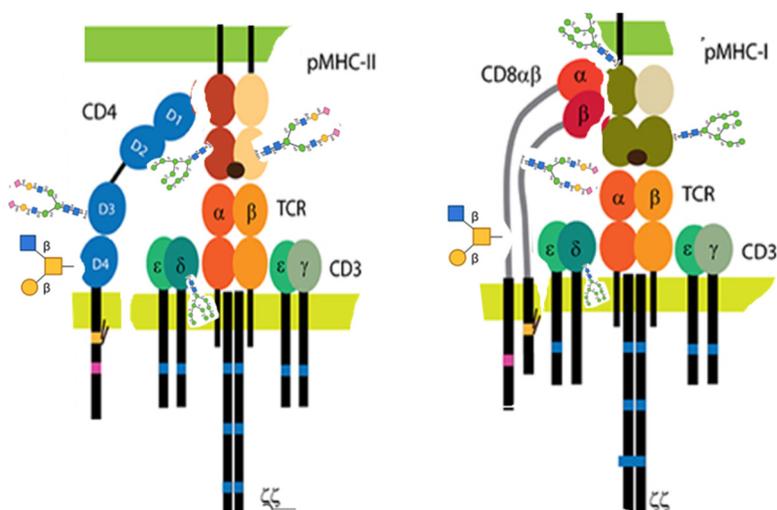
Las moléculas de histocompatibilidad I (MHC I) son expresadas por todas las células nucleadas e interactúan con los TCR de las células T CD8<sup>+</sup>, esto implica una relación regulada genéticamente. El MHC II es expresado por células presentadoras de antígenos denominadas profesionales, que incluyen células dendríticas, macrófagos y células B entre otras. Los péptidos presentados en contexto MHC II son reconocidos por las células T CD4<sup>+</sup>. El MHC I es una cadena con tres dominios de la superfamilia de las Igs y posee sitios de *N*-glicosilación. Se ha demostrado que alteración de la glicosilación por mutaciones puntuales alteran tanto el plegamiento como su expresión en la membrana celular. El MHC II está formado por cadenas glicosiladas  $\alpha$  y  $\beta$ ; la

cadena  $\alpha$  posee *N*-glicanos complejos y de tipo oligomanosídico, mientras que la cadena  $\beta$  solo está constituida por *N*-glicanos complejos (22). Se ha sugerido que la glicosilación del MHC II tiene un impacto particular en la presentación del péptido antigénico, lo que en consecuencia influye en las respuestas de las células T (12). Esto se demostró por la delección del gen *Mgat2* que codifica a la *N*-acetilglucosaminiltransferasa II, esta enzima es crítica en el procesamiento de la oligomanosa para la síntesis de estructuras de *N*-glicanos tipo complejo, que compromete la ramificación de *N*-glicano, disminuyendo la presentación de antígenos por el MHC clase II. Esto provoca deficiente activación de los linfocitos T, posterior a la presentación del péptido antigénico (23).

En los correceptores CD4 y CD8 la glicosilación de tipo *N*-glicosídico está presentes en ambas

estructuras, el papel de estas modificaciones co-traduccionales están relacionadas aparentemente con los procesos de migración desde el RE hasta la membrana (24). Diversos ensayos de mutagénesis o de inhibición de la glicosilación con diversos agentes, inhiben la expresión de estas proteínas en la membrana (Figura 5). En el CD8 la cadena  $\beta$  posee un sitio de *O*-glicosilación y se ha identificado que es de relevancia estructural en la función de correceptor, así como su interacción con el dominio invariante del MHC-I (25). La participación funcional de la *O*-glicosilación en CD4 ha sido controversial debido a

que la unión de CD4 al MHC de clase II es inhibida por la gp120 del VIH. Este mecanismo sugiere la especificidad de este virus por CD4 y se considera como un posible mecanismo de inmunosupresión en pacientes con SIDA. Diversos ensayos revelan que el VIH se une preferentemente a GlcNAc y Man. De manera interesante la lectina Jacalina, específica, por *O*-glicanos y por CD4, bloquea también la infección por VIH-1 a células CD4<sup>+</sup> (26), sugiriendo la relevancia de la glicosilación del CD4 como blanco específico del virus.



**Figura 5. Estructuras N-glicosídicas de tipo oligo-manosídicas y complejas se identifican en el MHC y en el TCR, así como en los correceptores CD4 y CD8.** La presencia de *O*-glicanos en CD4 y CD8 de los linfocitos T poseen diversas posibilidades de participar activamente en los mecanismos de reconocimiento de TCR y en la regulación funcional de estas estirpes celulares. Modificado (24).

### CD28, una molécula coestimuladora

CD28 es una glicoproteína que ayuda a superar el umbral de estimulación, amplificando la señal inducida por el TCR, esto favorece que se lleve a cabo la función efectora del linfocito T (27). CD28 es un homodímero de la superfamilia de superfamilia de las inmunoglobulinas, que se recluta en el SMAC durante la sinapsis inmunológica donde interactúa con CD80/86 expresado en la célula presentadora de antígeno)). El 50% del peso molecular de CD28 corresponde exclusivamente a *N*-glicanos (28). La avidéz del CD28 con su ligando es baja, debido a la rigidez que en parte le otorga los múltiples sitios de *N*-glicosilados en la proteína (29). Algunas mutaciones en los sitios potenciales de *N*-glicosilación de CD28 o la inhibición de las enzimas que participan en el proceso de glicosilación la *N*-glicosilación, como tunicamicina, provocan un incremento significativo en la avidéz entre el CD28 y su ligando, también induce una sobre-estimulación celular provocando un aumento en la producción de citocinas como la IL-2.

Esta información sugiere que los *N*-glicanos en CD28 tienen funciones reguladoras negativas en la interacción de CD28 con su ligando (30), lo cual contrasta con trabajos en los que se demuestra que la glicosilación sobre CD80/86 de la APC modula la avidéz con el CD28 y por ende la intensidad en la señalización (31).

### La *O*-GlcNAcilación en la respuesta inmune

La *O*-GlcNAcilación es fundamental para mantener la función celular normal, pero su función es dependiente de nutrientes, del metabolismo, de la transcripción y del crecimiento y desarrollo de la célula. Actualmente se ha identificado que este tipo de glicosilación participa en el crecimiento/proliferación de células u otras respuestas inmunitarias. Múltiples estudios han respaldado la idea de que el ciclo dinámico de *O*-GlcNAc juega un papel importante en la activación y regulación de las células T, la activación de los linfocitos en el desarrollo tímico provoca aumento de los niveles de *O*-GlcNAc en

proteínas nucleares, lo que sugiere un papel regulador en el desarrollo temprano de las células T. Cuando se inhibe la expresión de OGT por un RNA pequeño de interferencia (RNAip) hay disminución IL-2 y se afecta la respuesta proliferativa de las células T. La activación a través del TCR incrementa la expresión de OGT y los niveles de *O*-GlcNAcilación. Se identifica que la expresión de OGA se inhibe, lo que sugiere que la adición de *O*-GlcNAc, pero no su eliminación es importante para la activación de las células T. Algunas cinasas como ZAP-70, SHIP1 y LCK, y algunas como AKT (32) que participan directamente en la señalización de las células inmunitarias mediante la estimulación antigénica del TCR son blanco de la OGT. Estos hallazgos demuestran la importancia de *O*-GlcNAc en las primeras etapas de la vía TCR y su papel posterior en la regulación de la activación de las células T (33).

### Conclusiones y Perspectivas

La glicosilación en proteínas esenciales que participan en la comunicación de las células inmunes depende de códigos de reconocimiento y comunicación, como el del TCR con funciones estructurales que permiten el correcto plegamiento del heterodímero, pero también regulan la avidéz con el que el TCR reconoce el complejo pMHC, permitiendo dar inicio al proceso de señalización celular y formación de la sinapsis inmunológica. Estos hallazgos sugieren que el proceso de activación de la respuesta inmune requiere la organización de complejos moleculares que involucran a los procesos de glicosilación; aún falta mucho por elucidar acerca de la relación estructura/actividad no solo de la estructura proteica sino además de las modificaciones postraduccionales asociadas a ellas, y más aún cuando se ha pensado en el CD3 como un posible blanco terapéutico en el diseño y desarrollo de inmunoterapias que permitan la manipulación de la activación del linfocito T de forma controlada

En los últimos años, el estudio de la glicosilación y de su función en los procesos biológicos ha tomado gran relevancia en la investigación básica y aplicada, pues se ha determinado que estos patrones glicosídicos codifican información esencial que pueden direccionar los procesos biológicos hacia un estado de homeostasis o actividad biológica. Se ha avanzado en la modificación *in vitro* de los patrones de glicosilación de algunas células como las cancerígenas, como una estrategia clínica en el desarrollo de anticuerpos específicos contra este tipo

de células. Este principio ha sido también planteado en un contexto de activación y respuesta del linfocito T, donde se ha propuesto el desarrollo de estrategias que permitan modificar los patrones de glicosilación de moléculas como TCR, CD3, CD4 entre otras, como herramienta que permitan direccionar la respuesta respuestas efectoras de la célula, modular la activación celular o restringir procesos infecciosos.

Es necesario investigar el papel que tienen las citocinas sobre el perfil de glicosilación en los receptores que participan en la respuesta inmune específica, debido a que podrían afectar la eficiencia en el proceso de activación del Linfocito, en este mismo sentido, es importante considerar el microambiente de citocinas en el cual están inmersos los linfocitos durante el proceso de activación en cada una de las enfermedades, y por lo tanto, de ser necesario, se podría modificar el ambiente a través de un inmunomoduladores como una estrategia terapéutica. Por ejemplo, el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) es una citocina proinflamatoria que aumenta la expresión y la actividad de la sialil, la fucosil y de sulfotransferasas en cultivos de mucosa bronquial humana, específicamente aumenta la actividad de la  $\alpha$ 2,3-sialiltransferasa, la expresión de los genes *ST3GAL3* y *ST3GAL4*, la actividad de la GlcNAc-6-*O*-sulfotransferasa y de la Gal-3-*O*-sulfotransferasa. Se ha demostrado que en explantes bronquiales estimulados con IL-6 e IL-8 se induce mayor expresión de los genes de  $\alpha$ 1,3/4-fucosiltransferasas, así como de los genes de  $\alpha$ 2,3-sialiltransferasas (*ST3GAL4* y *ST3GAL6*) (34). La IL-6 y la IL-4 disminuyen la galactosilación de *O*-glicanos por disminución en la expresión de galactosiltransferasa GalT1, y por el aumento de la sialiltransferasa ST6GalNAc-II que previene la galactosilación en la IgA1 de pacientes con nefropatía por IgA (35). Finalmente, es necesario continuar avanzando en la comprensión de la glicosilación y de sus mecanismos de expresión en un contexto determinado (análisis de glicómicos), con el fin de diseñar estrategias clínicas que permitan manipular la respuesta inmunológica basada en la descodificación de la información química de la glicosilación.

### Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica UNAM IN 204624

## Referencias

- Schoberer J, Shin YJ, Vavra U, Veit C, and Strasse R (2018). Protein glycosylation in the ER *Methods Mol Biol.* 2018 Jan 1; 1691: 205–222. Doi : 10.1007/978-1-4939-7389-7\_16
- Stanley P (2011) Golgi Glycosylation *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 3(4) : a005199. Doi : 10.1101/cshperspect.a005199
- Hart GW, Slawson C, Ramirez-Correa G and Lagerlof O 2011 Cross talk between O-GlcNAcylation and phosphorylation : roles in signaling, transcription, and chronic disease. *Annu Rev Biochem* 80 :825-58. Doi : 10.1146/annurev-biochem-060608-102511.
- Zhou X, Francesca Motta F, Selmi C, Ridgway WM, Gershwin M., Zhang W (2021) Antibody glycosylation in autoimmune diseases *Autoimmunity Rev* 20 : 102804 doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102804
- Crocker PR, Paulson JC, Ajit Varki A (2007) Siglecs and their roles in the immune system *Nat Rev Immunol.* 7(4) :255-266. Doi : 10.1038/nri2056.
- Piller F, Piller V, Fox RI, and Fukuda M. (1988) Human T-lymphocyte activation is associated with changes in O-glycan biosynthesis. *J Biol Chem.* 263(29),15146–15150. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)68157-8/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)68157-8/pdf)
- Mody PD Cannon JL, Hozefa S. Bandukwala HS, Blaine KM Alexander B. et al. (2007) Signaling through CD43 regulates CD4 T-cell trafficking. *Blood.* *Immunobiol* 110(8), 2974–2982. doi: 10.1182/blood-2007-01-065276
- Priatel JJ, Di C, Hiraoka N, Simmons CJT, Richardson KB, Page DM, Minoru Fukuda M et al. (2000). The ST3Gal-I sialyltransferase controls CD8+ T lymphocyte homeostasis by modulating O-Glycan biosynthesis *immunity.* 12, 273–283. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80180-6. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80180-6.
- Ngoenkam J, Paensuan P, Wipa P, Schamel WWA, and Pongcharoen S (2021) Wiskott-Aldrich Syndrome Protein: Roles in Signal Transduction in T Cells. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 674572. doi: 10.3389/fcell.2021.674572
- Dias A M, Dourado J, Lago P, Cabral J, Marcos-Pinto R, Salgueiro P, et al. (2014). Dysregulation of T cell receptor N-glycosylation: a molecular mechanism involved in ulcerative colitis. *Human Mol Gen,* 23(9), 2416-2427. doi: 10.1093/hmg/ddt632
- Liddy N, Bossi G, Adams K J, Lissina A, Mahon T M, Hassan N J, et al. (2012). Monoclonal TCR-redirected tumor cell killing. *Nature Med,* 18(6), 980. doi: 10.1038/nm.2764
- Rudd PM, Wormald M R, Stanfield R L, Huang M, Mattsson N, Speir JA, et al., (1999). Roles for glycosylation of cell surface receptors involved in cellular immune recognition. *J Mol Biol,* 293(2), 351-366. doi:mhttps://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3104
- Zhang K, Demarest S J, Wu X, and Fitchett JR. (2017). Glycosylation profiling of  $\alpha/\beta$  T Cell Receptor constant domains expressed in mammalian cells (197-213): Springer New York.
- Kuhns MS, Davis M M, and Garcia KC. (2006). Deconstructing the form and function of the TCR/CD3 complex. *Immunity,* 24(2), 133-139. doi: 10.1016/j.immuni.2006.01.006
- Swamy M, Dopfer E P, Molnar E, Alarcón B, and Schamel, WW A. (2008). The 450 kDa TCR Complex has a Stoichiometry of  $\alpha\beta\gamma\delta\epsilon\zeta$ . *Scand J Immunol,* 67(4), 418-420. doi: 10.1111/j.1365-3083.2008.02082.x
- Samelson LE, Patel MD, Weissman AM., Harford JB, and Klausner RD. (1986). Antigen activation of murine T cells induces tyrosine phosphorylation of a polypeptide associated with the T cell antigen receptor. *Cell,* 46(7), 1083-1090. doi: 10.1016/0092-8674(86)90708-7
- Borst J, Prendiville MA, and Terhorst C. (1983). The T3 complex on human thymus-derived lymphocytes contains two different subunits of 20 kDa. *Eur J Immunol,* 13(7), 576-580. doi: 10.1002/eji.1830130712
- Clevers H, Alarcon B, Wileman T, and Terhorst C. (1988). The T Cell Receptor/CD3 Complex: A Dynamic Protein Ensemble. *An Rev Immunol,* 6(1), 629-662. doi: 10.1146/annurev.iy.06.040188.003213
- Dietrich J, Neisig A, Hou X, Wegener A M, Gajhede M, and Geisler, C. (1996). Role of CD3 gamma in T cell receptor assembly. *J Cell Biol,* 132(3), 299-310. doi: 10.1083/jcb.132.3.299
- van de Griend R J, Borst J, Tax W J, and Bolhuis R L. (1988). Functional reactivity of WT31 monoclonal antibody with T cell receptor-gamma expressing CD3+4-8- T cells. *J Immunol,* 140(4), 1107-1110. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2449496/>
- Pang B, Shin DH, Park, K. S., Huh YJ, Woo J, Zhang YH, et al (2012). Differential pathways for calcium influx activated by concanavalin A and CD3 stimulation in Jurkat T cells. *Pflugers Archiv-Eur J Physiol,* 463(2), 309-318. doi: 10.1007/s00424-011-1039-x
- Ryan SO and Cobb BA (2012) Roles for major histocompatibility complex glycosylation in immune function. *Semin Immunopathol.* 34(3), 10. doi: 10.1007/s00281-012-0309-9
- Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, and Dennis J W. (2001). Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation. *Nature,* 409(6821), 733-739. doi: 10.1038/35055582
- Glatzová D, and Cebecauer M.(2019) Dual role of CD4 in peripheral T lymphocytes *Front Immunol* 2019:10:618. doi: 10.3389/fimmu.2019.00618
- Rossi, N. E., Reine, J., Pineda-Lezami, M., Pulgar, M., Meza, N. W., Swamy, M., et al. (2008). Differential antibody binding to the surface alpha beta TCR.CD3 complex of CD4(+) and CD8(+) T lymphocytes is conserved in mammals and associated with differential glycosylation. *Int Immunol,* 20(10), 1247-1258. doi: 10.1093/intimm/dxn081
- Tamma MKL, Oyaizu N, McCloskey TW, Vaniambadi S. Kalyanaraman YS, and Pahwa S. (1996) HIV-1 gp120 blocks Jacalin-induced proliferative response in CD4+T Cells: Jacalin as a useful surrogate marker for qualitative and quantitative deficiency of CD4+T Cells in HIV-1 infection. *Clin Immunol Immunopathol* 80, 290-297. doi: 10.1006/clin.1996.0126.

27. Riley JL, Mao M, Kobayashi S, Biery M, Burchard J, Cavet G, et al. (2002). Modulation of TCR-induced transcriptional profiles by ligation of CD28, ICOS, and CTLA-4 receptors. *PNAS*, 99(18), 11790-11795. doi: 10.1073/pnas.162359999
28. Hanawa H, Ma Y, Mikolajczak SA, Charles ML, Yoshida T, et al. (2002). A novel costimulatory signaling in human T lymphocytes by a splice variant of CD28. *Blood*, 99(6), 2138-2145. doi: 10.1182/blood.V99.6.2138
29. Bromley SK, Iaboni A, Davis SJ, Whitty A, Green J M, Shaw AS, et al. (2001). The immunological synapse and CD28-CD80 interactions. *Nature Immunol*, 2(12), 1159-1166. doi: 10.1038/ni737
30. Ma BY, Mikolajczak S A, Yoshida T, Yoshida R, Kelvin D J, and Ochi A. (2004). CD28 T cell costimulatory receptor function is negatively regulated by N-linked carbohydrates. *Bioch Biophys Res Comm*, 317(1), 60-67. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.012>
31. Sorensen P, Kussmann M, Rosen A, Bennett K L, Thrige, DD, Uvebrant K, et al. (2004). Identification of protein-protein interfaces implicated in CD80-CD28 costimulatory signaling. *J Immunol*, 172(11), 6803-6809. doi: 10.4049/jimmunol.172.11.6803
32. Jiménez-Castillo V, Illescas-Barbosa, Zenteno E, Ávila-Curiel BX, Castañeda-Patlán MC, Robles-Flores M et al., (2022) Increased O-GlcNAcylation promotes IGF-1 receptor/PhosphatidyI Inositol-3 kinase/Akt pathway in cervical cancer cells. *Sci Rep* 12:4464. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08445-0>.
33. Qiang A, Slawson C, and Fields PE.(2021) The Role of O-GlcNAcylation in Immune Cell Activation. *Front. Endocrinol*, 12, 2021. doi.org/10.3389/fendo.2021.596617
34. Dewald JH, Colomb F, Bobowski-Gerard M, Groux-Degroote S, and Delannoy P. (2016). Role of cytokine-induced glycosylation changes in regulating cell Interactions and Cell Signaling in inflammatory diseases and cancer. *Cells*, 5(4), 43. <https://doi.org/10.3390/cells5040043>
35. Suzuki H, Raska M, Yamada K, Moldoveanu Z, Julian BA, Wyatt RJ, Tomino Y, Gharavi AG, Novak J. (2014) Cytokines alter IgA1 O-glycosylation by dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II enzymes. *J Biol Chem*. 289(8), 5330-5339. doi: 10.1074/jbc.M113.512277



**Dr. Arturo Edgar Zenteno Galindo**  
**ORCID: 0000-0001-5603-4072**

Profesor Titular C tiempo completo definitivo del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina. Médico Cirujano UNAM (1976), Doctorado de Tercer Ciclo en Bioquímica Aplicada (1986) y la Habilitación para Dirigir la Investigación en el área de Ciencias Naturales (1994) por la Universidad de Ciencias de Lille Francia. Profesor de Bioquímica (1987 a 1998) y Profesor Titular de Inmunología (1994 a la fecha) en la Facultad de Medicina. Profesor invitado Universidad Autónoma

del Edo. De Morelos (1987 a 1989), la Universidad de Ciencias y Técnicas de Lille, Francia (1998-1999) y la Universidad de Paris Este-Créteil (2022). Titular del Curso de Inmunología Avanzada (1992-2020). Ha dirigido más de 50 tesis en diferentes niveles (Licenciatura, de Especialidad, Maestría y Doctorado). Ha sido Coordinador de la Maestría y Doctorado en Ciencias Biomédicas (Inmunología 1988-1990) y del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas Odontológicas y de la Salud (2015-2018). Fue Jefe de Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina UNAM (2003-20013).

El proyecto de investigación está enfocado a identificar la relación estructura función de los carbohidratos en la respuesta inmune y en alteraciones neurodegenerativas. De sus proyectos de investigación se han publicado varios artículos en revistas nacionales e internacionales. Además de capítulos de libros. Ha sido editor de 5 libros nacionales, ha registrado 3 Patentes Nacionales y una marca registrada. Es Investigador Nacional Nivel Emérito (2021). Primer Premio CANIFARMA-INFARVET en 2004. Profesor Honorario de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma, Perú (2007). Premio Alzheimer 2021-2022 Fundación Moisés Itzkowich-FUNAM.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# Los receptores para el ácido lisofosfatídico: avances en el estudio del subtipo LPA<sub>3</sub>

## Lysophosphatidic acid receptors: advances in the study of the LPA<sub>3</sub> subtype

Solís, K. Helivier; Romero-Ávila, M. Teresa; García-Sáinz, J. Adolfo.<sup>1</sup>  

Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular,  
Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ Circuito exterior, zona de Investigación Científica. Ciudad Universitaria. Ciudad de México, CP 04510,  
México. Tel. +52 (55) 56225613; [agarcia@ifc.unam.mx](mailto:agarcia@ifc.unam.mx)

Editor responsable: María Magdalena Vilchis Landeros  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.14>

Recibido: 15 de febrero de 2024  
Revisado: 25 de abril de 2024  
Aceptado: 6 de mayo de 2024

### Resumen

El ácido lisofosfatídico es un lípido simple, de bajo peso molecular, con una muy amplia distribución en diversos órganos, tejidos y fluidos. En condiciones normales se encuentra en concentraciones en el rango nanomolar, mientras que en condiciones patológicas puede alcanzar concentraciones micromolares. Además de su papel en el metabolismo intermedio ejerce una gran gama de acciones participando en la homeostasis y en la fisiopatología de diversas enfermedades. En dichos efectos participan receptores acoplados a proteínas G conformando la familia de los receptores del ácido lisofosfatídico con ocho miembros, que se agrupan en dos subfamilias: los pertenecientes a los receptores para lisofosfolípidos (subtipos LPA<sub>1-3</sub>) y los relacionados a los receptores purinérgicos (subtipos LPA<sub>4-8</sub>). En este trabajo nos enfocaremos principalmente a describir nuevos hallazgos sobre la regulación del receptor LPA<sub>3</sub> involucrado en la fertilidad masculina y la implantación embrionaria; así como en la fisiopatología del cáncer en etapas avanzadas, debido a que favorece procesos de migración, proliferación e invasión celular. El receptor para LPA<sub>3</sub> se fosforila al ser estimulado por

### Abstract

Lysophosphatidic acid is a simple, low-molecular-weight lipid widely distributed among distinct organs, tissues, and fluids. Under normal conditions, it is found in the nanomolar range, whereas under pathological conditions, it can reach micromolar concentrations. In addition to participating in lipid metabolism, lysophosphatidic acid plays a role in maintaining homeostasis and the physiopathology of distinct diseases. Such actions are mediated by eight G protein-coupled receptors that constitute the lysophosphatidic acid receptor family. Such receptors are classified into two subfamilies: those belonging to the lysophospholipid receptors (LPA<sub>1-3</sub> subtypes) and those related to the purinergic receptor subfamily (LPA<sub>4-8</sub>). In this work, we will mainly focus on new findings about the signaling and regulation of the LPA<sub>3</sub> receptor, which is involved in fertility and embryo implantation, as well as in the pathogenesis of some types of cancer likely related to its ability to induce proliferation, migration, and tissue invasion. LPA<sub>3</sub> is phosphorylated in response to agonist activation and the activity of distinct protein kinases. Such phosphorylation is associated with receptor interaction with  $\beta$ -arrestins,

su ligando endógeno y la activación de proteínas cinasas moduladas por segundos mensajeros. Dicha fosforilación es seguida por la interacción con las  $\beta$ -arrestinas y la consecuente desensibilización e internalización del receptor. Recientemente se pudo determinar que, en contraste con el receptor LPA<sub>1</sub>, sus acciones son mediadas por proteínas G insensibles a la toxina pertussis (probablemente G<sub>q/11</sub>). Además, definimos los principales sitios específicos donde se fosforila. Consideramos que estos hallazgos tienen relevancia pues ayudarán a entender el funcionamiento molecular y la regulación del receptor, además de ayudar a la búsqueda de dianas farmacológicas para el tratamiento de algunas patologías.

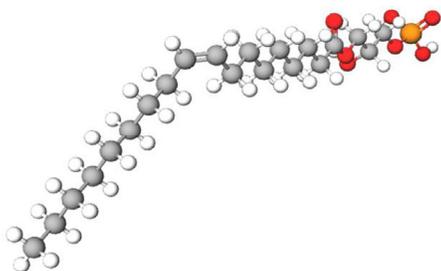
**Palabras clave:** Receptores para ácido lisofosfatídico; receptor LPA<sub>3</sub>; señalización; fosforilación de receptores; internalización de receptores.

desensitization, and internalization. Recent data indicate that, in contrast to the LPA<sub>1</sub> receptor, some of the actions of the LPA<sub>3</sub> receptor involve pertussis toxin-insensitive G proteins (likely, G<sub>q/11</sub>), and we were able to define some of the specific sites phosphorylated (located in the intracellular loop 3 and the carboxyl terminus). These data are relevant because they will allow a better understanding of LPA<sub>3</sub> function and regulation and define possible therapeutic intervention targets.

**Keywords:** Lysophosphatidic acid receptors; LPA<sub>3</sub> receptor; signaling; receptor phosphorylation; receptor internalization.

## Introducción

El ácido lisofosfatídico (forma más común, 1-acil-2-liso-sn-glicerol-3-fosfato) (LPA, por sus siglas en inglés), es un glicerofosfolípido simple, de bajo peso molecular y con cierta solubilidad en agua. Está constituido químicamente por una columna de glicerol, esterificado con un ácido graso en las posiciones sn-1 o sn-2 y además con un grupo fosfato, quedando un grupo hidroxilo del glicerol libre (Figura 1).



**Figura 1. Estructura química del ácido lisofosfatídico.** Los átomos están indicados con colores: carbono (gris), hidrógeno (blanco), oxígeno (rojo), fósforo (amarillo). Tomado de <https://molview.org/>

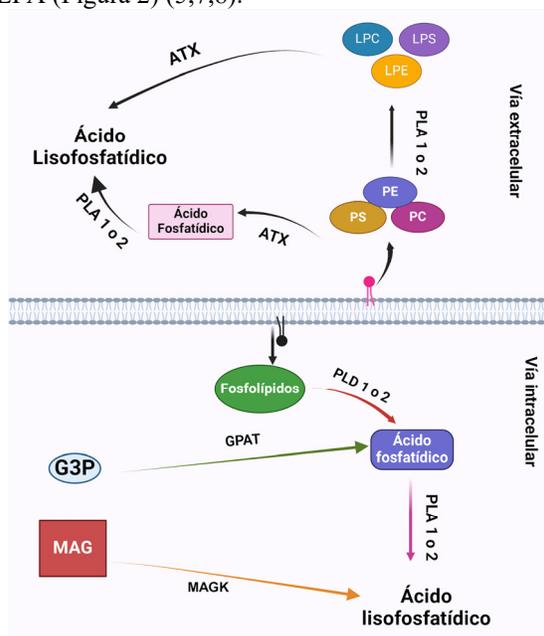
Se ha demostrado que el LPA se encuentra presente tanto intracelular como extracelularmente, participando en diversas funciones. Se considera como una hormona local, debido a que, además de su participación como un intermediario en el metabolismo de diversos fosfolípidos, regula procesos celulares mediante la activación de receptores (1-3).

El LPA es muy heterogéneo dado que puede estar esterificado por ácidos grasos de variada longitud de cadena, con o sin dobles ligaduras. Está presente en diversos fluidos biológicos (saliva, suero, plasma, lágrimas, fluido folicular, y fluido cerebroespinal entre otros) y en la gran mayoría de los tejidos (4). Es una hormona local o “lípidio bioactivo” (denominación imprecisa pero muy utilizada), debido a su naturaleza lipídica y a que regula una amplia gama de respuestas biológicas entre las que se incluyen: la proliferación celular, inhibición de la apoptosis, migración celular, liberación de citocinas y quimiocinas, agregación plaquetaria, contracción de la musculatura lisa, retracción de neuritas, cierre de uniones tipo GAP, entre muchas otras. El LPA es un factor de crecimiento presente en el suero, que participa en el mantenimiento de la viabilidad celular y evita la apoptosis. En condiciones normales la concentración de este lípido en el plasma oscila ampliamente (entre 0.7 y 80 nM), mientras que en el suero tiene una concentración promedio de 10  $\mu$ M (1,5,6).

## Biosíntesis y degradación del LPA

El ácido lisofosfatídico es un lípido que se sintetiza tanto extracelularmente como intracelularmente. En la vía extracelular el LPA se forma a partir de fosfolípidos de la cara externa de la membrana plasmática, como son la fosfatidilcolina, la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina, los cuales por medio de la acción de las enzimas fosfolipasa A1 o fosfolipasa A2, que escinden una cadena de ácidos grasos, generan los lisofosfolípidos correspondientes; éstos finalmente por acción de la enzima autotaxina (ATX), una fosfolipasa D, generan al LPA. Se ha

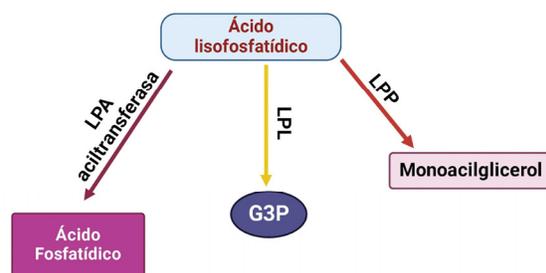
demostrado que la ATX es una enzima clave en la síntesis de LPA extracelular a partir de los lípidos de la membrana, responsable de mantener las concentraciones fisiológicas de LPA; razón por la cual esta enzima es considerada como un posible blanco terapéutico (1,7,8). Es importante mencionar que en la vía extracelular el LPA se puede sintetizar tanto a partir de la fosfatidilcolina que se encuentra en el exterior de las membranas, pero que también puede participar la fosfatidilcolina de partículas presentes en el suero, con la participación de la lecitina-colesterol aciltransferasa. Por otro lado, durante la agregación plaquetaria el LPA se sintetiza a partir de fosfatidilserina, específicamente por la actividad de las serina fosfolipasas secretoras, tipos A1 o A2, en ambos casos finalmente la enzima ATX sintetiza el LPA (Figura 2) (5,7,8).



**Figura 2. Vías de síntesis intracelular y extracelular del ácido lisofosfatídico.** PC, fosfatidilcolina; PS, fosfatidilserina; PE, fosfatidiletanolamina; LPC, lisofosfatidil colina, LPS, lisofosfatidilserina; LPE, lisofosfatidiletanolamina, ATX, autotaxina; PLA1 o PLA2, fosfolipasas A1 o A2; PLD 1 o 2, fosfolipasas D 1 o 2; MAG, monoacilglicerol; MAGK, monoacilglicerol cinasa; G3P, glicerol 3-fosfato; GPAT, glicerol 3-fosfato aciltransferasa.

En la síntesis intracelular del LPA se han involucrado diferentes procesos metabólicos, en los cuales participan la monoacilglicerol cinasa, las lisofosfolipasas A1 o A2, y la glicerolfosfato aciltransferasa (7,9,10). Algunos de estos procesos se ilustran en la Figura 2.

La degradación del LPA involucra tres vías principales. La primera de ellas catalizada por la enzima lípido fosfato (lisofosfolípido) fosfatasa que remueve el grupo fosfato del LPA para formar el monoacilglicerol. La segunda es realizada por la ácido lisofosfatídico aciltransferasa que cataliza la transferencia de un grupo acilo proveniente de la acil-CoA al LPA para formar el ácido fosfatídico. La tercera vía involucra a una lisofosfolipasa que hidroliza el éster con el grupo acilo generando glicerol 3-fosfato (Figura 3). Existen otras vías que permiten el reciclaje de los metabolitos participantes.



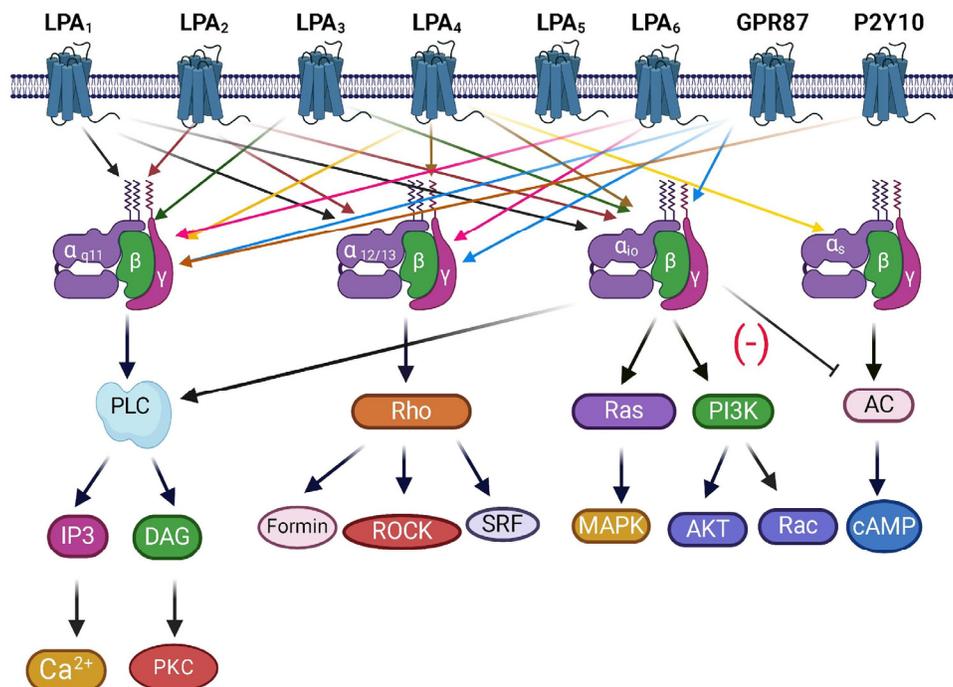
**Figura 3. Vías de degradación del LPA.** LPP, lisofosfatídico fosfatasa o lípido fosfato fosfatasa; LPL, lisofosfolipasa.

### Receptores para el LPA

Los receptores para el LPA pueden clasificarse en dos subgrupos en función al grado de similitud presente en su estructura química (11-13). En el primer subgrupo, que se denomina frecuentemente para lisofosfolípidos, pertenecen a los receptores LPA<sub>1</sub>, LPA<sub>2</sub> y LPA<sub>3</sub> (llamados anteriormente como familia EDG por su descubrimiento como Genes de Diferenciación Endotelial), este grupo incluye además a otros receptores como los de la esfingosina 1-fosfato. Estos últimos comparten un  $\approx 50\%$  de los aminoácidos que conforman su estructura química con los receptores para LPA (11-15). El segundo grupo corresponde a la familia de los relacionados con los receptores purinérgicos (del grupo P2Y) entre los que se encuentran LPA<sub>4</sub>, LPA<sub>5</sub>, LPA<sub>6</sub>, y recientemente se han propuesto GPR87 y P2Y10, los cuales comparten entre sí  $\approx 35\%$  de identidad. Todos estos receptores pertenecen a los receptores acoplados a proteínas G y comparten en su estructura 7 dominios transmembranales (11-15). Se acoplan a diversas proteínas G (G<sub>12/13</sub>, G<sub>q/11</sub>, G<sub>i</sub>, y G<sub>s</sub>) las cuales inician una variedad de cascadas de señalización intracelular que regulan procesos como: la inhibición de la adenilil ciclasa, la liberación de calcio intracelular, la activación de proteínas como la Rho-GTPasa, o la activación de la cascada de señalización de las

proteínas cinasas activadas por mitógenos (o de la transcripción de genes, entre muchas otras (11- "MAPK", mitogen activated protein kinases), además 15) (Figura 4).

### Receptores del ácido lisofosfatídico



**Figura 4. Familia de los receptores de los ácidos lisofosfatídicos y las vías de señalización en las que están implicados.** Se indica el acoplamiento a diferentes proteínas G y su señalización en forma general. PLC, fosfolipasa C; IP3, inositol trifosfato; DAG, diacilglicerol; PKC, proteína cinasa C; Rho, GTPasa pequeña, ROCK, cinasa de Rho; SRE, elemento de respuesta a suero; Ras, GTPasa pequeña; PI3K, fosfoinosítido 3-cinasa; MAPK, cinasas de las proteínas activadas por mitógenos, AKT, llamada también proteína cinasa B; Rac, GTPasa pequeña; AC, adenilil ciclasa; cAMP, AMP cíclico.

Como puede apreciarse en la figura 4, los receptores no tienen una selectividad total para interactuar con diferentes proteínas G, es decir presentan cierto grado de promiscuidad, que depende en buena medida del contexto celular, lo que ha complicado su estudio (Tabla I). Además el LPA es capaz de activar algunos receptores intranucleares y canales iónicos.

Este trabajo centra su interés en los avances recientes de nuestro grupo sobre el receptor LPA<sub>3</sub>. A continuación se señalan brevemente algunas de las características de los receptores LPA<sub>1</sub> y LPA<sub>2</sub> y en una sección posterior sobre LPA<sub>3</sub>. No se incluyen los receptores para LPA relacionados el grupo similar a los purinérgicos.

#### Receptor LPA<sub>1</sub>

El receptor para ácido lisofosfatídico tipo 1 (previamente conocido como EDG2) se encuentra

codificado en el cromosoma 9q31.3 en humanos. La proteína está constituida de 364 amino ácidos, teniendo un peso molecular de aproximadamente 41 kDa (presenta glicosilación) (16,17). Se acopla a múltiples proteínas G del tipo Gα<sub>i</sub>, Gα<sub>q</sub> y Gα<sub>13</sub>. Este receptor tiene una amplia expresión en diversos órganos incluyendo: cerebro, útero, testículos, pulmón, intestino delgado, corazón, estómago, riñón, bazo, timo, placenta y musculo esquelético (16,17). Su principal ligando es el LPA, aunque se ha mostrado que el LPA<sub>1</sub> es capaz de unir la forma fosforilada del 2-araquidonil glicerol y la 2-araquidonil etanolamina (ambos ligandos de los receptores para cannabinoides). Estructuralmente el receptor LPA<sub>1</sub> contiene una secuencia de unión a dominios PDZ en el carboxilo terminal (PSD95/Dlg/ZO-1), motivo que permite su interacción con la proteína RhoGEF, modulando vías de señalización intracelular (18,19).

La activación del receptor para LPA<sub>1</sub> por su ligando ha mostrado una gran cantidad de efectos

celulares como: cambios en la concentración intracelular de calcio, proliferación, migración, sobrevivencia, el contacto célula-célula, cambios en la estructura del citoesqueleto, retracción neurítica, formación de fibras de estrés, mielinización de células de Schwann, entre otras (20-22). Además, también tiene un lado “oscuro” pues se ha relacionado con diversas patologías entre las que se encuentran la fibrosis pulmonar, la fibrosis renal, dérmica y peritoneal, ya que regula la migración de fibroblastos, su proliferación y la acumulación de matriz extracelular (23,24). Procesos que se propone están mediados por la activación de la proteína  $G_{\alpha 13}$ , que activa la vía de Rho/ROCK. En el sistema nervioso central, este receptor participa en el desensamble ciliar de células progenitoras neurales, el cual es necesario para la división celular y desarrollo cortical. El bloqueo de la expresión del receptor  $LPA_1$  promueve alteraciones en la estructura de los cartílagos, deformidades craneales y alteración de la fusión de las costillas con el esternón, entre otras anomalías (25).

La sobre-expresión del receptor  $LPA_1$  se ha relacionado con diversos procesos carcinogénicos, como en el caso del neuroblastoma, donde el receptor para  $LPA_1$  promueve la translocación de la proteína cinasa  $C\alpha$  al núcleo incrementando la proliferación en este tipo de cáncer. En el caso del cáncer de pulmón este receptor activa a la proteína  $G_i$  facilitando la activación de las vías de las cinasas activadas por mitógenos (MAPK) y al factor transcripcional, NF- $\kappa$ B. En estos tipos de cáncer el receptor para  $LPA_1$  incrementa su expresión promoviendo procesos de proliferación, invasión y migración celular (26).

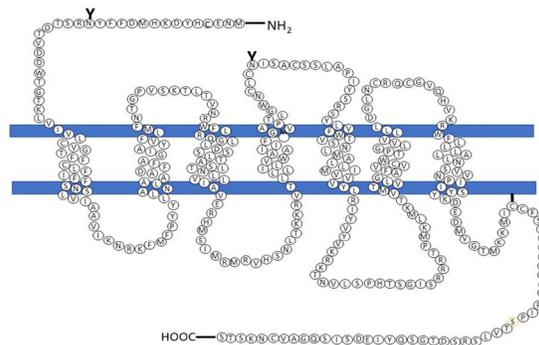
### Receptor $LPA_2$

Este receptor está codificado en el cromosoma 19p12; se conforma por 351 amino ácidos y su peso molecular de  $\approx 39$  kDa. Presenta una similitud con el receptor  $LPA_1$  del 55%, es un receptor acoplado a las proteínas  $G_{\alpha_i}$ ,  $G_{\alpha_{q/11}}$  y  $G_{\alpha_{12/13}}$ . La pérdida de la función de este receptor no presenta un fenotipo marcado ya que el receptor  $LPA_1$  puede suplirlo en muchas de sus funciones (14,15). Al igual que el receptor  $LPA_1$  tiene un dominio PDZ en el carboxilo terminal, el cual interacciona con el intercambiador del factor regulador 2 de  $Na^+/H^+$  y RhoGEF favoreciendo la señalización intracelular (14,15,27,28). La expresión de  $LPA_2$  también es amplia, incluyendo pulmón, hígado, testículos, bazo, útero, timo, estómago, corazón, leucocitos, así como en el cerebro de embriones (11,13,14). Este receptor transduce también la señal mediante la activación de

GTPasas Ras, proteínas cinasas activadas por mitógenos, PI3K, Rac, fosfolipasa C, diacilglicerol y Rho; además participa en procesos de proliferación y sobrevivencia celulares principalmente (27,29,30).

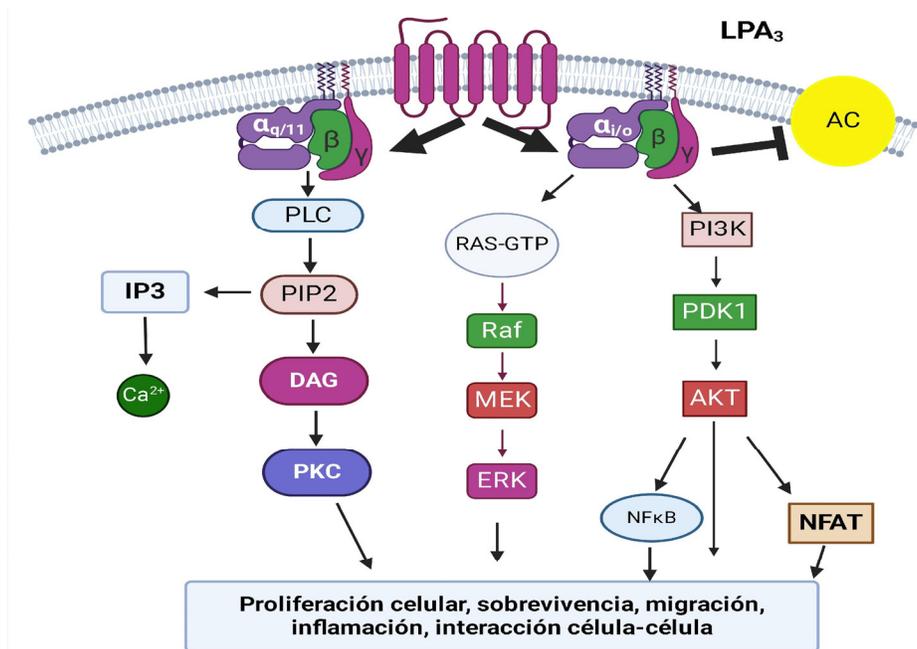
### Receptor $LPA_3$

El receptor para el ácido lisofosfatídico tipo 3 o  $LPA_3$  (3,11,17,31,32) fue descubierto en el año 2000 y su información está codificada en el cromosoma 1p22.3-31.1. Es una proteína de 353 amino ácidos con un peso molecular de  $\approx 40$  kDa (Figura 5) con una similitud del 53% con el receptor  $LPA_1$  y del 49% con el  $LPA_2$ .



**Figura 5. Modelo del receptor  $LPA_3$ .** Tomado de la referencia 3. Secuencia de amino ácidos del grupo  $NH_2$ - (extracelular) al  $COOH$  (intracelular). Las barras azules delimitan la membrana plasmática y las "Y" indican zonas de glicosilación.

El receptor  $LPA_3$  se acopla a las proteínas G heterotrimericas como  $G_{\alpha_{q/11}}$ , cuya activación inicia cascadas de señalización a través de la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato, generación de diacilglicerol e inositol trifosfato, con un consecuente incremento en el calcio intracelular (Figura 6); también se acopla a las proteínas  $G_{\alpha_i}$ , lo que conduce a una inhibición de la adenilil ciclasa y a la activación de la cascada de las cinasas activadas por mitógenos (MAPK), entre otros efectos (Figura 6). Su expresión es muy amplia, al igual que la de los otros receptores de la familia de los lisofosfolípidos, pues se detecta en corazón, testículos, próstata, páncreas, pulmón, ovario y cerebro (3,31-33). Es un receptor que también participa en muchos procesos, como la implantación embrionaria, el desarrollo de la placenta, en la espermatogénesis, la sobrevivencia de los cardiomiocitos durante la hipoxia, la ramificación de las neuritas en el hipocampo y en la corteza cerebral después del nacimiento, así como la maduración de las células dendríticas (3,31-34).



**Figura 6.** Las vías de señalización que pueden estar activando el LPA<sub>3</sub> por el reclutamiento y activación de la proteína G. AC, adenilil ciclasa; IP<sub>3</sub>, inositol trifosfato; PLC, fosfolipasa C $\beta$ ; PIP<sub>2</sub>, fosfatidilinositol 4,5-bifosfato; DAG, diacilglicerol; PKC, proteína cinasa C; RAS-GTP, forma activa de la GTPasa Ras, Raf, MEK, ERK, fosfotransferasas de la cascada de las MAP cinasas; PI3K, fosfoinosítido 3-cinasa; PDK1, proteína cinasa dependiente de fosfoinosítidos; AKT (PKB) proteína cinasa B; NFκB, factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas, es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN; NFAT, factor de transcripción.

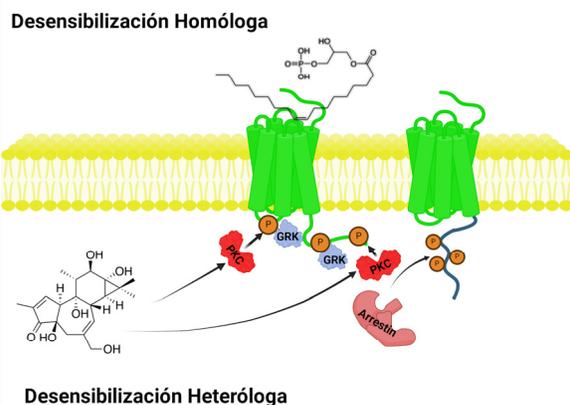
En procesos patológicos el receptor LPA<sub>3</sub> se ha relacionado con el dolor neuropático; promueve la producción de interleucinas IL6, IL16 y IL8 e induce la síntesis de prostaglandinas E<sub>2</sub> en pacientes con artritis reumatoide (35). En las neoplasias el receptor LPA<sub>3</sub> se ha asociado con procesos de proliferación, migración, supervivencia y metastásicos, por lo que se considera un marcador de mal pronóstico para los cánceres de ovario, mama, hígado, y páncreas (36-39). Este "lado oscuro" de las acciones del receptor LPA<sub>3</sub>, son áreas de oportunidad para conocer los mecanismos que participan en la generación, evolución y mantenimiento de dichas patologías y un poderoso estímulo para el desarrollo de agentes con posible utilidad terapéutica.

El bloqueo de la expresión del receptor LPA<sub>3</sub> no afecta la viabilidad en ratones, pero los animales muestran defectos en el funcionamiento del sistema inmune, indicando un rol en la quimiotaxis de las células dendríticas inmaduras; también se han observado problemas en la reproducción del ratón hembra, así como en la implantación embrionaria (34).

Se conoce poco acerca de los mecanismos de acción y del funcionamiento del receptor LPA<sub>3</sub>. Un análisis estructural *in silico* de este receptor realizado en el laboratorio, mostró que diversos dominios son importantes para la función de los receptores LPA<sub>1</sub> y

LPA<sub>2</sub>, pero no se encuentran presentes en la secuencia del LPA<sub>3</sub>, por lo que, a pesar de la alta similitud, pensamos que su regulación pudiera diferir.

Para conocer un poco más del receptor LPA<sub>3</sub>, empleamos un modelo celular que permite sobre-expresar al receptor LPA<sub>3</sub>. Se usaron células embrionarias humanas de riñón (células HEK293), mediante un sistema de transfección estable e inducible (no se da cita para estos estudios pues están en evaluación). Comprobamos, que el receptor es funcional determinando los efectos sobre los niveles calcio intracelular durante su activación con su agonista. Previamente habíamos mostrado, empleando células C9 (provenientes de hígado de rata), que el receptor LPA<sub>3</sub> presenta cierta desensibilización homologa, es decir pérdida de respuesta de un receptor por estimulación previa por su propio ligando, así como desensibilización heteróloga activando directamente a las proteínas cinasa C con forbol-miristato-acetato (Figura 7).



**Figura 7. Procesos de desensibilización del receptor LPA<sub>3</sub>.** GRK, cinasas de los receptores acoplados a proteínas G (G protein-coupled receptor kinases), PKC, proteína cinasa C. Se presenta sobre el receptor la estructura del LPA<sub>3</sub> y en la parte inferior la del forbol miristato acetato.

En el caso del receptor LPA<sub>3</sub>, expresado en el sistema celular HEK293 inducible, no se disminuye la respuesta después de la estimulación previa con su ligando endógeno (desensibilización homóloga), evento que sí observamos cuando se expresa el receptor LPA<sub>1</sub>. Ello mostraba diferencias según el subtipo de receptor, apoyando la idea de que tenían una regulación diferente. Sin embargo, dado que en las células C9 sí se observó cierta desensibilización del receptor LPA<sub>3</sub> existía la posibilidad de que el contexto celular empleado fuera la causa de las diferencias (es decir, que el repertorio y la abundancia de las proteínas expresadas en cada tipo celular jugaran un papel fundamental). Consideramos que evitando la sobreexpresión del receptor, o bien aumentando la presencia de algunas cinasas, se pudiera restaurar la posibilidad de desensibilización homóloga. Sin embargo, ni la reducción de receptores LPA<sub>3</sub>, ni la sobreexpresión de cinasas de los receptores acoplados a proteínas G, fueron capaces restablecer la capacidad de desensibilización homóloga en el sistema inducible. Este es un aspecto importante cuya base molecular deberá explorarse en el futuro. Es interesante que la desensibilización heteróloga, inducida por ésteres de forbol si se presenta claramente (disminución de más del 80 % del efecto del agonista). Otra diferencia importante entre las acciones de los receptores LPA<sub>1</sub> y LPA<sub>3</sub>, incluye que los efectos estudiados del primero de ellos son sensibles a toxina pertussis, es decir involucran a la proteína G $\alpha_i$ , mientras que las acciones estudiadas del receptor LPA<sub>3</sub> son insensibles, sugiriendo una participación de otras proteínas G, como G $\alpha_{q/11}$ .

Estudiamos la fosforilación del receptor LPA<sub>3</sub> y observamos que tanto el ligando natural, el LPA,

como el forbol miristato acetato inducen una clara fosforilación en forma dependiente de la concentración. Es ahora bien conocido que no es solamente importante el que se fosforile el receptor, sino que los sitios específicos juegan un papel fundamental, tanto en la desensibilización, como en la internalización e incluso en los efectos finales de los receptores. A ello se le denomina código de fosforilación (o código de barras de la fosforilación) (40-43). Por ello, como siguiente etapa se estudiaron los sitios específicos que se fosforilan en el receptor LPA<sub>3</sub>, en diversas condiciones, es decir, el patrón de fosforilación. Mediante estudios de inmunopurificación del receptor seguidos de análisis por espectrometría de masas, pudimos determinar los sitios que se fosforilan en el asa intracelular 3 y el carboxilo terminal.

Aprovechando que los receptores transfectados estaban etiquetados con la proteína verde fluorescente, se estudió su localización. Cuando las células fueron estimuladas con LPA se observó que el receptor se internalizaba con un máximo a los 5 minutos. Se sabe que los procesos de internalización de los receptores acoplados a proteínas G, pueden realizarse por mecanismos dependientes e independientes de la proteína reguladora  $\beta$ -arrestina. En el caso del receptor para LPA<sub>3</sub>, pudimos demostrar mediante estudios realizados empleando FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), la participación de la  $\beta$ -arrestina. En estos estudios se emplean dos fluoróforos, el donante que es excitado por una fuente de luz (en nuestro caso el receptor LPA<sub>3</sub> unido a la proteína verde fluorescente) y que transfiere su energía (luz) a un fluoróforo aceptor cercano (siempre y cuando exista una distancia menor a 10 nm) y se cuantifica la fluorescencia emitida por este segundo fluoróforo; es decir, es un índice de cercanía o interacción. En nuestros estudios el aceptor fue la proteína  $\beta$ -arrestina unida a la proteína roja (mCherry). La proteína  $\beta$ -arrestina interacciona con el receptor LPA<sub>3</sub> rápidamente, presentando su máxima transferencia de energía a los 2 minutos de estimulación, la cual paulatinamente disminuye, pero no llega a los niveles basales.

Cuando las células fueron estimuladas con ésteres de forbol se observó una internalización de los receptores desde los 2 minutos, la cual se mantenía hasta los 60 minutos de estímulo. Estudios con forbol miristato acetato también mostraron interacción con la  $\beta$ -arrestina e internalización del receptor.

Es interesante mencionar que se observaron diferencias en la internalización de receptores inducida por el agonista y por el éster de forbol. Estudios realizados con el compuesto Pitstop 2, que se une a la cadena pesada de clatrina e impide que se asocie con la proteína AP2 y con ello la formación del complejo

de internalización dependientes de la  $\beta$ -arrestina, mostraron que la internalización del receptor inducida por el LPA se disminuye en forma muy importante. En contraste el tratamiento con forbol miristato-acetato afectó mucho menos dicha internalización. Los datos sugieren que el receptor LPA<sub>3</sub> se internaliza bajo la acción del LPA predominantemente por vesículas recubiertas por clatrina, mientras que la internalización inducida por el éster de forbol involucra también a procesos independientes de la dicha proteína. Una posibilidad es la participación de caveolas, pero esto requiere una exploración experimental cuidadosa, que aún no se ha realizado.

En resumen, podemos decir que el estudio de los receptores para LPA es fundamental para comprender los procesos fisiológicos en que participan. Dado que juegan diversos papeles en un amplio número de enfermedades, su estudio abre posibilidades

terapéuticas mediante agentes que puedan facilitar o interferir con sus acciones. Hay aún una falta de conocimiento sobre los eventos moleculares que participan en su función y regulación. Tampoco se cuenta con selectivas herramientas farmacológicas (agonistas o antagonistas). Todo ello es un gran reto, pero al mismo tiempo una ventana de oportunidad para la investigación biomédica.

### Agradecimientos

Nuestro trabajo está siendo apoyado por donativos del CONAHCYT (Fronteras 6676) y la Dirección General del personal Académico (DGAPA-PAPIIT) (IN201221 e IN201924). K. Helivier Solís es estudiante del Doctorado en Ciencias Biomédicas de la UNAM

### Referencias

1. Yung, Y. C., Stoddard, N. C., and Chun, J. (2014) LPA receptor signaling: pharmacology, physiology, and pathophysiology. *J. Lipid Res.* 55, 1192-1214.
2. Valdes-Rives, S. A., de la Fuente-Granada, M., Velasco-Velazquez, M. A., Gonzalez-Flores, O., and Gonzalez-Arenas, A. (2019) LPA1 receptor activation induces PKC $\alpha$  nuclear translocation in glioblastoma cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 110, 91-102.
3. Solís, K. H., Romero-Ávila, M. T., Guzmán-Silva, A., and García-Sáinz, J. A. (2021) The LPA(3) Receptor: Regulation and Activation of Signaling Pathways. *Int J Mol Sci* 22, 6704.
4. Yoon, H. R., Kim, H., and Cho, S. H. (2003) Quantitative analysis of acyl-lysophosphatidic acid in plasma using negative ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 788, 85-92.
5. Eichholtz, T., Jalink, K., Fahrenfort, I., and Moolenaar, W. H. (1993) The bioactive phospholipid lysophosphatidic acid is released from activated platelets. *Biochem. J.* 291 (Pt 3), 677-680.
6. Aikawa, S., Hashimoto, T., Kano, K., and Aoki, J. (2015) Lysophosphatidic acid as a lipid mediator with multiple biological actions. *J Biochem* 157, 81-89.
7. Aoki, J., Inoue, A., and Okudaira, S. (2008) Two pathways for lysophosphatidic acid production. *Biochim. Biophys. Acta* 1781, 513-518.
8. Fulkerson, Z., Wu, T., Sunkara, M., Kooi, C. V., Morris, A. J., and Smyth, S. S. (2011) Binding of autotaxin to integrins localizes lysophosphatidic acid production to platelets and mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 286, 34654-34663.
9. Pages, C., Simon, M. F., Valet, P., and Saulnier-Blache, J. S. (2001) Lysophosphatidic acid synthesis and release. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 64, 1-10.
10. Simic, P., Kim, W., Zhou, W., Pierce, K. A., Chang, W., Sykes, D. B., Aziz, N. B., Elmariah, S., Ngo, D., Pajevic, P. D., Govea, N., Kestenbaum, B. R., de Boer, I. H., Cheng, Z., Christov, M., Chun, J., Leaf, D. E., Waikar, S. S., Tager, A. M., Gerszten, R. E., Thadhani, R. I., Clish, C. B., Juppner, H., Wein, M. N., and Rhee, E. P. (2020) Glycerol-3-phosphate is an FGF23 regulator derived from the injured kidney. *J Clin Invest* 130, 1513-1526.
11. Chun, J., Goetzl, E. J., Hla, T., Igarashi, Y., Lynch, K. R., Moolenaar, W., Pyne, S., and Tigyi, G. (2002) International Union of Pharmacology. XXXIV. Lysophospholipid receptor nomenclature. *Pharmacol. Rev.* 54, 265-269.
12. Fukushima, N., Ye, X., and Chun, J. (2002) Neurobiology of lysophosphatidic acid signaling. *Neuroscientist* 8, 540-550.
13. Kihara, Y., Maceyka, M., Spiegel, S., and Chun, J. (2014) Lysophospholipid receptor nomenclature review: IUPHAR Review 8. *Br. J. Pharmacol.* 171, 3575-3594.
14. Choi, J. W., Herr, D. R., Noguchi, K., Yung, Y. C., Lee, C. W., Mutoh, T., Lin, M. E., Teo, S. T., Park, K. E., Mosley, A. N., and Chun, J. (2010) LPA receptors: subtypes and biological actions. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 50, 157-186.
15. Chun, J., Hla, T., Lynch, K. R., Spiegel, S., and Moolenaar, W. H. (2010) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXVIII. Lysophospholipid receptor nomenclature. *Pharmacol. Rev.* 62, 579-587.
16. Contos, J. J., and Chun, J. (2000) Genomic characterization of the lysophosphatidic acid receptor gene, lp(A2)/Edg4, and identification of a frameshift mutation in a previously characterized cDNA. *Genomics* 64, 155-169.
17. Contos, J. J., Ishii, I., and Chun, J. (2000) Lysophosphatidic acid receptors. *Mol. Pharmacol.* 58, 1188-1196.
18. Yamada, T., Ohoka, Y., Kogo, M., and Inagaki, S. (2005) Physical and functional interactions of the lysophosphatidic acid receptors with PDZ domain-containing Rho guanine nucleotide exchange factors (RhoGEFs). *J. Biol. Chem.* 280, 19358-19363.
19. Shano, S., Hatanaka, K., Ninose, S., Moriyama, R., Tsujiuchi, T., and Fukushima, N. (2008) A

- lysophosphatidic acid receptor lacking the PDZ-binding domain is constitutively active and stimulate cell proliferation. *Biochim. Biophys. Acta* 1783, 748-759.
20. Lee, S. J., Leoni, G., Neumann, P. A., Chun, J., Nusrat, A., and Yun, C. C. (2013) Distinct phospholipase C-beta isozymes mediate lysophosphatidic acid receptor 1 effects on intestinal epithelial homeostasis and wound closure. *Mol. Cell. Biol.* 33, 2016-2028.
  21. Lin, S., Han, Y., Jenkin, K., Lee, S. J., Sasaki, M., Klapproth, J. M., He, P., and Yun, C. C. (2018) Lysophosphatidic Acid Receptor 1 Is Important for Intestinal Epithelial Barrier Function and Susceptibility to Colitis. *Am. J. Pathol.* 188, 353-366.
  22. Zhang, C., Li, W., Lei, X., Xie, Z., Qi, L., Wang, H., Xiao, X., Xiao, J., Zheng, Y., Dong, C., Zheng, X., Chen, S., Chen, J., Sun, B., Qin, J., Zhai, Q., Li, J., Wei, B., Wang, J., and Wang, H. (2021) Targeting lysophospholipid acid receptor 1 and ROCK kinases promotes antiviral innate immunity. *Sci Adv* 7, eabb5933.
  23. Tager, A. M., LaCamera, P., Shea, B. S., Campanella, G. S., Selman, M., Zhao, Z., Polosukhin, V., Wain, J., Karimi-Shah, B. A., Kim, N. D., Hart, W. K., Pardo, A., Blackwell, T. S., Xu, Y., Chun, J., and Luster, A. D. (2008) The lysophosphatidic acid receptor LPA1 links pulmonary fibrosis to lung injury by mediating fibroblast recruitment and vascular leak. *Nat. Med.* 14, 45-54.
  24. Funke, M., Knudsen, L., Lagares, D., Ebener, S., Probst, C. K., Fontaine, B. A., Franklin, A., Kellner, M., Kuhnel, M., Matthieu, S., Grothausmann, R., Chun, J., Roberts, J. D., Jr., Ochs, M., and Tager, A. M. (2016) Lysophosphatidic Acid Signaling through the Lysophosphatidic Acid-1 Receptor Is Required for Alveolarization. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 55, 105-116.
  25. Gennero, I., Laurencin-Dalicieux, S., Conte-Auriol, F., Briand-Mesange, F., Laurencin, D., Rue, J., Beton, N., Malet, N., Mus, M., Tokumura, A., Bourin, P., Vico, L., Brunel, G., Oreffo, R. O., Chun, J., and Salles, J. P. (2011) Absence of the lysophosphatidic acid receptor LPA1 results in abnormal bone development and decreased bone mass. *Bone* 49, 395-403.
  26. Balijepalli, P., Sitton, C. C., and Meier, K. E. (2021) Lysophosphatidic Acid Signaling in Cancer Cells: What Makes LPA So Special? *Cells* 10.
  27. Lin, F. T., and Lai, Y. J. (2008) Regulation of the LPA2 receptor signaling through the carboxyl-terminal tail-mediated protein-protein interactions. *Biochim. Biophys. Acta* 1781, 558-562.
  28. Holcomb, J., Jiang, Y., Lu, G., Trescott, L., Brunzelle, J., Sirinupong, N., Li, C., Naren, A. P., and Yang, Z. (2014) Structural insights into PDZ-mediated interaction of NHERF2 and LPA2, a cellular event implicated in CFTR channel regulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 399-403.
  29. Be k, H. P., Kohn, T., Rubenstein, S., Hedberg, C., Schwandner, R., Hasslinger, K., Dai, K., Li, C., Liang, L., Wesche, H., Frank, B., An, S., Wickramasinghe, D., Jaen, J., Medina, J., Hungate, R., and Shen, W. (2008) Discovery of potent LPA2 (EDG4) antagonists as potential anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18, 1037-1041.
  30. Zhao, Y., Tong, J., He, D., Pendyala, S., Evgeny, B., Chun, J., Sperling, A. I., and Natarajan, V. (2009) Role of lysophosphatidic acid receptor LPA2 in the development of allergic airway inflammation in a murine model of asthma. *Respir Res* 10, 114.
  31. Hama, K., and Aoki, J. (2010) LPA(3), a unique G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid. *Prog. Lipid Res.* 49, 335-342.
  32. Yun, C. C. (2019) Lysophosphatidic Acid and Autotaxin-associated Effects on the Initiation and Progression of Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)* 11
  33. Furuta, D., Yamane, M., Tsujiuchi, T., Moriyama, R., and Fukushima, N. (2012) Lysophosphatidic acid induces neurite branch formation through LPA3. *Mol. Cell. Neurosci.* 50, 21-34.
  34. Chan, L. C., Peters, W., Xu, Y., Chun, J., Farese, R. V., Jr., and Cases, S. (2007) LPA3 receptor mediates chemotaxis of immature murine dendritic cells to unsaturated lysophosphatidic acid (LPA). *J. Leukoc. Biol.* 82, 1193-1200.
  35. Kuwajima, K., Sumitani, M., Kurano, M., Kano, K., Nishikawa, M., Uranbileg, B., Tsuchida, R., Ogata, T., Aoki, J., Yatomi, Y., and Yamada, Y. (2018) Lysophosphatidic acid is associated with neuropathic pain intensity in humans: An exploratory study. *PLoS One* 13, e0207310.
  36. Chen, R. J., Chen, S. U., Chou, C. H., and Lin, M. C. (2012) Lysophosphatidic acid receptor 2/3-mediated IL-8-dependent angiogenesis in cervical cancer cells. *Int. J. Cancer* 131, 789-802.
  37. Brusevold, I. J., Tveteraas, I. H., Aasrum, M., Odegard, J., Sandnes, D. L., and Christoffersen, T. (2014) Role of LPAR3, PKC and EGFR in LPA-induced cell migration in oral squamous carcinoma cells. *BMC Cancer* 14, 432.
  38. Hayashi, M., Okabe, K., Kato, K., Okumura, M., Fukui, R., Fukushima, N., and Tsujiuchi, T. (2012) Differential function of lysophosphatidic acid receptors in cell proliferation and migration of neuroblastoma cells. *Cancer Lett.* 316, 91-96.
  39. Okabe, K., Hayashi, M., Kato, K., Okumura, M., Fukui, R., Honoki, K., Fukushima, N., and Tsujiuchi, T. (2013) Lysophosphatidic acid receptor-3 increases tumorigenicity and aggressiveness of rat hepatoma RH7777 cells. *Mol. Carcinog.* 52, 247-254.
  40. Tobin, A. B. (2008) G-protein-coupled receptor phosphorylation: where, when and by whom. *Br. J. Pharmacol.* 153 Suppl 1, S167-176.
  41. Tobin, A. B., Butcher, A. J., and Kong, K. C. (2008) Location, location, location...site-specific GPCR phosphorylation offers a mechanism for cell-type-specific signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 29, 413-420.
  42. Martínez-Morales, J. C., Romero-Ávila, M. T., Reyes-Cruz, G., and García-Sáinz, J. A. (2022) Roles of Receptor Phosphorylation and Rab Proteins in G Protein-Coupled Receptor Function and Trafficking. *Mol. Pharmacol.* 101, 144-153.
  43. Martínez-Morales, J. C., Solís, K. H., Romero-Ávila, M. T., Reyes-Cruz, G., and García-Sáinz, J. A. (2022) Cell Trafficking and Function of G Protein-coupled Receptors. *Arch Med Res* 53, 451-4.



**Dr. J. Adolfo García-Sáinz**  
**ORCID: 0000-0002-5235-0657**

Médico Cirujano por la Facultad de Medicina de la UNAM y Maestro y Doctor en Ciencias Químicas (Bioquímica) por la Facultad de Química de la UNAM. Realizó su posdoctorado en Brown University con John N. Fain. Es investigador Emérito del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM y del SNII, además de pionero en el campo de transducción de señales en nuestro país. Ha publicado más de 250 trabajos en revistas arbitradas y ha sido citado en más de 6000 ocasiones. Bajo su dirección se han graduado 35 estudiantes de licenciatura, 24 de Maestría y 30 de Doctorado. Muchos de ellos laboran como investigadores independientes en el país o en el extranjero.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Una vista general y consejos prácticos para el buen manejo y cuidado de micropipetas de desplazamiento de aire.

An overview and practical advice for the good handling and care of air displacement micropipettes.

Galván-Lobato, Aurey  ; Ortínez-Benavides, Manuel.

Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ Instituto de Fisiología Celular, Cto. Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, CDMX., Tel: +52 52 (55) 5622 5636; [agalvan@ifc.unam.mx](mailto:agalvan@ifc.unam.mx)

Editor responsable: Mercedes Esparza Perusquía  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.15>

Recibido: 15 de febrero de 2024  
Revisado: 18 de abril de 2024  
Aceptado: 3 de mayo de 2024

### Resumen

Una herramienta básica en los laboratorios de investigación es la micropipeta de desplazamiento de aire, que nos da la posibilidad de medir de manera exacta y repetible volúmenes muy pequeños de líquidos que generalmente son críticos para obtener los resultados deseados, de tal manera que mantener esta herramienta en las mejores condiciones de funcionamiento nos permite eliminar elementos que pudieran introducir errores y desviarnos de la respuesta correcta. Conservar nuestras micropipetas en buenas condiciones requiere tan solo de dedicarles un poco de tiempo a la semana que nos va a ayudar a alargar su vida útil. Económicamente vamos a tener un ahorro porque las refacciones y los servicios de mantenimiento generan gastos y tiempos muertos para la realización de los experimentos, hay que tomar en cuenta que, como cualquier equipo, requiere de cuidados que incluyen un mantenimiento donde el uso adecuado y otros factores como la limpieza, la protección contra ambientes que pudieran dañarlas y cuando no estén en uso mantenerlas en un lugar donde puedan almacenarse correctamente, son esenciales. Existen en el mercado varias marcas de micropipetas, Gilson, Rainin, Eppendorf, Biohit, Labsystems, entre muchas otras, todas estas marcas manejan modelos para diferentes volúmenes y sus mecanismos de funcionamiento para el pipeteo son muy parecidos sino es que

### Abstract

A basic tool in research laboratories is the air displacement micropipette, which gives us the possibility of accurately and repeatably measuring very small volumes of liquids that are generally critical to obtain the desired results, in such a way that keeping this tool in the best operating conditions it allows us to eliminate elements that could introduce errors and deviate from the correct answer. Keeping our micropipettes in good condition only requires dedicating a little time to them each week, which will help us extend their useful life. Economically we will have savings because spare parts and maintenance services generate expenses and downtime to carry out the experiments. We must consider that, like any equipment, it requires care that includes maintenance where proper use and other factors such as cleaning, protection from environments that could damage them, and when not in use, keeping them in a place where they can be stored correctly, are essential. There are several brands of micropipettes on the market, Gilson, Rainin, Eppendorf, Biohit, Finnpipe, Labsystems, among many others. All these brands have models for different volumes and their operating mechanisms for pipetting are very similar, if not the same, all of them. They are excellent brands, and all require constant care and maintenance.

iguales, todas son excelentes marcas, y todas requieren cuidado y mantenimiento constante.

*Palabras claves:* micropipeta, mantenimiento, volumen, ahorro, resultados.

*Keywords:* micropipette, maintenance, volume, savings, results.

### Un poco de Historia.

Cuando se trata de presentar las maravillas de la investigación biológica moderna la imagen que siempre aparece es la de una persona en un laboratorio utilizando una micropipeta, este dispositivo ha evolucionado hasta convertirse en parte esencial de la investigación científica, podemos decir que es el instrumento más ampliamente utilizado en este ámbito y que nos permite el cómodo y preciso manejo de volúmenes pequeños de líquidos, lo que la convierte en una herramienta de suma importancia para la mayoría del trabajo del laboratorio.

Pero ¿a quién le debemos la invención de la micropipeta? Esta singular hazaña fue lograda a finales de los años cincuenta por Heinrich Schnitger, un científico e inventor alemán del Instituto de Fisiología Química en la Universidad de Marburg, Alemania.

En un principio las pipetas eran construidas calentando un tubo de vidrio sobre un mechero Bunsen y tirando de un extremo para crear un capilar, la punta del capilar se calentaba un poco más para permitir el flujo de aire, pero restringían el flujo de líquido para definir el volumen. Se succionaba por la boca el volumen requerido hasta la restricción de la

pipeta, entonces el pipeteo preciso dependía de la experiencia del usuario y de la construcción de la pipeta y era por supuesto peligroso.

En 1957 Heinrich Schnitger se unió a un grupo de investigación en la Universidad de Marburg para realizar estudios de posdoctorado. Para Heinrich Schnitger pipetear con la boca no era lo más agradable y seguro, así que desapareció de su laboratorio por un par de días y regreso con una herramienta de diseño propio que permitía pipetear volúmenes de microlitros. Su diseño ya incluía los rasgos esenciales de las micropipetas modernas. Incluyó materiales como el polietileno (PE) para la punta, añadió un resorte para el pistón, una cámara de aire se formaba entre el líquido a pipetear y el pistón lo cual evitaba el contacto entre ellos, después añadió un segundo resorte que le permitía eliminar residuos que se hubieran podido quedar en la punta. Llego a utilizar puntas fabricadas de teflón, material que repele el agua si la superficie se mantiene suave y limpia, pero resultaban muy caras y además requerían un cuidadoso mantenimiento. Tenía Heinrich Schnitger una idea muy peculiar en cuanto a la forma de trabajo, él pensaba que una sola persona era fundamentalmente más creativa que un equipo.



Figura 1. Primeras micropipetas que se fabricaron en 1957-1960 (1).

A partir de los prototipos de Schnitger, los técnicos del taller de la Universidad de Marburg produjeron copias para su uso en el laboratorio (Figura 1).

Seis meses después de que desarrolló su primer prototipo de pipeta Schnitger aplicó para una patente en Alemania. Su solicitud, de 3 de mayo de 1957, titulado “Vorrichtung zum schnellen und exakten pipettieren kleiner Flüssigkeitsmengen” (Dispositivo para pipeteo rápido y exacto de pequeños volúmenes

de líquido), fue finalmente concedida casi cuatro años después, el 24 de abril de 1961.

La empresa de suministros médicos Eppendorf (Hamburgo, Alemania), compró la exclusiva licencia para fabricación y comercialización de la micropipeta. Modificó algunos detalles, como el diseño de la forma del cuerpo de la pipeta para su mejor manejo, también modificó el material utilizado para fabricar las puntas, utilizó el polipropileno que es económico, translúcido y rígido, se modificó de igual manera la forma del

extremo de la pipeta para garantizar un ajuste perfecto con las puntas.

La revolucionaria micropipeta ganó amplia aceptación en Alemania y en toda Europa, pero pasaron varios años antes de que se convirtiera en equipo estándar en los EE. UU. Eppendorf no logró conquistar este gran

mercado centrándose en la perfección técnica más que en marketing. Eventualmente, Gilson Inc. (Middleton, WI, EE. UU.) creó su propia marca con ajuste de volumen variable y tuvo éxito en comercializar sus modelos de micropipetas en los EE. UU (1).

EVOLUCIÓN				
1969 PIPETMAN original	1972 PIPETMAN® Classic	2007 PIPETMAN® Neo	2011 PIPETMAN® G	2012 PIPETMAN® L
				
La historia de PIPETMAN comenzó hace más de 50 años atrás, con la invención de la PIPETMAN original, la PRIMERA pipeta de volumen variable continuamente ajustable del mundo.	PIPETMAN Classic es uno de los estándares para el pipeteo a nivel mundial. Presume de su precisión, exactitud y fiabilidad.	PIPETMAN Neo conlleva todos los beneficios que formó la reputación de la legendaria PIPETMAN Classic, y requiere menos fuerza para el pipeteo.	PIPETMAN G ofrece la durabilidad y precisión confiable en los resultados de la PIPETMAN Classic, con el beneficio agregado de una mayor comodidad.	Con el objetivo de brindar trazabilidad y comodidad, PIPETMAN L fue diseñada para aumentar la productividad diaria y darle la capacidad de pipetear por más tiempo, sin fatigarse.

Figura 2. Evolución de pipetas Gilson (3).

### ¿Qué es una micropipeta?

Una micropipeta es un instrumento de laboratorio diseñado específicamente para la medición y transferencia precisas y exactas de pequeños volúmenes de muestras líquidas, típicamente en el rango de microlitros ( $\mu\text{l}$ ).

El objetivo principal del pipeteo es garantizar la manipulación precisa y exacta de pequeños volúmenes de líquido, lo cual es esencial en diversas aplicaciones de laboratorio, como biología molecular, bioquímica y genética (2).

### Evolución.

Una de las marcas que tomó el liderato en la fabricación de dispositivos en el campo de la investigación científica es sin duda alguna la compañía Gilson, fundada desde 1957 por el Dr. Warren Gilson, la sede de Gilson está ubicada en Middleton, WI, EE. UU. Para ampliar la cartera de productos, la empresa abrió nuevos Centros de Excelencia en varias regiones, incluida una planta de fabricación al noreste de París, Francia, que se inauguró en 1963. Gilson cuenta con equipos de ventas y servicio locales que incluyen una red de distribución integral en países de América del Norte y

del Sur, Europa, Medio Oriente, África (EMEA) y Asia Pacífico (APAC) (4).

En México existen representantes de la compañía Gilson que se dedican a la venta y mantenimiento de este producto, donde también se pueden conseguir refacciones para los diferentes modelos que tienen en el mercado, también es posible adquirir refacciones de esta marca a través de internet.

En la mayoría de los laboratorios de investigación dentro de la UNAM se utiliza la marca Gilson, y hablando específicamente de micropipetas, podemos decir que de cada diez micropipetas ocho son de esta marca, de tal manera que el mantenimiento, con el paso del tiempo, puede llegar a resultar muy caro, si es que hay que sustituir piezas.

La compañía Gilson ha ido realizando modificaciones a sus modelos, de tal manera que ahora ofrecen diferentes líneas del producto donde han mejorado la ergonomía, incluyen menor esfuerzo para el pipeteo, mayor precisión, exactitud y flexibilidad.

### Partes que componen una micropipeta.

Existen en el mercado pipetas electrónicas que trabajan con un pequeño motor y pipetas manuales, sin embargo, los dos tipos trabajan bajo el mismo principio: el sistema de pipeteo por cámara de aire.

Aunque podemos encontrar formatos diferentes según la marca del fabricante, en general, estas micropipetas de desplazamiento de aire con accionamiento manual constan de las siguientes partes (Figura 3):

En general las micropipetas tienen la siguiente configuración:

1. Empuñadura o cuerpo principal de la micropipeta (Body).

2. Émbolo o botón de accionamiento usado para el llenado y dispensado de los líquidos. Presenta dos toques que indican la presión que debemos ejercer para absorber (1er toque) y descargar (2º toque) el líquido. (Plunger Button).

3. Rueda o tornillo de ajuste del volumen con el que establecemos el volumen exacto que queremos dispensar. (Volume adjustment knob or thumbwheel).

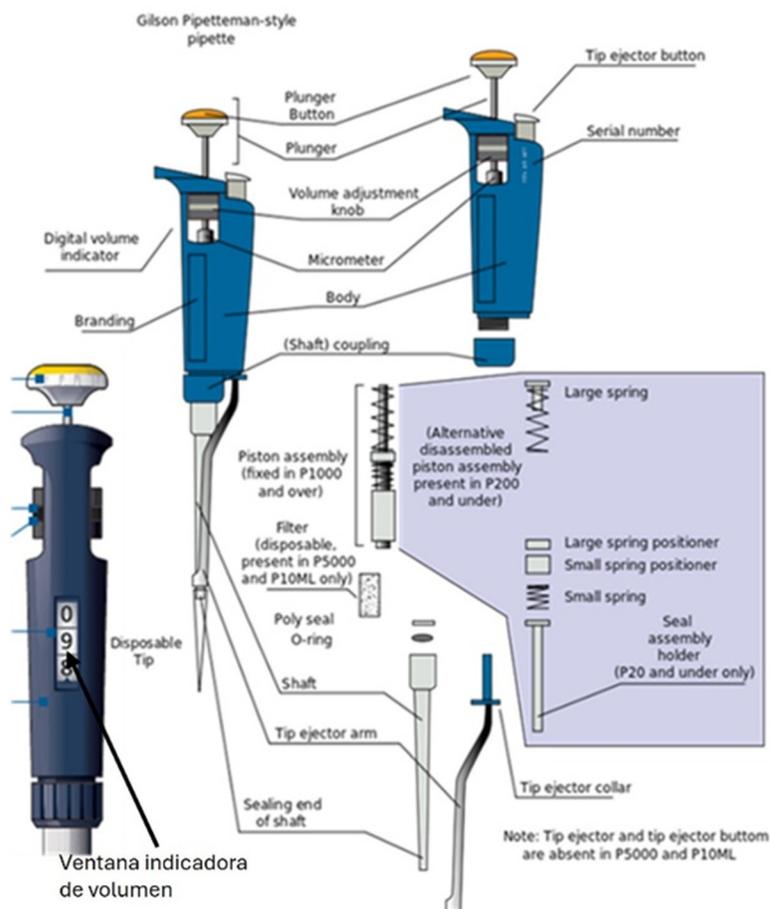


Figura 3. Diagrama funcional de una micropipeta (5).

4. Ventana indicadora del volumen que muestra el volumen seleccionado. (Volumeter Display or counter).
5. Botón de eyección o botón expulsor de la punta para desechar las puntas usadas. (Tip ejector button).
6. Eje de la micropipeta, que une la empuñadura o cuerpo, a través de la tuerca de acople, con el soporte de la punta. (Shaft).
7. Eyección de puntas, que se acciona al activar el botón de eyección. (Tip ejector arm).
8. Tuerca de acople que une la parte inferior de la pipeta con el cuerpo de esta. (Shaft coupling or connecting nut).
9. Tornillo Micrométrico que nos permite avances muy finos. (Micrometer).
10. Anillo de fricción, que nos permite que la Rueda tenga un ajuste adecuado al girar para seleccionar el volumen deseado. (Friction ring) (6).

Existen variaciones entre los modelos y las marcas de estas herramientas. Por ejemplo, en cuanto a modelos el diámetro del pistón y el portapuntas va a variar de acuerdo con la capacidad volumétrica de la pipeta, o hablando de marcas, podemos encontrar que el pistón sea de un material diferente, las pipetas Gilson tienen su pistón fabricado de metal y otras marcas utilizan cerámica no corrosiva o material

termoplástico. (Eppendorf Innovador principio rediseñado de pipetas de pistón: pistón fabricado en polímero orgánico Fortron® con una gran resistencia química, térmica y mecánica).

Entre los datos importantes que se pueden encontrar en el cuerpo de las pipetas son: el nombre del fabricante, el número de serie, que particularmente en las pipetas Gilson nos proporciona el año y mes de fabricación del producto, nos informa también el modelo de cada pipeta, es decir para que cantidad de volumen fueron diseñadas, este dato lo podemos ver en el botón de accionamiento (GILSON, RAININ) o en el cuerpo de la pipeta en otras marcas. (Figura 4). Para mejor identificación también varían los colores de los émbolos o botones de accionamiento, por ejemplo, en las micropipetas Gilson el modelo de 1ml es de color azul, el modelo de 200 ul es de color amarillo, el modelo de 10 ul es de color rojo.

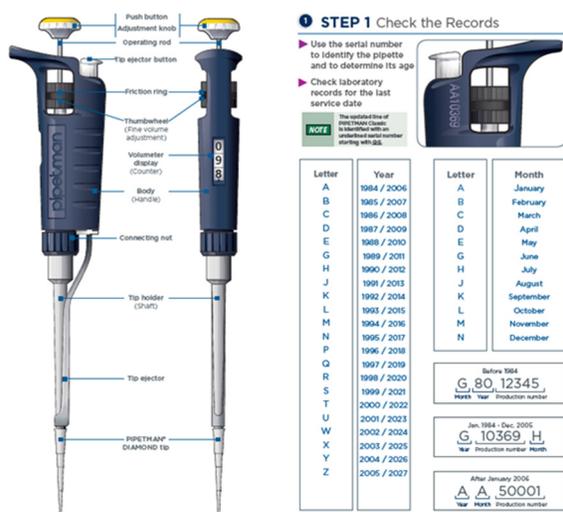


Figura 4. Número de serie, año y mes de fabricación (7).

## Principio de funcionamiento

### *Micropipetas de desplazamiento de aire*

Al desplazar hacia arriba y abajo el émbolo en el vástago de pipeta, se produce un vacío parcial o bien una sobrepresión en el vástago. De esta manera se aspira el líquido hacia la punta o bien se expulsa. El líquido queda separado del émbolo y el vástago mediante un cojín de aire, hay que considerar que la cámara de aire se expande o se encoje cuando la humedad o la temperatura cambian (Figura 5).

Dentro de este grupo se encuentran dos subdivisiones principales, micropipetas de un solo canal (monocanal) o de varios canales (multicanal).

### *Empleo adecuado de una micropipeta*

El trabajo de pipetear generalmente consume una buena parte de nuestro tiempo de trabajo, y que nos

obliga a permanecer en una posición, ya sea sentados o de pie, lo cual puede ocasionar dolor o molestias de tipo muscular, por lo que es necesario adoptar una postura lo más cómoda y relajada posible para evitar problemas con esta situación. Lo más recomendable es tratar de mantener una posición donde la espalda permanezca lo más recta posible, es decir no encorvarnos, mantener el brazo relajado con el codo formando un ángulo de 90° y la cabeza ligeramente agachada. Si vamos a permanecer de pie tratar de utilizar calzado y ropa lo más cómoda posible. Si vamos a trabajar sentados, tratar de que nuestra silla tenga un respaldo firme y un asiento cómodo.



Figura 5. Principio de funcionamiento (8).

1. Seleccionar la pipeta según el volumen que queremos tomar. El rango de trabajo óptimo de las micropipetas está entre el 35% y el 100% del volumen nominal indicado y nunca debemos trabajar por debajo del 10% de su volumen máximo.
2. Seleccionar el volumen a pipetear. Hay que tener en cuenta que cuando pasamos de un volumen mayor a un volumen más pequeño, basta con ir bajando el dial para alcanzar el volumen deseado. Sin embargo, cuando queremos pasar de un volumen más pequeño a otro mayor, debemos girar primero la rueda del selector aproximadamente 1/3 de vuelta por encima del volumen que queremos medir para luego ir bajando lentamente. Lo anterior evitará el juego mecánico entre las piezas y contribuirá a una mejora en la precisión (Holgura mecánica) (Figura 6).
3. Seleccionar la punta adecuada y acoplarla correctamente a la pipeta. Las micropipetas requieren del uso de puntas desechables que son accesorios de plástico, ajustables, que recogen el líquido a dispensar. Cada micropipeta requiere un tipo de punta específica, que depende del volumen nominal de la pipeta y del modelo y marca del fabricante. Hay que tomar en cuenta la viscosidad de la muestra ya que esto afecta directamente al volumen dispensado. En el caso de las

muestras densas tienden a adherirse a la superficie de la punta, y al contrario muestras menos viscosas como el etanol tenderán a evaporarse.

#### 4 - SETTING THE VOLUME

The volume of liquid to be aspirated is set using the volumeter. The dials are colored either black or red to indicate the position of the decimal point, depending on the model (see examples).

Model	Color of volumeter numbers	Black	Red	Increment
P2	$\mu\text{L}$	0.01 $\mu\text{L}$	0.002 $\mu\text{L}$	
P10 to P20	$\mu\text{L}$	0.1 $\mu\text{L}$	0.02 $\mu\text{L}$	
P100-P200	$\mu\text{L}$	-	0.2 $\mu\text{L}$	
P1000-P5000	0.01 mL	mL	0.002 mL	
P10mL	mL	0.1 mL	0.02 mL	



Figura 6. Ajuste de volumen (9).

4. Mantener la pipeta vertical y presionar el émbolo. Para llevar a cabo una correcta aspiración del líquido es muy importante mantener la micropipeta siempre en posición vertical (Figura 7). Manteniendo esta posición, deberemos presionar el émbolo o pistón con el pulgar hasta el primer tope antes de introducirlo en el líquido.

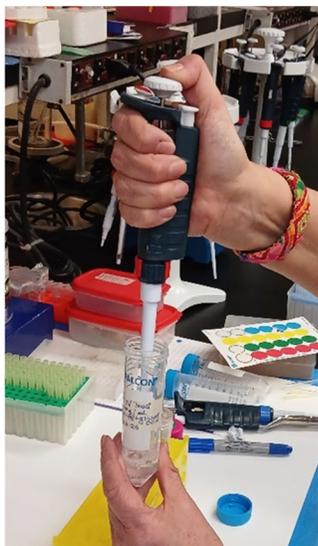


Figura 7. Ángulo de inmersión de la micropipeta en el líquido (6).

5. Sumergir la punta en el líquido a una profundidad adecuada y aspirar. A continuación, con el émbolo presionado, introduciremos la punta en el líquido, formando un ángulo de 90° con este, y soltaremos el émbolo suavemente. La profundidad de inmersión depende del volumen de la punta que estemos utilizando. Mantener una profundidad de inmersión adecuada nos permitirá mejorar la precisión de nuestro

pipeteo más de un 5%. En la Figura 8 podemos observar la profundidad y el tiempo de inmersión del pipeteo recomendada según el volumen a pipetear.

#### Guidelines for Good Pipetting

MODEL	IMMERSION DEPTH (MILLIMETERS)	WAIT TIME (SECONDS)
P2	1	1
P10	1	1
P20	2-3	1
P100	2-4	1
P200	2-4	1
P1000	2-4	2-3
P5000	3-6	4-5
P10mL	5-7	4-5

Figura 8. Profundidad y tiempos de inmersión (9).

6. Se recomienda tomar y dispensar el líquido 2-3 veces antes de aspirar el volumen definitivo. Esta acción favorece la formación de una película de líquido en la punta, lo que mejora la precisión del pipeteo. Cuando la temperatura del líquido es diferente de la temperatura ambiente, enjuague previamente la punta varias veces antes de su uso. Con el constante manejo de la micropipeta, es decir mantenerla durante mucho tiempo en nuestras manos, corremos el riesgo de aumentar la temperatura del aire en el interior de esta y esto se traducirá en variaciones de las mediciones del volumen, por lo que es recomendable dejar descansar cada cierto tiempo en su soporte o en un lugar adecuado.

7. Dispensar el líquido. La mejor técnica para dispensar el líquido es dejarlo caer por la pared lateral del recipiente donde queremos llevar la alícuota. Para ello, tocaremos ligeramente la pared del recipiente con la punta y presionaremos el pistón lentamente hasta llegar al segundo tope.

8. Algunos fabricantes nos mencionan que se puede limpiar la pared de la punta de la micropipeta para eliminar residuos del líquido, si se hace esto hay que tener cuidado de no tocar el orificio por donde se succiona el líquido para no variar las mediciones.

9. Si ya no vamos a utilizar la punta de la pipeta entonces la podemos desechar oprimiendo el botón eyector para depositarla en un lugar o recipiente exclusivo para esta acción.

10. Una vez que hayamos terminado nuestra jornada de trabajo hay que asegurarnos de que nuestras pipetas descansen en un lugar, una posición y en unas condiciones de posición mecánica adecuadas. Nuestras pipetas deben descansar de manera vertical, con la punta hacia abajo, de preferencia en los llamados portapipetas, para que no exista la

posibilidad de que regrese algún sobrante que haya podido quedar en la punta.

11. También es importante que, si ya no vamos a seguir trabajando con la micropipeta, llevar el contador de volumen al máximo, sin pasarnos de este límite, para mantener los resortes internos que contiene la micropipeta libre de presión, ya que con el tiempo pueden llegar a perder su capacidad de recuperación y con esto las mediciones no serán confiables.

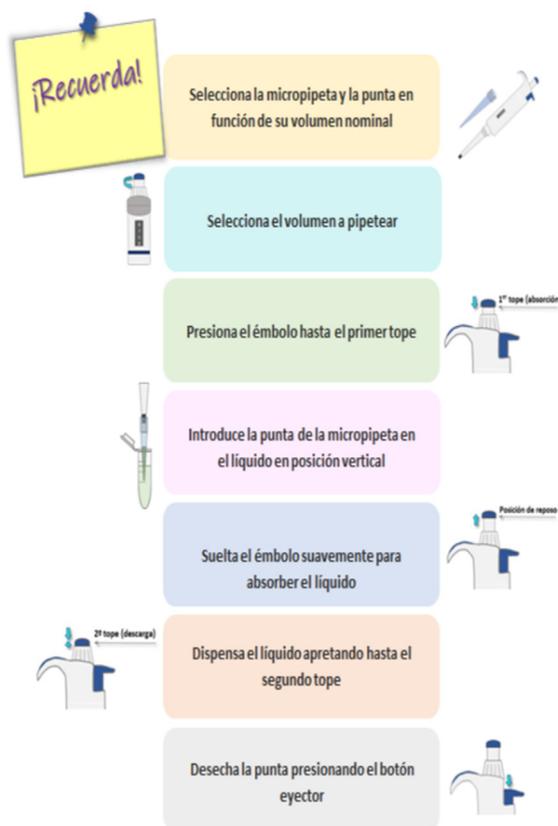


Figura 9. Reglas básicas del pipeteo (6).

### Mantenimiento básico

#### Limpieza Exterior:

Se puede utilizar un paño limpio y suave humedecido con un poco de alcohol isopropílico al 60%, o con solución de detergente diseñado para limpiar material de laboratorio.

En muchos casos los usuarios utilizan cintas adhesivas de colores para marcar o personalizar sus pipetas y con el paso del tiempo y el uso constante, la pipeta va quedando pegajosa además de ensuciarse más fácilmente. Para limpiarla, quitar la suciedad y quitar las cintas o las marcas de estas, podemos ayudarnos de un cepillo de dientes de cerdas suaves además del detergente antes mencionado.

Ya para terminar de limpiar el exterior de nuestra pipeta podemos utilizar un paño limpio y suave humedecido con un poco de agua destilada o también agua corriente.

El tornillo micrométrico, con el paso del tiempo también va recolectando impurezas y basuras que después nos pueden ocasionar algún desperfecto en los engranes del medidor volumétrico, en primera instancia no le permiten girar con la suavidad requerida. Podemos eliminar las impurezas utilizando un cepillo de dientes con un poco de alcohol isopropílico al 60% de tal manera que barramos la parte que este a la vista del micrómetro.

Es conveniente retirar el expulsor de puntas para limpiarlo de manera independiente, ya que después de algún tiempo si esta parte de la pipeta ha sido contaminada con algún líquido puede presentar cierto deterioro empezando con signos de corrosión, lo que si dejamos que avance puede dañar el portapuntas, en la mayoría de los casos se nota por el cambio de color que se puede apreciar a simple vista.

Una vez que hayamos limpiado la pipeta podemos entonces revisar de manera general, es decir podemos checar cada uno de los componentes externos que la componen, iniciamos con el émbolo o botón de accionamiento, nos aseguramos de que se encuentre bien ajustado, giramos el tornillo de ajuste del volumen para comprobar que gira libremente, observamos la ventana del volumen para asegurarnos que los números avancen o retrocedan normalmente, nos damos cuenta si el portapuntas presenta daños a simple vista. Después de esta revisión preliminar, podemos hacer algunas pruebas para comprobar el funcionamiento de la pipeta, tomamos una cantidad de volumen determinada varias veces y a simple vista comprobamos si es repetible o tiene variaciones importantes, también nos podemos dar cuenta con esta prueba si se forman gotas en la punta, esto nos indicará que existe una pérdida de presión lo que ocasiona una fuga del líquido a pipetear.

#### Componentes internos de una micropipeta Gilson:

- Lo primero que tenemos que hacer es elegir un lugar adecuado y despejado en una mesa de trabajo, utilizar un paño limpio que nos va a servir de base para desarmar nuestra micropipeta. Es preferible que este paño sea de un color que haga contraste sobre todo con el sello de teflón, ya que esta parte es blanca o casi transparente, de tal manera que si la colocamos en un paño blanco se puede perder a la vista fácilmente.
- Primero quitamos el eyector o expulsor de puntas, en las pipetas de modelo clásico basta con extraer el expulsor jalándolo hacia abajo, es decir hacia la parte más delgada del portapuntas. En otros

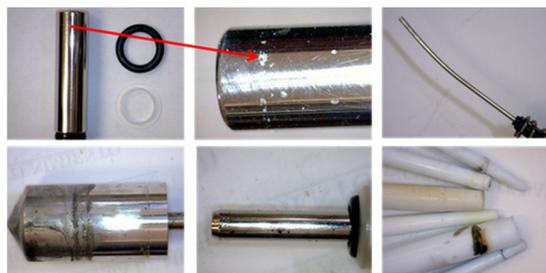
modelos hay que oprimir el botón del expulsor y realizar un pequeño giro en sentido de las manecillas del reloj para poder desengancharlo.

- Desenroscamos la tuerca de conexión también en el sentido de las manecillas del reloj.
- Separamos el portapuntas de tal manera que queden al descubierto las partes internas de la zona inferior de nuestra pipeta, podemos notar entonces el pistón que es de una apariencia plateado brillante, resortes de metal, generalmente dos, soportes de los resortes, de un sello de teflón, blanco o casi transparente y un sello o empaque de goma de color negro.

Es posible separar cada una de las piezas que componen esta parte de la micropipeta para poder realizar una inspección adecuada de cada una de ellas y esto nos va a permitir también que podamos efectuar una buena limpieza de cada parte. Es conveniente anotar o llevar un seguimiento gráfico para saber cómo armar nuevamente todas las partes.

- En modelos P2, P10 las piezas que componen el Kit Pistón son muy pequeñas y la probabilidad de perderlas es grande, por lo que se recomienda no desarmarlas. Hay que tomar en cuenta que los pistones de estos modelos tienen un diámetro inferior a 1 mm (0.4 mm para P2 y 0.8 mm para P10) y que si decidimos desarmar las pipetas corremos el riesgo de doblar accidentalmente los pistones los que los dañaría permanentemente.
- Desarmar las diferentes partes que componen el Kit pistón es posible, pero puede resultar un poco complicado, sin embargo, hay que decir que la base del pistón está muy bien adherida; se puede retirar tirando del mismo hacia afuera, pero es preferible mejor no hacerlo, ya que corremos el riesgo de dañar el eje del pistón. Lo que si podemos hacer es retirar el resorte largo, de tal manera que el pistón pueda quedar casi al descubierto. Una vez hecho esto la limpieza será más sencilla.
- Una vez que el pistón este libre podemos limpiarlo ayudándonos de un paño limpio y suave, alcohol isopropílico al 60% o jabón de uso de laboratorio. Ya que el pistón este limpio podemos revisarlo detenidamente y si es posible nos podemos ayudar de una lupa o un microscopio. El pistón debe de tener una superficie lisa y sin escoriaciones o rayaduras para garantizar un recorrido adecuado de los sellos de tal manera que se genere el vacío adecuado para tener mediciones volumétricas lo más precisa y exactas posibles. En los modelos clásicos de Gilson recomiendan no lubricar el pistón. En otros modelos si utilizan lubricante, pero tiene que ser el que ellos te indican.

- Las demás piezas se pueden limpiar también con alcohol isopropílico al 60% o jabón de laboratorio utilizando un bastoncillo recubierto de algodón en sus puntas, teniendo cuidado de no maltratarlas, sobre todo el sello de teflón que es delicado, ya que se puede deformar fácilmente.
- Cuando se utilizan las pipetas durante mucho tiempo, cuando no se tienen las precauciones o cuidados adecuados y, además, no se les realiza un mantenimiento básico lo que generalmente sucede es que el pistón se contamina y empiezan a aparecer escoriaciones en su superficie que provocan fugas de presión y por supuesto esto conlleva que las mediciones volumétricas de nuestras pipetas no sean confiables. Uno de los síntomas es que en la punta de la micropipeta aparecen gotas que nos indican que hay fugas debido a la pérdida de presión.



**Figura 10.** Pistones y portapuntas dañados de diferentes modelos de micropipetas Gilson.

- Ahora tenemos que revisar el portapuntas, para estar seguros de que este libre de algún residuo o contaminante que este bloqueando parcial o totalmente esta parte de la micropipeta. Con el tiempo y el uso constante se empiezan a formar estos residuos y no nos damos cuenta de ello hasta que notamos que la micropipeta ya no toma la misma cantidad a la que estamos acostumbrados. Utilizando un bastoncillo con algodón podemos limpiar internamente el portapuntas, también podemos utilizar alcohol isopropílico al 60% o jabón de laboratorio, después enjuagarlo con agua destilada o agua corriente. Hay que tener mucho cuidado de no introducir herramientas con puntas afiladas para realizar la limpieza, porque podemos rayar internamente la superficie del portapuntas lo cual lo dañaría de forma irreversible. Una vez limpio y libre de impurezas podemos dejar que se seque por un rato.
- En ocasiones y por el uso constante de la micropipeta es probable que el anillo de fricción se encuentre agrietado o roto, lo primero ocasiona que la rueda del ajuste de volumen no gire libremente, es decir se atora cuando la giramos, o lo segundo hace que el anillo de volumen gire muy libremente por la falta de esta pieza. Hay que hacer

notar que el anillo de fricción puede estar fabricado de un material plástico blando o un material más rígido y resistente (poliacetal).

- Ya que seguimos todos los pasos anteriores podemos volver a armar nuestra pipeta, procediendo de forma inversa a su desarmado, y entonces es posible comprobar su funcionamiento.
- Si después de este mantenimiento básico y realizando las pruebas que anteriormente se mencionaron, notamos que la micropipeta tiene problemas de repetibilidad o fugas de líquido entonces es necesario un mantenimiento mayor, es decir seguramente hay que cambiar sellos, portapuntas y en el peor de los casos el pistón. Para esto entonces hay que acudir con nuestro prestador de servicios que realice este trabajo.

### ¿Y después de pipetear que sigue?

Ya para terminar y después de una jornada larga de trabajo, y aunque hayamos estado en una posición cómoda, también es muy conveniente que tomemos un tiempo para relajarnos y permitir que nuestro cuerpo se recupere y libere cualquier tensión muscular acumulada. Es conveniente tomar un periodo de descanso, para esto podemos realizar estiramientos y flexiones de brazos, manos, muñecas, codos, cintura, espalda, hombros y cabeza, o simplemente podemos ir a dar un pequeño paseo, una caminata que nos permita despejarnos de nuestras labores cotidianas.

El estiramiento reduce el estrés, disminuye el riesgo de lesiones, mejora su rango de movimiento y postura, reduce el dolor, mejora los niveles de energía, aumenta la resistencia y promueve la circulación sanguínea saludable.

Sin embargo, hay que tomar en cuenta que estos ejercicios deben de realizarse de manera gentil y suave, para que no exista la posibilidad de que nos vayamos a lesionar. Todo esto nos va a ayudar a tener un mejor descanso y una mejor disposición para regresar al trabajo al día siguiente.

### Conclusiones.

Existen otras situaciones que ponen en riesgo y deterioran esta herramienta, las caídas que pueden ocasionar rupturas de alguna parte de la micropipeta o pueden ocasionar que se doble el eje del botón de accionamiento, utilizarlas cerca de un mechero o de un equipo que genere mucho calor como una parrilla, almacenarlas en un cajón sin tomar en cuenta su posición de descanso, dejarlas con puntas que tengan residuos de lo que se pipeteo, jugar con ellas, marcarlas con un objeto filoso o con cintas adhesivas,

sumergirlas en agua o en algún líquido, exponerlas al sol durante mucho tiempo, etc.

Hay que calibrar las pipetas por lo menos una vez al año para asegurar que las mediciones que se realicen con ellas sean precisas.

### A la hora de pipetear:

- Hay que utilizar las puntas adecuadas.
- No hay que dispensar distintas muestras con la misma punta puesto que esto induce una contaminación de las muestras.
- Hay que pipetear con un ángulo correcto, 90° para aspirar y 45° para dispensar ya sea sobre una pared lateral o directamente sobre el líquido.
- No aspirar aire ni sumergir demasiado la punta en la muestra.
- Hay que humedecer previamente las puntas de esta manera se minimiza la evaporación de la solución.
- Realizar el pipeteo de manera calmada es decir despacio y con suavidad.
- No dejar la pipeta en posición horizontal cuando no se esté usando.
- Hay que hacer notar que la calibración de una pipeta debe de realizarse a temperatura ambiente, si se trabaja a temperaturas inferiores o superiores la medición no será precisa.

### Referencias

1. Klingenberg, M. (2005) When a common problem meets an ingenious mind. The invention of the modern micropipette. *EMBO Rep.* 6(9), 797-800.
2. Micropipetas - Partes, Tipos, Aplicaciones, Técnicas. Publicado en junio 25, 2023 by Editores MN. <https://microbiologynote.com/es/micropipetas/>
3. Gilson 2020 Guía de Productos. Manipulación De Líquidos | Purificación | Extracción | Servicios.
4. Supporting scientists for three generations. <https://www.gilson.com/default/about/our-history.html>
5. Pipeta de pistón. [https://es.frwiki.wiki/wiki/Pipette\\_%C3%A0\\_piston](https://es.frwiki.wiki/wiki/Pipette_%C3%A0_piston)
6. Fuentes López, A., Fernández Segovia, I., and Fuentes López, C. Manejo de Micropipetas. Departamento de Tecnología de alimentos, Universitat Politècnica de Valencia.
7. Pipetman. Two-minute inspection. LT800434E/F | ©2019 Gilson Corporation. All rights reserved.
8. Material Lab-Temperatura. <https://es.slideshare.net/Qumica2/unidad-1-material-labtemperatura>
9. Pipetman Classic. Users's Guide. [https://de.gilson.com/pub/media/docs/PIPETMA\\_NCLASSIC\\_UG\\_LT801120-F.pdf](https://de.gilson.com/pub/media/docs/PIPETMA_NCLASSIC_UG_LT801120-F.pdf)



**Ing. Aurey Galván Lobato**  
**ORCID: 0000-0002-2172-4070**

El Ing. Aurey Galván Lobato obtuvo la Licenciatura en Ingeniería en Electrónica en la Facultad de Ingeniería, UNAM (1982-1986). En 1986 el Ing. Galván se incorporó al Instituto de Fisiología Celular, UNAM, para realizar su servicio social, posteriormente en el mismo año fue contratado como Técnico Académico Asociado en el Taller de Mantenimiento del mencionado Instituto. Durante

varios años impartió la asignatura Laboratorio de Electrónica en la Facultad de Ingeniería, UNAM. En 2009 obtuvo su promoción a Técnico Académico Titular C de tiempo completo. Cuenta con el nivel D del PRIDE. El Ing. Galván Lobato se desempeñó como jefe del Taller de Mantenimiento del IFC, desde el año 1989 hasta mayo del 2023, en ese mismo año le dieron el nombramiento de Secretario Técnico del IFC. Sus actividades principales dentro del IFC son: El mantenimiento preventivo y correctivo al equipo de investigación que se utiliza en los diferentes laboratorios del Instituto, programación y supervisión de personal externo para el mantenimiento preventivo y correctivo de equipos de áreas comunes, además del diseño y fabricación de equipo electrónico/eléctrico y mecánico. Diseño y fabricación de piezas con la ayuda de software especializado, además de máquinas-herramientas como: torno, fresadora, CNC, impresora 3d. Desde el año 2000 a la fecha proporciona mantenimiento preventivo y correctivo a las Micropipetas que se utilizan en los diferentes laboratorios del IFC, contando a la fecha con cerca de 3000 servicios de mantenimiento a estas herramientas de trabajo.

---



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# Participación de la senescencia celular en la neuroinflamación y el deterioro cognitivo durante la obesidad: el uso de senolíticos y senomórficos como terapia preventiva

## Involvement of cellular senescence in neuroinflammation and cognitive decline during obesity: the use of senolytics and senomorphics as preventive therapy

Königsberg, Mina<sup>1</sup> ; Salas-Venegas, Verónica<sup>1,2</sup>; Santín-Márquez, Roberto<sup>1,2</sup>; Flores-Torres, Rosa Pamela<sup>1,2,3</sup>; Maciel-Barón, Luis Ángel<sup>1,2</sup>; Luna-López, Armando<sup>4</sup>; Alarcón-Aguilar, Adriana<sup>1</sup>; Chavarría-Krauser, Anahí<sup>5</sup>; Gómez-González, Beatriz<sup>3</sup>; López-Díazguerrero, Norma Edith.<sup>1</sup>

1. Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
2. Posgrado en Biología Experimental, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
3. Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
4. Departamento de Investigación Básica, Instituto Nacional de Geriátrica.
5. Unidad de Investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1ra Sección, Alcaldía Iztapalapa, Cd. de México, C.P. 09310, México. Tel.: +52 (55) 5804 4600, Ext. 3662; [mkf@xanum.uam.mx](mailto:mkf@xanum.uam.mx)

Editor responsable: Omar Echeverría Rodríguez

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.16>

Recibido: 23 de febrero de 2024

Revisado: 12 de mayo de 2024

Aceptado: 13 de mayo de 2024

### Resumen

La acumulación de células senescentes con la edad se ha reconocido como uno de los marcadores celulares del envejecimiento. Actualmente existen principalmente dos enfoques senoterapéuticos para contender con la acumulación de células senescentes: los senolíticos, que promueven su muerte, y los senomórficos, que modifican el perfil de secreción de estas células para reducir su impacto negativo. Moléculas como el Dasatinib y la Quercetina (D+Q) han sido reposicionadas como senolíticos y han mostrado resultados prometedores en modelos animales y estudios piloto en humanos. Entre los senomórficos destaca el sulforafano (SFN), que es extraído de vegetales crucíferos.

En nuestro laboratorio se encontró que el tratamiento de cultivos primarios de astrocitos senescentes con

### Abstract

Senescent cells accumulation with age has been recognized as one of the cellular hallmarks of aging. Currently, there are mainly two senotherapeutic approaches to contend with the accumulation of senescent cells: senolytics, which promote their death, and senomorphics, which modify the secretory profile of these cells to reduce their negative impact. Molecules such as Quercetin and Dasatinib (D+Q) have been repositioned as senolytics and have shown promising results in animal models and pilot studies in humans. Among the senomorphics, sulforaphane (SFN), which is extracted from cruciferous vegetables, stands out.

In our laboratory we found that treatment of primary cultures of senescent astrocytes with SFN modifies their secretory profile towards a less inflammatory

SFN modifica su perfil secretor hacia uno menos inflamatorio, apoyando su potencial para mejorar el microambiente celular en el cerebro. Esto se comprobó al tratar a ratas Wistar de ambos sexos y diferentes edades con SFN, encontrando una protección del rendimiento cognitivo y una disminución de los marcadores inflamatorios, oxidantes y de senescencia, pero solo en ratas de mediana edad (15 meses). El SFN no revirtió el daño en ratas viejas (21 meses).

Al estudiar el impacto de una dieta hipercalórica en ratas Wistar hembras de mediana edad, encontramos que la obesidad inducida aumenta la neuroinflamación y la senescencia en áreas cerebrales clave, lo que lleva a un deterioro cognitivo. Al tratar a esas ratas con los senoterapéuticos (D+Q o SFN) por dos meses (de los 12 a los 14) encontramos que D+Q no evitaron dicho deterioro cognitivo, pero SFN sí lo previno, además disminuyó la inflamación. Interesantemente, D+Q incrementaron la neuroinflamación en ratas alimentadas con dieta estándar, lo que indica potenciales efectos adversos. Actualmente, continuamos evaluando los efectos de ambos tratamientos en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y la eliminación de células senescentes en el cerebro.

*Palabras claves:* envejecimiento, estrés oxidante, inflamación, obesidad, senescencia celular, senoterapias.

one, supporting its potential to improve the cellular microenvironment in the brain. This was proven by treating Wistar rats of both sexes and different ages with SFN, finding a protection in cognitive performance and a decrease in inflammatory, oxidative and senescence markers, but only in middle-aged rats (15 months). SFN did not reverse the damage in old rats (21 months).

When we studied the impact of a hypercaloric diet in middle-aged female Wistar rats, we found that the induced obesity increased neuroinflammation and senescence in key brain areas, leading to cognitive impairment. When we treated these rats with the senotherapeutic (D+Q or SFN) for two months (from age 12 to 14), we found that D+Q did not prevent cognitive decline, but SFN did prevent it and also decreased inflammation. Interestingly, D+Q increased neuroinflammation in rats fed with standard diet, indicating potential adverse effects. Currently, we continue to evaluate the effects of both treatments on blood-brain barrier permeability and senescent cell clearance in the brain.

*Keywords:* aging, oxidative stress, inflammation, obesity, cellular senescence, senotherapies.

## Introducción

Los avances científicos y tecnológicos en el ámbito de la prevención y el tratamiento de las enfermedades han tenido un impacto significativo en el aumento de la esperanza de vida a nivel mundial. México no ha sido la excepción, los datos del censo poblacional del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) del 2020 revelaron que la población de 60 años y más en México pasó de 9.1% en 2010 a 12.0% en 2020, mientras que la población de 0 a 17 años disminuyó de 35.4% a 30.4% en ese mismo período (1). Además, se ha estimado que una persona que nazca hoy en día en nuestro país tendrá una esperanza de vida que supera en más del doble a la que tenía una persona nacida en 1930.

Estos avances, debidos al poder transformador de la ciencia y la tecnología, han tenido amplias repercusiones en el ámbito de la salud y el bienestar. Sin embargo, aún existen múltiples dificultades que enfrentan las personas adultas mayores en nuestro país. Éstas incluyen la pérdida de las capacidades físicas y mentales, la disminución de la autonomía, el

menoscabo de roles familiares y sociales, el retiro del ámbito laboral, la pérdida de la capacidad económica, y lamentablemente un deterioro progresivo en la salud con consecuencias en ocasiones irreversibles (2).

En particular, los últimos 6 a 10 años de vida de una persona adulta mayor suelen verse afectados por discapacidades y enfermedades crónicas, lo que ha puesto en jaque al precario sistema de salud mexicano (3,4). Esta realidad pone de manifiesto la necesidad imperante de abordar de manera integral los desafíos que enfrenta dicha población vulnerable en términos de salud y bienestar.

## Envejecimiento

El envejecimiento se ha definido como un proceso natural e irreversible que se caracteriza por la disminución de las funciones fisiológicas, bioquímicas y estructurales de los individuos, lo que se ha relacionado con una mayor susceptibilidad a la adquisición de enfermedades que conllevan a la morbilidad y a la muerte de los individuos. Las

diferentes teorías que se han propuesto para explicar el envejecimiento se basan en la interacción que tienen los individuos con el ambiente, la acumulación de daño a biomoléculas, la existencia de gerontogenes, la regulación de la expresión génica y la epigenética. Actualmente, se considera al envejecimiento como un proceso multifactorial y es por ello que se han propuesto sellos o marcas distintivas del envejecimiento (en inglés *hallmarks*).

En los últimos años, un grupo de científicos encabezado por López-Otín, propusieron doce procesos fisiológicos que contribuyen al proceso del envejecimiento y se les conoce como marcadores moleculares o “*hallmarks*” del envejecimiento. Se ha planteado que cuando estos procesos se alteran, fomentan un envejecimiento acelerado, mientras que cuando se logran suprimir, se incrementa la longevidad y las condiciones de salud de los individuos (5,6). Esta propuesta divide a los *hallmarks* en tres ejes: marcas primarias, marcas antagónicas y marcas integrativas. El eje primario se refiere aquellos *hallmarks* cuyos procesos están relacionados al daño celular a las biomoléculas, entre los que se encuentran los siguientes: inestabilidad genómica, alteración telomérica, alteraciones epigenéticas, pérdida de proteostasis y macroautofagia disfuncional. Los factores antagónicos son aquellos que en alguna etapa de la vida resultan benéficos y en otra dañinos, como: desregulación en la detección de nutrientes, disfunción mitocondrial y senescencia celular. Finalmente, los factores integrativos se han relacionado con procesos fisiológicos del organismo entre los que se incluyen: agotamiento de las células madre, comunicación intercelular alterada, inflamación crónica y disbiosis.

### Envejecimiento y su relación con el estado redox

El estado redox está dado por el balance de las especies químicas oxidantes y antioxidantes en la célula; este balance puede definirse como un equilibrio dinámico entre las moléculas oxidantes, como las especies reactivas de oxígeno (ERO) o las especies reactivas de nitrógeno (ERN) y por las especies antioxidantes, ya sean enzimáticas (ej. superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa) o no enzimáticas (ej. GSH, vitaminas C, D y E) (7).

Cuando las moléculas prooxidantes incrementan hasta el punto en que las especies antioxidantes existentes no son suficientes para contender con ellas y mantener la homeostasis, la célula entra a un estado llamado estrés oxidante, el cual promueve la oxidación de biomoléculas al alcance de las especies oxidantes (8).

La teoría del envejecimiento por radicales libres, propuesta por Harman (1956), sugería que el envejecimiento podría estar dado por la acumulación de biomoléculas oxidadas durante la vida de un organismo, incrementando la probabilidad de desarrollar alguna enfermedad o la muerte (9). Sin embargo, se ha asumido que el estrés oxidante no cumple con los criterios estipulados para los *hallmarks* del envejecimiento que son: 1) manifestarse a lo largo del proceso de envejecimiento, 2) al manipularse experimentalmente, deben de ser capaces de acelerar el envejecimiento, y 3) las intervenciones terapéuticas sobre ellos deben de desacelerar o revertir el envejecimiento. Debido a que existen reportes en donde al manipularlo (sobrexpresando o eliminando enzimas antioxidantes) no se observó efecto sobre la longevidad de los animales (10, 11), el estrés oxidante o incluso el estado redox no se incorporaron dentro de los *hallmarks*. No obstante, se sabe que la homeostasis redox puede modificarse por una gran cantidad de factores, tanto intrínsecos y extrínsecos, como la alimentación, el medio ambiente y el estrés psicológico, y que su regulación se pierde durante el envejecimiento, lo cual tiene un papel fundamental en el desarrollo de diversas patologías; de manera que se ha sugerido que los cambios en el estado redox pueden ser un eje que regule a las otras características o *hallmarks* (12).

### Envejecimiento y su relación con la inflamación

Al incremento en la inflamación que se presenta durante el envejecimiento se le conoce como “*inflamm-aging*” por inflamación y envejecimiento en inglés. Este concepto fue propuesto hace algunos años por Claudio Franceschi y se refiere a la inflamación estéril, no resolutive e improductiva, que aumenta con la edad y contribuye a la fragilidad (13,14). Durante el *inflamm-aging* no solo se pierde la capacidad de respuesta frente a los patógenos, haciendo que las personas sean más susceptibles a las enfermedades infecciosas, sino que se genera una respuesta inmune alterada durante la vacunación y una mayor susceptibilidad a las enfermedades autoinmunes (15).

Por otro lado, el término inmunosenescencia se ha empleado para describir la degeneración del sistema inmune, tanto del innato como del adaptativo, que se caracteriza por una inflamación crónica de bajo grado (16). Esto se refiere a que los niveles de citocinas séricas se encuentran más arriba de lo normal, pero muy por debajo de lo que se reporta para un estado de inflamación frente a un patógeno. La inmunosenescencia se asocia con el *inflamm-aging* debido al deterioro que sufre el sistema inmune con la edad. Puesto que estos procesos suelen ocurrir simultáneamente, se genera un microambiente

estresante en los tejidos durante el envejecimiento, por lo que las células pueden activar vías de respuesta celular, como la senescencia celular (de la cual se hablará más adelante), para evitar la transformación a células malignas o dañadas que puedan proliferar. Sin embargo, la acumulación de células senescentes con la edad deteriora más el tejido, contribuyendo al aumento de la inflamación.

### Senescencia Celular

La senescencia celular es un estado de detención irreversible del ciclo celular al cual llegan las células en respuesta al estrés y daño, o debido a un exceso de divisiones celulares y acortamiento de telómeros (17). Actualmente se acepta que la senescencia puede ser inducida de manera prematura, es decir, antes de que las células alcancen su límite proliferativo, mediante una gran variedad de estímulos como la hiperoxia, el estrés oxidante, la inhibición del proteosoma, o la desregulación del proceso de autofagia (18,19), entre otros; y el mecanismo por el cual se lleva a cabo es principalmente por dos vías: p53/p21 y p16INK4a/pRB (20). La senescencia celular se caracteriza por una expresión genética alterada, la carencia de respuesta ante estímulos apoptóticos o mitogénicos, alteraciones epigenéticas y la producción de un secretoma llamado Fenotipo Secretor Asociado a la Senescencia (SASP, por sus siglas en inglés) (21). El SASP incluye una variedad de moléculas, como citocinas proinflamatorias, quimiocinas y metaloproteasas, que alteran el microambiente celular y genera inflamación crónica de bajo grado, asociándose al desarrollo de enfermedades relacionadas al envejecimiento (21,22).

### Obesidad

Entre los principales factores de riesgo para desarrollar enfermedades crónicas, además del envejecimiento, se encuentra la obesidad (23) que incrementa la morbilidad y la mortalidad a través de su contribución con el desarrollo de diferentes enfermedades crónicas como las cardiovasculares, la diabetes, el cáncer, las enfermedades hepáticas y renales, la apnea del sueño y la depresión (24). Estudios recientes han demostrado que al mismo tiempo que se desarrollan cambios patológicos y enfermedades metabólicas asociadas con la obesidad, también existe una relación con el deterioro cognitivo y el desarrollo de demencias (25).

El sobrepeso y la obesidad son condiciones de origen multifactorial con interacciones complejas entre factores fisiológicos, ambientales y socioculturales (26), y han sido definidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una

acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud; además, se ha reportado que la prevalencia de la obesidad a nivel mundial es mayor en mujeres (15%) que en hombres (11%) (27). En México, este problema de salud pública ha sido declarado emergencia sanitaria ya que desde 2016 el 72.5 % de los adultos tenían sobrepeso u obesidad, y también se ha reportado que la prevalencia es mayor en mujeres (28).

Actualmente existe evidencia de que la obesidad está relacionada con un estado de inflamación crónica de bajo grado. Las personas obesas y con sobrepeso tienen niveles séricos alterados de citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ , por sus siglas en inglés), la proteína C reactiva (PCR), diversas interleucinas (IL-6, IL-18), resistina y visfatina, entre otras, pues la cantidad de grasa corporal está fuertemente correlacionada con dichos marcadores inflamatorios (29).

El tejido adiposo blanco tiene la capacidad de adaptarse rápidamente tanto a la privación como al exceso de nutrientes. En este contexto, los preadipocitos se diferencian a adipocitos y aumentan de tamaño, lo que lleva a una mayor capacidad de almacenamiento de lípidos en su interior (hipertrofia). La expansión del tejido blanco adiposo está acompañada de cambios en la secreción de citocinas y quimiocinas, hipoxia, muerte celular, así como infiltración de células inmunitarias y desregulación del metabolismo. La hipertrofia de adipocitos modula el secretoma adiposo (30), ya que los adipocitos pueden secretar una variedad de moléculas como IL-6, proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1, por sus siglas en inglés), TNF- $\alpha$ , leptina y adiponectina (31).

### Neuroinflamación, senescencia celular y deterioro cognitivo

Las enfermedades neurodegenerativas son parte de las enfermedades crónico-degenerativas más críticas. Como se mencionó arriba, se ha demostrado que además de los cambios patológicos y las enfermedades metabólicas asociadas con la obesidad, también existe una relación con el deterioro cognitivo y el desarrollo de demencias (32). Se ha reportado que en México la prevalencia de demencias es superior al 7.3%, con más del 27.3% en las personas adultas mayores. Además, este tipo de enfermedades son más frecuentes en las mujeres (33), por lo que el problema de deterioro cognitivo parece agravarse en la población femenina adulta mayor. La obesidad se relaciona con diferentes cambios fisiopatológicos que tienen el potencial de impactar negativamente en el cerebro, además de asociarse con inflamación de bajo grado que afecta tejidos periféricos, otros órganos y la

circulación (34); el consumo crónico de dietas con alto contenido calórico se ha relacionado con una función cognitiva reducida tanto en humanos como en modelos animales (35). Por ejemplo, la evidencia clínica y experimental han demostrado que la alimentación rica en grasas saturadas se relaciona con deficiencias en el aprendizaje, la memoria, el funcionamiento ejecutivo, así como atrofia cerebral (34). También se ha reportado que el establecimiento de la obesidad durante la mediana edad incrementa el riesgo de desarrollar demencias como la enfermedad de Alzheimer en etapas posteriores de la vida (36). Los estudios realizados en 2018 por Cope y cols. evidenciaron que la obesidad en ratas en etapa temprana produce déficits cognitivos asociados a una pérdida de las sinapsis acompañado por cambios morfológicos de la microglía en la corteza prefrontal medial, una región del cerebro importante para la flexibilidad cognitiva (37). Así mismo, las células gliales, particularmente la microglía y los astrocitos, pueden ser activados directamente por mediadores inflamatorios que se secretan durante la obesidad como las citocinas (38), generando cambios morfológicos y funcionales significativos. Este perfil inicialmente puede ser protector y antiinflamatorio a medida que se resuelve, sin embargo, si este estado se mantiene de manera crónica, puede tener un impacto significativo sobre la plasticidad sináptica y neuronal.

Por otro lado, la inflamación detectada en el sistema nervioso central (SNC) inducida por la obesidad se ha relacionado con cambios en la integridad de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), debido a alteraciones en la microvasculatura cerebral y disfunción endotelial. Las alteraciones en la BHE generan una serie de cambios como la extravasación de células del sistema inmunitario (leucocitos), que a su vez puede propiciar la entrada potencial de patógenos y toxinas al SNC, estimulando así las respuestas inflamatorias y generando un ciclo vicioso (39).

En respuesta a los cambios en los niveles de mediadores periféricos (citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , MCP-1, ácidos grasos, insulina, etc.), así como la pérdida de la integridad de la BHE durante la obesidad, varios tipos de células en el SNC experimentan cambios fenotípicos que conducen a su activación (40), generando neuroinflamación y aumentando el estrés oxidante (41), en particular en

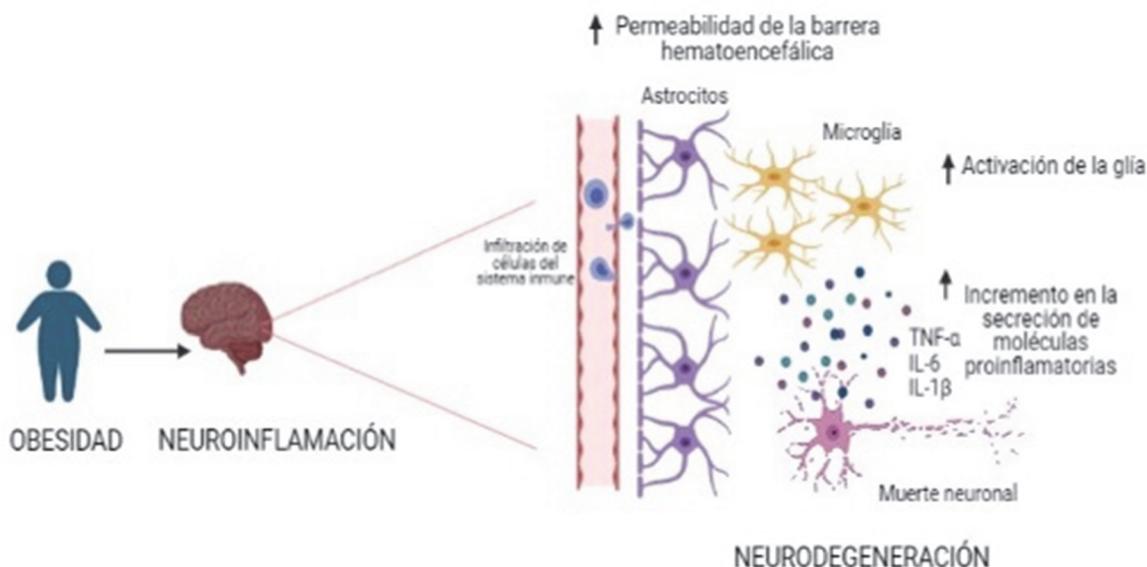
áreas del cerebro que son cruciales para la cognición como el hipocampo y la corteza cerebral (42) (Figura 1).

Así mismo, la inflamación y los cambios redox son factores que fomentan la senescencia celular, y se ha reportado que organismos alimentados con dietas altas en grasas acumulan células senescentes en el cerebro, condición que se ha relacionado con la ansiedad y la disminución de la neurogénesis (43). Además de que se ha encontrado acumulación de células senescentes en los tejidos de organismos envejecidos (44) y de pacientes con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (45). En 2018 se describió un vínculo entre la acumulación de la glía senescente con la disminución de la cognición (46); sin embargo, casi no hay estudios en los que la senescencia celular esté relacionada con el deterioro cognitivo asociado con la obesidad durante el envejecimiento.

### Senoterapias

En 2011 se reportó por primera vez que la eliminación de células senescentes previene algunas de las características de las enfermedades relacionadas con la edad (47). En ese artículo, las células positivas a p16<sup>Ink4</sup> se eliminaron al administrar un fármaco al ratón transgénico INK-ATTAC. Su eliminación retrasó la disfunción de varios tejidos relacionada al envejecimiento, lo que confirmó la participación de la senescencia celular en patologías asociadas con la edad. En el contexto del cerebro, las investigaciones recientes también han demostrado que la eliminación de células senescentes mejora los fenotipos en modelos animales con enfermedades neurodegenerativas dependientes de la acumulación de la proteína tau (46). Además, la eliminación de las células senescentes en el cerebro restauró la neurogénesis y disminuyó el comportamiento relacionado con la ansiedad en ratones alimentados con una dieta alta en grasa (43).

Puesto que *in vivo* no es factible eliminar a todas las células que sobreexpresan p16<sup>Ink4</sup>, se buscaron otras moléculas como dianas terapéuticas. Actualmente se utilizan dos estrategias senoterapéuticas: 1) eliminación de células senescentes mediante senolíticos y 2) modificación de moléculas secretadas en el SASP mediante senomórficos.



**Figura 1. Efecto de la obesidad en el SNC.** Durante la obesidad se establece un estado inflamatorio sistémico, el cual puede inducir inflamación en el SNC, conocida como “neuroinflamación”. La neuroinflamación se acompaña de cambios en la permeabilidad de la BHE, aumento de la extravasación de leucocitos, liberación de citocinas proinflamatorias y activación de la microglía. El ambiente inflamatorio que se genera dentro del SNC reduce la viabilidad neural. Figura realizada con BioRender.

### Senolíticos

El uso de estrategias bioinformáticas reveló que las células senescentes sobreexpresan varias moléculas de las vías antiapoptóticas llamadas SCAP, del inglés *Senescent Cell Anti-apoptotic Pathways*. Las moléculas SCAP permiten la supervivencia de las células senescentes al oponerse a las vías proapoptóticas (también aumentadas) (48,49). Por lo que se han desarrollado moléculas denominadas senolíticos que inhiben a las proteínas SCAP para estimular la apoptosis. Esta terapia ya se ha utilizado con éxito en animales y en estudios piloto con humanos, para prevenir algunos síntomas de patologías relacionadas con la edad (50-53). Los más estudiados son dos fármacos aprobados por la FDA y la OMS, la Quercetina (Q) y el Dasatinib (D), y que utilizados en conjunto se han reposicionado como senolíticos (54). Q es un flavonol natural (55) cuyo efecto senolítico se basa en la inhibición de vías de supervivencia como PI3K, AKT, Bcl-2, p53 y HIF1-alfa, promoviendo así la apoptosis de células senescentes (55). Mientras que D se ha utilizado para tratar la leucemia mieloide crónica y su efecto senolítico se basa en la inhibición de múltiples tirosina cinasas y la vía FOXO-p53 (55,56). La combinación D+Q ha mostrado resultados positivos al inducir apoptosis en células senescentes sin afectar a otras células (54, 56, 57). Sin embargo, aún existen dudas

sobre su especificidad y efectos secundarios cuando se usa durante periodos prolongados. Además, dado que las células senescentes también tienen efectos benéficos, como la cicatrización de heridas, se desconoce qué pasaría si las células senescentes fueran eliminadas por completo. Por tanto, su administración solo se ha estudiado a corto plazo y de manera intermitente (49,58).

### Senomórficos

El SASP es el mecanismo por el cual las células senescentes fomentan diferentes procesos biológicos en diversos estados de la vida del organismo. Puede tener efectos benéficos, como remodelación tisular durante la embriogénesis (59), la cicatrización de heridas (60), la supresión de tumores (61) y también efectos deletéreos que contribuyen al deterioro durante el envejecimiento, así como la promoción de tumores (21). Los componentes de SASP pueden variar dependiendo del inductor de senescencia, del tiempo y del tejido del cual se trate (62). Sin embargo, el SASP siempre mantiene su perfil proinflamatorio, debido a que varios de los factores se conservan (62). Existen moléculas (llamadas senomórficos) que pueden modificar el SASP disminuyendo y modulando sus efectos oxidantes e inflamatorios, como la rapamicina (63), la metformina (64), los glucocorticoides (65) y el sulforafano (SFN) (66).

El SFN (1-isothiocianato-(4R)-(metilsulfenil)butano) es un compuesto organosulfurado que se encuentra en los vegetales crucíferos, principalmente en el brócoli, aunque también en menor concentración en la coliflor, la calabaza o las coles de Bruselas. Su precursor, la glucorafanina, puede ser encontrado en concentraciones relativamente altas en el brócoli (0.8-21.7  $\mu\text{mol/g}$  de peso seco) en comparación con otros crucíferos. Este precursor es hidrolizado por la enzima mirosinasa cuando el vegetal sufre algún daño mecánico, depredación o es atacado por patógenos, generando como resultado a la molécula activa de SFN más una molécula de D-glucosa (67, 68).

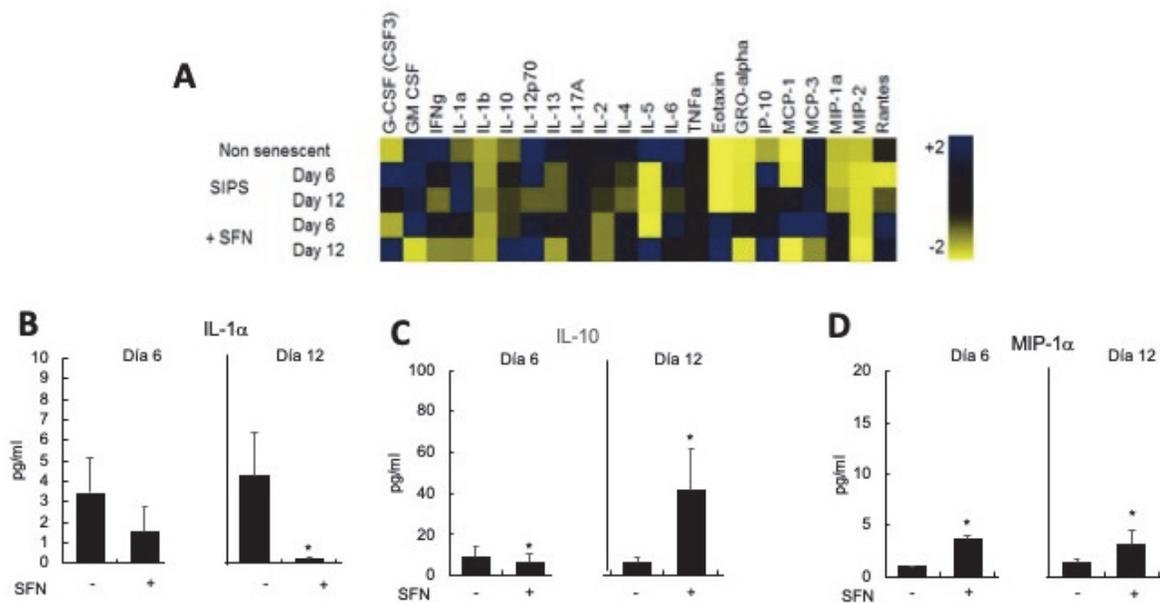
La administración de SFN se ha relacionado con la activación de varios blancos moleculares, uno de los más estudiados ha sido el factor relacionado al eritroide 2 (Nrf-2, por sus siglas en inglés), una proteína reguladora maestra de la respuesta antioxidante y de la detoxificación celular, que también puede promover vías de señalización relacionadas con mecanismos de protección celular (69). Además, se ha propuesto que el SFN puede actuar adicionalmente por mecanismos independientes de Nrf-2, como la inhibición de la activación de la vía de NF- $\kappa$ B, una vía de regulación crítica de la respuesta inflamatoria, por medio de la inhibición de la fosforilación del inhibidor de  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) o impidiendo directamente la traslocación nuclear del dímero de NF- $\kappa$ B (67-70).

### Efecto de senomórficos en cultivos primarios de astrocitos

Los astrocitos son el tipo de célula glial de mayor abundancia en el SNC, forman parte de la BHE, regulan el flujo sanguíneo y transportan diferentes compuestos incluidos los nutrientes. Además, tienen una participación activa en la sinapsis (mediante la regulación de la plasticidad y la función sináptica), protegen a las neuronas del estrés oxidante/nitrosante debido al alto nivel de expresión y actividad de las enzimas antioxidantes (71). Los astrocitos también liberan citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, así como factores tróficos, por ejemplo, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés) (72). Así mismo, regulan la transmisión sináptica, la sinaptogénesis, la diferenciación y proliferación neuronal, y modulan las vías moleculares subyacentes a las funciones cognitivas y el comportamiento (73).

Por todo ello, en nuestro laboratorio se estandarizó el cultivo primario de astrocitos de corteza de ratas Wistar neonatas, el cual posteriormente se indujo a senescencia usando dos estímulos distintos: estrés oxidante (con 75  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por 2 h) al cual se denomina Senescencia Prematura Inducida por Estrés (SIPS, por sus siglas en inglés), e inhibiendo el proteosoma (con 5 nM de epoximicina cada cambio de medio), al que llamamos Senescencia Prematura Inducida por Inhibición del Proteosoma (PIIPS, por sus siglas en inglés). Ambos tipos de senescencia se corroboraron evaluando cuatro marcadores clásicos como son: el aumento de la actividad de la enzima  $\beta$ -galactosidasa, el incremento del inhibidor del ciclo celular p16, el marcador de daño al ADN  $\gamma$ H2AX y la detención de la proliferación. Se evaluaron 14 citocinas y 8 quimiocinas por medio de un inmunoensayo de Multiplex ProcartaPex® y se realizó una matriz de correlación entre los distintos grupos a los 6 y 12 días de la inducción para analizar los perfiles de secreción. En la Figura 2A se muestra un mapa de calor (*heat map*) de los perfiles de las 22 citocinas y quimiocinas evaluadas. Posteriormente, al comparar los perfiles del SASP entre SIPS y PIIPS al día 6, el coeficiente de correlación fue  $r = -0.21$ , indicando que los perfiles de secreción se encontraban alejados entre sí, pero al día 12 el coeficiente de relación obtenido entre los 2 grupos de astrocitos senescentes fue de  $r = 0.37$ , lo cual implicó que los perfiles de secreción al día 12 tienen algunos componentes compartidos.

Tomando estos datos en conjunto, nuestro análisis sugirió que conforme pasa el tiempo el perfil del SASP de las células senescentes se aleja progresivamente del perfil de secreción de las células no senescentes, además, que el perfil de secreción de los 2 tipos de senescencia estudiados, SIPS y PIIPS, convergen hacia un mismo perfil inflamatorio varios días después de inducir la senescencia. Posteriormente los astrocitos senescentes se trataron con SFN, lo cual disminuyó la expresión de moléculas del SASP con actividad proinflamatoria, como la IL-1 $\alpha$ , e incrementó la expresión de moléculas con actividad antiinflamatoria, como la interleucina 10 (IL-10) y MIP-1 $\alpha$  al día 12, modificando los perfiles secretorios en células senescentes hacia un perfil preferentemente antiinflamatorio (Figura 2B-D) (65).



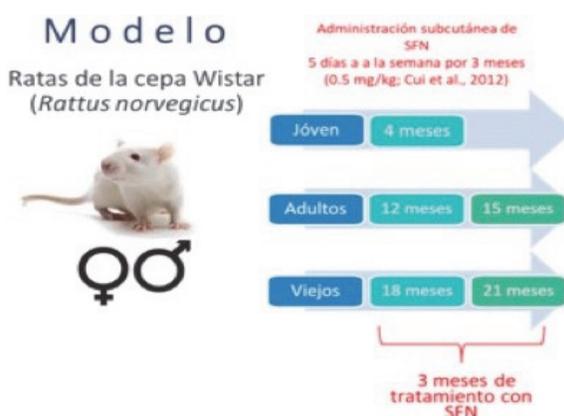
**Figura 2. Efecto del tratamiento con SFN sobre el SASP de astrocitos primarios de corteza inducidos a senescencia SIPS.** A. Se muestra el mapa de calor de la concentración de todo el panel de citocinas y quimiocinas evaluado en el SASP de astrocitos no senescentes, senescentes-SIPS y senescentes-SIPS tratados con SFN a los días 6 y 12 después de la inducción. Concentraciones de IL-1α (B), IL-10 (C) y MIP-1α (D) (en pg/ml) a los días 6 y 12 después de la inducción de senescencia SIPS tratadas o no tratadas con SFN. Cada barra representa a la media  $\pm$  desviación estándar de  $n=3$ ; \* $p<0.05$  usando la prueba de t de Student.

### Efecto senomórfico del SFN en ratas Wistar hembras y machos de distintas edades

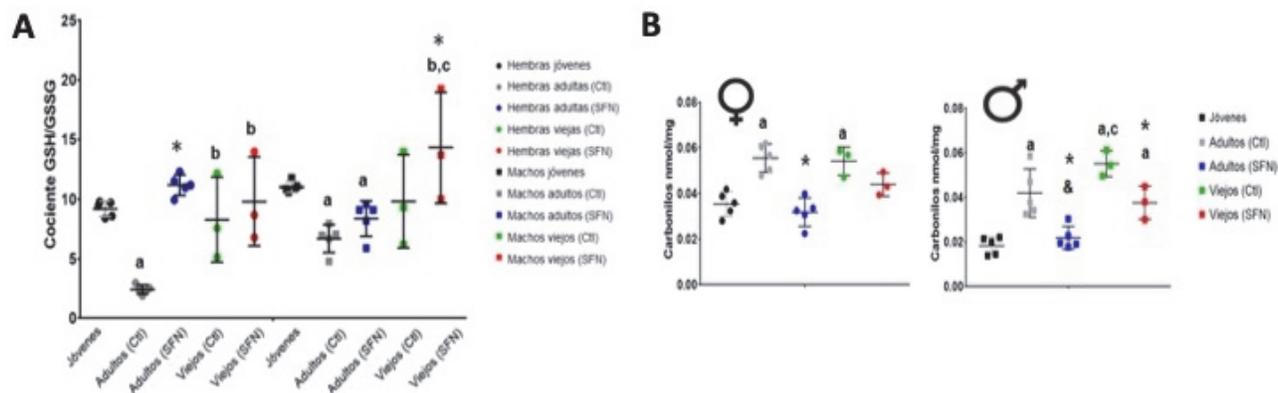
Para corroborar los resultados *in vitro*, evaluamos si el tratamiento crónico con SFN era capaz de prevenir el daño cognitivo relacionado al aumento de la edad en ratas Wistar hembras y machos de distintas edades. Para eso se trataron individuos adultos (12 meses) y viejos (18 meses) con SFN (LKT Laboratories, no. de cat. 4478-93-7) a una dosis de 0.5 mg/Kg disuelto en 1% de DMSO y administrado por vía subcutánea por 5 días a la semana durante 3 meses (74), como se observa en la Figura 3. Se emplearon ratas de 4 meses no tratadas como control joven, y se evaluaron diversos parámetros redox, inflamatorios y de senescencia. Cabe mencionar que las ratas Wistar en cautiverio tienen una esperanza de vida máxima de aproximadamente 24 meses, por lo que las ratas de 4 meses se consideran adultas jóvenes, las de 12-15 meses de mediana edad, y las mayores de 18 meses se consideran viejas. Solo el 30% de las ratas alcanzan los 24 meses de vida, por lo que serían equivalentes a personas muy longevas.

La respuesta antioxidante se analizó determinando los niveles relativos de las enzimas SOD, CAT y GPX, así como su actividad enzimática (los resultados en extenso se encuentran en la referencia 78). Se determinó el cociente GSH/GSSG para evaluar el

estado redox y el contenido de carbonilos para el daño oxidante. Todo ello en la corteza cerebral (Cx) y en el hipocampo (Hc). Como se observa en la Figura 4, nuestros resultados mostraron que el SFN restauró el estado redox (Figura 4A) y disminuyó el daño oxidante en las proteínas (Figura 4B) de la Cx de ratas adultas, pero no en las viejas. Lo mismo se observó en el Hc.



**Figura 3. Grupos experimentales.** El modelo de envejecimiento *in vivo* se realizó utilizando ratas hembra y macho de la cepa Wistar, las cuales fueron tratadas por 3 meses con SFN.



**Figura 4. Determinación del estado redox y daño oxidante a proteínas.** **A.** Cociente de GSH/GSSG correspondiente a la Cx de grupos jóvenes, adultos Ctl y tratados con SFN, y viejos Ctl y tratados con SFN de ambos sexos. **B.** Concentración de carbonilos correspondientes a la Cx de grupos jóvenes, adultos Ctl y tratados con SFN, y viejos Ctl y tratados con SFN de ambos sexos. Los símbolos indican las gráficas de machos y las de hembras. La línea representa a la media  $\pm$  desviación estándar. Jóvenes:  $n=5$ ; Adultos Ctl:  $n=5$ ; Adultos SFN:  $n=5$ ; Viejos Ctl:  $n=3$ ; Viejos SFN:  $n=3$ . Se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. La significancia estadística se especificó como:  $^a p < 0.05$  contra el grupo joven,  $^b p < 0.05$  contra el grupo adulto Ctl,  $^c p < 0.05$  contra el grupo adulto SFN y  $^* p < 0.05$  contra el grupo no tratado de la misma edad.

De manera interesante, se encontraron diferencias entre ambos sexos en todos los parámetros redox estudiados. Los machos adultos tratados con SFN obtuvieron valores similares a los determinados en los grupos jóvenes, mientras que las hembras adultas tratadas con SFN mostraron mejores resultados. Es importante señalar que se sabe que las hembras jóvenes tienen una mejor respuesta antioxidante y una menor producción de ERO (75), pero con el declive hormonal asociado a la edad, esta protección disminuye (76). Además, se ha reportado que las hembras son capaces de responder mejor tras un insulto oxidante que los machos (77).

En el caso de las ratas viejas no hubo diferencias por sexo y aunque los animales tratados con SFN no fueron capaces de recuperar su estado redox como lo hicieron los animales adultos, ciertamente tuvieron una mejoría en comparación a las ratas viejas no tratadas.

Con respecto a la inflamación, también se encontraron diferencias por sexo. La mayoría de las citocinas proinflamatorias evaluadas en la Cx de las ratas hembra adultas (IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-2, IL-6, y TNF- $\alpha$ ) aumentaron significativamente respecto a los controles jóvenes, pero el tratamiento con SFN evitó este incremento en todos los casos, excepto en la IL-2. En contraste, en los machos no se encontró aumento de estas citocinas al pasar a la etapa adulta, por lo que el tratamiento con SFN tampoco indujo cambios, excepto en la IL-1 $\alpha$  que si aumentó en la adultez y la IL-1 $\beta$  que disminuyó, pero el SFN previno esos efectos. En el Hc de las ratas hembra y

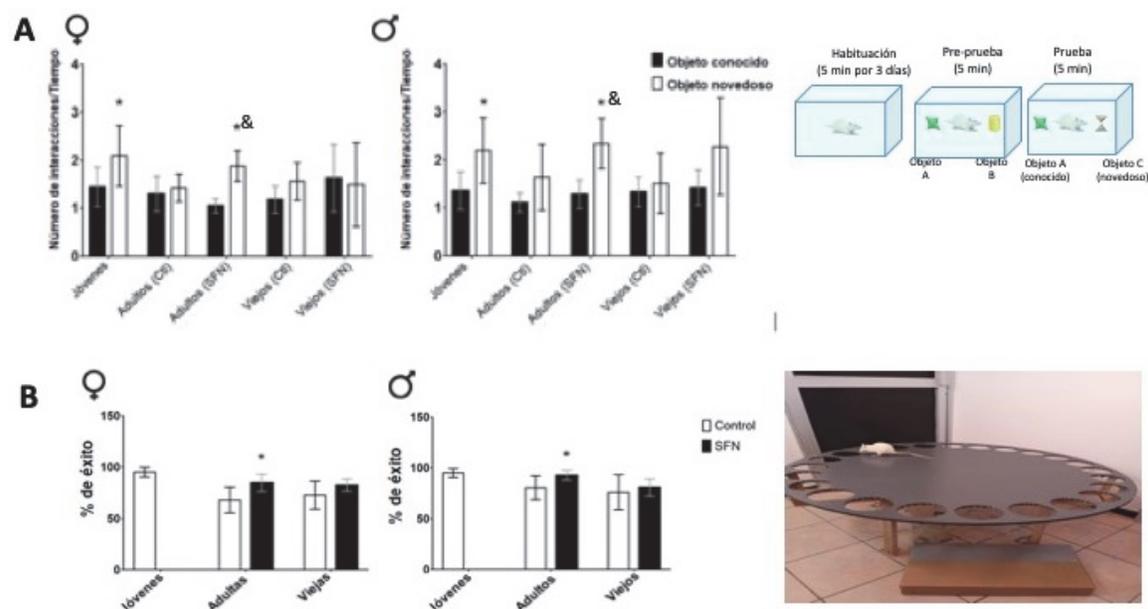
machos se observó un comportamiento similar al de la Cx. Al evaluar a las citocinas de los animales viejos, independientemente del sexo, no se encontraron variaciones ni efectos por el tratamiento.

En resumen, los paneles de citocinas y quimiocinas en machos y hembras fueron diferentes. Las citocinas proinflamatorias en la Cx y el Hc de las hembras fueron superiores a las concentraciones obtenidas en los machos, principalmente durante la edad adulta, pero que pudieron disminuir con el SFN. Es interesante que en las hembras se observaran efectos muy variados en los niveles de estas moléculas con la edad, pero no en los machos, que mostraron niveles similares durante toda la vida. Este puede ser otro factor relevante para explicar el dimorfismo sexual durante el envejecimiento, que se complementa con los cambios hormonales.

La regulación de la homeostasis redox y de la inflamación por el SFN se relaciona con la disminución de los marcadores de senescencia ( $\gamma$  H2AX, p21, p38) encontrados en la Cx y el Hc de las ratas adultas tanto en hembras como en machos y la presencia de células positivas al marcador SA $\beta$ -gal, lo que no sucedió en los animales viejos.

Se realizó la prueba de reconocimiento de objeto novedoso (NOR, por sus siglas en inglés) para evaluar la memoria declarativa al discriminar entre el objeto conocido y el objeto nuevo, evaluando el tiempo y el número de interacciones con cada uno de los objetos mediante el índice de discriminación (número de interacciones entre el tiempo). El índice de discriminación aumentó con la edad en ambos sexos,

lo que sugiere un declive de la memoria descriptiva. El tratamiento con SFN sólo tuvo efecto en los grupos adultos, en los que el índice de discriminación fue similar al de las ratas jóvenes, pero no en los viejos. No se encontraron diferencias en cuanto al sexo (Figura 5A).



**Figura 5. Prueba de reconocimiento de objeto novedoso y laberinto de Barnes. A.** Cociente del número de interacciones entre el tiempo de interacción con el objeto conocido y el novedoso de hembras y machos según señala el símbolo. **B.** Porcentaje de éxito para encontrar el túnel de escape en el laberinto de Barnes en hembras y machos según el símbolo.

Además, se empleó la prueba del laberinto de Barnes para evaluar la memoria espacial y el aprendizaje, registrando la latencia, es decir, el tiempo que tardaron los individuos en encontrar el túnel de escape y el número de errores primarios que cometieron antes de encontrarlo. En las hembras, las latencias aumentaron con la edad una media de cuatro veces más que en los grupos jóvenes, mientras que en los machos las latencias aumentaron, pero no tanto como en las hembras. En promedio, las latencias de los grupos de machos adultos y viejos sólo duplicaron las latencias de los machos jóvenes.

No se determinaron cambios significativos en la memoria espacial después del tratamiento con SFN, pero se encontraron latencias más bajas en la tarea de aprendizaje en las hembras adultas en comparación con las ratas adultas no tratadas. Por el contrario, los machos adultos tratados mostraron diferencias significativas en las tareas de memoria espacial, en las que las latencias fueron menores en los machos adultos tratados, pero no se encontraron diferencias en las tareas de aprendizaje. Por último, los grupos de viejos de ambos sexos no mostraron diferencias tras el tratamiento con SFN. Finalmente, se calculó el porcentaje de éxito de cada grupo (Figura 5B), es decir, el porcentaje de veces que los individuos

completaron la tarea a lo largo de toda la prueba. En donde el SFN sí tuvo efecto, pero sólo en los animales adultos. Nuestros resultados sugieren que el tratamiento con SFN puede prevenir, más no revertir la homeostasis redox, inflamación y senescencia en el SNC, por lo que proponemos su uso para prevenir el daño y el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento en animales maduros (78).

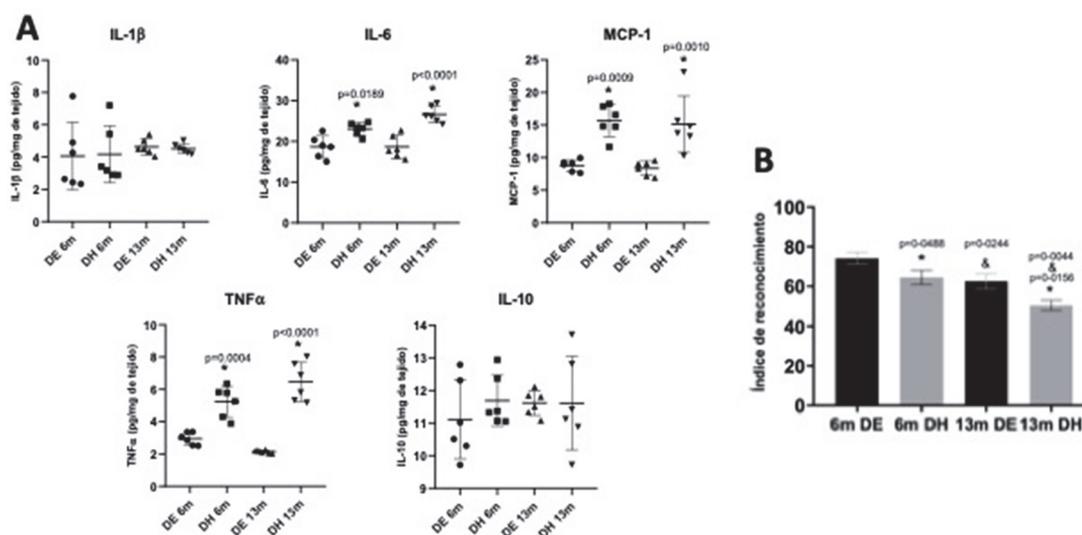
### Efecto de la obesidad en el deterioro cognitivo, la neuroinflamación y la senescencia en ratas hembra Wistar de mediana edad

Para determinar si efectivamente la obesidad se relaciona con el aumento en la neuroinflamación, la senescencia celular y el deterioro cognitivo, a ratas hembra se les alimentó con una dieta hipercalórica e hiperlipídica desde el destete (21 días) hasta su eutanasia a los 13 meses, que es considerado como mediana edad. No fue posible tener ratas viejas, ya que las ratas obesas no viven más de 14-15 meses. La dieta obesogénica constaba de: 23.5% de proteínas, 20% de manteca animal (con un 40% de grasas saturadas), 5% de aceite vegetal (con 60.7% de grasas poliinsaturadas, 24.3% de grasas monoinsaturadas y 15% de grasas saturadas), 20.2% de polisacáridos,

20.2% de azúcares simples, 5% de fibra, 5% de minerales y 1% de vitaminas. Con un aporte calórico de 4.9 kcal/g (79, 80). Las ratas control se alimentaron con una dieta estándar comercial, ABENE BDL-7100MR, que contenía 23% de proteínas, 4.5% de grasas y 46.5% de carbohidratos, y un aporte calórico de 3.2 kcal/g.

Nuestros resultados mostraron que la inflamación sistémica generada por la obesidad induce un estado neuroinflamatorio en regiones cerebrales involucradas en el aprendizaje y la memoria como la Cx y el Hc. En la Figura 6A se muestran los resultados obtenidos en la Cx donde se observa que la mayoría de las citocinas inflamatorias aumentan desde los 6

meses de edad por efecto de la dieta, mientras que el índice de reconocimiento en la prueba NOR disminuye con la edad y la dieta (Figura 6B). Así mismo, el efecto se vio acompañado de un incremento en la expresión de marcadores de senescencia como los mencionados arriba. En la Figura 7 se muestra un diagrama anatómico para ubicar las regiones de la corteza e hipocampo en donde se analizó la presencia de células positivas al ensayo de SA- $\beta$ -gal para evaluar senescencia celular, así como algunas imágenes representativas. Estos resultados corroboran que la senescencia fomenta las consecuencias negativas de la obesidad en la cognición y enfermedades neurodegenerativas (81).

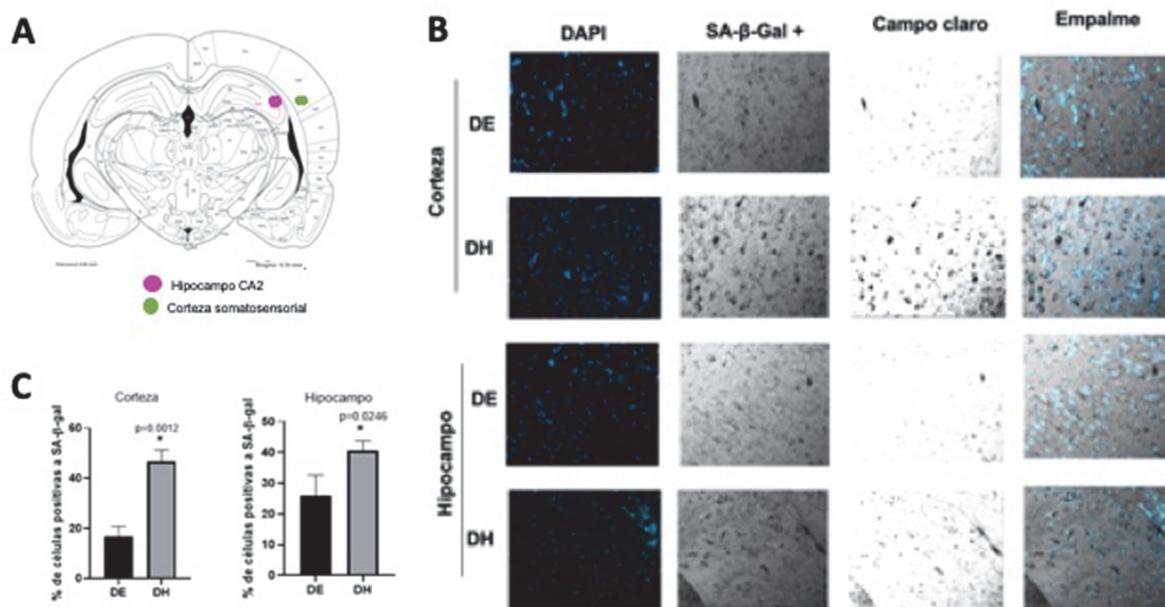


**Figura 6. Perfil inflamatorio en la corteza cerebral y deterioro cognitivo mediante la prueba de NOR.** A. Los niveles de IL1 $\beta$ , IL6, MCP-1, TNF $\alpha$  e IL10 se analizaron mediante ELISA. Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar y se analizaron mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de Tukey. Las diferencias significativas entre grupos con respecto a la DE se marcan con \* $p$ <0.05 ( $n$  = 6 DE, dieta estándar y  $n$  =6 DH, dieta hipercalórica). B. Índice de reconocimiento en la prueba de NOR determinados en ratas alimentadas con DE y DH a los 6 y 13 meses de edad. Cada barra representa la media  $\pm$  desviación estándar y se analizaron mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de Tukey. Las diferencias significativas entre grupos con respecto a la DE se marcan con \* $p$ <0.05 y las diferencias a distintas edades se marcan con  $\&$  $p$ <0,05 ( $n$  = 12 DE y  $n$ =12 DH).

### Efecto de los senolíticos (D+Q) o el senomórfico (SFN) en el deterioro cognitivo y la inflamación en ratas hembra Wistar con obesidad

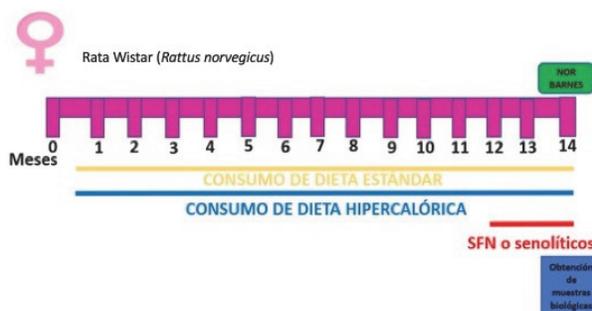
Finalmente, para conjuntar todo lo estudiado hasta este momento, se comparó el efecto de los senolíticos (D+Q) frente al senomórfico (SFN) sobre la función cognitiva en un modelo de ratas Wistar hembra de mediana edad con obesidad. Para ello, las ratas fueron alimentadas con la dieta obesogénica descrita anteriormente, desde los 21 días de vida hasta su eutanasia a los 14 meses de edad. Los tratamientos

con los agentes senoterapéuticos se administraron de los 12 a los 14 meses. El SFN se administró en la dosis previamente empleada y descrita arriba (0.5 mg/kg, por vía subcutánea, 5 días a la semana durante dos meses), mientras que los senolíticos, Dasatinib (Sigma Aldrich, CDS023389) y Quercetina (Sigma Aldrich, PHR14-88), se diluyeron en PEG 400 al 10% y se administraron por sonda oral a dosis de 5 mg/kg y 50 mg/kg, respectivamente (82). Se realizó una única administración una vez al mes durante dos meses (Figura 8).



**Figura 7. Evaluación de presencia de células senescentes en cerebro.** **A.** Diagrama anatómico para ubicar las regiones analizadas. **B.** Imágenes representativas de diferentes regiones con células características de senescencia acumuladas en la corteza e hipocampo en animales con DH a los 13 meses. **C.** Porcentaje de células SA-β-gal positivas por área en cada sección del cerebro en la corteza y el hipocampo. Se representa gráficamente el promedio de tres cerebros por grupo. Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar y se analizaron mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de Tukey. Las diferencias significativas entre grupos con respecto a la DE se marcan con  $*p < 0,05$  ( $n = 6$  DE y  $n = 6$  DH).

La memoria declarativa se evaluó mediante la prueba de NOR, y la memoria espacial y el aprendizaje se evaluaron mediante el laberinto de Barnes. A los 14 meses, las ratas con dieta hipercalórica mostraron un deterioro cognitivo en comparación con las ratas alimentadas con dieta estándar, pero el tratamiento con el coctel de senolíticos no evitó este deterioro. Sin embargo, las ratas con obesidad y tratadas con SFN mostraron un mejor rendimiento en la prueba de NOR y en el laberinto de Barnes. Así mismo, encontramos un aumento de marcadores de inflamación (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ ) tanto en la periferia como en el cerebro (corteza cerebral e hipocampo) en las ratas obesas. Ambos tratamientos consiguieron revertir esta inflamación, pero el SFN además aumentó los niveles de la citocina antiinflamatoria IL-10, y fomentó la plasticidad y supervivencia neuronal incrementando el factor neurotrófico BDNF. De manera interesante, encontramos que los senolíticos en ratas alimentadas con dieta estándar ejercen un efecto adverso aumentando la neuroinflamación.



**Figura 8. Esquema del diseño experimental.** Esquema experimental que se emplea para estudiar el efecto de los senolíticos (D+Q) y el senomórfico (SFN) en el deterioro cognitivo y la inflamación en ratas hembra Wistar con obesidad.

## Conclusiones y perspectivas

Nuestro grupo de trabajo ha encontrado que el SFN tiene un papel protector en cuanto a la neuroinflamación inducida por la edad y la obesidad, que se relaciona con varios factores entre los que destaca la modulación del SASP y retrasa la aparición de las células senescentes. Sin embargo, este papel

protector observado a mediana edad no revierte el daño ya presente en animales viejos. En cuanto a la comparación entre senomórficos y senolíticos, aparentemente el SFN tiene mejores efectos en evitar el déficit cognitivo y la neuroinflamación en ratas hembra de mediana edad obesas y controles. Interesantemente, el coctel de senolíticos D+Q mostró efectos adversos en ratas alimentadas con dieta estándar, lo que podría deberse a que no son totalmente selectivos para células senescentes.

Puesto que la neuroinflamación y el deterioro cognitivo se han asociado con el aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, actualmente estamos evaluando los efectos de los senoterapéuticos D+Q o SFN en dicha barrera en este mismo modelo. Así mismo, evaluaremos la presencia

o la eliminación de las células senescentes en diferentes áreas del cerebro después de los tratamientos. En un futuro sería interesante poder realizar estos estudios también con ratas macho y compararlos con las hembras, o bien intentar combinar senolíticos y senomórficos para evaluar si existe algún tipo de sinergia entre ellos.

### Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Ángeles Guerrero-Aguilera de la UAM Iztapalapa por el cuidado de los animales. Este proyecto es financiado por FORDECYT-PRONACES/263957/2020. VSV, RPF, RSM, LAMB son o fueron becarios de CONAHCyT.

### Referencias

- Instituto Nacional de Geografía y Estadística. (2021, 25 de enero). Comunicado de Prensa No 24/21. En México somos 126 014 024 habitantes: Censo de Población y Vivienda, INEGI. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia.html?id=6237>
- Ham-Chande, R. (1999). Conceptos y Significados del Envejecimiento en las políticas de Población. En: Consejo Nacional de Población (Ed.), *El envejecimiento demográfico de México: Retos y Perspectivas* (43-53). México, D.F., México. CONAPO.
- Reich, M. R. (2020). Restructuring Health Reform, Mexican Style. *Health Syst. Reform.* 6(1), 1-11.
- Comisión Independiente de Investigación sobre la Pandemia de Covid-19 en México. Informe 2024. Disponible en: <https://www.comisioncovid.mx/index.html>
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell* 153, 1194-1217.
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243-78.
- Zoccarato, A., Nabebaccus, A. A., Oexner, R. R., Santos, C. X. & Shah, A. M. (2022). The nexus between redox state and intermediary metabolism. *FEBS J.* 289, 5440-62.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging.* 13, 757-72.
- Harman, D. (1956). Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *J. Gerontol.* 11, 298-300.
- Huang, T. T., Carlson, E. J., Gillespie, A. M., Shi, Y. & Epstein, C. J. (2000). Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice. *J. Gerontol. Biol. Sci. & Med. Sci.* 55, B5.
- Pérez, V. I., Van Remmen, H., Bokov, A., Epstein, C. J., Vijg, J. & Richardson, A. (2009). The overexpression of major antioxidant enzymes does not extend the lifespan of mice. *Aging cell.* 8, 73-5.
- Jones, D. P. (2015). Redox theory of aging. *Redox Biol* 5, 71-9.
- Koelman, L., Pivovarova-Ramich, O., Pfeiffer, A. F. H., Grune, T. & Aleksandrova, K. (2019). Cytokines for evaluation of chronic inflammatory status in ageing research: reliability and phenotypic characterization. *Immun Ageing.* 16, 11.
- Franceschi, C., Bonafe, M., Valensin, S., Olivieri, F., De Luca, M., Ottaviani, E. & De Benedictis, G. (2000). Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 908, 244-54.
- Farheen, S., Agrawal, S., Zubair, S., Agrawal, A., Jamal, F., Altaf, I., Anwar, A., Umair, S. M. & Owais, M. (2021). Patho-Physiology of Aging and Immune-Senescence: Possible Correlates With Comorbidity and Mortality in Middle-Aged and Old COVID-19 Patients. *Front Aging.* 2, 748591.
- Stahl, E. C., & Brown, B. N. (2015). Cell Therapy Strategies to Combat Immunosenescence. *Organogenesis.* 11, 159-72.
- Hayflick, I. & Moorhead, P. S. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 25, 585-621.
- Torres, C., Lewis, L. & Cristofalo, V. J. (2006). Proteasome inhibitors shorten replicative life span and induce a senescent-like phenotype of human fibroblasts. *J Cell Physiol.* 207, 845-53.
- Toussaint, O., Medrano, E.E. & von Zglinicki, T. (2000). Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes. *Exp Gerontol.* 35, 927-45.
- Campisi, J. Aging, cellular senescence, and cancer. (2013). *Annu Rev Physiol.* 75, 685-705.
- Coppé, J. P., Patil, C. K., Rodier, F., Sun, Y., Muñoz, D. P., Goldstein, J., Nelson, P. S., Desprez, P. Y. & Campisi, J. (2008). Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.* 6, 2853-68.
- Maciel-Barón, L. Á., Moreno-Blas, D., Morales-Rosales, S. L., González-Puertos, V. Y., López-

- Diazguerrero, N. E., Torres, C., Castro-Obregón, S. & Königsberg, M. (2018). Cellular Senescence, Neurological Function, and Redox State. *Antioxid Redox Signal.* 28, 1704-23.
23. Bustami, M., Matalaka, K. Z., Mallah, E., Abu-Qatouseh, L., Abu Dayyih, W., Hussein, N. & Arafat, T. (2021). The prevalence of overweight and obesity among women in Jordan: a risk factor for developing chronic diseases. *J Multidiscip Healthc.* 14, 1533-41.
  24. Pi-Sunyer, X. (2009). The medical risks of obesity. *Postgrad. Med.* 121, 21-33.
  25. Xing, Z., Long, C., Hu, X. & Chai, X. (2022). Obesity is associated with greater cognitive function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13, 953826.
  26. Cooper, A. J., Gupta, S. R., Moustafa, A. F. & Chao, A. M. (2021). Sex/gender differences in obesity prevalence, comorbidities, and treatment. *Curr. Obes. Rep.* 10, 458-66.
  27. World Health Organization (2023). Obesity. Disponible en: [https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1)
  28. Rangel-Baltazar, E., Cuevas-Nasu, L., Shamah-Levy, T., Rodríguez-Ramírez, S., Méndez-Gómez, I. & Rivera, J. A. (2019). Association between High Waist-to-Height Ratio and Cardiovascular Risk among Adults Sampled by the 2016 Half-Way National Health and Nutrition Survey in Mexico (ENSANUT MC 2016). *Nutrients* 11, 1402.
  29. Khanna, D., Khanna, S., Khanna, P., Kahar, P. & Patel, B. M. (2022). Obesity: a chronic low-grade inflammation and its markers. *Cureus* 14, e22711.
  30. Osborn, O. & Olefsky, J. M. (2012). The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat. Med.* 18, 363-74.
  31. McArdle, M. A., Finucane, O. M., Connaughton, R. M., McMorrow, A. M. & Roche, H. M. (2013). Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front. Endocrinol.* 4:52.
  32. Xing, Z., Long, C., Hu, X., and Chai, X. (2022). Obesity is associated with greater cognitive function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Front. Endocrinol.*, 13, 953826.
  33. Gutiérrez-Robledo, L. M. & Arrieta-Cruz, I. (2015). Demencias en México: la necesidad de un Plan de Acción [Dementia in Mexico: The need for a National Alzheimer's Plan]. *Gac Med Mex.* 151, 667-73.
  34. Miller, A. A. & Spencer, S. J. (2014). Obesity and neuroinflammation: a pathway to cognitive impairment. *Brain Behav. Immun.* 42, 10-21.
  35. Rhea, E. M., Salameh, T. S., Logsdon, A. F., Hanson, A. J., Erickson, M. A. & Banks, W. A. (2017). Blood-brain barriers in obesity. *AAPS J.* 19, 921-930.
  36. Anstey, K. J., Cherbuin, N., Budge, M. & Young, J. (2011). Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obesity Reviews.* 12, e426-e4.
  37. Cope, E. C., LaMarca, E. A., Monari, P. K., Olson, L. B., Martinez, S., Zych, A. D. & Gould, E. (2018). Microglia play an active role in obesity-associated cognitive decline. *J. Neurosci.* 38, 8889-8904.
  38. Loane, D. J. & Byrnes, K. R. (2010). Role of microglia in neurotrauma. *Neurotherapeutics.* 7, 366-77.
  39. Schmitt, L. O. & Gaspar, J. M. (2023). Obesity-induced brain neuroinflammatory and mitochondrial changes. *Metabolites.* 13, 86.
  40. Guillemot-Legrís, O. & Muccioli, G. G. (2017). Obesity-induced neuroinflammation: beyond the hypothalamus. *Trends Neurosc.* 40, 237-53.
  41. Tucek, Z., Toth, P., Sosnowska, D., Gautam, T., Mitschelen, M., Koller, A. & Csiszar, A. (2014). Obesity in aging exacerbates blood-brain barrier disruption, neuroinflammation, and oxidative stress in the mouse hippocampus: effects on expression of genes involved in beta-amyloid generation and Alzheimer's disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 69, 1212-26.
  42. Teixeira, D., Ceconello, A. L., Partata, W.A., de Fraga, L. S., Ribeiro, M. F. M. & Guedes, R. P. (2019). The metabolic and neuroinflammatory changes induced by consuming a cafeteria diet are age-dependent. *Nutr Neurosci.* 22, 284-94.
  43. Ogrodnik, M., Evans, S. A., Fielder, E., Victorelli, S., Kruger, P., Salmonowicz, H. & Jurk, D. (2021). Whole-body senescent cell clearance alleviates age-related brain inflammation and cognitive impairment in mice. *Aging cell.* 20, e13296.
  44. Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Pereira-Smith, O. & Campisi, J. (1995). A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92, 9363-67.
  45. Bhat, R., Crowe, E. P., Bitto, A., Moh, M., Katsetos, C. D., Garcia, F. U. & Torres, C. (2012). Astrocyte senescence as a component of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 7, e45069.
  46. Bussian, T. J., Aziz, A., Meyer, C. F., Swenson, B. L., van Deursen, J. M. & Baker, D. J. (2018). Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline. *Nature.* 562, 578-82.
  47. Baker, D.J., Wijshake, T., Tchkonja, T., LeBrasseur, N.K., Childs, B.G., van de Sluis B., Kirkland, J.L. & van Deursen, J. M. (2011). Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature.* 479, 232-36.
  48. Belmont, A., Olascoaga-Del Angel, K.S. & Königsberg, M. (2022). Senolíticos, fármacos para prevenir el deterioro asociado al envejecimiento. *Rev Educ Bioquím.* 41, 127-39.
  49. Zhu, Y., Tchkonja, T., Pirtskhalava, T., Gower, A. C., Ding, H., Giorgadze, N., Palmer, A. K., Ikeno, Y., Hubbard, G. B., Lenburg, M., O'Hara, S. P., LaRusso, N. F., Miller, J. D., Roos, C. M., Verzosa, G. C., LeBrasseur, N. K., Wren, J. D., Farr, J. N., Khosla, S., Stout, M. B., McGowan, S. J., Fuhrmann-Stroissnigg, H., Gurkar, A. U., Zhao, J., Colangelo, D., Dorronsoro, A., Ling, Y. Y., Barghouthy, A. S., Navarro, D. C., Sano, T., Robbins, P. D., Niedernhofer, L. J. & Kirkland, J. L. (2015). The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell.* 14, 644-58.
  50. Jeon, O.H., Kim, C., Laberge, R. M., Demaria, M., Rathod, S., Vasserot, A. P., Chung, J. W., Kim, D. H., Poon, Y., David, N., Baker, D. J., van Deursen, J. M.,

- Campisi, J. & Elisseeff, J. H. (2017). Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment. *Nat Med.* 23, 775-81.
51. Hickson, L. J., Langhi-Prata, L. G. P., Bobart, S. A., Evans, T. K., Giorgadze, N., Hashmi, S. K., Herrmann, S. M., Jensen, M. D., Jia, Q., Jordan, K. L., Kellogg, T. A., Khosla, S., Koerber, D. M., Lagnado, A. B., Lawson, D. K., LeBrasseur, N. K., Lerman, L. O., McDonald, K. M., McKenzie, T. J. & Kirkland, J. L. (2019). Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine.* 47, 446-56.
  52. Justice, J. N., Nambiar, A. M., Tchkonja, T., LeBrasseur, N. K., Pascual, R., Hashmi, S. K., Prata, L., Masternak, M. M., Kritchevsky, S. B., Musi, N. & Kirkland, J. L. (2019). Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine.* 40, 554-63.
  53. Gonzales, M. M., Garbarino, V. R., Kautz, T. F., Palavicini, J. P., Lopez-Cruzan, M., Dehkordi, S. K., Mathews, J. J., Zare, H., Xu, P., Zhang, B., Franklin, C., Habes, M., Craft, S., Petersen, R. C., Tchkonja, T., Kirkland, J. L., Salardini, A., Seshadri, S., Musi, N. & Orr, M. E. (2023). Senolytic therapy in mild Alzheimer's disease: a phase 1 feasibility trial. *Nat Med.* 29, 2481-8.
  54. Dai, H., Chen, R., Gui, C., Tao, T., Ge, Y., Zhao, X., Qin, R., Yao, W., Gu, S., Jiang, Y. & Gui, J. (2020). Eliminating senescent chondrogenic progenitor cells enhances chondrogenesis under intermittent hydrostatic pressure for the treatment of OA. *Stem Cell Res Ther.* 11, 199.
  55. Zhu, Y., Doornebal, E. J., Pirtskhalava, T., Giorgadze, N., Wentworth, M., Fuhrmann-Stroissnigg, H., Niedernhofer, L. J., Robbins, P. D., Tchkonja, T. & Kirkland, J. L. (2017). New agents that target senescent cells: the flavone, fisetin, and the BCL-XL inhibitors, A1331852 and A1155463. *Aging.* 9, 955-63.
  56. Xu, M., Pirtskhalava, T., Farr, J. N., Weigand, B. M., Palmer, A. K., Weivoda, M. M., Inman, C. L., Ogrodnik, M. B., Hachfeld, C. M., Fraser, D. G., Onken, J. L., Johnson, K. O., Verzosa, G. C., Langhi, L. G. P., Weigl, M., Giorgadze, N., LeBrasseur, N. K., Miller, J. D., Jurk, D., Singh, R. J., Allison, D. B., Ejima, K., Hubbard, G. B., Ikeno, Y., Cubro, H., Garovic, V. D., Hou, X., Weroha, S. J., Robbins, P. D., Niedernhofer, L. J., Khosla, S., Tchkonja, T. & Kirkland, J. L. (2018). Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med.* 24, 1246-56.
  57. Kirkland, J. L., Tchkonja, T., Zhu, Y., Niedernhofer, L. J. & Robbins, P. D. (2017). The Clinical Potential of Senolytic Drugs. *J Am Geriatr Soc.* 65, 2297-2301.
  58. Demaria, M., O'Leary, M. N., Chang, J., Shao, L., Liu, S., Alimirah, F., Koenig, K., Le, C., Mitin, N., Deal, A. M., Alston, S., Academia, E.C., Kilmarx, S., Valdovinos, A., Wang, B., de Bruin, A., Kennedy, B. K., Melov, S., Zhou, D., Sharpless, N. E., Muss, H. & Campisi, J. (2017). Cellular Senescence Promotes Adverse Effects of Chemotherapy and Cancer Relapse. *Cancer Discov.* 7, 165-76.
  59. Muñoz-Espín, D., Cañamero, M., Maraver, A., Gómez-López, G., Contreras, J., Murillo-Cuesta, S., Rodríguez-Baeza, A., Varela-Nieto, I., Ruberte, J., Collado, M. & Serrano, M. (2013). Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell.* 155, 1104-18.
  60. Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S. A., Rodier, F., Toussaint, W., Mitchell, J. R., Laberge, R. M., Vijg, J., Van Steeg, H., Dolle, M. E., Hoeijmakers, J. H., de Bruin, A., Hara, E. & Campisi, J. (2014). An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Dev Cell.* 31, 722-33.
  61. Collado, M. & Serrano, M. (2010). Senescence in tumours: evidence from mice and humans. *Nat Rev Cancer.* 10, 51-7.
  62. Maciel-Baron, L. A., Morales-Rosales, S. L., Aquino-Cruz, A. A., Triana-Martinez, F., Galvan-Arzate, S., Luna-Lopez, A., Gonzalez-Puertos, V. Y., Lopez-Diazguerrero, N. E., Torres, C. & Königsberg, M. (2016). Senescence associated secretory phenotype profile from primary lung mice fibroblasts depends on the senescence induction stimuli. *Age (Dordr).* 38, 26.
  63. Laberge, R. M., Sun, Y., Orjalo, A. V., Patil, C. K., Freund, A., Zhou, L., Curran, S. C., Davalos AR, Wilson-Edell KA, Liu S, Limbad C, Demaria M, Li P, Hubbard GB, Ikeno Y., Javors, M., Desprez, P. Y., Benz, C. C., Kapahi, P., Nelson, P. S. & Campisi, J. (2015). MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation. *Nat Cell Biol.* 17, 1049-61.
  64. Kulkarni, A. S., Gubbi, S. & Barzilay, N. (2020). Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell Metab.* 32, 15-30.
  65. Triana-Martínez, F., Picallos-Rabina, P., Da Silva-Álvarez, S., Pietrocola, F., Llanos, S., Rodilla, V., Soprano, E., Pedrosa, P., Ferreirós, A., Barradas, M., Hernández-González, F., Lalinde, M., Prats, N., Bernadó, C., González, P., Gómez, M., Ikonopoulou, M. P., Fernández-Marcos, P. J., García-Caballero, T., Del Pino, P., Arribas, J., Vidal, A., González-Barcia, M., Serrano, M., Loza, M. I., Domínguez, E. & Collado, M. (2019). Identification and characterization of Cardiac Glycosides as senolytic compounds. *Nat Commun.* 10, 4731.
  66. Maciel-Barón, L. Á., Morales-Rosales, S. L., Silva-Palacios, A., Rodríguez-Barrera, R. H., García-Álvarez, J. A., Luna-López, A., Pérez, V. I., Torres, C. & Königsberg, M. (2018). The secretory phenotype of senescent astrocytes isolated from Wistar newborn rats changes with anti-inflammatory drugs, but does not have a short-term effect on neuronal mitochondrial potential. *Biogerontology.* 19, 415-33.
  67. Ruhee, R. T. & Suzuki, K. (2020). The Integrative Role of Sulforaphane in Preventing Inflammation, Oxidative Stress and Fatigue: A Review of a Potential Protective Phytochemical. *Antioxidants (Basel).* 9, 521
  68. Santín-Márquez, R., Alarcón-Aguilar, A., López-Diazguerrero, N. E., Chondrogianni, N. & Königsberg, M. (2019). Sulforaphane - role in aging and neurodegeneration. *Geroscience.* 41, 655-70.
  69. Guerrero-Beltrán, C. E., Calderón-Oliver, M., Pedraza-Chaverri, J. & Chirino, Y. I. (2012). Protective effect of

- sulforaphane against oxidative stress: recent advances. *Exp Toxicol Pathol.* 64, 503-8.
70. Jardim, F. R., Almeida, F. J. S., Luckachaki, M. D. & Oliveira, M. R. (2020). Effects of sulforaphane on brain mitochondria: mechanistic view and future directions. *J Zhejiang Univ Sci B.* 21, 263-79.
  71. Yu, G., Cao, F., Hou, T., Cheng, Y., Jia, B., Yu, L. & Wang, Y. (2022). Astrocyte reactivation in medial prefrontal cortex contributes to obesity-promoted depressive-like behaviors. *J Neuroinflammation.* 19, 166.
  72. Alexaki, V. I. (2021). The impact of obesity on microglial function: Immune, metabolic and endocrine perspectives. *Cells.* 10, 1584.
  73. Obara-Michlewska, M. (2022). The contribution of astrocytes to obesity-associated metabolic disturbances. *J Biomed Res.* 36, 299-311.
  74. Miao, X., Bai, Y., Sun, W., Cui, W., Xin, Y., Wang, Y., Tan, Y., Miao, L., Fu, Y., Su, G. & Cai, L. (2012). Sulforaphane prevention of diabetes-induced aortic damage was associated with the up-regulation of Nrf2 and its down-stream antioxidants. *Nutr Metab (Lond).* 9, 84.
  75. Kander, M. C., Cui, Y. & Liu, Z. (2017). Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med.* 21, 1024-32.
  76. Wang, J., Sareddy, G. R., Lu, Y., Pratap, U. P., Tang, F., Greene, K. M., Meyre, P. L., Tekmal, R. R., Vadlamudi, R. K. & Brann, D. W. (2020). Astrocyte-Derived Estrogen Regulates Reactive Astrogliosis and is Neuroprotective following Ischemic Brain Injury. *J Neurosci.* 40(50), 9751-71.
  77. Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A. & Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol.* 10, 49.
  78. Santín-Márquez, R., Hernández-Arciga, U., Salas-Venegas, V., Toledo-Pérez, R., López-Cervantes, S. P., Librado-Orsorio, R., Luna-López, A., López-Díazguerrero, N. E., Gómez-González, B. & Königsberg, M. (2022). Long-term sulforaphane-treatment restores redox homeostasis and prevents cognitive decline in middleaged female and male rats, but cannot revert previous damage in old animals. *Biogerontology.* 23, 587-613.
  79. Bautista, C. J., Rodríguez-González, G. L., Morales, A., Lomas-Soria, C., Cruz-Pérez, F., Reyes-Castro, L. A. & Zambrano, E. (2017). Maternal obesity in the rat impairs male offspring aging of the testicular antioxidant defense system. *Reprod Fertil Dev.* 29, 1950-7.
  80. Toledo-Pérez, R., López-Cervantes, S. P., Hernández-Álvarez, D., Mena-Montes, B., Pedraza-Vázquez, G., Sánchez-Garibay, C., López-Díazguerrero, N. E., Königsberg, M. & Luna-López, A. (2021). Metformin and tBHQ treatment combined with an exercise regime prevents osteosarcopenic obesity in middle-aged Wistar female rats. *Oxid Med Cell Longev.* 14, 5294266.
  81. Salas-Venegas, V., Santín-Márquez, R., Ramírez-Carreto, R. J., Rodríguez-Cortés, Y. M., Cano-Martínez, A., Luna-López, A., Chavarría, A., Königsberg, M. & López-Díazguerrero, N. E. (2023). Chronic consumption of a hypercaloric diet increases neuroinflammation and brain senescence, promoting cognitive decline in middle-aged female Wistar rats. *Front Aging Neurosci.* 15, 1162747.
  82. Farr, J. N., Xu, M., Weivoda, M. M., Monroe, D. G., Fraser, D. G., Onken, J. L., Negley, B. A., Sfeir, J. G., Ogrodnik, M. B., Hachfeld, C. M., LeBrasseur, N. K., Drake, M. T., Pignolo, R. J., Pirtskhalava, T., Tchkonina, T., Oursler, M. J., Kirkland, J. L. & Khosla, S. (2017). Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nat Med.* 23, 1072-9.



**Dra. Mina Königsberg Fainstein**  
**ORCID: 0000-0002-2884-8770**

Nació en la CDMX y realizó la Licenciatura y Maestría en Biología Experimental en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, y el

doctorado en Ciencias Biológicas en esa misma casa de estudios donde ahora es Profesor Titular C y responsable del Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular del Departamento Ciencias de la Salud.

Realizó una estancia sabática en el Barshop Institute for Aging and Longevity Studies, Health-Science Center, University of Texas, con una beca Fulbright y del CONAHCyT. Ha publicado artículos científicos y de divulgación, y ha dirigido tesis de alumnos de licenciatura y posgrado. Es cofundadora y miembro del colectivo Mujeres de Ciencia en Red. Su investigación se orienta al estudio del envejecimiento, senescencia celular, estrés oxidante, deterioro cognitivo y obesidad. Es miembro de la Society for Redox Biology and Medicine, American Aging Association, Academia Mexicana de las Ciencias y del Sistema Nacional de investigadores nivel III.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# Músculo esquelético una fuente clave de oligómeros de $\alpha$ -sinucleína en el envejecimiento. Nuevo paradigma en la Enfermedad de Parkinson

## Skeletal muscle a key source of $\alpha$ -synuclein oligomers during aging. New paradigm in Parkinson's Disease

Ortega-Aguilar, Alicia<sup>1</sup> ; Ramírez-Soto, Ibrahim<sup>1,2</sup>; Ramírez-Andoney, Vianey<sup>3</sup>; Arriaga Guerrero, Ana Leticia.<sup>1</sup>

1. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
2. Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
3. Departamento de Kinesiología, Universidad de Waterloo, Canadá.

✉ Facultad de Medicina. Torre de Investigación 3er piso. Av. Universidad 3000, C.U., Coyoacán, 04360 Ciudad de México, CDMX. Tel: +52 (55) 56232253; [aortega@unam.mx](mailto:aortega@unam.mx)

Editor responsable: Mercedes Esparza Perusquía  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.17>

Recibido: 19 de febrero de 2024  
Revisado: 18 de abril de 2024  
Aceptado: 24 de mayo de 2024

### Resumen

La alfa sinucleína ( $\alpha$ SN) es una proteína de 140 aa, que forma oligómeros estables en las membranas de varios sistemas celulares. La  $\alpha$ SN agregada se ha asociado con enfermedades neurodegenerativas como la Enfermedad de Parkinson, la demencia por cuerpos de Lewy, entre otras. Sin embargo, también se ha encontrado en músculo en la Miositis esporádica por cuerpos de Inclusión, todas patologías asociadas al envejecimiento. En este trabajo estudiamos la presencia y distribución de  $\alpha$ SN en membranas de superficie; Sarcolema (SL) y Túbulos transversos (TT) aislados de músculo esquelético proveniente de ratas jóvenes y viejas. Nuestros resultados demuestran que la  $\alpha$ SN está presente en el músculo esquelético (ME) de animales jóvenes y viejos siendo más abundante en los animales viejos. La  $\alpha$ SN se encuentra principalmente en forma monomérica en el citoplasma y oligomérica (tetrameros y pentámeros) en las membranas, localizándose fuera de los micro dominios lipídicos "balsas lipídicas". Los TT, conocidos por contener una abundante concentración de colesterol presentan menos  $\alpha$ SN, por lo que una disminución de la

### Abstract

Alpha-synuclein ( $\alpha$ SN) is a 140 aa protein, which forms stable oligomers in the membranes of various cellular systems. Neurodegenerative diseases like Parkinson's disease and Lewy body dementia have been linked to aggregated  $\alpha$ SN. All aging-related pathologies have also been linked to it, including sporadic Inclusion Body Myositis in the muscle. In this work, we examine the distribution and presence of  $\alpha$ SN in surface membranes from young and old rats' skeletal muscle, specifically the sarcolemma (SL) and transverse tubules (TT). Our findings show that  $\alpha$ SN is found in both young and old animals' skeletal muscles (SM), with older animals having higher concentrations of  $\alpha$ SN.  $\alpha$ SN is primarily found in the cytoplasm in monomeric form and in membranes in oligomeric form (tetramers and pentamers), outside of lipid microdomains known as "lipid rafts." Since TT is known to have a high cholesterol content, TT has less  $\alpha$ SN; therefore, a drop in cholesterol allows for a greater localization of  $\alpha$ SN oligomers in this membrane fraction. Older animals secrete more  $\alpha$ SN when their muscles are at rest. Our findings suggest that oligomeric  $\alpha$ SN is

concentración de colesterol permite una mayor localización de los oligómeros de  $\alpha$ SN en esta fracción membranal. La  $\alpha$ SN, es secretada por el músculo en reposo en mayor cantidad en los animales viejos. En conclusión, nuestros resultados indican que la  $\alpha$ SN oligomérica está presente en los músculos de los animales sanos y se potencia durante el envejecimiento. La presencia de colesterol previene la asociación de la  $\alpha$ SN a las membranas. Lo anterior sugiere que una alteración en la concentración de colesterol membranal pudiera conducir a una coexistencia desacoplada de estos oligómeros en la membrana, facilitando la expulsión de  $\alpha$ SN del tejido más abundante de los vertebrados al espacio extracelular, convirtiéndose en la fuente más abundante de  $\alpha$ SN en la sangre lo que al atravesar la barrera hematoencefálica pudiera estar involucrada en las enfermedades neurodegenerativas.

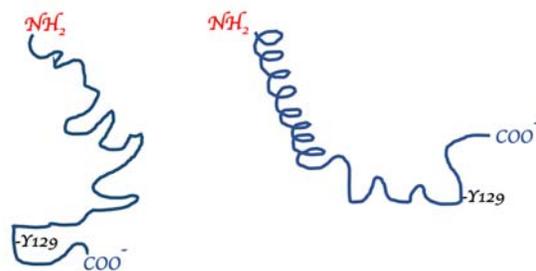
**Palabras claves:** alfa sinucleína ( $\alpha$ SN), músculo esquelético, sarcolema, oligómeros, envejecimiento.

found in the muscles of healthy animals and that its levels increase with age. Cholesterol inhibits the  $\alpha$ SN's ability to attach to membranes. According to the information above, a change in the concentration of membrane cholesterol may cause these oligomers to coexist uncoupled in the membrane, which would make it easier for  $\alpha$ SN to be expelled from vertebrates' most abundant tissue and into the extracellular space, where it would become the most abundant source of  $\alpha$ SN in blood, which, when crossing the blood-brain barrier, could be involved in neurodegenerative diseases.

**Keywords:** Alpha-synuclein ( $\alpha$ SN), skeletal muscle, sarcolemma, oligomers, ageing.

## Introducción

La  $\alpha$ -sinucleína ( $\alpha$ SN) es parte de la familia de las "sinucleínas" que incluyen a la  $\beta$ -sinucleína ( $\beta$ SN) y la  $\gamma$ -sinucleína ( $\gamma$ SN). La  $\alpha$ SN y  $\beta$ SN se expresan únicamente en mamíferos (1). Estas proteínas son pequeñas, solubles, y no poseen una estructura secundaria y/o terciaria definida en condiciones fisiológicas. La  $\alpha$ SN se consideró por mucho tiempo como un monómero no estructurado presente principalmente en el citoplasma que asume una conformación  $\alpha$ -helicoidal cuando se une a surfactantes (2); micelas, liposomas (3); membranas biológicas (4) o por predicciones de dinámica molecular (5), (Figura 1).



**Figura 1.**  $\alpha$ SN en estado nativo y en conformación  $\alpha$ -helicoidal de la región NH<sub>2</sub>-terminal.

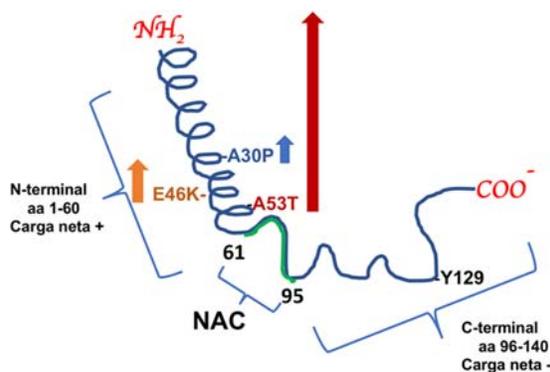
La  $\alpha$ SN se identificó por primera vez en 1988 como una proteína de 143 aminoácidos (aa), en vesículas sinápticas colinérgicas de Torpedo de californica, y posteriormente se encontró una proteína

similar de 140 aa en cerebro de rata con una alta homología a la identificada en el torpeda. Su nombre deriva del área en donde se identificó "syn" terminales presinápticas y "nucleína" membranas nucleares (6). Posteriormente en un análisis estructural de la proteína  $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ) característica en la enfermedad de Alzheimer (EA), se identificaron dos péptidos uno de 140 aa y otro de 134 aa, a estos se les nombro proteínas No Amiloides (NAC) con estructura  $\beta$ . Estudios posteriores purificaron y secuenciaron las 2 proteínas no amiloides; encontraron que presentaban alta homología con la  $\alpha$ SN identificada en el torpeda y la rata (7).

La  $\alpha$ SN fue considerada intracelular y específica de cerebro por mucho tiempo hasta que se detectó en plasma humano y líquido cefalorraquídeo (LCR), también se detectó en la eritropoyesis, siendo su expresión máxima en el eritrocito maduro (8). Hay evidencia que el 99% de  $\alpha$ SN está unido a la membrana de los eritrocitos y el resto libre en plasma (9, 10). Se ha encontrado en muchos tejidos y recientemente en grandes cantidades en músculo esquelético (18). Por lo que se considera una proteína ubicua y multi funcional.

La  $\alpha$ SN pasa la barrera hematoencefálica (11) en ambas direcciones, por lo que se ha propuesto un comportamiento similar a un prion, lo cual explicaría su propagación entre células observado en diversos estudios donde se han realizado transfecciones de  $\alpha$ SN específicamente en la sustancia negra y se localizan posteriormente en otras regiones cerebrales (12). Debido a este proceso de diseminación

transcelular se pudo estudiar la propagación transcelular de oligómeros  $\alpha$ SN y su ubicación extracelular sugiriéndose diversas vías secretoras (3). La  $\alpha$ SN está codificada por el gen SNCA presente en el cromosoma 4q21.3-q22, organizado en 7 exones (13). Es una proteína ácida con tres dominios y tiene un punto isoeléctrico de 4.7 (14). El extremo amino terminal (N-terminal) está cargado positivamente, el segmento hidrofóbico central no-amiloideo (NAC), y la cola ácida el extremo carboxilo que está cargado negativamente (C-terminal) (Figura 2).



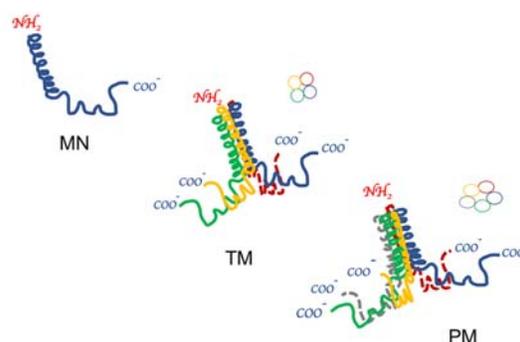
**Figura 2.** Estructura de la  $\alpha$ SN. Se diferencian 3 regiones: N-terminal (aa 1-60) anfipática, presenta mutaciones puntuales A53T, E46K y A30P, en la región NAC (aa 61-95) hidrofóbica, la dimensión de las flechas representa la importancia en la presencia de la mutación en la Enfermedad de Parkinson de origen genético. En la región C-terminal (96-140) con carga neta negativa se encuentra la serina 129 (S129) cuya fosforilación está asociada con su agregación.

El dominio N-terminal de  $\alpha$ SN se caracteriza por la presencia de una secuencia única y altamente conservada con un motivo consenso central de K (A) - T (A, V) - K (V) - E (Q, T) - G (Q) - V (A). Estos motivos que se encuentran entre los residuos 10-86 y son característicos de las apolipoproteínas y corresponden a la secuencia que da a la  $\alpha$ SN su interacción con lípidos en general y la capacidad de unión a las membranas, este dominio adopta una estructura anfipática de  $\alpha$ -hélice (2). En este dominio se han identificado 5 mutaciones puntuales A53T, A30P, E46K, G51D y H50Q que se han asociado con condiciones patológicas en las llamadas Sinucleopatías, como la Enfermedad de Parkinson. El dominio central de  $\alpha$ SN (61-95 aa), también conocida como NAC (no A $\beta$ ), designada como la región propensa al auto ensamblaje durante la agregación y formación de fibrillas, ya que puede formar estructuras  $\beta$  cruzadas, contiene dos motivos KTKEGV adicionales (2). El dominio C-terminal de  $\alpha$ SN (96-140 aa) es una cola ácida de 43 residuos contiene 10 residuos de glutamato, 5 de aspartato, 5 prolina y 3 de tirosina (Y125, Y133, e Y136), (15) la presencia de estos aminoácidos cargados

negativamente y de prolina inducen giros y alteran la estructura de la proteína. Debido a su baja hidrofobicidad y alta carga neta es la zona de la proteína más susceptible de sufrir modificaciones post-traduccionales (14, 2). La fosforilación de la serina 129 (S129) se ha relacionado a la  $\alpha$ SN agregada y no a la proteína soluble. Otra característica que relaciona a  $\alpha$ SN y la membrana, son las mutaciones puntuales de la proteína que se encuentran en su dominio N-terminal, el motivo que determina la unión a lípidos de membrana. Se ha descrito en estudios in vitro que la mutación A53T genera la unión a la membrana haciéndola más permeable (16). Lo que sugiere que la proteína entra a las células de la misma manera en que puede salir de ellas. Aunque interesante, la mutación A53T que es la más asociada a la Enfermedad de Parkinson solo representa menos del 10 % de todos los casos reportados de modificaciones genéticas en esta enfermedad.

La presencia de  $\alpha$ SN extraída de cuerpos de Lewy humanos provenientes de pacientes con Enfermedad de Parkinson se han encontrado fosforilados en S129 por lo que se ha sugerido que esta modificación corresponde a una proteína no soluble y responsable de su oligomerización y agregación (17). Sin embargo, nosotros hemos encontrado que la forma fosforilada de la  $\alpha$ SN es común y se encuentra en las mismas concentraciones en músculo y cerebro de ratas jóvenes y viejas (18).

Es importante aclarar que el término "oligómero" se usa para describir agregados de bajo peso molecular, que no han adquirido una organización fibrilar. Las formas homo-oligoméricas que se han descrito son dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros, hexámeros, etc. Siendo los tetrámeros y pentámeros los más abundantes (Figura 3).

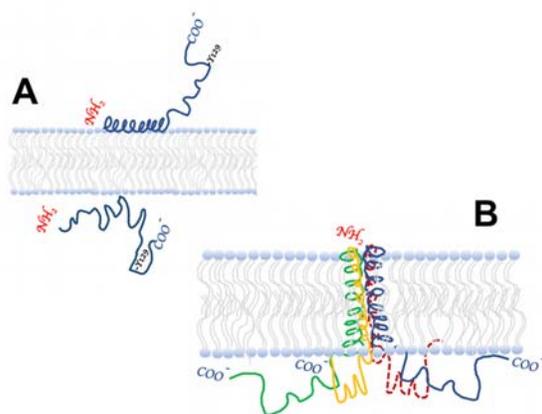


**Figura 3.** Formas homo-oligoméricas de  $\alpha$ SN presentes en el citoplasma, membranas y espacio extracelular.

Aunque se ha sugerido que los oligómeros son la antesala de las fibrillas de  $\alpha$ SN, en 2011 se demostró por primera vez que también se encuentran las formas oligoméricas en condiciones fisiológicas,

detectándose un tetrámero de 58 kDa así como hexámeros y octámeros de 80-100 kDa de manera estable, resistentes a la agregación y con mayor capacidad de unión a lípidos que la del monómero (19).

En un estudio independiente se identificó y caracterizó al tetrámero de  $\alpha$ SN con estructura  $\alpha$ -helicoidal; el tetrámero se formó independientemente de la presencia de membranas con estructura estable y sin formar fibrillas, probablemente por las interacciones hidrofóbicas entre las subunidades, esta actividad es común en otras proteínas que también tienden a formar oligómeros en condiciones normales (20). Por lo tanto, se ha postulado que los oligómeros de  $\alpha$ SN y el monómero coexisten en condiciones nativas en el citoplasma y en las membranas (Figura 4).



**Figura 4.** Posibilidades estructurales de la  $\alpha$ SN en su interacción con lípidos de membranas biológicas.

En 2012 se describió un proceso potencial de penetración de  $\alpha$ SN en la membrana; los grupos hidrófilos  $\alpha$ SN entran en contacto con los grupos polares de los lípidos en la superficie de la bicapa de la membrana. Primera etapa: GLN62 y ASN65 entran en contacto con los átomos de oxígeno (aceptores de enlaces de hidrógeno) situados en la superficie de la estructura lipídica. Etapa media: la penetración de  $\alpha$ SN, los residuos hidrofóbicos como VAL63 y VAL66 desempeñan el papel de llevar a cabo las interacciones con las partes hidrofóbicas de los lípidos de la membrana y las interacciones hidrofóbicas de las valinas con los fosfolípidos de la membrana continúan interactuando. Los principales grupos hidrófilos (ASN65) de la molécula  $\alpha$ SN están en movimiento interactuando con grupos polares en el lado opuesto de la membrana (5). En la etapa final, la mayor parte del extremo N-terminal  $\alpha$ SN se transforma en una estructura similar a una cadena  $\beta$  extendida que facilita la penetración de la proteína a través de la membrana.

En 2014 se mostró que la  $\alpha$ SN se une a vesículas sinápticas in vivo no como monómero, sino como oligómero  $\alpha$ -helicoidal plegado con una orientación estructural definida (21). En 2022, en membranas aisladas de células neuronales y musculares, observamos que la disociación de la  $\alpha$ SN en la membrana es resistente a una alta fuerza iónica, su presencia en las membranas plasmáticas después del proceso de aislamiento y su presencia en medio extracelular indican una localización transmembranal estable (18).

El músculo esquelético (ME) representa aproximadamente el 40% de la masa corporal de los vertebrados mamíferos adultos. Durante el envejecimiento, se producen cambios fisiológicos en todos los órganos, particularmente en el ME, tejido que no se divide después del nacimiento. La debilidad, atrofia y muerte celular del ME produce una pérdida de masa corporal magra con el envejecimiento conocida como sarcopenia (23). En los seres humanos, el proceso de envejecimiento conduce a la pérdida de masa y fuerza muscular, comenzando a los 40 años y disminuyendo constantemente con la edad (24). Hay una aceleración significativa de la tasa de disminución de la masa muscular después de los 65 años en el ser humano y de los 24 meses en la rata. Dado que el ME es el principal reservorio de proteínas y regulador de la glucemia, una respuesta debilitada al estrés contribuye significativamente a la fragilidad en la vejez. Estudios proteómicos del ME en el envejecimiento revelan una disminución en la síntesis de las proteínas estructurales e involucradas en la actividad contráctil de este tejido, sin embargo, existe una sobreexpresión de otro grupo de proteínas asociadas con procesos inflamatorios y de autofagia (25).

La fibra muscular está expuesta constantemente a daños mecánicos y metabólicos que se agravan durante el envejecimiento y tienen efectos secundarios en la forma de degradación de proteínas y/o acumulación de polipéptidos potencialmente tóxicos. La Miositis Esporádica por Cuerpos de Inclusión y otras de su tipo en el ME son similares a las neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson (EP), Demencia con Cuerpos de Lewy (DLB) y Atrofia multisistémica (MSA), por su efecto al Sistema Nervioso Central (SNC), en términos de la presencia de agregados proteicos de  $\alpha$ SN, fenómeno que cuando se presenta, aparece asociado al envejecimiento. Por esta razón existe un gran esfuerzo en muchos grupos de investigación por estudiar a la  $\alpha$ SN como un biomarcador ya que se encuentra en el líquido céfalo-raquídeo y en el torrente sanguíneo. Por lo que entender cuál es la fuente de  $\alpha$ SN y el mecanismo por el que la  $\alpha$ SN está

presente en estos fluidos corporales es de suma importancia para el diagnóstico temprano, tratamiento y pronóstico en las enfermedades neurodegenerativas en la vejez.

### Materiales y Métodos:

**Animales.** Se utilizaron ratas macho Wistar jóvenes (6m) y seniles (24 y 28m) mantenidas en condiciones de laboratorio con fotoperiodo invertido de 12/12h (luz-obscuridad) con libre acceso al alimento y al agua. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto de Recursos de Animales de Laboratorio de los Estados Unidos aprobada en México por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina (NOM-062-ZOO1999) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (Proyecto 41/2021).

El aislamiento de membrana plasmática neuronal libre de mielina se realizó para determinar la expresión de  $\alpha$ SN en todo el cerebro utilizándolo como referencia para compararlo con la expresión de  $\alpha$ SN en el músculo esquelético, siendo el tejido nervioso el más ampliamente asociado con la expresión de  $\alpha$ SN. Se aislaron membranas plasmáticas de tejido neuronal como se ha descrito previamente (26). Los cerebros aislados se trituran y homogeneizan manualmente con un homogeneizador en 15 mM Tris-HCl, 320 mM sacarosa, pH 7.8 y se centrifugan a 3000 g por 10 minutos a 4°C. Los sobrenadantes se colocan en capas sobre un gradiente que contiene 850 mM sacarosa, 15 mM Tris-HCl, pH 7.8 y se centrifugan a 70,000 g, a 4°C. La interface entre los gradientes de 320 mM y 850 mM de sacarosa corresponde a la nube de mielina (27), la que es separada para que no interfiera con la determinación de la  $\alpha$ SN presente en las neuronas. Para eliminar las mitocondrias y la posible mielina residual, la muestra restante se centrifuga por 30 minutos a 20,000 g, 4°C.

Para aislar la Sarcolema de los músculos rápidos de las ratas jóvenes y viejas, se utilizan las mismas ratas Wistar. Se separan los músculos y a partir de ellos se obtiene la SL mediante centrifugación diferencial y gradiente discontinuo de sacarosa como se ha descrito anteriormente (18, 28). Las membranas se aíslan en un medio que contiene: 20 mM Tris-malato y 100 mM KCl, pH 7.0. El homogeneizado se centrifuga a 12,000 g durante 20 minutos a 4°C. El sobrenadante se filtra y se le añade KCl sólido hasta una concentración final de 0.6 M, lo que permite que las proteínas asociadas a la membrana se disocien y aquellas que son transmembranales se conserven. Posterior a la homogeneización, se centrifuga a 140,000 g durante 40 minutos a 4°C. Para eliminar el exceso de KCl, la fracción precipitada se suspende en

una solución que contiene: 20 mM Tris-malato y 100 mM KCl, pH 7.0, y luego se transfiere a un gradiente de sacarosa del 23%, 26%, 29% y 35% p/v centrifugándose a 75,000 g durante 16 horas. La interface 23/26% corresponde a SL según se ha caracterizado previamente (28). Esta fracción del gradiente se suspendió en una solución de 20 mM Tris-malato y 100 mM KCl pH 7.0 y se centrifugó a 140,000 g durante 40 minutos. El precipitado se recogió y se suspendió una vez más en 20 mM Tris-malato y se usó para en el aislamiento de balsas lipídicas cuando se necesitaron.

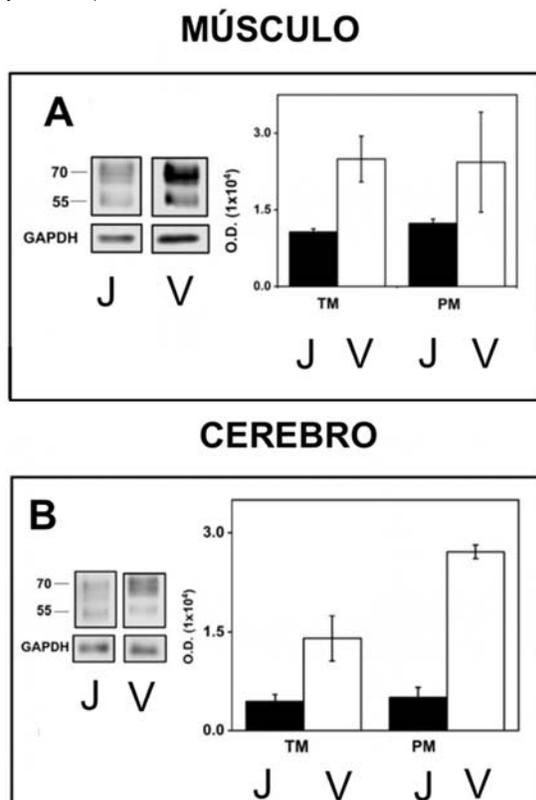
El procedimiento para el aislamiento de las membranas de Túbulos transversos (TT) es similar al anterior, pero se usa un gradiente diferente, ya que la composición química de estas membranas es substancialmente diferente de las otras membranas de superficie. Se usa un gradiente discontinuo de sacarosa de 25, 27.5, 30 y 35 % (p/v) y se centrifuga a 75,000 g durante 16 horas. Las membranas aisladas del gradiente de sacarosa en la interface del 25 al 27.5% contienen la mayor cantidad de colesterol y receptores de Dihidroipiridina, por lo que corresponde a las membranas de TT como ha sido descrito previamente en detalle (29).

A partir de las membranas aisladas: Sarcolema y TT se aislaron membrana resistente a detergentes o balsas lipídicas. Brevemente, alícuotas de 0.1 mg/ml de SL aislado o TT se incubaron en Tritón X-100 al 1 % durante 30 minutos a 4 °C y luego se diluyeron en un volumen igual de una solución de sacarosa al 80 %. Se centrifugan en un gradiente discontinuo formado por la adición de soluciones de sacarosa al 30% y al 5% durante 18 h a 200,000 g, 4 °C. Se colectan nueve fracciones elegidas de la superficie hasta el fondo del tubo (F1-F9). A todas estas fracciones membranales se les determina la concentración de colesterol por un método colorimétrico. La determinación de colesterol es fundamental, ya que es un componente de membrana que permite la formación de micro dominios lipídicos y por lo tanto la partición de proteínas en la membrana.

Las fracciones membranales se analizan mediante SDS-PAGE al 10% y se transfieren a una membrana de nitrocelulosa para Western blot, incubándose con el anticuerpo primario anti  $\alpha$ SN (1:500, monoclonal). Después de lavar e incubar con el correspondiente anticuerpo secundario marcado con peroxidasa, las transferencias se observan utilizando el escáner C-DiGit Blot (LI-COR Biosciences). El análisis densitométrico de transferencias Western se realiza utilizando el software Image Studio (Li-COR Biosciences).

## Resultados

Los resultados muestran en la Figura 5, que la presencia de  $\alpha$ SN en forma oligomérica en Sarcolema y en las membranas de las células neuronales es equivalente expresadas por unidad de masa (mg de proteína).

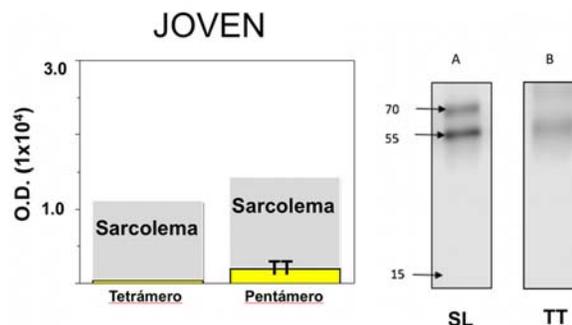


**Figura 5.** Presencia de la  $\alpha$ SN en A) Sarcolema y B) Membranas neuronales aisladas de animales jóvenes (J) y viejos (V). La cantidad de  $\alpha$ SN esta ajustada por mg de proteína (n=6). Modificada de (18).

La importancia de esta comparación radica en la cantidad de tejido que es capaz de expresar la proteína y mantenerla en la membrana plasmática. El músculo esquelético representa más del 40% del peso corporal del humano adulto, mientras que el cerebro representa únicamente el 2%. Teniendo esto en cuenta, los acotaremos al estudio de la  $\alpha$ SN en el tejido muscular.

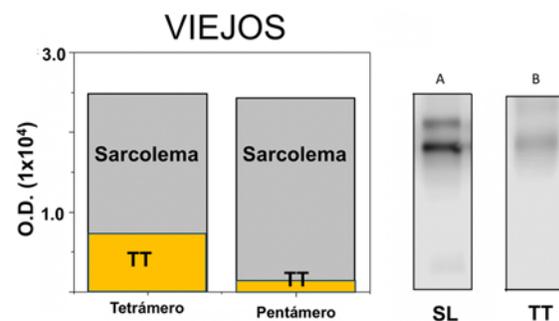
La presencia de  $\alpha$ SN en la Sarcolema es mayor que en los TT, con una distribución diferente de las dos formas oligoméricas más abundantes. La Figura 6 muestra que la presencia de los oligómeros de  $\alpha$ SN en las membranas de los músculos de animales jóvenes el pentámero es más abundante en la Sarcolema que en el TT en una relación de 7:1. Por otro lado la presencia del tetrámero en la Sarcolema es de 18:1 en relación con el TT. Además de mostrar que la cantidad de  $\alpha$ SN en la SL es 20 veces mayor que la de TT. Los TT, son membranas que contienen cinco veces más colesterol que la Sarcolema a pesar

de provienen de una invaginación de esta, sin embargo, tienen una composición lipídica muy diferente. La relación Tetrámero/Pentámero en la Sarcolema es 0.7 y en los TT es de 0.25.



**Figura 6.** Presencia de Oligómeros en las membranas de Sarcolema (SL) y Túbulo transversos (TT) de músculo esquelético de animales jóvenes, Las barras son obtenidas a partir de la densidad óptica (OD) del inmunoblot con anti- $\alpha$ SN (n=6). Modificada de (18).

La expresión de  $\alpha$ SN en Sarcolema y Túbulo transversos aislados de músculo esquelético de ratas viejas se presenta en la Figura 7.

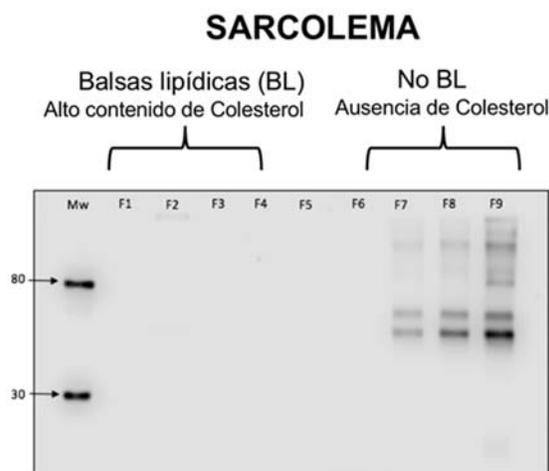


**Figura 7.** Presencia de Oligómeros en las membranas de Sarcolema (SL) y Túbulo transversos (TT) de músculo esquelético de animales viejos, las barras son obtenidas a partir de la densidad óptica (OD) del inmunoblot con anti- $\alpha$ SN (n=6). Modificada de (18).

La estructura oligomérica más abundante en la Sarcolema en el animal viejo es también el pentámero en una relación de 20:1 en su expresión en los Túbulo transversos. Por otro lado, la presencia del tetrámero en la Sarcolema mantiene una relación de 3:1. Lo que muestra una mayor cantidad de  $\alpha$ SN en la Sarcolema que en los TT también en el animal viejo. Sin embargo, aumenta la cantidad de tetrámeros en los TT en los animales viejos en relación con los jóvenes. La relación Tetrámero/pentámero en la Sarcolema es 0.8 y en los TT es de 5.0, invirtiéndose esta relación respecto a los animales jóvenes.

La Figura 8, muestra que los oligómeros de  $\alpha$ SN detectados en la Sarcolema se encuentran exclusivamente fuera de los dominios membranales

enriquecidos en colesterol y esfingolípidos. En los Túbulos transversos, que tienen una composición equivalente a la de las balsas lipídicas y el 95% de esta fracción membranal se localiza en las primeras fracciones (F1-F4), por lo que se consideran como mega balsas lipídicas, representando 7 veces más área de membrana de superficie que la Sarcolema tienen una expresión muy reducida de  $\alpha$ SN.



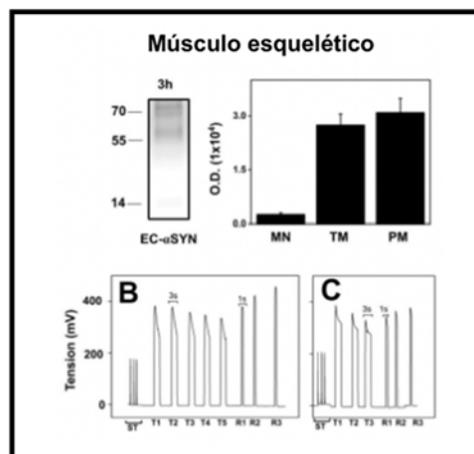
**Figura 8.** Western blot representativo para detectar  $\alpha$ SN en balsas lipídicas aisladas de membranas de sarcolema de músculos de ratas jóvenes. Se utilizó un total de 0.002 mg de proteína por fracción, para garantizar que todas las columnas tuvieran la misma cantidad de proteína. La primera columna corresponde al marcador de peso molecular. Las fracciones de (F1-F4) contienen membranas resistentes a detergentes (balsas lipídicas) y las fracciones (F7-F9) contienen membranas no resistentes a detergentes (No-balsas lipídicas).

El hecho de que la  $\alpha$ SN se encuentre en el tejido muscular en concentraciones equivalentes al tejido cerebral libre de mielina, por mg de proteína significa que el músculo produce más  $\alpha$ SN a nivel organismo. La pregunta siguiente es si la  $\alpha$ SN es secretada del músculo como se ha sugerido sucede con el tejido nervioso y de esta manera contribuye a la concentración de  $\alpha$ SN circulante.

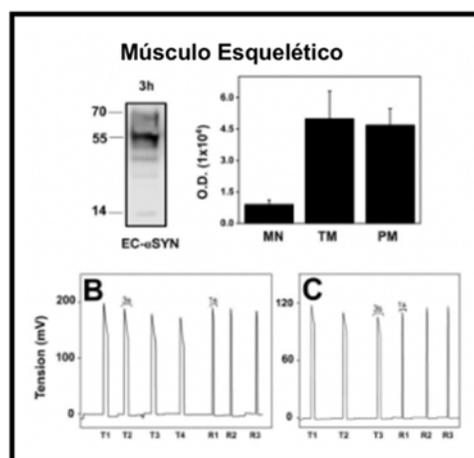
Para determinar la contribución del músculo en la presencia de  $\alpha$ SN en el espacio extracelular, utilizamos al músculo Extensor Digitorum Longus (EDL) aislado de ratas jóvenes y viejas. El músculo se coloca en una cámara de experimentación, conectado con electrodos de platino a un estimulador y a un transductor de fuerza para registrar la fuerza de contracción. En reposo y después de un protocolo de experimentación se determinó la presencia de  $\alpha$ SN por Western blot, en el medio de incubación y se realizó el experimento mecánico para determinar que la presencia de  $\alpha$ SN no era secundario a muerte celular en la rata joven. Se realizó el mismo experimento con el músculo de la rata vieja y en ambas situaciones, monómeros, tetrámeros y

pentámeros fueron encontrados fuera del músculo. En todas las formas, la  $\alpha$ SN se encontró en mayor cantidad en el músculo viejo (Figura 9).

## JOVEN



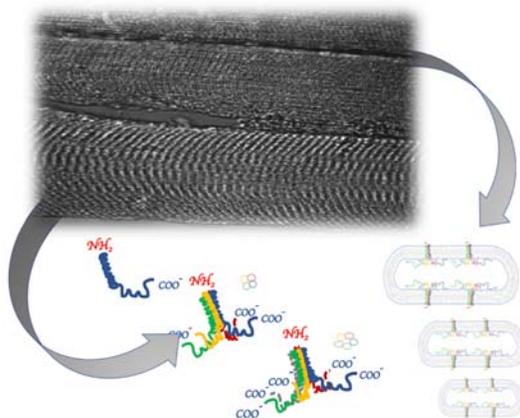
## VIEJO



**Figura 9.**  $\alpha$ SN extracelular del músculo EDL de ratas jóvenes y viejas en reposo después de 3 horas de incubación en solución de Krebs. A) Las barras representan el análisis estadístico de la D.O. de los monómeros, tetrámeros y pentámeros. (n=6). B) es el protocolo de estimulación antes de la incubación; consecutivamente se realiza una estimulación tetánica (t1 a T4) y se espera para la recuperación de la fatiga (R). C) Protocolo de estimulación después de 3 horas de incubación de este EDL con estimulaciones tetánicas (T1 a T3) y recuperación de la fatiga. Modificada de (18).

La  $\alpha$ SN es una proteína con funciones celulares, su presencia en las membranas puede significar una función membranal o el paso transitorio hacia el espacio extracelular. En cualquiera de estas dos condiciones se supone una relación funcional que está asociada al envejecimiento, ver Figura 10. Aun desconocemos de qué manera se secretan estas formas oligoméricas al exterior de la célula, si lo hacen de manera libre o a través de vesicular de

manera transmembranal o dentro de ellas. Esta respuesta traerá una nueva visión de qué papel juega esta secreción en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas de la vejez.



**Figura 10.** Hipótesis de secreción de  $\alpha$ SN a través de las membranas de músculo esquelético. La foto de las fibras musculares aisladas. Modificada de (22).

Se ha destacado la presencia de  $\alpha$ SN en el SNC cuya función está asociada con el transporte de vesículas sinápticas portadoras de neurotransmisores. Sin embargo, se ha dejado a un lado la participación que pudiera tener su síntesis y eliminación en otros tejidos, lo cual contribuye a la presencia de  $\alpha$ SN en el torrente sanguíneo y líquido cerebroespinal, ya que se ha demostrado que la  $\alpha$ SN atraviesa la barrera hematoencefálica en ambas direcciones (11). En ME, la  $\alpha$ SN participa en el movimiento de vesículas transportadoras de glucosa (GLUT4) (30). La expresión membranal de GLUT4 es específica en el tejido muscular y adiposo y es el único transportador de glucosa dependiente de insulina. Se ha descrito que el tratamiento de periadipocitos en cultivo y en ME con  $\alpha$ SN recombinante promueve el transporte de glucosa independiente de insulina (27). Por lo que es importante comprender los detalles moleculares de la estructura de proteínas  $\alpha$ SN y el mecanismo de formación de oligómeros en las membranas, así como la formación de fibrillas intra y extracelulares.

Estudios recientes en nuestro laboratorio muestran la localización de la  $\alpha$ SN fuera de las "balsas lipídicas", tanto en Sarcolema como en membrana plasmática de células neuronales (18). Esta localización presupone una poca afinidad de la  $\alpha$ SN con el colesterol. Adicionalmente la baja presencia de  $\alpha$ SN en los túbulos transversos (20 veces menor que en la Sarcolema) y su baja presencia la mielina a comparación de las células neuronales indica que las membranas con alta concentración nativo de colesterol son un medio que no favorece la inserción de  $\alpha$ SN a la membrana.

Actualmente no existe una determinación detallada de las fluctuaciones en las concentraciones de colesterol y esfingolípidos durante el proceso de envejecimiento en las membranas plasmáticas ni de la compleja red de membranas plasmáticas del músculo esquelético, estudio que está en proceso en nuestro laboratorio.

Detalles estructurales de la unión entre la proteína  $\alpha$ SN a membranas lipídicas artificiales ha sido bien caracterizada (14). Sin embargo, los mecanismos por los cuales los lípidos influyen en la agregación de  $\alpha$ SN en lípidos aislados de membranas biológicas aún se desconoce. En las últimas dos décadas, se ha realizado una amplia gama de estudios biológicos y biofísicos, destinados a elucidar la relación entre la naturaleza de la interacción de  $\alpha$ SN con los lípidos y la propensión de la proteína para agregarse. En efecto, cambios en los niveles de lípidos específicos, incluyendo ácidos grasos particulares, esfingolípidos, derivados del colesterol etc. han sido directamente asociados con el grado de solubilidad y agregación de la proteína en diferentes modelos celulares y tejidos animales, tanto en el modelo de la Enfermedad de Parkinson y otros trastornos neurodegenerativos.

Aún no es claro qué cambios en los niveles de lípidos o propiedades químicas inducen la agregación de la  $\alpha$ SN, si es a través de una interacción directa, o a través de la influencia en otros procesos celulares que a su vez conducen a un aumento en niveles de la  $\alpha$ SN. Es importante destacar que la composición de los lípidos de las membranas, pueden cambiar con la edad o por efectos externos como la inhibición farmacológica de la síntesis de colesterol o un aumento en su consumo y éste puede ser un factor determinante en el inicio y progreso de la desregulación de la dinámica de agregación de la  $\alpha$ SN de las enfermedades neurodegenerativas.

La  $\alpha$ -SN es un biomarcador para la detección de la enfermedad de Parkinson (EP) en sus etapas iniciales. La conversión de  $\alpha$ SN en oligómeros y fibrillas es una constante en varios trastornos neurodegenerativos que incluyen principal pero no únicamente a la enfermedad de Parkinson y la demencia con cuerpos de Lewy y la Miositis Esporádica por Cuerpos de Inclusión (31, 32, 33). Sin embargo, la presencia de oligómeros (tetrámeros y pentámeros) de  $\alpha$ -SN en condiciones fisiológicas que aumentan en la vejez, descarta a estos oligómeros en el inicio del proceso de las enfermedades neurodegenerativas en la vejez.

## Conclusiones

Es evidente que la  $\alpha$ SN se expresa en las membranas superficiales (sarcolema y túbulos transversales) del músculo esquelético. En

condiciones control, la  $\alpha$ SN está presente en las membranas del sarcolema en varias presentaciones oligoméricas. Dado el peso molecular del monómero de 14.5 kDa, las bandas observadas corresponden a un homotetrámero (aproximadamente 55 kDa) y un homopentámero (aproximadamente 70 kDa). Esto no es inusual ya que varios grupos anteriormente han informado sobre formas oligoméricas de  $\alpha$ SN aisladas de varios tejidos de mamíferos. Cuando se compara el contenido de oligómeros de sarcolema en ratas control con las membranas plasmáticas de tejido neuronal control obtenidas del cerebro, los niveles de expresión son similares por unidad de masa. Esto pone en duda la aseveración de que la  $\alpha$ SN se expresa casi exclusivamente en el cerebro y es el tejido donde se expresa con mayor abundancia. Además, el envejecimiento parece influir en la expresión de la  $\alpha$ SN en las membranas del sarcolema, aumentando su expresión con la edad. En particular, la banda de 55 kDa que corresponde al homotetrámero se expresa más que las otras formas de  $\alpha$ SN sinucleína en el envejecimiento. La  $\alpha$ SN también está asociada a las membranas de los túbulos transversos, sin embargo, la cantidad presente es significativamente menor que en las membranas del

sarcolema. Sin embargo, el envejecimiento también cambia el patrón de expresión de la  $\alpha$ SN en los túbulos transversos, aumentando la expresión especialmente para la forma homotetrámero. Finalmente, hay que hacer énfasis en que la  $\alpha$ SN tiende a distribuirse en las membranas no resistentes a los detergentes (lípidos rafts). Su colocalización con el receptor de transferrina sugiere una interacción que está actualmente bajo investigación en nuestro laboratorio. La  $\alpha$ SN es sintetizada en el tejido más abundante de los vertebrados que se degenera en el envejecimiento, lo que pudiera estar relacionado con las enfermedades neurodegenerativas donde la  $\alpha$ SN se ha considerado la causa de los síntomas y la enfermedad como sucede en la Enfermedad de Parkinson.

#### Agradecimientos.

Este trabajo se realizó con el apoyo del proyecto DGAPA-PAPIIT-IN215123 (AO) y la beca posdoctoral de DGAPA, (ALAG).

#### Referencias

1. Auluck, P., Caraveo, G., and Lindquist, S. (2010)  $\alpha$ -Synuclein membrane interactions and toxicity in Parkinson's disease. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 26, 211-233.
2. Emamzadeh, F. N. (2016) Alpha-synuclein structure, functions, and interactions. *J. Res. Med. Sci.*, 9, 21-29.
3. Danzer, K.M., Kranich, L.R., Ruf, W.P., Cagsal-Getkin, O., Winslow, A.R., Zhu, L., Vanderburg, C.R., and McLean, P.J. (2012) Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers. *Mol. Neurodegener.* 24(7), 42.
4. Saito, Y., Kawashima, A., Ruberu, N.N., Fujiwara, H., Koyama, S., Sawabe, M., Arai, T., Nagura, H., Yamanouchi, H., Hasegawa, M., Iwatsubo, T., and Murayama, S. (2003) Accumulation of phosphorylated  $\alpha$ -synuclein in aging human brain. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 62(6), 644-654.
5. Tsigelny, I.F., Sharikov, Y., Wrasidlo, W., Gonzalez, T., Desplats, P.A., Crews, L., Spencer, B., and Masliah, E. (2012) Role of  $\alpha$  - synuclein penetration into the membrane in the mechanisms of oligomer pore formation. *The FEBS journal.* 279(6), 1000-1013.
6. Maroteaux, L., Campanelli, J.T., and Scheller, R.H. (1988) Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *The Journal of Neuroscience.* 8 (8), 2804-2815.
7. Jakes, R., Spillantini, M.G., and Goedert, M. (1994) Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS letters.* 345(1). 27-32.
8. Nakai, M., Fujita, M., Waragai, M., Sugama, S., Wei, J., Akatsu, H., Ohtaka-Maruyama, C., Okado, H., and Hashimoto, M. (2007) Expression of alpha-synuclein, a presynaptic protein implicated in Parkinson's disease, in erythropoietic lineage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358: 104-110.
9. Borghi, R., Marchese, R., Negro, A., Marinelli, L., Forloni, G., Zacco, D., Abbruzzese, G., and Tabaton, M. (2000) Full length alpha-synuclein is present in cerebrospinal fluid from Parkinson's disease and normal subjects. *Neurosci. Lett.* 287(1), 65-7.
10. Mollenhauer, B., Locascio, J.J., Schulz-Schaeffer, W., Sixel-Döring, F., Trenkwalder, C., and Schlossmacher, M.G. (2011)  $\alpha$ -Synuclein and tau concentrations in cerebrospinal fluid of patients presenting with parkinsonism: a cohort study. *Lancet Neurol.* 10(3), 230-240.
11. Sui, Y.T., Bullock, K.M., Erickson, M.A., Zhang, J., and Banks, W.A. (2014) Alpha synuclein is transported into and out of the brain by the blood-brain barrier. *Peptides.* 62, 197-202.
12. Killinger, B.A., and Labrie, V. (2017) Vertebrate food products as a potential source of prion-like  $\alpha$ -synuclein. *NPJ Parkinsons Dis.* 24:3:33.
13. George, J.M. (2002) The synucleins. *Genome Biol.* 3(1), 002.1-3002.6
14. Uversky, V.N., Li, J., Souillac, P., Millett, I.S., Doniach, S., Jakes, R., Goedert, M., and Fink, A.L. (2002) Biophysical Properties of the Synucleins and Their Propensities to Fibrillate inhibition of  $\alpha$ -synuclein assembly by  $\beta$ - and  $\gamma$ -synucleins. *J. Biol. Chem.* 277(14), 11970-11978.
15. Ulmer, T.S., Bax, A., Cole, N.B., and Nussbaum, R.L. (2005) Structure and dynamics of micelle-bound human  $\alpha$ -synuclein. *J. Biol. Chem.* 280(10), 9595-9603.
16. Volles, M.J. and Lansbury Jr. P.T. (2007) Relationships between the sequence of  $\alpha$ -synuclein and its membrane

- affinity, fibrillization propensity, and yeast toxicity. *J. Mol. Biol.* 366(5), 1510-1522.
17. Fujiwara, H., Hasegawa, M., Dohmae, N., Kawashima, A., Masliah, E., Goldberg, M.S., Shen, J., Takio, K., and Iwatsubo, T. (2002)  $\alpha$ -Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat. Cell. Biol.* 4(2), 160-164.
  18. Ramírez-Soto, I., and Ortega, A. (2022) Skeletal Muscle is a Source of  $\alpha$ -Synuclein with a Sarcolemmal Non-Lipid Raft Distribution. *Cell. Physiol. Biochem.* 56(4), 382-400.
  19. Bartels, T., Choi, J.G., and Selkoe, D.J. (2011)  $\alpha$ -Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation. *Nature.* 477(7362), 107-110.
  20. Wang, L., Das, U., Scott, D.A., Tang, Y., McLean, P.J., and Roy, S. (2014)  $\alpha$ -Synuclein multimers cluster synaptic vesicles and attenuate recycling. *Curr Biol.* 24(19), 2319-2326.
  21. Burré, J., Sharma, Manu., and Südhof, T.C. (2014)  $\alpha$ -Synuclein assembles into higher-order multimers upon membrane binding to promote SNARE complex formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111(40), E4274-E4283.
  22. Vega Moreno, J. (2007) Comunicación de las proteínas del complejo distrofina glicoproteína de la sarcolema en el citoesqueleto en fibras musculares únicas durante la contracción, Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/302760>.
  23. Kelle, K., and Engelhardt, M. (2013) Strength and muscle mass loss with aging process. Age and strength loss. *Muscles Ligaments Tendons J.* 3(4), 346-350.
  24. Gitler, S., Ramírez, I., Ramírez, R., Medina, J., Vázquez, P., and Ortega, A. (2017) Skeletal muscle: from birth to old age, routes to mechanical and metabolic failure. *Gac. Med. Mex.* 153, S60-S71
  25. Ubaida-Mohien, C., Lyashkov, A., Gonzalez-Freire, M., Tharakan, R., Shardell, M., Moaddel, R., Semba, R.D., Chia, C.W., Gorospe, M., Sen, R., and Ferrucci, L. (2019) Discovery proteomics in aging human skeletal muscle finds change in spliceosome, immunity, proteostasis and mitochondria. *Elife.* 8, e49874.
  26. Jiménez-Garduño, A.M., Mitkovski, M., Alexopoulos, I.K., Sánchez, A., Stühmer, W., Pardo, L.A. and Ortega, A. (2014) KV10.1 K(+)-channel plasma membrane discrete domain partitioning and its functional correlation in neurons. *Biochim. Biophys. Acta.* 1838(3), 921-931.
  27. Larocca, J.N., and Norton, W.T. (2007) Isolation of myelin. *Curr. Protoc. Cell. Biol.* Chapter 3, Unit 3, 25.
  28. Vega Moreno, J., Tirado-Cortes, A., Álvarez, R., Irlles, C., Mas-Oliva J., and Ortega, A. (2012) Cholesterol depletion uncouples  $\beta$ -dystroglycans from discrete sarcolemmal domains, reducing the mechanical activity of skeletal muscle. *Cell. Physiol. Biochem.* 29(5-6), 905-918.
  29. Ortega, A., and Lepock, J. (1995) Use of thermal analysis to distinguish magnesium and calcium stimulated ATPase activity in isolated transverse tubules from skeletal muscle. *Biochim. Biophys. Acta.* 1233(1), 7-13.
  30. Rodriguez-Araujo, G., Nakagami, H., Hayashi, H., Mori, M., Shiuchi, T., Minokoshi, Y., Nakaoka, Y., Takami, Y., Komuro, I., Morishita, R., and Kaneda, Y. (2013) Alpha-synuclein elicits glucose uptake and utilization in adipocytes through the Gab1/PI3K/Akt transduction pathway. *Cell. Mol. Life. Sci.* 70(6), 1123-1133.
  31. Conway, K.A., Lee, S.J., Rochet, J.C., Ding, T.T., Williamson, R.E., and Lansbury Jr P.T. (2000) Acceleration of oligomerization, not fibrillization, is a shared property of both alpha-synuclein mutations linked to early-onset Parkinson's disease: implications for pathogenesis and therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97(2), 571-576.
  32. Bobela, W., Aebischer, P., and Schneider, B.L. (2015) Alpha-Synuclein as a Mediator in the Interplay between Aging and Parkinson's Disease. *Biomolecules.* 5(4), 2675-2700.
  33. Lee, P.H., Lee, G., Park, H.J., Bang, O.Y. Joo, I.S., and Huh, K. (2006) The plasma alpha-synuclein levels in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *J. Neural. Transm.* 113(10), 1435-1439.



**Dra. Alicia Ortega Aguilar**  
**ORCID: 0000-0002-0493-9133**

Dra. Alicia Ortega, profesora de carrera, investigadora del departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina de la UNAM. Médico cirujano por la UNAM, doctorado en Ciencias (PhD) de la Universidad de Waterloo, Canadá. Investigadora posdoctoral asociada en los Departamentos de Biofísica y de Bioquímica de la Universidad de Maryland, EUA; en el Departamento de Química del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) y del Departamento de Músculo en el Instituto de Investigación Biomédica, EUA, becaria de la American Muscular Dystrophy Association (MDA). Profesor visitante departamento de Química de Proteínas del Instituto Max-Planck de Bioquímica, becaria de la Fundación Alexander von Humboldt, Alemania. Su trabajo se centra en los aspectos

bioquímicos y fisiológicos de la investigación en músculo esquelético, membranas de células excitables y estabilidad de proteínas de membrana. Ha dedicado 30 años de investigación al estudio del músculo en fenómenos como la fatiga, la adaptación al ejercicio y la distrofia muscular a nivel subcelular y más recientemente a la comunicación músculo - cerebro en el control de movimiento. Es coeditora y

autora de libros en temas diversos como; “Proteínas en la intersección entre las Matemáticas, la Física, la Química y la Biología”, “Narcodependencia, escenarios heterogéneos de narración y reflexión” y “Populismo y Globalización en el Siglo XXI”. Publicados por El Colegio Nacional y Editorial Siglo XXI. Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias y la Academia Nacional de Medicina.

---





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Complementación metabólica con el microbioma en condiciones de estrés nutrimental, lecciones desde las plantas

### Metabolic complementation with the microbiome in conditions of nutritional stress, lessons from plants

Mejía, Gerardo<sup>1,2</sup>; Jara-Servin, Angélica<sup>1</sup>; Hernández-Álvarez, Cristóbal<sup>1</sup>;  
Alcaraz, Luis D. 

1. Laboratorio de Genómica Ambiental, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
2. Posgrado en Ciencias Bioquímicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

✉ Laboratorio de Genómica Ambiental, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito exterior s/n. Ciudad Universitaria, 04510, Coyoacán. Cd. Mx. México  
Tel.: +52 (55) 55 5622-8222 ext. 44704, [lalcaraz@ciencias.unam.mx](mailto:lalcaraz@ciencias.unam.mx)

Editor responsable: María Magdalena Vilchis Landeros  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.18>

Recibido: 4 de mayo de 2024  
Revisado: 4 de junio de 2024  
Aceptado: 6 de junio de 2024

#### Resumen

La microbiología ambiental no es nueva, inició desde finales del siglo XIX, la novedad es la secuenciación masiva a principios del siglo XXI en el campo, revelándonos la vasta diversidad bacteriana que aún desconocemos. Enfatizamos la importancia de estudiar los microbiomas en estados de salud y cómo podemos explorar aspectos cruciales de la interacción huésped-bacteria mediante el estudio de las plantas y sus raíces, considerados los ecosistemas más biodiversos del planeta con un inmenso reservorio genético que continuamente nos sorprende con nuevos genes. Exploraremos ejemplos de nuestro trabajo sobre el impacto de factores bióticos y abióticos en la estructuración del microbioma, los genes implicados en la simbiosis, y enfoques evolutivos para identificar un conjunto mínimo de interacciones planta-bacteria. Discutiremos cómo se han modelado estas interacciones y cómo un fenotipo favorable en el hospedero puede vincularse a comunidades microbianas específicas. Los genes de los

#### Abstract

Environmental microbiology is not new; it began at the end of the 19th century. The novelty is the massive sequencing in the field at the beginning of the 21st century, revealing the vast bacterial diversity that we still do not know. We emphasize the importance of studying microbiomes in healthy states and how we can explore crucial aspects of the host-bacteria interaction by studying plants and their roots, which are considered the most biodiverse ecosystems on the planet with an immense genetic reservoir that continually surprises us with new genes. We will explore examples of our work on the impact of biotic and abiotic factors on microbiome structuring, genes involved in symbiosis, and evolutionary approaches to identify a minimal set of plant-bacteria interactions. We will discuss how these interactions have been modeled and how a favorable host phenotype can be linked to specific microbial communities. The genes present in microbiomes can complement the metabolic functions of their hosts. Finally, we will discuss the

microbiomas pueden complementar las funciones metabólicas de sus hospederos. Finalmente, debatiremos la relevancia de conectar la diversidad microbiana de los ambientes naturales con bacterias que pueden desempeñar roles duales, siendo patógenos en ciertos organismos mientras actúan como simbiosis en otros contextos. Este conocimiento es crucial para enfoques de Una Salud, pues lo que aprendemos de estas interacciones podría ser significativo para la gestión desde el ecosistema hasta la clínica de estas bacterias.

*Palabras clave:* Palabras clave: Microbioma, metagenómica, rizosfera, biofertilizantes, interacciones planta-bacteria, Una Salud.

relevance of connecting the microbial diversity of natural environments with bacteria that can play dual roles, being pathogens in certain organisms while acting as symbionts in other contexts. This knowledge is crucial for One Health approaches, as what we learn from these interactions could be significant for the ecosystem-to-clinical management of these bacteria.

*Keywords:* Microbiome, metagenomics, rhizosphere, biofertilizer, plant-bacteria interactions, One Health.

## Introducción

El estudio de los microbiomas, definidos como las comunidades de microorganismos, sus genomas y el medio ambiente que habitan es relevante para la vida en nuestro planeta. Los microorganismos que comprenden el microbioma son virus, bacterias, hongos y protozoarios, aunque la mayor parte de los estudios actuales se centran principalmente en las bacterias. Algunos nos atrevemos a formular, que la vida en este planeta no son más que las bacterias y sus excepciones, que han estado presentes desde el inicio de la vida, generando el primer contaminante conocido: el oxígeno; sobreviviendo a las grandes extinciones, compitiendo, cooperando, guardando y experimentando con el acervo genético de la vida, hay más genes distintos en bacterias que en todos las plantas y mamíferos (1). No conocimos de microorganismos sino hasta Leewenhoek en el siglo XVII. La aparición de epidemias destaca la importancia de los microorganismos en nuestra salud, como vivimos recientemente. Desde el siglo XIX, con Koch y Pasteur, la teoría germinal de la enfermedad revolucionó la medicina, vinculó a los microorganismos con la enfermedad, estableciendo la microbiología con un enfoque bélico hacia los patógenos y enfatizando la importancia de la higiene y la neutralización de amenazas microbianas.

Si bien, durante inicios del siglo XXI surgió un interés renovado por estudiar a las bacterias más allá de la enfermedad. El surgimiento de la metagenómica que es el estudio de microbiomas por secuenciación masiva, comenzó en ambientes extremos como un drenaje de mina, el muestreo global de océanos y al final sentaron las bases para estudiar el microbioma humano de forma sistemática. Sin embargo, la disciplina tiene orígenes tan remotos como finales del siglo XIX y principios del siglo XX con Martinus

Beijerinck y Sergei Winogradsky, siendo los primeros en demostrar que había microbios más allá de los patógenos y que eran imprescindibles para el ciclo de nutrientes y los ecosistemas. Los microbiomas pues, no son una ciencia nueva.

La metagenómica, nos abrió posibilidades para entender la enorme diversidad microbiológica y lo poco que habíamos logrado observar, desde un enfoque de microbiología clásica, pensando solamente en patógenos. Entender que solamente habíamos logrado cultivar un 1% de lo que existe en muchos ambientes, que un cuerpo humano alberga  $1 \times 10^{18}$  bacterias, en los rangos de los números de estrellas en la Vía Láctea (2). Si bien el microbioma humano ha sido protagonista de gran parte de los esfuerzos para entender esta diversidad que vive con, sobre y dentro de nuestros cuerpos. El estudio de los microbiomas se ha hecho de cualquier cantidad de ambientes que existen en nuestro planeta, desde el fondo del mar, ventilas hidrotermales, corales, oasis, desiertos, tundras, la estratósfera, aves y cualquier cantidad de ambientes y hospederos. Un grupo especial para trabajar microbiomas son las plantas, en particular los microorganismos que habitan en la proximidad e interfase entre la raíz y el suelo, llamada rizosfera, siendo uno de los ecosistemas más biodiversos y complejos del que tenemos idea hasta el momento, donde 1 gramo de suelo puede contener hasta  $10^9$  células bacterianas y miles de potenciales especies y genes asociados (3,4). Podemos estudiar comunidades microbianas mediante la secuenciación aleatoria de su DNA (metagenómica total), lo que nos permite analizar tanto los genes codificantes de la comunidad como su taxonomía. Otra metodología consiste en utilizar genes ultraconservados, como aquellos involucrados en la traducción de proteínas, específicamente la subunidad pequeña del ribosoma 16S (gen de 16S rRNA). Estos genes desempeñan

funciones esenciales, tales como el ensamblaje del ribosoma, el reconocimiento del mRNA mensajero y la integridad del codón/anticodón durante la traducción. Cualquier mutación en estos genes puede comprometer dichas funciones y, en consecuencia, la viabilidad del organismo, lo que explica su universalidad y conservación. Los genes ultraconservados se utilizan para determinar la taxonomía de una comunidad mediante el uso de primers para realizar amplificaciones por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su posterior secuenciación masiva.

Estudiar la genética de las plantas, nos hace recordar que la genética misma inició con Mendel y una planta leguminosa, *Pisum sativum*, chícharo, guisante o arvejas dependiendo la latitud. Esta leguminosa tiene la capacidad de formar estructuras simbióticas en las raíces, que albergan bacterias conocidas como rizobios o rizobacterias que aportan y fijan nitrógeno atmosférico a cambio de una morada digna por parte de la planta, que desarrolló estructuras especializadas en su raíz llamadas nódulos. Las plantas nos permiten posibilidades maravillosas para estudiarlas como modelos debido a ciclos de vida cortos, diversidad genética y fenotípica o la falta de variación mediante clonación, facilidad de manipulación genética, costos de mantenimiento bajos si comparamos un bioterio contra un invernadero, como modelos ecológicos y evolutivos para probar hipótesis de interacción entre el ambiente, su adaptación al ambiente e interacciones biológicas. Históricamente la genética de plantas ha sido pionera en establecer investigaciones que han tenido repercusiones mucho más allá, como el descubrimiento de los transposones (5), el RNA de interferencia (6), los genes homeóticos y su implicación en el desarrollo y el rol de las hormonas en la organogénesis (e.g., el desarrollo de la flor y las hormonas relacionadas) (7). Todas estas ventajas posicionan a las plantas como un modelo relevante para estudiar el microbioma, sus genes e interacciones.

Los microorganismos asociados a las raíces desempeñan roles fundamentales en el desarrollo de las plantas a través de sus relaciones simbióticas, influenciando desde la absorción de nutrientes hasta la defensa contra patógenos. Los microbios en las raíces pueden transformar elementos como el fósforo y el hierro en formas químicas asimilables por las plantas, y ofrecen protección mediante la producción de antibióticos y antifúngicos (8, 9). Además, el reclutamiento del microbioma por las plantas se considera una estrategia de adaptación que les permite prosperar en diversos ambientes, destacando la importancia de los microorganismos en el establecimiento y crecimiento de las plantas bajo

diversas condiciones nutricionales y ambientales (10, 11).

Los estudios globales sobre microbiomas de suelos han demostrado que factores como la productividad vegetal, el pH y la aridez afectan significativamente la composición de las comunidades microbianas (12). Los cambios en la diversidad taxonómica y metagenómica reflejan cómo los microorganismos se adaptan a condiciones como la escasez de nutrientes y la aridez (13, 14). Estas adaptaciones indican que el microbioma del suelo es crucial para mejorar la salud vegetal ante desafíos como el cambio climático y el aumento de la demanda alimentaria.

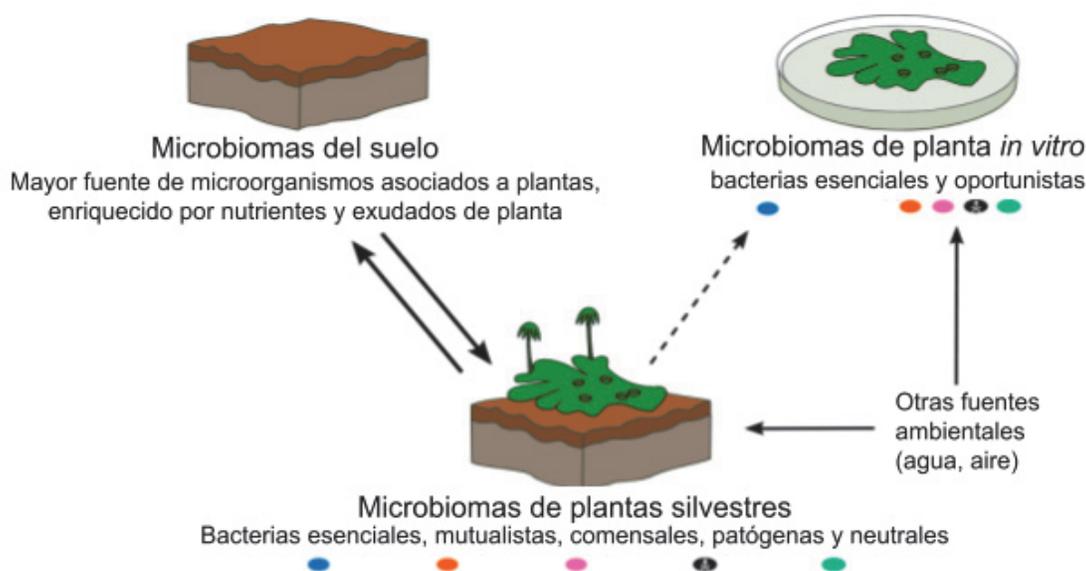
La composición filogenética de las bacterias que colonizan las raíces es dominada por los *phyla* Actinobacteriota, Bacteroidota, Bacillota (antes Firmicutes) y Pseudomonadota (antes Proteobacteria), lamentamos informarles que la taxonomía cambió recientemente (15). Estudios en múltiples plantas, soportaron un proceso de selección de dos pasos para el establecimiento del microbiota de la raíz, donde se propuso que el suelo era la fuente de microbios y factores como los exudados, genotipos dependientes de la planta filtran la diversidad bacteriana que coloniza la raíz (16).

En nuestro laboratorio junto a nuestros colaboradores, hemos explorado huecos de conocimiento cómo el impacto del genotipo de la planta en la estructuración de su microbiota, los factores ambientales, como diversos tipos de suelo de origen y su papel en la estructuración del microbioma de raíz (17). Analizar los mecanismos moleculares de la interacción planta-bacteria a través de los genes codificantes del microbioma (18). Hacer selección de comunidades sintéticas que sean capaces de colonizar raíces y utilizar dicha interacción para biorremediación en zonas de desechos mineros (19). Hemos logrado hacer el trasplante de microbiomas preadaptados de lugares bajo estrés ambiental y conservado sus propiedades en condiciones controladas (18). Analizar el éxito de plantas que se vuelven plaga y de si el microbioma tiene algo que decir al respecto (20). Además de que hemos estudiado en múltiples condiciones el microbioma de plantas ancestrales, fósiles vivientes, que descienden directamente de las primeras plantas que colonizaron la Tierra y que han tenido un tiempo profundo para establecer y definir quienes son sus habitantes microbianos más íntimos (21). Hasta llegar a extremos donde además de la fotosíntesis, hay plantas como las carnívoras que logran obtener nutrientes a partir de sus presas, en este caso observamos una complementación metabólica entre la capacidad codificante del microbioma y el genoma de la planta hospedera (22). Revisaremos algunos de nuestros aprendizajes en los últimos años.

### El concepto del microbioma mínimo, selección extrema y 450 millones de años de historia juntos

*Marchantia* es una pequeña planta hepática (< 10 cm), parte de las briofitas junto a los musgos y antoceros, no son vasculares, o sea no tienen raíces y no cuentan con tejido para movilizar agua y nutrientes (xilema y floema), se fijan al sustrato mediante células modificadas llamadas rizoides. Estas plantas son producto de la evolución de un ancestro algal de agua dulce, que transiciona a colonizar tierra firme hace unos 450 millones de años. Se piensa que este tipo de

plantas fueron las primeras en formar interacciones con hongos y formaron relaciones simbióticas con los mismos, así como con bacterias capaces de fijar nitrógeno y metanotrofas (23). La biología de estas plantas es totalmente dependiente de estar en lugares húmedos, su reproducción, por ejemplo, depende de esporas flageladas. En este estudio se probaron las diferencias en los microbiomas (gen 16S rRNA) de plantas silvestres de dos especies de *Marchantia*, con respecto al suelo donde se encontraban creciendo, y las diferencias de microbiomas cuando dichas plantas se crecían *in vitro* (21) (Figura 1).



**Figura 1. Identificación de bacterias relevantes en el microbioma de plantas.** Utilizamos a la planta *Marchantia* para identificar las fuentes ambientales de sus bacterias, principalmente el suelo. Cuando se cambia de condiciones naturales al crecimiento *in vitro* se pudo identificar a bacterias estrechamente vinculadas con las plantas, tanto en condiciones naturales como en la caja Petri. Figura modificada de Alcaraz LD et al. *Marchantia* liverworts as a proxy to plants' basal microbiomes. Sci Rep 2018;8:12712. 10.1038/s41598-018-31168-0 (21).

Encontramos diferencias importantes en la diversidad entre plantas *in vitro* y silvestres. Además de tener la principal fuente posible de inóculo microbiano, el suelo silvestre, evaluamos la cantidad de bacterias compartidas entre el suelo, las plantas silvestres y las plantas *in vitro*. Dicha comparación nos permitió evaluar el efecto extremo de seleccionar plantas en supuestas condiciones de esterilidad, debido a que en las cajas Petri donde se cultivaban siempre había colonias bacterianas de color rosado o pigmentadas después de un tiempo. Esto fue una pista para evaluar el microbioma de plantas que llevaban creciendo generaciones en condiciones artificiales. Para nuestra sorpresa, existían bacterias de forma

consistente en las plantas *in vitro*, más aún, se compartían con sus parientes silvestres y podían ser rastreadas a las fuentes en suelo. Eso sí, con una diversidad reducida, medida por el índice de entropía de Shannon-Weaver ( $H'$ ), que incorpora riqueza y abundancia en una transformación logarítmica extremadamente desde las plantas silvestres ( $H' = 8.29$ ) a sus contrapartes *in vitro* ( $H' = 1.35$ ). En riqueza cruda, el número de potenciales especies bacterianas, que también llamamos unidades taxonómicas operativas (OTUs) baja de los cerca de los 10,000 en condiciones silvestres a cerca de 400 en condiciones *in vitro*. Curiosamente, cuando comparamos la diversidad compartida entre dos

especies de *Marchantia* nos quedamos con un puñado de OTUs, que fueron clasificados como *Methylobacterium*, *Rhizobium*, *Paenibacillus chondroitinus*, *Citrobacter*, todos con antecedentes de relaciones estrechas con plantas, desde la fijación de nitrógeno, producción de hormonas vegetales, capacidad de crecer en metanol, resistir a la desecación y ayudar a la planta en la labor (e.g., alginatos), degradación de compuestos derivados de la planta. El cambio extremo para la planta de pasar del suelo a una caja de Petri con medio de cultivo resalta que bacterias simbióticas son esenciales y no se está dispuesta a perderlas. La prevalencia de bacterias en múltiples hospederos abre la hipótesis de si existe un microbioma mínimo, una caja mínima de interacciones simbióticas y si es posible construir a partir de ese punto.

### **Trasplantes de microbiomas naturales y sus adaptaciones bajo condiciones controladas**

Los enfoques tradicionales de mejora de la salud vegetal mediante la inoculación de cepas microbianas individuales han mostrado limitaciones al no abordar la complejidad de interacciones dentro del microbioma rizosférico (24). Por eso, métodos recientes enfatizan el análisis completo del microbioma de raíz para identificar microorganismos asociados con plantas sanas, incluyendo aquellos que pueden perjudicar inoculaciones individuales pero esenciales en un contexto comunitario (8).

Se están desarrollando dos estrategias principales para fortalecer la salud vegetal usando el microbioma: la creación de comunidades sintéticas y los trasplantes directos de microbiomas de suelo o raíz. Las comunidades sintéticas, que imitan la estructura y función de los microbiomas naturales, pero con menor complejidad, han mostrado resultados prometedores; un ejemplo es una comunidad sintética derivada del microbioma de la caña que, al aplicarse en maíz, incrementó significativamente la biomasa y la resistencia al estrés hídrico, superando a los controles no inoculados (25, 26).

Sin embargo, el desarrollo de comunidades sintéticas enfrenta desafíos, como la dificultad de cultivar algunos microbios por métodos convencionales. Para superar esto, se utilizan técnicas como el co-cultivo o la microfluídica, que simula la estructura y química de hábitats complejos como el suelo, facilitando el cultivo de microorganismos (24, 27). Alternativamente, se puede optar por trasplantes más directos del microbioma del suelo.

Decidimos estudiar la diversidad bacteriana de suelos de cultivo y raíces de calabaza en sitios con distintos niveles de aridez, así que se puede transferir la diversidad de suelos locales a experimentos

controlados a partir de pequeños inóculos de suelo. De manera destacable, observamos diferencias entre la microbiota rizosférica de los sitios áridos y húmedos, sin importar que las muestras hubieran sido colectadas directamente en campo u obtenidas del experimento controlado en el invernadero (18). Además, las comunidades obtenidas a partir de los sitios áridos mostraron un enriquecimiento en genes relacionados con el plegado y degradación de proteínas, estrés oxidativo y regulación osmótica, mecanismos que han sido previamente descritos como parte de las adaptaciones para vivir en ambientes xéricos (28). Ésta serie de adaptaciones fisiológicas ante el déficit hídrico en conjunto con la correlación positiva de algunos miembros de su microbioma con las características fenotípicas de las plantas tales como la biomasa aérea o la concentración de clorofila, resalta el potencial del trasplante del microbioma para favorecer la salud de las plantas en condiciones adversas (18).

Otra manera de lograr trasplantes de microbiota de manera directa es por medio de una técnica que se conoce como ingeniería de microbioma mediada por el hospedero, en la cual las comunidades microbianas benéficas se inoculan en plantas que se cultivan de manera cíclica y se seleccionan si presentan características fenotípicas deseadas (29). Por medio de ésta aproximación, se utilizaron suelos de sitios semiáridos asociados a una especie de pasto que se cultivó bajo condiciones de estrés hídrico. Posteriormente, los sustratos de crecimiento y las raíces de las plantas con mayor resistencia se utilizaron para inocular plantas de trigo, cuyos sustratos de crecimiento y raíces se emplearon para repetir el ciclo sucesivamente. Como resultado, al comparar las plantas inoculadas con controles negativos, se observó un incremento en su superficie aérea y raíces, así como un retraso en la aparición de los síntomas de estrés (30). Un estudio similar conducido con plantas de arroz logró obtener microbiota capaz de incrementar la resistencia a la sequía de las plantas y mejorar su crecimiento. Cuando se ensamblaron genomas a partir de los metagenomas secuenciados, se observó un enriquecimiento en genes relacionados con glicerol 3-fosfato y transporte de hierro, considerados mediadores de las interacciones planta-microorganismos durante condiciones de estrés hídrico en otros trabajos (31). Esto muestra que los microbiomas trasplantados no solo se seleccionan por sus adaptaciones fisiológicas, sino que su capacidad de interactuar con las plantas es fundamental.

La ingeniería del microbioma ha demostrado ser útil para crear biofertilizantes, productos con microorganismos aplicados al suelo, semillas o superficies de las plantas para promover su

crecimiento (32). Recientemente llevamos a cabo el análisis de la diversidad microbiana de un biofertilizante comercial (33), obtenido a partir de cultivos trampa, técnica en la que las raíces actúan como carnada para atraer microbios del suelo (tradicionalmente micorrizas arbusculares), que luego serán seleccionados por su efecto en el fenotipo vegetal. De manera particular, éste biofertilizante proviene de inóculos de suelo de diversos ecosistemas naturales y campos de cultivo de café, cuyos microorganismos fueron seleccionados por sus efectos en el fenotipo de una especie de pasto y dos leguminosas a lo largo de múltiples generaciones (34). El análisis de su microbioma sugiere que las raíces actúan como un biorreactor favorable a la proliferación de bacterias, mientras que el sustrato de propagación del biofertilizante mantiene una diversidad elevada de hongos, que contienen microbios que antes se caracterizaron como promotores del crecimiento vegetal por rol en la nutrición y en la protección contra el estrés biótico y abiótico (33).

El trasplante de microbiomas naturales ya sea por medio de comunidades sintéticas construidas a partir de múltiples aislados de una comunidad original o mediante métodos más directos de transferencia, resulta prometedor para garantizar la salud de las plantas y mejorar la productividad de los cultivos. Estos microbiomas pueden ser seleccionados o diseñados para cubrir necesidades específicas como la adquisición de nutrientes o hacer frente a determinados tipos de estrés (33). Sin importar el método de trasplante seleccionado o el objetivo de la comunidad microbiana utilizada, consideramos fundamental el monitoreo constante del fenotipo vegetal para medir el éxito del trasplante y su estabilidad en el tiempo.

### El éxito de una planta va de la mano con el éxito de sus microorganismos

El pasto buffel (*Pennisetum ciliare* L.) que se introdujo como forraje de ganado, es una planta invasora originaria de Asia que ahora ocupa el 53% del estado de Sonora y ha desplazado hasta un 75% de las especies nativas, posee adaptaciones fisiológicas como un sistema radicular extenso, alta capacidad de rebrote y producción de semillas que le permiten dominar en nuevos ambientes (35, 36). Otra característica es que crece mucho mejor que las plantas locales, se seca y son material incendiario, debido a su capacidad de rebrote puede dominar grandes extensiones después de un incendio, desplazando plantas sin dicha capacidad. Además, el pasto buffel es alelopático, sintetizando compuestos que inhiben el crecimiento de plantas cercanas.

Recientes estudios han explorado cómo estos compuestos fenólicos afectan la estructura del microbioma asociado a sus raíces, revelando un posible papel en su capacidad invasiva. Desde otro punto de vista, las especies invasoras son exitosas en el sentido de colonizar y dominar rápidamente un ambiente, por lo que decidimos explorar el componente microbiano de dicho éxito.

El microbioma rizosférico de buffel está dominado por cepas del phylum Actinobacteria, incluyendo *Geodermatophilus* y *Kribbella*, entre otros. Estos microorganismos pueden sintetizar vitaminas y antimicrobianos que favorecen la adaptación y crecimiento del pasto buffel en nuevos ambientes (20). Además, algunos, como *Saccharothrix*, son capaces de biosintetizar compuestos fenólicos como ácido caféico y cinámico, contribuyendo potencialmente a la alelopatía del buffel. Curiosamente, el microbioma del buffel no es estático, sino que cambia dinámicamente con el crecimiento de la planta y las variaciones ambientales, adaptándose a las necesidades cambiantes de la planta a lo largo de su desarrollo. Por ejemplo, la abundancia de ciertos géneros como *Flavitalea* aumenta en las primeras etapas del desarrollo de la planta, mientras que otros, como *Ohtaekwangia*, son más abundantes en etapas intermedias de crecimiento (20).

Estos hallazgos subrayan la complejidad de las interacciones entre las plantas invasoras y sus microbiomas asociados, sugiriendo que la relación planta-microorganismo debería considerarse como un holobionte que integra funciones nutricionales, de desarrollo y defensivas, así como mecanismos especializados como la alelopatía. Un holobionte es un conjunto de organismos asociados en simbiosis, se incluyen un huésped y todos los microorganismos asociados a él, ahora se considera a ambos como una unidad ecológica y evolutiva.

### Estrés nutrimental en plantas y la relevancia del microbioma para mitigar los efectos en la planta hospedera

Las plantas necesitan nutrientes esenciales como nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), hierro (Fe), cobre (Cu) y zinc (Zn) para su crecimiento y desarrollo; estos se adquieren principalmente del suelo a través de sus raíces (37). La deficiencia de estos nutrientes es común y representa un reto significativo para la salud vegetal, dado que muchos están ligados a moléculas orgánicas y no están directamente disponibles para las plantas (38). En agricultura, aunque la fertilización es crucial para incrementar la disponibilidad de nutrientes, su uso excesivo puede causar problemas ambientales, como la degradación del suelo y emisión de gases de efecto

invernadero (37). Debido al daño ambiental que puede causar el uso desmedido de fertilizantes, la investigación actual prioriza desarrollar estrategias para disminuir el fertilizante usado en la agricultura para el crecimiento de las plantas.

Los productos de la fotosíntesis se conocen como fotosintatos, principalmente son moléculas de carbohidratos, que se utilizan como fuente energética y de reserva. Las plantas transportan una proporción considerable de sus fotosintatos (11-40%) hacia la raíz en forma de exudados (39, 40). Los exudados de la raíz, que pueden incluir ácidos orgánicos, aminoácidos, azúcares y proteínas, atraen a una diversidad de bacterias hacia la raíz, incluyendo patógenos, comensales y bacterias benéficas conocidas como PGPRs (bacterias promotoras del crecimiento vegetal) (16, 41). Los exudados representan uno de los factores que determina la composición de las comunidades bacterianas asociadas a la raíz. La composición de los exudados de raíz puede variar dependiendo del genotipo de la planta, su edad, la presencia de patógenos, condiciones ambientales como el tipo de suelo y los nutrientes presentes (42).

De forma general, la promoción de crecimiento vegetal por parte de las PGPRs puede ocurrir a partir de tres mecanismos; interferencia con el señalamiento hormonal en plantas, protegiendo a las plantas contra patógenos e incrementando la disponibilidad de nutrientes en el suelo (38). Una estrategia que utilizan las plantas para acceder a los nutrientes no biodisponibles en el suelo es a través su asociación con PGPRs y hongos.

La asociación entre plantas y PGPRs es particularmente crucial en ambientes con baja disponibilidad de nutrientes, donde se ha observado que las plantas alteran la composición de sus exudados para atraer microorganismos específicos que pueden mejorar la disponibilidad de nutrientes (43, 44). Se ha propuesto que la baja disponibilidad de nutrientes es inversamente proporcional a la importancia del microbioma sobre el desempeño de la planta y a la diversidad microbiana asociada a la raíz (45). Por ejemplo, en condiciones de baja disponibilidad de nitrógeno, las plantas de maíz aumentan la producción de flavonoides, lo que puede incrementar la abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno y promotoras del crecimiento vegetal. Del mismo modo, se ha encontrado que la diversidad bacteriana aumenta en la rizosfera de plantas de soya con deficiencias de N y K, especialmente en etapas avanzadas de desarrollo (46).

Estas observaciones sugieren que los PGPRs juegan un papel más crítico bajo condiciones de estrés nutricional, ofreciendo un potencial biotecnológico significativo para la reducción del uso de fertilizantes.

Nuestro grupo de trabajo está explorando cómo los PGPRs pueden ser particularmente importantes cuando las plantas experimentan déficits nutricionales, y estamos desarrollando proyectos para estudiar si la baja disponibilidad de nutrientes puede facilitar el trasplante de microbiomas promotores del crecimiento vegetal de una planta a otra.

### **Complementación del metagenoma, el ambiente y el genoma hospedero, un holobionte en acción**

La genética de la planta es complementada por los genomas de sus microorganismos simbióticos asociados. Dicha complementación genética y por ende metabólica entre la planta y las comunidades de microorganismos en la raíz se establecen por interacciones complejas entre los microorganismos, la planta y el medio ambiente (47). Aunque aún no se entienden del todo estos mecanismos de interacción y reglas de ensamble de comunidades microbianas simbióticas con su hospedero, es evidente que el microbioma enriquece el repertorio genético de la planta, fortaleciendo su adaptación a las perturbaciones ambientales. Además, las plantas pueden modular la estructura de su propio microbioma mediante su genética, cada planta sintetiza y otorga fuentes de carbono particulares a sus microbios y estos son reconocidos por los mismos por mecanismos finos (*e.g.*, quimiotaxis) (48). Comprender los principios moleculares de esta relación simbiótica es fundamental para aprovechar eficazmente el microbioma en el mejoramiento vegetal. El concepto de holobionte (*e.g.*, planta-microbios) subraya la importancia de la coevolución entre el hospedero multicelular y su microbiota asociada, destacando una selección evolutiva conjunta que facilita la adaptación mutua (49).

Un ejemplo donde vimos una complementación metabólica entre la planta y su microbioma fue con un sistema no convencional para una planta. *Utricularia gibba* es una pequeña planta acuática, sin raíces verdaderas, carnívora, con pequeñas trampas que atrapan invertebrados y estos son digeridos al interior de estas trampas llamadas utrículos. Los utrículos son fuentes que proveen de N y P a la planta, digiriendo a sus presas, esto es relevante ya que las plantas se dan en ambientes oligotróficos, o sea ambientes con baja disponibilidad de nutrientes. Oligotrófico viene del griego *oligos* que significa poco o escaso y *trofia* que se refiere a nutrición. En estos ambientes limitados en nutrientes, esto resalta el papel de las trampas como fuente de nutrientes. El ambiente de las trampas es análogo a una raíz en el sentido de que los exudados fotosintéticos de la planta se asignan a esta zona y nutren a sus microbios, que mejoran su capacidad de búsqueda de N y P (22). En este caso se contaba con

el genoma secuenciado de la planta, con 82 Mb y 28,500 genes codificantes de proteínas (50). Para entender cómo se degradaban las presas, en el ambiente anóxico de los utrículos, hicimos secuenciación metagenómica total de las trampas, por lo que pudimos detectar al microbioma completo, fragmentos de la planta misma, nemátodos, protozoarios, hongos, siendo el 50% de la muestra, la otra mitad siendo genes asignados a bacterias. Este método tiene la bondad de hacer una imagen real, sin sesgos de amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa y tener un estimado génico de la comunidad.

Algunas plantas carnívoras son capaces de capturar pequeños organismos y nutrirse de ellos para sobrevivir en ambientes con pocos nutrientes. Las trampas para capturar estos organismos están equipadas con mecanismos para romper y absorber los nutrientes (51). Para entender el papel del microbioma en la adquisición de nutrientes mediante estas trampas, en nuestro laboratorio se colectaron plantas creciendo en su medio natural y se realizó secuenciación metagenómica de unas 400 trampas, los sedimentos y agua circundante donde se encontraban las plantas. Con la ayuda de secuenciación metagenómica se realizó un análisis del perfil taxonómico y la diversidad de genes codificantes de la trampa, el ambiente y el genoma de *U. gibba* (22).

Un aspecto destacado de nuestra investigación es que, al comparar las enzimas predichas del genoma de *U. gibba* con el metagenoma del ambiente (Ugm) y el metagenoma de las trampas (Ugt), descubrimos que la mayoría de las enzimas están concentradas en las trampas (Figura 2).

Observamos que muchos de los genes en Ugt también se encuentran en Ugm, y algunos genes son compartidos entre la planta, las trampas y el ambiente. Sin embargo, existe un conjunto de genes exclusivos de las trampas, lo que sugiere una complementación metabólica para potenciar la digestión de presas por parte de genes codificados en el genoma de la planta.

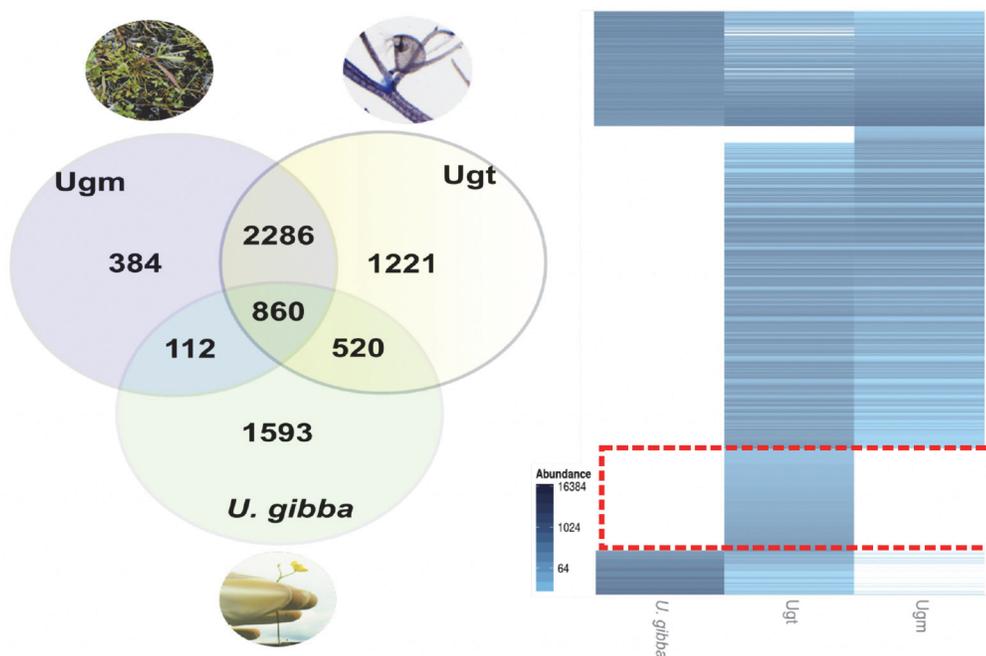
Entre los hallazgos más significativos, encontramos que el microbioma de las trampas comparte numerosos genes con el ambiente, lo cual apoya la idea de que el microbioma de las trampas proviene del ambiente como un subconjunto. En el metagenoma de las trampas identificamos genes

relacionados con el metabolismo de carbohidratos, la adquisición de hierro y la esporulación, que probablemente facilitan la colonización de las trampas aprovechando las fuentes de carbono disponibles. En contraste, en los metagenomas del entorno de la planta detectamos una mayor proporción de genes asociados a la respiración y a la respuesta al estrés comparado con las trampas. Además, se identificaron genes únicos en el microbioma de las trampas que aportan funciones adicionales a la planta.

De manera interesante, se observó una abundancia significativa de peptidasas, proteasas e hidrolasas en las trampas en comparación con el ambiente, lo que refuerza la idea de una complementación metabólica. Estudios previos del transcriptoma de *U. gibba* han demostrado que la planta presenta una actividad hidrolítica dentro de las trampas (52). Esto indica que el potencial metabólico relacionado con actividades hidrolíticas en el microbioma de las trampas complementa las enzimas hidrolíticas producidas por la planta, extendiendo sus capacidades metabólicas en la digestión y adquisición de nutrientes.

En otro estudio, investigamos cómo el suelo influye en la estructuración del microbioma utilizando tomate (*Solanum lycopersicum*) como planta modelo (17). Controlamos variables como clima, altitud, latitud y, especialmente, la variación genética entre plantas mediante la uniformidad de la especie cultivada. Este enfoque corroboró el modelo de adquisición del microbioma de raíz en dos pasos. Nos sorprendió descubrir que, en plantas cultivadas, la diversidad del suelo es mayor mientras que en las raíces es menor. Contrariamente, en las plantas silvestres silvestres, las raíces actúan como refugios ricos en nutrientes y humedad para las bacterias, dando más diversidad en la raíz que en el suelo.

Durante este estudio, identificamos 271,940 especies bacterianas y pudimos anotar más de 411,432 genes codificantes para proteínas, aunque esto representó solo el 13% de los más de 3 millones de genes codificantes predichos. Fue notable cómo los tomates seleccionan activamente a los microorganismos y a sus genes, sin importar el origen del suelo. Identificamos un "microbioma núcleo" compuesto por 51 géneros de bacterias y 2,762 proteínas que consistentemente se encontraron en las raíces de los tomates en todos nuestros muestreos.



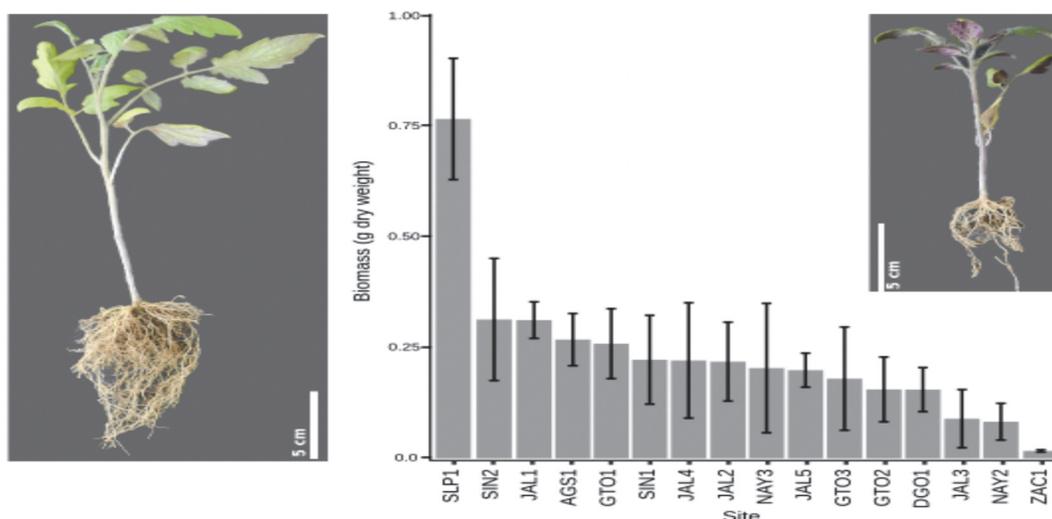
**Figura 2. Diagrama de Venn que ilustra las enzimas identificadas en el genoma de *Utricularia gibba*, el ambiente (agua y suelo donde se aisló la planta) y las trampas.** En el panel derecho, cada línea representa un gen; la ausencia de un color sólido indica la falta de genes correspondientes. Los genes únicos de que aportan las trampas (Ugt) están resaltados en un recuadro punteado, destacando la significativa complementación metabólica con respecto a las capacidades codificantes del genoma de *U. gibba* y cómo estos genes no se encuentran presentes en el metagenoma del medio ambiente circundante a la planta (Ugm). Modificada de Alcaraz LD et al., The Metagenome of *Utricularia gibba*'s Traps: Into the Microbial Input to a Carnivorous Plant. PLoS One 2016;11:e0148979. 10.1371/journal.pone.0148979 (22).

Dentro de este microbioma núcleo, descubrimos genes esenciales, como las DNA y RNA polimerasas y chaperonas, además de genes que probablemente complementan las funciones de la planta, como la regulación de nitrógeno y amonio, la síntesis de moléculas de almacenamiento como las cianoficinas y algunas involucradas en la defensa contra patógenos como las patatinas. Utilizando suelos geoquímicamente diversos, evaluamos el crecimiento de las plantas en múltiples condiciones, lo que nos permitió probar si ciertos microbiomas y genes estaban directamente relacionados con el crecimiento de las plantas. Estos hallazgos destacan cómo la interacción entre las plantas y sus microbiomas puede ser aprovechada para desarrollar estrategias de mejoramiento vegetal y la creación de biofertilizantes, de manera similar a los probióticos en contextos animales. Estas manipulaciones microbiológicas

ofrecen nuevas oportunidades para optimizar la respuesta de las plantas a diferentes condiciones ambientales y tratamientos (Figura 3).

### Implicaciones Una Salud (*One Health*)

Una Salud se define como la interdependencia entre la salud humana, la de otros animales, las plantas y el ambiente, subrayando cómo la integridad de uno afecta a los demás (53). En este marco, los microorganismos son reconocidos por su rol esencial en la salud de plantas y animales, funcionando como un "segundo genoma" que influye en procesos vitales (54). Se ha observado que las comunidades microbianas de diversos organismos están interconectadas, formando un ciclo continuo que involucra al ambiente, las plantas, los humanos y otros animales.



**Figura 3.** Se muestran plantas representativas de tomate (*Solanum lycopersicum*), las plantas son del mismo genotipo, edad, mismas condiciones de temperatura, riego, fotoperíodo. Las diferencias en su desarrollo y crecimiento se deben en parte al contenido nutricional de cada suelo, en conjunto con la diversidad de microbiomas que se alberga en cada suelo. Gracias al fenotipo de la planta es posible evaluar el desempeño de distintos microbiomas. Modificado de Barajas HR, et al. Testing the Two-Step Model of Plant Root Microbiome Acquisition Under Multiple Plant Species and Soil Sources. Front Microbiol 2020;11:2445. 10.3389/fmicb.2020.542742 (17).

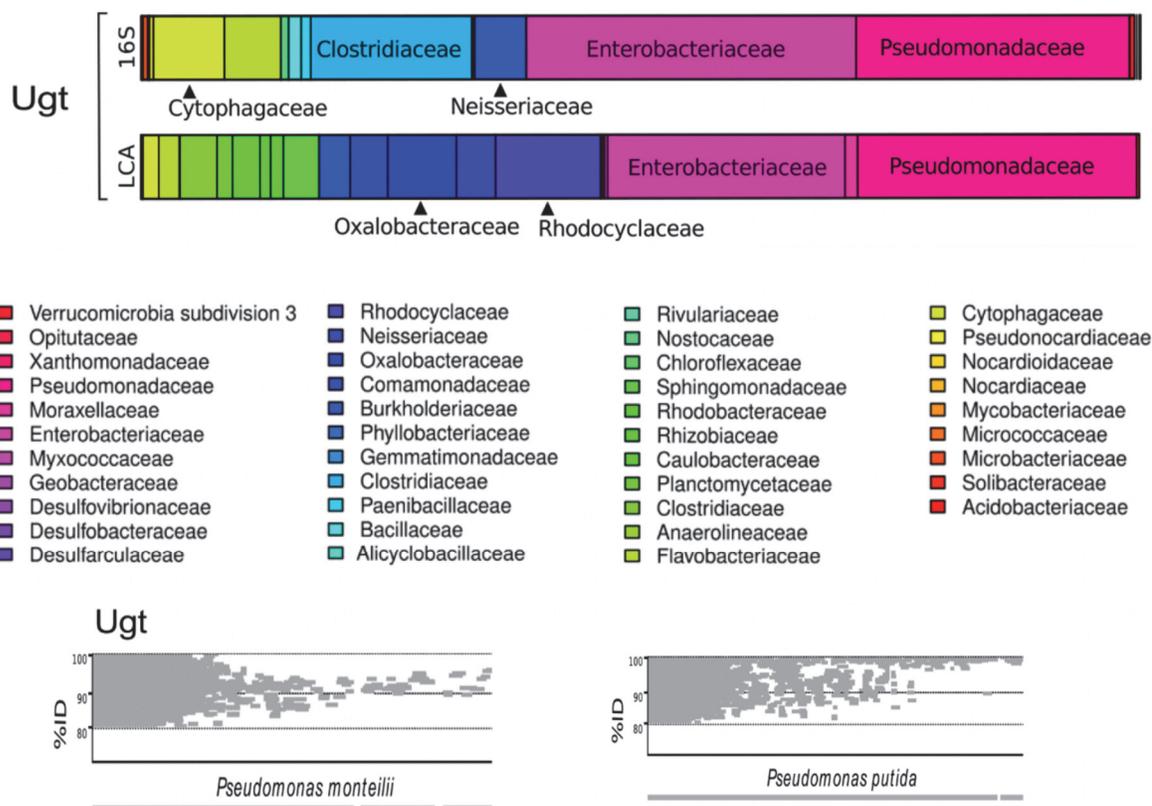
Desde la perspectiva de Una Salud, recientes estudios indican que el suelo actúa como un reservorio vital de microorganismos que eventualmente colonizan tanto plantas como animales (55). Estos microorganismos juegan roles cruciales en una variedad de funciones fisiológicas. En humanos y plantas, la composición del microbioma puede servir como un indicador de salud y enfermedad, mientras que en el contexto ambiental, puede actuar como un marcador de contaminación (56).

En cuanto a la adquisición de esta diversidad microbiana, tanto en plantas como en humanos y otros animales, se obtiene principalmente del entorno. Las plantas adquieren gran parte de sus microorganismos del suelo, mientras que, en humanos y animales, la diversidad intestinal se deriva de la dieta, que suele constituir plantas (57, 58). Este intercambio constante de microorganismos entre el suelo, las plantas y los seres vivos destaca cómo los microbios del suelo pueden circular a través de los ecosistemas, influenciando la salud de todos los seres vivos involucrados (55).

En el estudio de la planta carnívora *U. gibba*, observamos que la diversidad microbiana varía significativamente según el método de clasificación utilizado, ya sea mediante fragmentos del gen 16S rRNA, la clasificación taxonómica de genes codificantes, o el alineamiento de metagenomas con genomas de referencia (Figura 4). Sorprendentemente, identificamos en los metagenomas de *U. gibba* nombres de organismos como *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Clostridium*, y *Klebsiella*, que en un

contexto clínico podrían causar alarma. Sin embargo, la patogenicidad de estos microorganismos depende del contexto en el que se encuentren, lo que sugiere que la patogenicidad es una simplificación excesiva de las interacciones entre hospederos y microbios. Casadevall y Pirofsky (2014) (59) proponen que el enfoque debe centrarse más en la interacción huésped-patógeno que en el microbio aislado para descubrir nuevas vías terapéuticas.

Algunos de estos microorganismos son generalistas y pueden prosperar en varios contextos; por ejemplo, bacterias como *Pseudomonas monteilii* y *Enterobacter* sp. R4-368, encontradas en las trampas de *U. gibba* (Figura 4), también han sido aisladas de muestras clínicas donde se consideran patógenos. Sin embargo, en el contexto de la planta, estos mismos aislados han sido identificados como bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs), beneficiosas por actividades como la fijación de nitrógeno, producción de hormonas vegetales y protección contra hongos patógenos (60-64). Notablemente, *Pseudomonas aeruginosa* puede convertirse en una PGPR con solo modificar su sistema de quorum, ilustrando la delgada línea entre ser un patógeno y un simbiote, dependiendo del contexto (65). Esta dualidad entre ser simbiote o patógeno abre la puerta a estrategias de manejo integradas dentro del marco de Una Salud, para evaluar la abundancia de organismos de interés en una variedad de contextos como clínicos, ambientales, asociados a plantas, en fauna silvestre y en nuestros alimentos



**Figura 4. Del metagenoma de la planta carnívora *U. gibba* se identifica la diversidad de bacterias presente en las trampas.** La clasificación se hace por fragmentos metagenómicos del gen 16S rRNA y la asignación de fragmentos de DNA metagenómico por último ancestro común (LCA). En la parte inferior se observan reconstrucciones de los pangenomas de *Pseudomonas monteilii* y *Pseudomonas putida*. Modificado de Alcaraz LD et al., The Metagenome of *Utricularia gibba*'s Traps: Into the Microbial Input to a Carnivorous Plant. PLoS One 2016;11:e0148979. 10.1371/journal.pone.0148979 (22).

## Conclusiones

Ofrecemos un contexto histórico sobre la genómica ambiental y destacamos cómo el análisis de microorganismos interactores revela el profundo impacto del microbioma en la salud y el fenotipo del hospedero y su productividad. Nuestro enfoque se centra en elucidar los roles de los factores bióticos y abióticos en la estructuración del microbioma, explorar la complementación metagenómica del hospedero, y la viabilidad de diseñar comunidades sintéticas utilizando un conjunto básico de genes y especies. Presentamos ejemplos significativos que ilustran los principales descubrimientos en cada una de estas áreas. El estudio de microbiomas ambientales

no solo profundiza nuestra comprensión sobre las interacciones microbianas y su influencia en la salud y la productividad agrícola, sino que también permite evaluar las fuentes ambientales y los roles ecológicos de bacterias críticas. Este enfoque amplía nuestra perspectiva desde el nivel genético hasta el ecosistémico, abriendo nuevas vías para aplicaciones prácticas en salud y agricultura.

## Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el proyecto DGAPA-PAPIIT-UNAM IN205824 a Luis D. Alcaraz. Gerardo Mejía es beneficiario de una beca doctoral del CONAHCYT (817269).

## Referencias

- Yooseph, S., Sutton, G., Rusch, D. B., Halpern, A. L., Williamson, S. J., Remington, K., Eisen, J. A., Heidelberg, K. B., Manning, G., Li, W., Jaroszewski, L., Cieplak, P., Miller, C. S., Li, H., Mashiyama, S. T., Joachimiak, M. P., Belle, C. van, Chandonia, J.-M., Soergel, D. A., ... Venter, J. C. (2007). The Sorcerer II Global Ocean Sampling Expedition: Expanding the Universe of Protein Families. *PLOS Biology*, 5(3).
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6578–6583.
- Anthony, M. A., Bender, S. F., & van der Heijden, M. G. A. (2023). Enumerating soil biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(33).
- Roesch, L. F. W., Fulthorpe, R. R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A. K. M., Kent, A. D., Daroub, S. H., Camargo, F. A. O., Farmerie, W. G., & Triplett, E. W. (2007). Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME Journal*, 1(4), 283–290.
- McClintock, B. (1950). The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 36(6), 344–355.
- Napoli, C., Lemieux, C., & Jorgensen, R. (1990). Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into *Petunia* Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. *The Plant Cell*, 2(4), 279–289.
- Coen, E. S., & Meyerowitz, E. M. (1991). The war of the whorls: Genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 353(6339), 31–37.
- Toju, H., Peay, K. G., Yamamichi, M., Narisawa, K., Hiruma, K., Naito, K., Fukuda, S., Ushio, M., Nakaoka, S., Onoda, Y., Yoshida, K., Schlaeppli, K., Bai, Y., Sugiura, R., Ichihashi, Y., Minamisawa, K., & Kiers, E. T. (2018). Core microbiomes for sustainable agroecosystems. In *Nature Plants*, 4(5).
- Trognitz, F., Hackl, E., Widhalm, S., & Sessitsch, A. (2016). The role of plant–microbiome interactions in weed establishment and control. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(10).
- Merou, T. P., & Papanastasis, V. P. (2009). Factors Affecting the Establishment and Growth of Annual Legumes in Semi-Arid Mediterranean Grasslands. *Plant Ecology*, 201(2), 491–500.
- Schmitt, M. B., Berti, M., Samarappuli, D., & Ransom, J. K. (2021). Factors Affecting the Establishment and Growth of Cover Crops Intersown into Maize (*Zea mays* L.). *Agronomy*, 11(4).
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A. M., Brewer, T. E., Benavent-González, A., Eldridge, D. J., Bardgett, R. D., Maestre, F. T., Singh, B. K., & Fierer, N. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, 359(6373), 320–325.
- Fierer, N., Leff, J. W., Adams, B. J., Nielsen, U. N., Bates, S. T., Lauber, C. L., Owens, S., Gilbert, J. A., Wall, D. H., & Caporaso, J. G. (2012). Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(52), 21390–21395.
- Malik, A. A., Thomson, B. C., Whiteley, A. S., Bailey, M., & Griffiths, R. I. (2017). Bacterial physiological adaptations to contrasting edaphic conditions identified using landscape scale metagenomics. *mBio*, 8(4).
- Oren, A., & Garrity, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(10).
- Bulgarelli, D., Schlaeppli, K., Spaepen, S., Themaat, E. V. L. van, & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 807–838.
- Barajas, H. R., Martínez-Sánchez, S., Romero, M. F., Álvarez, C. H., Servín-González, L., Peimbert, M., Cruz-Ortega, R., García-Oliva, F., & Alcaraz, L. D. (2020). Testing the Two-Step Model of Plant Root Microbiome Acquisition Under Multiple Plant Species and Soil Sources. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Hernández-Álvarez, C., García-Oliva, F., Cruz-Ortega, R., Romero, M. F., Barajas, H. R., Piñero, D., & Alcaraz, L. D. (2022). Squash root microbiome transplants and metagenomic inspection for *in situ* arid adaptations. *Science of The Total Environment*, 805, 150136.
- Romero, M. F., Gallego, D., Lechuga-Jiménez, A., Martínez, J. F., Barajas, H. R., Hayano-Kanashiro, C., Peimbert, M., Cruz-Ortega, R., Molina-Freaner, F. E., & Alcaraz, L. D. (2021). Metagenomics of mine tailing rhizospheric communities and its selection for plant establishment towards bioremediation. *Microbiological Research*, 247, 126732.
- Jara-Servin, A., Silva, A., Barajas, H., Cruz-Ortega, R., Tinoco-Ojanguren, C., & Alcaraz, L. D. (2023). Root microbiome diversity and structure of the Sonoran desert buffelgrass (*Pennisetum ciliare* L.). *PLOS ONE*, 18(5).
- Alcaraz, L. D., Peimbert, M., Barajas, H. R., Dorantes-Acosta, A. E., Bowman, J. L., & Arteaga-Vázquez, M. A. (2018). *Marchantia* liverworts as a proxy to plants' basal microbiomes. *Scientific Reports*, 8(1), 12712.
- Alcaraz, L. D., Martínez-Sánchez, S., Torres, I., Ibarra-Laclette, E., & Herrera-Estrella, L. (2016). The Metagenome of *Utricularia gibba*'s Traps: Into the Microbial Input to a Carnivorous Plant. *PLOS ONE*, 11(2).
- Bowman, J. L. (2016). A Brief History of *Marchantia* from Greece to Genomics. *Plant and Cell Physiology*, 57(2), 210–229.
- de Souza, R. S. C., Armanhi, J. S. L., & Arruda, P. (2020). From Microbiome to Traits: Designing Synthetic Microbial Communities for Improved Crop Resiliency. *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Armanhi, J. S. L., de Souza, R. S. C., Damasceno, N. de B., de Araújo, L. M., Imperial, J., & Arruda, P. (2018). A community-based culture collection for targeting novel plant growth-promoting bacteria from the sugarcane microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8.

26. Armanhi, J. S. L., de Souza, R. S. C., Biazotti, B. B., Yassitepe, J. E. de C. T., & Arruda, P. (2021). Modulating Drought Stress Response of Maize by a Synthetic Bacterial Community. *Frontiers in Microbiology*, 12.
27. Aleklett, K., Kiers, E. T., Ohlsson, P., Shimizu, T. S., Caldas, V. E., & Hammer, E. C. (2018). Build your own soil: Exploring microfluidics to create microbial habitat structures. In *ISME Journal*, 12(2).
28. Lebre, P. H., De Maayer, P., & Cowan, D. A. (2017). Xerotolerant bacteria: Surviving through a dry spell. In *Nature Reviews Microbiology*, 15(5).
29. Mueller, U. G., & Sachs, J. L. (2015). Engineering Microbiomes to Improve Plant and Animal Health. In *Trends in Microbiology*, 23(10).
30. Jochum, M. D., McWilliams, K. L., Pierson, E. A., & Jo, Y. K. (2019). Host-mediated microbiome engineering (HMME) of drought tolerance in the wheat rhizosphere. *PLoS ONE*, 14(12).
31. Styer, A., Pettinga, D., Caddell, D., & Coleman-derr, D. (2024). Improving rice drought tolerance through host-mediated microbiome selection. *bioRxiv*.
32. Barragán-Ocaña, A., & Del-Valle-Rivera, M. del C. (2016). Rural development and environmental protection through the use of biofertilizers in agriculture: An alternative for underdeveloped countries? *Technology in Society*, 46.
33. Hernández-Álvarez, C., Peimbert, M., Rodríguez-Martin, P., Trejo-Aguilar, D., & Alcaraz, L. D. (2023). A study of microbial diversity in a biofertilizer consortium. *PLoS ONE*, 18.
34. Trejo-Aguilar, D., & Banuelos, J. (2020). Isolation and Culture of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Field Samples. In *Methods in Molecular Biology*, 2146.
35. Arriaga, L., Castellanos, A. E., Moreno, E., & Alarcón, J. (2004). Potential Ecological Distribution of Alien Invasive Species and Risk Assessment: A Case Study of Buffel Grass in Arid Regions of Mexico. *Conservation Biology*, 18(6), 1504–1514.
36. Tinoco-Ojanguren, C., Díaz, A., Martínez, J., & Molina-Freaner, F. (2013). Species diversity and regeneration of native species in *Pennisetum ciliare* (buffelgrass) pastures from the thornscrub of Sonora, México. *Journal of Arid Environments*, 97, 26–37.
37. Singh, S. K., Wu, X., Shao, C., & Zhang, H. (2022). Microbial enhancement of plant nutrient acquisition. *Stress Biology*, 2(1), 3.
38. Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Koprivova, A., & Kopriva, S. (2017). The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition—Current Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Plant Science*, 8.
39. Jones, D. L., Nguyen, C., & Finlay, R. D. (2009). Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil–root interface. *Plant and Soil*, 321(1), 5–33.
40. Badri, D. V., Quintana, N., Kassis, E. G. E., Kim, H. K., Choi, Y. H., Sugiyama, A., Verpoorte, R., Martinoia, E., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2009). An ABC Transporter Mutation Alters Root Exudation of Phytochemicals That Provoke an Overhaul of Natural Soil Microbiota. *Plant Physiology*, 151(4).
41. Vives-Peris, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., & Pérez-Clemente, R. M. (2020). Root exudates: From plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Reports*, 39(1), 3–17.
42. Ma, W., Tang, S., Dengzeng, Z., Zhang, D., Zhang, T., & Ma, X. (2022). Root exudates contribute to belowground ecosystem hotspots: A review. *Frontiers in Microbiology*, 13.
43. Yu, P., He, X., Baer, M., Beirinckx, S., Tian, T., Moya, Y. A. T., Zhang, X., Deichmann, M., Frey, F. P., Bresgen, V., Li, C., Razavi, B. S., Schaaf, G., von Wirén, N., Su, Z., Bucher, M., Tsuda, K., Goormachtig, S., Chen, X., & Hochholdinger, F. (2021). Plant flavones enrich rhizosphere Oxalobacteraceae to improve maize performance under nitrogen deprivation. *Nature Plants*, 7(4), 481–499.
44. Fadji, A. E., Barmukh, R., Varshney, R. K., & Singh, B. K. (2023). Exploring the connectivity between rhizosphere microbiomes and the plant genes: A way forward for sustainable increase in primary productivity. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, 2(4), 424–443.
45. Van Der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(3), 296–310.
46. Wang, M., Ge, A.-H., Ma, X., Wang, X., Xie, Q., Wang, L., Song, X., Jiang, M., Yang, W., Murray, J. D., Wang, Y., Liu, H., Cao, X., & Wang, E. (2024). Dynamic root microbiome sustains soybean productivity under unbalanced fertilization. *Nature Communications*, 15(1), 1668.
47. Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: From community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 607–621.
48. Xu, L., Pierroz, G., Wipf, H. M.-L., Gao, C., Taylor, J. W., Lemaux, P. G., & Coleman-Derr, D. (2021). Hologomics for deciphering plant-microbiome interactions. *Microbiome*, 9(1), 69.
49. Rosenberg, E., & Zilber-Rosenberg, I. (2016). Microbes Drive Evolution of Animals and Plants: The Hologenome Concept. *mBio*, 7(2).
50. Ibarra-Laclette, E., Lyons, E., Hernández-Guzmán, G., Pérez-Torres, C. A., Carretero-Paulet, L., Chang, T.-H., Lan, T., Welch, A. J., Juárez, M. J. A., Simpson, J., Fernández-Cortés, A., Arteaga-Vázquez, M., Góngora-Castillo, E., Acevedo-Hernández, G., Schuster, S. C., Himmelbauer, H., Minoche, A. E., Xu, S., Lynch, M., ... Herrera-Estrella, L. (2013). Architecture and evolution of a minute plant genome. *Nature*, 498(7452), 94–98.
51. Freund, M., Graus, D., Fleischmann, A., Gilbert, K. J., Lin, Q., Renner, T., Stigloher, C., Albert, V. A., Hedrich, R., & Fukushima, K. (2022). The digestive systems of carnivorous plants. *Plant Physiology*, 190(1), 44–59.
52. Ibarra-Laclette, E., Albert, V. A., Pérez-Torres, C. A., Zamudio-Hernández, F., Ortega-Estrada, M. de J., Herrera-Estrella, A., & Herrera-Estrella, L. (2011). Transcriptomics and molecular evolutionary rate analysis of the bladderwort (*Utricularia*), a carnivorous

- plant with a minimal genome. *BMC Plant Biology*, 11(1), 101.
53. OneHealth High-LevelExpert Panel (OHHLEP), Adisasmito, W. B., Almuhairi, S., Behraves, C. B., Bilivogui, P., Bukachi, S. A., Casas, N., Cediell Becerra, N., Charron, D. F., Chaudhary, A., Ciacci Zanella, J. R., Cunningham, A. A., Dar, O., Debnath, N., Dungu, B., Farag, E., Gao, G. F., Hayman, D. T. S., Khaitsa, M., Koopmans, M. P. G., ... Zhou, L. (2022). One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. *PLoS Pathogens*, 18(6) e1010537.
  54. Carthey, A. J. R., Gillings, M. R., & Blumstein, D. T. (2018). The Extended Genotype: Microbially Mediated Olfactory Communication. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(11), 885–894.
  55. Banerjee, S., & van der Heijden, M. G. A. (2023). Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, 21(1), 6–20.
  56. Ma, L., Zhao, H., Wu, L. B., Cheng, Z., & Liu, C. (2023). Impact of the microbiome on human, animal, and environmental health from a One Health perspective. *Science in One Health*, 2.
  57. Ramírez-Puebla, S. T., Servín-Garcidueñas, L. E., Jiménez-Marín, B., Bolaños, L. M., Rosenblueth, M., Martínez, J., Rogel, M. A., Ormeño-Orrillo, E., & Martínez-Romero, E. (2013). Gut and Root Microbiota Commonalities. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(1), 2–9.
  58. Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), 1823–1836.
  59. Casadevall, A., & Pirofski, L. (2014). Microbiology: Ditch the term pathogen. *Nature*, 516(7530), 165–166.
  60. Dorador, C., Vila, I., Witzel, K.-P., & Imhoff, J. F. (2013). Bacterial and archaeal diversity in high altitude wetlands of the Chilean Altiplano. *Fundamental and Applied Limnology*, 182(2), 135–159.
  61. Elomari, M., Coroler, L., Verhille, S., Izard, D., & Leclerc, H. (1997). *Pseudomonas monteillii* sp. Nov., Isolated from Clinical Specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(3), 846–852.
  62. Hinton, D. M., & Bacon, C. W. (1995). *Enterobacter cloacae* is an endophytic symbiont of corn. *Mycopathologia*, 129(2), 117–125.
  63. Madhaiyan, M., Peng, N., & Ji, L. (2013). Complete Genome Sequence of *Enterobacter* sp. Strain R4-368, an Endophytic N-Fixing Gammaproteobacterium Isolated from Surface-Sterilized Roots of *Jatropha curcas* L. *Genome Announcements*, 1(4) e00544-13.
  64. Wei, C.-Y., Lin, L., Luo, L.-J., Xing, Y.-X., Hu, C.-J., Yang, L.-T., Li, Y.-R., & An, Q. (2014). Endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E promotes sugarcane growth. *Biology and Fertility of Soils*, 50(4), 657–666.
  65. Ortiz-Castro, R., Díaz-Pérez, C., Martínez-Trujillo, M., del Río, R. E., Campos-García, J., & López-Bucio, J. (2011). Transkingdom signaling based on bacterial cyclodipeptides with auxin activity in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(17), 7253–7258.



**Dr. Luis David Alcaraz Peraza**  
**ORCID: 0000-0003-3284-0605**

Se graduó como Biólogo en 2005 de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y obtuvo su doctorado en Biotecnología en 2009 en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav, Irapuato). Completó estancias postdoctorales en Valencia, España y en Ontario, Canadá, antes de incorporarse en 2012 en la UNAM, donde actualmente es Investigador Titular B en el Departamento de Biología Celular, de la Facultad de Ciencias. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores, con nivel II. Recibió el Reconocimiento Distinción Universidad Nacional para Jóvenes Académicos en 2020 de la UNAM y ha sido reconocido por su investigación en Microbiología Molecular y es editor académico en varias revistas científicas importantes. Cuenta con 72 publicaciones y 3,673 citas. Su laboratorio se enfoca en la genómica ambiental, trabajando desde bacterias ambientales, microbiomas humanos y probando la interacción huesped-bacteria en las raíces de plantas.



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

# Microbiomas del metro, un viaje por los trenes urbanos del mundo

## Microbiomes Commuting in the Subway System

Peimbert, Mariana  

Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa.

✉ Av. Vasco de Quiroga 4871, Col. Santa Fe Cuajimalpa, Alcaldía Cuajimalpa de Morelos, Cd. de México, C.P. 05300, México. Cubículo 829. Tel: +52 (55) 5814 6500, Ext. 3875; [mpeimbert@cua.uam.mx](mailto:mpeimbert@cua.uam.mx)

Editor responsable: Héctor Riveros-Rosas

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.19>

Recibido: 16 de febrero de 2024

Revisado: 14 de mayo de 2024

Aceptado: 24 de mayo de 2024

### Resumen

Los estudios de los microbiomas en sistemas de metro han revelado una rica biodiversidad microbiana, que refleja la compleja interacción entre los humanos y su entorno urbano. Estos estudios, posibilitados por el avance en tecnologías de secuenciación y análisis microbiológico, han mostrado que los sistemas de metro albergan principalmente microorganismos procedentes de la piel humana, y algunos otros del entorno ambiental. Estas investigaciones han evidenciado la rapidez y dinamismo con que se establecen y cambian los microbiomas en estos espacios, destacando el papel de los sistemas de metro (trenes urbanos) en la transmisión microbiana y su posible participación en la salud pública. Además, la presencia de genes de resistencia a antibióticos muestra que los sistemas de metro son un reflejo de las prácticas sanitarias y los hábitos de vida de la población urbana. Las investigaciones en este campo han abierto importantes interrogantes sobre la viabilidad y actividad metabólica de estos microorganismos, así como sobre la presencia y relevancia de patógenos en estos entornos.

### Abstract

Studies of microbiomes in subway systems have revealed a rich microbial biodiversity, reflecting the complex interaction between humans and their urban environment. Enabled by advances in sequencing technologies and microbiological analysis, these studies have shown that subways primarily harbor microorganisms originating from human skin, along with some from the environmental surroundings. These investigations have highlighted the speed and dynamism with which microbiomes establish and change in these spaces, emphasizing the role of subway systems in microbial transmission and their potential involvement in public health. Furthermore, the presence of antibiotic resistance genes indicates that subways mirror the sanitary practices and lifestyle habits of the urban population. Research in this field has opened significant questions about the viability and metabolic activity of these microorganisms, as well as the presence and relevance of pathogens in these environments.

*Palabras claves:* microbiomas urbanos, metagenomas, sistemas de transporte.

*Keywords:* urban microbiomes, metagenomes, transport systems.

## Introducción

En el interior de los sistemas de metro de nuestras ciudades, donde millones de personas se cruzan cada día, habita un mundo microscópico poco conocido. Estos espacios no sólo transportan pasajeros de un punto a otro, sino que también sirven como redes de interacción continua entre personas y microorganismos, algunos de los cuales tienen el potencial de afectar nuestra salud, para bien y para mal, de maneras que apenas estamos comenzando a comprender. El estudio de los microbiomas en estos sistemas de metro refleja la diversidad biológica y cultural de una metrópolis, adicionalmente, ofrece una oportunidad para monitorear y potencialmente prevenir problemas de salud pública antes de que se manifiesten a gran escala. Este texto explora cómo las técnicas de secuenciación masiva nos han permitido empezar a entender estos ecosistemas urbanos.

Gracias a los avances en tecnologías de secuenciación masiva y análisis microbiológicos libres de cultivo, ahora podemos examinar la diversidad microbiana con mucho más detalle, transformando la microbiología de una ciencia centrada en patógenos a una enfocada en comunidades y relaciones entre micro y macroorganismos. Esto ha dado lugar a una conclusión que en otro momento era difícil de imaginar, la mayoría de las bacterias con las que convivimos no son patógenas y muchas son esenciales para nuestras funciones metabólicas y nutricionales, influyendo en nuestra salud de múltiples maneras (1).

El microbioma humano, con sus aproximadamente 45 millones de genes codificantes, posee un potencial metabólico mucho mayor que el del propio genoma humano (2). Este microbioma tiene impactos sorprendentes en la salud, desde la producción de metabolitos que influyen en el eje intestino-cerebro, hasta su influencia en prevenir enfermedades orales como las caries (3, 4). Además, se está redefiniendo la concepción de salud y enfermedad, considerando desequilibrios en la microbiota como posibles causantes de enfermedades multifactoriales (5).

El cuerpo humano se entiende ahora como un ecosistema complejo, donde la interacción entre los microorganismos y nosotros forma parte de una vida saludable. La ecología microbiana está proporcionando nuevas perspectivas sobre cómo se establecen y transfieren estas comunidades. La perspectiva holística ha llevado a la OMS a proponer el enfoque "One health" en el que se piensa la salud de forma integral y estrechamente vinculada entre las personas, los animales y los ecosistemas. Dado este contexto amplio, los microbiomas urbanos, especialmente en los entornos construidos, ofrecen un campo de estudio fascinante que merece una atención

detallada. Cada ser humano es un mundo único de colonización microbiana, que comienza desde el nacimiento y continúa a lo largo de la vida. Sabemos que cada persona vive con sus microbiomas y todo el tiempo genera bioaerosoles y descamaciones, estas partículas suspendidas forman una nube alrededor de cada persona que va dejando una huella a su paso (6) (Figura 1). Los estudios sobre cómo se establece y transmite el microbioma en diferentes hábitats del cuerpo humano son extensos, pero el conocimiento sobre la dinámica de transmisión y resiliencia del microbioma en nuestros entornos cotidianos, como hogares, oficinas, hospitales y medios de transporte, está apenas emergiendo.

### Definiciones:

La *microbiota* es la comunidad de microorganismos vivos que habitan un ambiente particular, como por ejemplo, el intestino humano.

El *microbioma* es el conjunto formado por los microorganismos, sus genes, sus metabolitos y demás características ambientales.

## Los microbiomas urbanos

Las microbiotas de los entornos construidos están determinadas por sus ocupantes, la relación con el exterior y factores como el diseño arquitectónico y el uso de los edificios. Es decir, estos entornos constan de habitaciones y objetos con diferentes comunidades microbianas (7). Por ejemplo, las diferentes superficies de un baño tienen distintas fuentes microbianas; el suelo se asemeja al suelo exterior, los grifos se parecen a la piel humana y el inodoro contiene señales microbianas del microbioma intestinal humano (8). Por su parte, los materiales porosos promueven la acumulación de polvo y humedad, permitiendo el crecimiento de organismos ambientales; mientras que los materiales lisos y algunas pinturas solo permiten la viabilidad de algunas bacterias (29).

Además, el microbioma de interiores depende del diseño arquitectónico, el flujo de personas, la dinámica del aire y si la ventilación es natural o mecánica. Cuando los edificios están bien ventilados, el microbioma del aire se asemeja al del exterior. Los microbiomas en exteriores dependen del tipo de construcciones y áreas verdes en las inmediaciones, incluyendo señales microbianas del suelo, las plantas y la piel humana. La concentración de CO<sub>2</sub> en interiores es un buen indicador de una ventilación adecuada y de la contribución de los microbiomas exteriores a los interiores. En contraste, en edificios mal ventilados, las señales microbianas de humanos,

animales, plantas y posiblemente mohos son más evidentes. Curiosamente, en interiores las comunidades bacterianas dependen más de los

ocupantes, mientras que las comunidades fúngicas interiores se parecen más a las del exterior (9).



**Figura 1. Nubes de microbiomas.** Las personas emiten una nube de partículas con microorganismos, de esta manera las personas van dejando su huella microbiana en los espacios que transitan.

En ecología se considera que los dos procesos más importantes para entender el flujo de organismos son la dispersión y la selección (10). La dispersión entre personas y el medio ambiente puede ser directa, como en el contacto físico con una superficie, o indirecta, como en la exhalación de bioaerosoles o la descamación de la piel. Por otro lado, la selección se refiere a que las condiciones ambientales específicas sólo permiten el establecimiento de algunos organismos. Estos dos procesos causan similitudes entre los microbiomas en algunas superficies. Por ejemplo, los microbiomas de los bancos en dos gimnasios diferentes son más similares entre sí que los microbiomas de los bancos y las pesas libres en el mismo gimnasio (11). Entender estos complejos entornos y sus microbiotas requiere métodos de estudio sofisticados que describo a continuación.

### ¿Cómo estudiamos estos microbiomas?

Los métodos de estudio actuales se basan en técnicas moleculares, principalmente en la

secuenciación de ADN, que permite un análisis más detallado y extenso de las comunidades microbianas. Los estudios comienzan por el diseño experimental y la toma de muestras. El estudio de los microbiomas de los metros se ha centrado tanto en muestras de superficies como de aire. En el caso de superficies las muestras se recolectan mediante hisopados en diferentes tipos de objetos como la repisa de las taquillas, los tubos y las barandillas; mientras que las muestras de aerosoles son recolectadas mediante impactadores (equipos que dirigen el aire a una caja petri), sistemas de filtración y otros equipos especializados. Una vez obtenida la muestra se lleva al laboratorio y se purifica el ADN total. Existen diversas metodologías sobre qué y cómo secuenciar. Una técnica común es la secuenciación de amplicones del gen 16S ribosomal que nos brinda un panorama detallado de las bacterias presentes. Por otro lado, la secuenciación tipo escopeta, que implica secuenciar aleatoriamente pequeños fragmentos de ADN, no proporciona un análisis taxonómico tan exhaustivo, sin embargo, nos permite identificar una gama más

amplia de organismos, incluyendo virus y hongos. Además, esta técnica es útil para explorar aspectos funcionales y metabólicos como la resistencia a los antibióticos o la capacidad de producir toxinas. En ocasiones, mediante la secuenciación tipo escopeta, se pueden reconstruir genomas completos, aunque esto sólo es posible cuando se ha invertido una cantidad significativa de recursos para secuenciar a profundidad. Las técnicas de secuenciación masiva de ADN tienen la ventaja de que podemos observar microorganismos que no sabemos cómo crecer en el laboratorio y también aquellos organismos raros que son poco abundantes.

Existe un consorcio de investigadores a nivel mundial, MetaSUB, que tiene como objetivo entender los microbiomas urbanos y en particular los microbiomas de los sistemas del metro. Este grupo ha establecido algunas características metodológicas para poder comparar datos de diferentes partes del mundo llevados a cabo en diferentes años por diferentes investigadores (12).

### El microbioma del metro

Como punto de partida, el microbioma de los sistemas de metro comparte muchas similitudes con otros entornos urbanos, como casas, escuelas, hospitales y gimnasios. Sin embargo, los sistemas de metro se distinguen por su alta densidad de población; un claro ejemplo es el metro de la Ciudad de México, que recibe más de 4 millones de pasajeros diarios (13), una cifra que supera la población total de ciudades como Buenos Aires (14). Además, no hay que olvidar que cada persona viaja con sus  $3.8 \times 10^{13}$  células bacterianas (15), y va dejando a su paso una nube microbiana, lo que da como resultado un vasto reservorio de microorganismos.

Los metros no solo son importantes por su función de transporte, sino que actúan como verdaderas redes urbanas, canalizando flujos constantes de pasajeros que provienen de diversas ubicaciones y que permanecen en el sistema por períodos breves, desde unos minutos hasta unas pocas horas. La infraestructura del metro está meticulosamente diseñada para manejar estas multitudes: escaleras, corredores, túneles y plataformas están organizados para dirigir eficazmente el flujo de personas. Además, todos los elementos, desde las barandillas hasta las máquinas expendedoras de boletos y los quioscos, están pensados para una función muy específica, mientras que los sistemas de ventilación están especialmente adaptados para las necesidades climáticas de cada ciudad.

Por otro lado, los sistemas de metro desempeñan un papel más amplio en la vida urbana, funcionando como espacios públicos que reflejan y contribuyen a

la identidad cultural de la ciudad. Son utilizados para eventos culturales y sociales, y en situaciones de emergencia, pueden transformarse en refugios temporales para personas sin hogar o servir como refugios antiaéreos. Sin embargo, es importante considerar que, durante las horas pico, estos espacios pueden llegar a estar sobrepoblados, y sus áreas menos accesibles pueden albergar fauna urbana como ratas, cucarachas o palomas, lo que añade otra dimensión a la compleja ecología de los sistemas de metro.

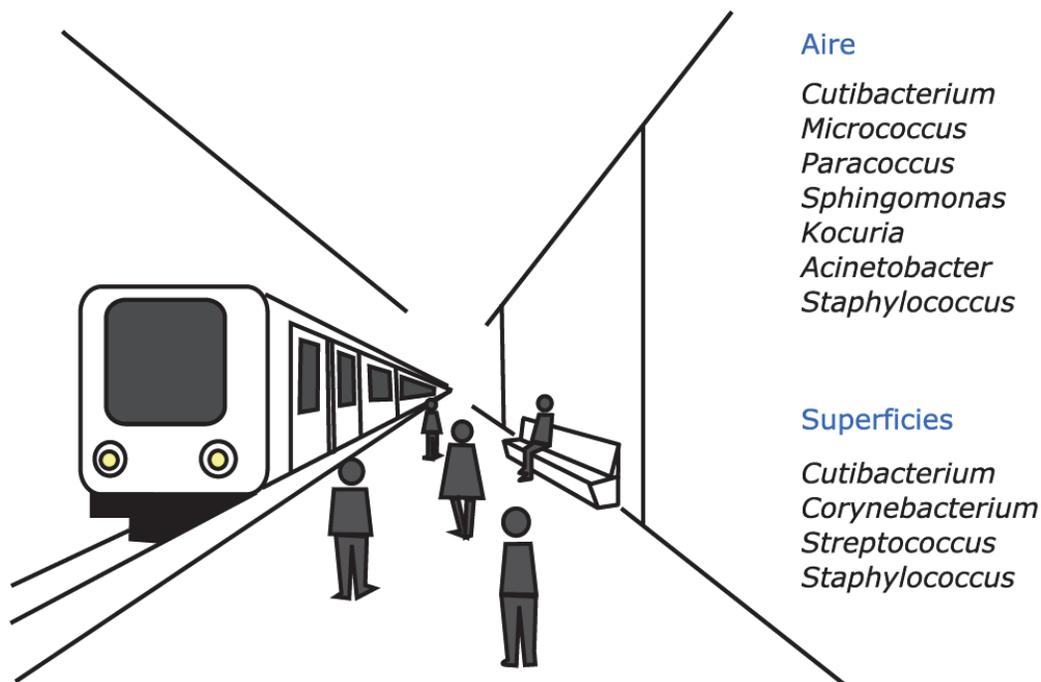
En las diferentes superficies de los metros se han encontrado más de 4000 especies microbianas conocidas, incluyendo bacterias, arqueas y hongos (12). El estudio por secuenciación masiva de las microbiotas muchas veces se centra exclusivamente en el estudio de las bacterias, esto responde tanto a cuestiones metodológicas como al vasto conocimiento que tenemos sobre los genomas bacterianos que nos permite hacer interpretaciones más precisas y profundas. El microbioma de los sistemas de metro está compuesto principalmente por bacterias de origen humano, especialmente aquellas relacionadas con la piel, y organismos del medio ambiente provenientes del suelo, el agua y la vegetación. A pesar de que las bacterias más abundantes son iguales en todo el mundo, el conjunto de microorganismos y en particular las bacterias poco frecuentes son responsables de diferencias entre los sistemas de metro, dándole una huella bacteriana específica a cada ciudad estudiada (17).

Los phyla bacterianos más abundantes en los microbiomas del metro incluyen Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacteria. Por su lado, las especies fúngicas encontradas pertenecen principalmente a los filos Ascomycota y Basidiomycota, aunque la prevalencia de Basidiomycota varía significativamente entre diferentes sistemas de metro (16).

En el metro de la Ciudad de México, los géneros dominantes de bacterias son *Cutibacterium* (*Propionibacterium*), *Corynebacterium*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*, con una alta diversidad en las comunidades posiblemente relacionada con el gran número de usuarios (Figura 2). Una característica peculiar de las comunidades bacterianas del metro de la CDMX es que son homogéneas, todas las muestras se parecen y no se agrupan por línea, zona de la ciudad, tipo de estación, o de entorno (18). Esto contrasta con lo que sucede en otras ciudades como Nueva York donde las muestras se agrupan por barrio y por el entorno exterior, o lo que sucede en Hong Kong que las muestras se agrupan por el lado del río al que pertenecen (19, 20). La Ciudad de México no es homogénea en su paisaje urbanístico, pues hay zonas industriales, semirurales, habitacionales, comerciales, verdes, etc. Tampoco es homogénea en

cuanto a cuestiones culturales, existen grandes diferencias socioeconómicas entre las personas y de estas resultan diferencias en los hábitos de alimentación e higiene. Por esto parecería que la homogeneidad del sistema de la ciudad de México

tiene que ver con los grandes recorridos que llevan a cabo las personas todos los días, que hace que éstas se encuentren y generen un sistema homogéneo (18).



**Figura 2.** Bacterias dominantes en los sistemas de metro.

La interacción microbiana en los metros es rápida y dinámica, como lo demuestra la notable transformación del microbioma de las manos que puede ocurrir en cuestión de minutos. Este cambio tiende a homogeneizar los microbiomas de los pasajeros, haciendo que, aunque las firmas individuales persisten, al final del viaje las personas muestran mayores similitudes en su composición microbiana (21). Paralelamente, se ha observado que las bacterias recolonizan rápidamente las barandillas de los metros minutos después de ser limpiadas profundamente, evidenciando la constante renovación de estos microorganismos (21). Además, el microbioma del metro responde significativamente al comportamiento humano, variando su composición entre la mañana y la tarde, como se ha observado en estudios realizados en el metro de Hong Kong (20).

### MetaSub (los metros de 60 ciudades)

La microbiota de las superficies se ha caracterizado mediante secuenciación profunda, lo cual ha permitido obtener una imagen completa del

componente bacteriano y sus características de resistencia a los antimicrobianos en diversas regiones geográficas del mundo. El consorcio internacional de Metagenómica y Metadiseño de Metros y Biomas Urbanos (MetaSUB) analizó casi 5000 muestras de 60 ciudades, proporcionando un atlas mundial de la comunidad microbiana de los sistemas de metro (12).

Con estos datos se han podido ensamblar los genomas de aquellas cepas dominantes (las de mayor abundancia). A este tipo de genomas se les conoce como MAG (Metagenome-Assembled Genome). Shi y colaboradores (22) lograron ensamblar más de mil genomas de alta calidad (esto quiere decir que tienen más del 90% de cobertura y menos del 0.5 % de heterogeneidad de cepa), la mayoría de los MAG corresponden a *Cutibacterium acnes* y cientos corresponden a bacterias no descritas con anterioridad. El número de bacterias no conocidas por ciudad se correlaciona positivamente con el tamaño de la población. Estos estudios a profundidad también permitieron la identificación de genes de resistencia a antibióticos (AMR, del inglés antimicrobial resistance). A nivel global se ha encontrado con

mayor frecuencia la resistencia a dos clases de antibióticos: macrólidos (MLS, del inglés macrolides, lincosamidas and streptogramins) y betalactámicos (12). Estos antibióticos son usados con frecuencia en el tratamiento de una amplia variedad de infecciones. La identificación de AMR corrobora lo que desde hace tiempo se sabe, que existen muchos organismos no patógenos que adquieren la resistencia a antibióticos mediante la propagación desde diversas fuentes, como pudieran ser hospitales, granjas, cultivos y aguas residuales (23).

Como parte de este estudio multicidad se identificaron 31 especies (para ser precisos ASV, amplicon sequence variant) que están presentes en más del 97% de las ciudades. A estas se les considera el núcleo del microbioma de los diferentes sistemas del metro. También se detectaron 1,145 especies que están en más del 70% de las ciudades y se denominan el núcleo extendido (12). Esto quiere decir, que los metros del mundo tienen muchas semejanzas en cuanto a los microorganismos que los habitan, independientemente de las diferencias ambientales, arquitectónicas, flujo de pasajeros o diferencias culturales de los pasajeros. A pesar de lo anterior y de que las comunidades de microorganismos lleguen a tener claras diferencias durante las horas del día, los cambios estacionales o las zonas de la Ciudad, es notable que las muestras de un sistema se agrupan claramente entre sí.

De esta forma, la descripción de los microbiomas del metro se asemeja a lo que sucede en el microbioma humano, hay características generales y se pueden observar muchos patrones, pero aun así hay señales propias de cada persona. Por eso se dice que existe una huella en cada sistema del metro y esta corresponde tanto a cuestiones ambientales y urbanísticas, así como a los hábitos culturales de los usuarios del sistema.

### Bioaerosoles

Sobre los bioaerosoles del aire se sabe mucho menos que sobre las superficies. Hay menos estudios de aire debido a que la densidad de organismos en el aire es mucho menor que en las superficies, además se requiere de equipo especializado y los datos son más difíciles de comparar pues no se tiene un método estandarizado para la toma y procesamiento de muestras. Los organismos más abundantes en el aire que circula en el metro incluyen bacterias como *Cutibacterium*, *Micrococcus*, *Paracoccus*, *Sphingomonas*, *Kocuria*, *Acinetobacter* y *Staphylococcus* (24). Las comunidades del metro no son significativamente diferentes con aquellas del aire exterior al metro. Los modelos sugieren que el polvo de las superficies se resuspende y los

bioaerosoles se precipitan de tal forma que las superficies y el aire están fuertemente comunicados. Sin embargo, las bacterias dominantes del aire no son las mismas que en las superficies (25). A pesar de las dificultades que existen para la toma y procesamiento de muestras de aire, resulta relevante seguir con estos estudios y tratar de estandarizarlos, pues sabemos que muchas enfermedades se transmiten a través de aerosoles usando como puerta de entrada la nariz y la boca.

Existen algunos estudios sobre la calidad del aire que muestran que la concentración de CO<sub>2</sub> se correlaciona con la cantidad de pasajeros, y en las estaciones subterráneas el CO<sub>2</sub> suele llegar a valores más altos que aquellos considerados saludables. En diferentes ciudades se han tomado medidas para mejorar la ventilación y así disminuir el CO<sub>2</sub> y también disminuir el número de partículas suspendidas. Algunas de estas medidas han sido colocar filtros magnéticos o hacer una limpieza profunda de los túneles. De cualquier manera, la calidad del aire en las estaciones subterráneas sigue siendo un problema por resolver (26).

### ¿Hay ántrax en el metro Nueva York?

Hace casi una década, en los primeros estudios del microbioma del metro de Nueva York (19), se informó sobre la presencia de *Bacillus anthracis*, el agente causante del ántrax (carbunco). Sin embargo, análisis más detallados arrojaron luz sobre un hallazgo interesante. Aunque en las muestras se detectaron secuencias genéticas típicamente asociadas con *Bacillus anthracis*, no se encontró evidencia del gen que codifica para la toxina del ántrax, responsable de la letalidad de este microorganismo. Los resultados sugirieron la presencia de cepas de *Bacillus* muy similares a *Bacillus anthracis*, pero sin la capacidad de producir la toxina letal, desafiando así las conclusiones iniciales (27). Este descubrimiento indica que podrían existir nuevas cepas de *Bacillus* en el ambiente del metro, similares a *B. cereus* y *B. anthracis* pero no tóxicas. Este hallazgo es crucial ya que subraya la importancia de realizar análisis profundos y detallados para comprender adecuadamente la diversidad microbiana en entornos urbanos y evitar conclusiones apresuradas que conduzcan a la población a tener miedo de usar el sistema de transporte, y a su forma de vida cotidiana.

### Los virus del metro

Más allá de las bacterias, los virus también juegan un papel crucial en los ecosistemas del metro, aunque son menos comprendidos. Para el análisis del viroma

nos enfrentamos a una complejidad aún mayor que con las bacterias por diversas razones. En primer lugar, muchos virus son de ARN, lo que implica la necesidad de utilizar metodologías de laboratorio específicas y diferentes de las utilizadas para el análisis del ADN. Además, las partículas virales son más pequeñas y, por lo tanto, resultan mucho más difíciles de capturar en las muestras. Por si esto fuera poco, nuestro conocimiento sobre los viomas es muy limitado y hasta ahora, la mayoría de los estudios de fisiología viral se han centrado en aquellos virus que causan problemas de salud graves en humanos o que afectan a organismos de alta relevancia económica. Sin embargo, sabemos que existe una gran variedad de virus que infectan bacterias, plantas, hongos e incluso insectos como las cucarachas. Por lo tanto, la identificación de estos virus representa un gran desafío, incluso para el análisis de los microbiomas humanos, que son los que mejor conocemos. Esta falta de conocimiento sobre una amplia gama de virus significa que hay un vasto mundo viral aún por explorar y entender, lo cual es necesario para obtener una imagen completa de los ecosistemas microbianos en cualquier entorno, incluidos los sistemas de metro.

En el estudio a profundidad de las 60 ciudades se identificaron 10,928 genomas virales de los cuales el 94% no se parecen a virus de otros ambientes y por lo pronto no sabemos qué organismos infectan ni tampoco su relevancia ecológica o en la salud. De aquellos virus que sí se pudieron identificar sabemos que no todos son de humanos, muchos son virus bacterianos que participan en regular la abundancia de algunas poblaciones de bacterias (22).

Para detectar los virus de relevancia epidemiológica, se utiliza una técnica específica conocida como PCR cuantitativa (qPCR) (28). Esta técnica es la misma que se utiliza en los laboratorios clínicos para diagnosticar a las personas. Para esto, se requieren sondas diseñadas para detectar y cuantificar virus específicos como el SARS o el virus de influenza. El proceso implica la amplificación de segmentos del material genético del virus, lo que permite identificar su presencia incluso en cantidades muy pequeñas. Gracias a su alta sensibilidad y especificidad, la qPCR se ha convertido en la herramienta preferida para monitorear la presencia de estos virus en diferentes ambientes. Si bien esta técnica es poderosa incluso cuando hay muy pocas partículas virales, no permite estudiar la diversidad viral, ni de los virus en general ni de las cepas particulares que están presentes. En Barcelona, este tipo de estudios ha permitido monitorear cómo cambia la presencia del virus de la influenza durante el invierno (28).

## Retos en el estudio del microbioma del metro

Los estudios microbiológicos libres de cultivos nos han abierto los ojos a un mundo antes desconocido, pero de ninguna manera reemplazan a los estudios clásicos de fisiología bacteriana. En particular en los estudios de microbiomas urbanos existen grandes interrogantes que no se pueden responder fácilmente y siguen siendo un reto para la comprensión de estos ecosistemas (29), algunas de las preguntas que seguirán en el aire por una temporada se describen a continuación.

### *¿Están metabólicamente activos los microorganismos que observamos?*

Una preocupación constante cuando se hacen estudios microbiológicos libres de cultivo es saber si las bacterias detectadas están creciendo, se encuentran latentes o muertas. En el caso de los edificios y otras construcciones es particularmente relevante pues en el aire, como en muchas superficies, hay pocas fuentes de nutrientes y están expuestos a la desecación. Por esto se ha propuesto que la mayoría de las bacterias no están en crecimiento, de tal forma que el metro es sólo un sumidero ecológico. Es decir, las bacterias provienen de otros espacios (fuentes ecológicas), se suben al metro, están latentes un rato en el ambiente y si no llegan a un lugar con mejores condiciones de crecimiento, eventualmente mueren. Las interacciones ecológicas más importantes como la competencia y la cooperación sólo suceden en sistemas metabólicamente activos, por lo que para entender cómo interaccionan los microorganismos entre sí es relevante saber el estado metabólico de cada especie detectada.

### *¿Qué organismos patógenos hay?*

Detectar organismos patógenos es sumamente difícil puesto que suelen existir cepas de las mismas especies que no tienen la capacidad de infección, por ejemplo, cepas entéricas que no tienen las islas de patogenicidad. Para detectar los organismos patógenos es necesario ensamblar los genomas completos (MAG), y esto requiere que la secuenciación tipo escopeta se lleve a cabo a profundidad y que sean organismos abundantes en la muestra. Más allá de eso, la detección de organismos patógenos no indica que estén vivos y que puedan infectar a las personas.

### *¿Qué pasa con los microorganismos que no se parecen a lo que hay en las bases de datos?*

Otra limitación importante en el estudio de los microbiomas ambientales radica en que muchas de las bacterias encontradas no están registradas en las bases de datos existentes. Esto se debe a que dichas

bacterias no han sido estudiadas en laboratorio e incluso algunas no se han observado en otros ambientes. En la mayoría de los casos, desconocemos los requisitos específicos para su crecimiento y, por lo tanto, no podemos cultivarlas para su análisis fisiológico. Esta falta de información en las bases de datos hace que sea difícil identificar con precisión todas las bacterias que estamos observando y su rol en el ecosistema. En consecuencia, a pesar de los avances tecnológicos en la secuenciación del ADN, aún enfrentamos el desafío de no conocer completamente la diversidad microbiana presente en estos entornos complejos y ricos en microorganismos.

## Conclusiones

Los sistemas de metro son mucho más que una forma para el desplazamiento urbano. Estos sistemas reflejan y afectan la salud de sus usuarios a través de

complejas interacciones microbiológicas. Comprender mejor estos ecosistemas microbianos permite anticiparnos y posiblemente prevenir impactos negativos en la salud pública. Por tanto, estos hallazgos no solo enriquecen nuestra comprensión científica, sino que también ofrecen directrices prácticas para mejorar la sanidad en los sistemas de transporte y tomar otras medidas de salud pública.

El camino hacia un entendimiento integral de los microbiomas urbanos está apenas en sus etapas iniciales, pero cada nuevo descubrimiento nos acerca más a ciudades más saludables y sostenibles. La colaboración entre microbiólogos, urbanistas, y profesionales de la salud será crucial para transformar nuestros descubrimientos en acciones concretas que beneficien a todos los usuarios del metro y, por extensión, a la población urbana en general.

## Referencias

- Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell research*, 30(6), 492–506.
- Tierney, B. T., Yang, Z., Lubber, J. M., Beaudin, M., Wibowo, M. C., Baek, C., ... & Kostic, A. D. (2019). The landscape of genetic content in the gut and oral human microbiome. *Cell host & microbe*, 26(2), 283–295.
- Martin, C. R., Osadchiy, V., Kalani, A., & Mayer, E. A. (2018). The brain-gut-microbiome axis. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 6(2), 133–148.
- Belda-Ferre, P., Alcaraz, L. D., Cabrera-Rubio, R., Romero, H., Simon-Soro, A., Pignatelli, M., & Mira, A. (2012). The oral metagenome in health and disease. *The ISME journal*, 6(1), 46–56.
- Sepich-Poore, G. D., Zitvogel, L., Straussman, R., Hasty, J., Wargo, J. A., & Knight, R. (2021). The microbiome and human cancer. *Science*, 371(6536), eabc4552.
- Meadow, J. F., Altrichter, A. E., Bateman, A. C., Stenson, J., Brown, G. Z., Green, J. L., & Bohannan, B. J. (2015). Humans differ in their personal microbial cloud. *PeerJ*, 3, e1258.
- Rai, S., Singh, D. K., & Kumar, A. (2021). Microbial, environmental and anthropogenic factors influencing the indoor microbiome of the built environment. *Journal of Basic Microbiology*, 61(4), 267–292.
- Flores, G. E., Bates, S. T., Knights, D., Lauber, C. L., Stombaugh, J., Knight, R., & Fierer, N. (2011). Microbial biogeography of public restroom surfaces. *PLoS one*, 6(11), e28132.
- Meadow, J. F., Altrichter, A. E., Kembel, S. W., Kline, J., Mhuireach, G., Moriyama, M., ... & Bohannan, B. J. (2014). Indoor airborne bacterial communities are influenced by ventilation, occupancy, and outdoor air source. *Indoor air*, 24(1), 41–48.
- Evans, S., Martiny, J. B., & Allison, S. D. (2017). Effects of dispersal and selection on stochastic assembly in microbial communities. *The ISME journal*, 11(1), 176–185.
- Wood, M., Gibbons, S. M., Lax, S., Eshoo-Anton, T. W., Owens, S. M., Kennedy, S., Gilbert, J. A., & Hampton-Marcell, J. T. (2015). Athletic equipment microbiota are shaped by interactions with human skin. *Microbiome*, 3, 25. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0088-3>
- The MetaSUB International Consortium. (2016). The metagenomics and metadesign of the subways and urban biomes. *Microbiome*, 24(4), 1–14.
- SEMOVI, Afluencia diaria del Metro CDMX. Recuperado 14 de mayo 2024, de <https://datos.cdmx.gob.mx/dataset/afluencia-diaria-del-metro-cdmx>
- Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Recuperado 14 de mayo 2024, de [https://www.argentina.gob.ar/caba#:~:text=Datos%20Jurisdiccionales,707%20habitantes%20\(Censo%202022\)](https://www.argentina.gob.ar/caba#:~:text=Datos%20Jurisdiccionales,707%20habitantes%20(Censo%202022)).
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS biology*, 14(8), e1002533.
- Danko, D., Bezdán, D., Afshin, E. E., Ahsanuddin, S., Bhattacharya, C., Butler, D. J., Chng, K. R., Donnellan, D., Hecht, J., Jackson, K., Kuchin, K., Karasikov, M., Lyons, A., Mak, L., Meleshko, D., Mustafa, H., Mutai, B., Neches, R. Y., Ng, A., Nikolayeva, O., ... International MetaSUB Consortium (2021). A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell*, 184(13), 3376–3393.e17.
- Ryan, F. J. (2019). Application of machine learning techniques for creating urban microbial fingerprints. *Biology direct*, 14, 1–13.

18. Hernández, A. M., Vargas-Robles, D., Alcaraz, L. D., & Peimbert, M. (2020). Station and train surface microbiomes of Mexico City's metro (subway/underground). *Scientific Reports*, 10(1), 8798.
19. Afshinnekoo, E., Meydan, C., Chowdhury, S., Jaroudi, D., Boyer, C., Bernstein, N., Maritz, J. M., Reeves, D., Gandara, J., Chhangawala, S., Ahsanuddin, S., Simmons, A., Nessel, T., Sundaresh, B., Pereira, E., Jorgensen, E., Kolokotronis, S.-O., Kirchberger, N., Garcia, I., ... Mason, C. E. (2015). Geospatial resolution of human and bacterial diversity with city-scale metagenomics. *Cell Systems*, 1(1), 72–87. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2015.01.001>
20. Kang, K., Ni, Y., Li, J., Imamovic, L., Sarkar, C., Kobler, M. D., Heshiki, Y., Zheng, T., Kumari, S., Wong, J. C. Y., Archana, A., Wong, C. W. M., Dingle, C., Denizen, S., Baker, D. M., Sommer, M. O. A., Webster, C. J., & Panagiotou, G. (2018). The environmental exposures and inner- and intercity traffic flows of the metro system may contribute to the skin microbiome and resistome. *Cell Reports*, 24(5), 1190–1202.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.109>
21. Vargas-Robles, D., Gonzalez-Cedillo, C., Hernandez, A. M., Alcaraz, L. D., & Peimbert, M. (2020). Passenger-surface microbiome interactions in the subway of Mexico City. *PLoS One*, 15(8), e0237272.
22. Wu, J., Danko, D., Afshinnekoo, E., Bezdán, D., Bhattacharyya, M., Castro-Nallar, E., Chmielarczyk, A., Hazrin-Chong, N. H., Deng, Y., Dias-Neto, E., Frolova, A., Mason-Buck, G., Iraola, G., Jang, S., Łabaj, P., Lee, P. K. H., Nieto-Caballero, M., Osuolale, O. O., Ouzounis, C. A., Perlin, M. H., ... Shi, T. (2022). Annotating unknown species of urban microorganisms on a global scale unveils novel functional diversity and local environment association. *Environmental research*, 207, 112183.
23. Klein, E. Y., Van Boeckel, T. P., Martinez, E. M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., Goossens, H., and Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 115, E3463–E3470.
24. Leung, M. H. Y., Tong, X., Bøifot, K. O., Bezdán, D., Butler, D. J., Danko, D. C., ... & Lee, P. K. H. (2021). Characterization of the public transit air microbiome and resistome reveals geographical specificity. *Microbiome*, 9(1), 112.
25. Gohli, J., Bøifot, K. O., Moen, L. V., Pastuszek, P., Skogan, G., Udekwi, K. I., & Dybwad, M. (2019). The subway microbiome: Seasonal dynamics and direct comparison of air and surface bacterial communities. *Microbiome*, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0772-9>
26. Yang, J., Fan, X., Zhang, H., Zheng, W., & Ye, T. (2023). A review on characteristics and mitigation strategies of indoor air quality in underground subway stations. *Science of The Total Environment*, 869, 161781.
27. Gonzalez, A., Vázquez-Baeza, Y., Pettengill, J. B., Ottesen, A., McDonald, D., & Knight, R. (2016). Avoiding pandemic fears in the subway and conquering the platypus. *Msystems*, 1(3), 1–3. <https://doi.org/10.1128/msystems.00050-16>
28. Triadó-Margarit, X., Veillette, M., Duchaine, C., Talbot, M., Amato, F., Minguillón, M. C., Martins, V., de Miguel, E., Casamayor, E. O., & Moreno, T. (2017). Bioaerosols in the Barcelona subway system. *Indoor Air*, 27(3), 564–575. <https://doi.org/10.1111/ina.12343>
29. Peimbert, M., & Alcaraz, L. D. (2023). Where environmental microbiome meets its host: Subway and passenger microbiome relationships. *Molecular Ecology*, 32(10), 2602-2618.



**Dra. Mariana Peimbert**  
**ORCID: 0000-0002-4881-8587**

Bióloga de formación de la Facultad de Ciencias de la UNAM, realizó el Doctorado en Biotecnología

en el IBT y después un posdoctorado en la Facultad de Medicina, seguido de otro posdoctorado en el Instituto de Ecología. Desde 2009 trabaja en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa. Actualmente es profesora titular y dirige el Laboratorio de Mundos Minúsculos. Sus intereses de investigación abarcan una amplia gama de temas dentro de la bioquímica de proteínas y microbiología ambiental. Actualmente sus intereses se centran en contribuir al entendimiento de las comunidades bacterianas en los entornos urbanos a través de técnicas de secuenciación masiva. La Dra. Mariana Peimbert ha impartido más de 50 cursos. Ha dirigido 15 tesis de licenciatura y posgrado, cuenta con 17 publicaciones de artículos indizados y 8 capítulos de libro, con más de 500 citas. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SNII) nivel I.





Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## El arte de aprender

### The Art of Learning

Sesma Castro, Diana✉; Cruz García, Jahaziel Quintín.<sup>1</sup>

Unidad de Desarrollo Académico de la Secretaría de Educación Médica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ Circuito Escolar 411A, Col. Copilco Universidad, Alcaldía Coyoacán, Cd. de México, C.P. 04510, México, Edificio B, tercer piso. Tel: +52 (55) 5623 2475; [dianasesma@facmed.unam.mx](mailto:dianasesma@facmed.unam.mx)

Editor responsable: Omar Echeverría Rodríguez  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.20>

Recibido: 23 de junio de 2024  
Revisado: 25 de julio de 2024  
Aceptado: 30 de julio de 2024

#### Resumen

Diversos enfoques psicopedagógicos universitarios se han concentrado en mejorar la capacidad del estudiante para aprender a aprender. El propósito es que el estudiante participe activamente en la construcción de su propio conocimiento, basado en sus experiencias, para que pueda desarrollarse en el uso y aplicación de este conocimiento de forma autónoma en diferentes escenarios.

La habilidad de aprender a aprender no solo implica el desarrollo de aspectos cognitivos, es decir, capacidades que permiten al estudiante comprender y regular sus propios procesos de aprendizaje, sino que también requiere actitudes, como la disposición a reconocer los errores como parte del proceso de aprendizaje.

El concepto de aprender a aprender se manifiesta en diversas formas. Una de ellas se evidencia cuando el estudiante es consciente tanto del proceso que lo condujo a formular un nuevo conocimiento y logra su correlación con otros conocimientos previos y de la manera en que puede optimizar su proceso de aprendizaje (metacognición). Este tipo de autoconocimiento se centra en la reflexión sobre el propio pensamiento, tomando consciencia de los procesos mentales implicados en aprender.

#### Abstract

Various university psycho-pedagogical approaches have focused on improving the student's ability to learn how to learn. The goal is for the student to actively participate in the construction of their own knowledge, based on their experiences, so that they can develop the ability to use and apply this knowledge autonomously in different scenarios.

The skill of learning to learn not only involves the development of cognitive aspects, meaning abilities that allow the student to understand and regulate their own learning processes, but also requires attitudes, such as the willingness to recognize mistakes as part of the learning process.

The concept of learning to learn manifests in various forms. One of these is evident when the student is aware of both the process that led them to formulate new knowledge and its correlation with previous knowledge, and of how they can optimize their learning process (metacognition). This type of self-knowledge focuses on reflection about one's own thinking, becoming aware of the mental processes involved in learning.

In this sense, the student sets clear goals, recognizes their achievements and difficulties, values the results achieved, and is capable of detecting and correcting their mistakes. Although it

En este sentido, el estudiante establece metas claras, reconoce sus logros y dificultades, valora los resultados alcanzados siendo capaz de detectar y corregir sus errores. Si bien es un proceso multidimensional, se puede reconocer un componente intrínseco (propio del estudiante) y otro extrínseco, donde los docentes podemos incidir mediante diversas estrategias pedagógicas.

El presente trabajo muestra un breve recorrido por este vasto tema para que alumnos o docentes, perfeccionemos el arte de aprender.

*Palabras claves:* aprendizaje, estrategias de aprendizaje, estrategias de enseñanza, estrategias didácticas.

is a multidimensional process, an intrinsic component (inherent to the student) and an extrinsic component, where teachers can influence through various pedagogical strategies, can be recognized.

This paper presents a brief overview of this vast topic so that students and teachers can perfect the art of learning.

*Keywords:* learning, learning strategies, teaching strategies, didactic strategies.

## Introducción

En la vasta constelación de habilidades humanas, el arte de aprender destaca como una de las más esenciales y transformadoras. Aprender no es simplemente una acumulación de hechos y datos, sino una capacidad dinámica que nos permite adaptarnos, innovar y crecer en un mundo en constante cambio. Sin embargo, el verdadero desafío no radica sólo en adquirir conocimientos, sino en dominar las técnicas para aprender de manera eficiente y efectiva.

Este artículo explora el fascinante proceso de aprender a aprender, desentrañando los métodos pedagógicos más efectivos y ofreciendo estrategias prácticas para estudiantes y educadores por igual. Acompáñenos en este viaje para descubrir cómo podemos convertirnos en mejores aprendices y, a su vez, enseñar a otros a hacerlo, fomentando una cultura de aprendizaje continuo y autodirigido.

## Desarrollo

Una de las habilidades básicas del ser humano es el aprendizaje. Toda nuestra vida, desde que nacemos hasta que morimos, aprendemos infinidad de cosas: cómo hablar, cómo comer, cómo caminar, cómo relacionarnos, cómo ser profesionistas, etcétera. ¿Pero qué es aprender? El Diccionario de la Real Academia Española define “aprender” como: adquirir el conocimiento de algo por medio del estudio o de la experiencia (1).

Díaz (2012) define el aprendizaje como una “*serie de procesos biológicos y psicológicos que ocurren en la corteza cerebral que, gracias a la mediatización del pensamiento, llevan al sujeto a modificar su actitud, habilidad, conocimiento e información, así como sus formas de ejecución por las experiencias que adquiere en la interacción con el ambiente externo, en busca de dar respuestas adecuadas*” (2). Por otra parte, para Castellanos Simons *et al* (2001) es el “*proceso dialéctico de apropiación de los contenidos y las*

*formas de conocer, hacer, convivir y ser, construidos en la experiencia sociohistórica, en la cual se producen, como resultado de la actividad del individuo y de la interacción con otras personas, cambios relativamente duraderos y generalizables, que le permiten adaptarse a la realidad, transformarla y crecer como personalidad*” (3).

De esta manera, podemos entender el aprendizaje como un proceso complejo, dinámico y multidimensional, que implica desde factores biológicos (neurológicos) hasta psicológicos (habilidades, actitudes, personalidades) y que resulta en un cambio de comportamiento. Comprenderlo de esta manera nos sirve para modificar diferentes factores y etapas del proceso para mejorarlo.

Ciertamente, el aprendizaje puede entenderse diferente dependiendo del paradigma psicoeducativo que adoptemos. Hernández (1997) recopila los fundamentos de diversos paradigmas (4); a continuación, se muestra la interpretación del aprendizaje dependiendo del enfoque adoptado:

- Para el conductismo, el aprendizaje se acepta como un cambio estable en la conducta o “un cambio en la probabilidad de la respuesta”, según Skinner. Es decir, para los conductistas, la influencia del nivel de desarrollo psicológico y de las diferencias individuales es mínima; lo fundamental es identificar las determinantes de las conductas que se desean enseñar, mediante técnicas o procedimientos conductuales.
- Para el paradigma cognitivo uno de los trabajos más importantes fue el que Ausubel propuso con la “teoría del aprendizaje”, en la que destaca el aprendizaje significativo. Los cognitivistas contemplan, por un lado, el tipo de aprendizaje que realiza el alumno (cómo lo incorpora en su estructura cognoscitiva), y por otro, el tipo de estrategia de enseñanza que siga. Para el paradigma cognitivo, el aprendizaje puede ser

repetitivo o memorístico (aprender la información de manera literal e incorporación en la estructura cognoscitiva arbitraria, por ejemplo, un teléfono), y significativo (la adquisición de la información se hace de modo sustancial y se incorpora en la estructura cognoscitiva en relación con el conocimiento previo). De acuerdo con el tipo de estrategia de enseñanza que se siga puede ser aprendizaje por recepción (donde la participación del alumno sólo consiste en internalizar los datos de productos acabados de información) o por descubrimiento (donde la información no se da en su forma final, sino que debe ser descubierta por el alumno).

- Para el paradigma constructivista existen dos tipos de aprendizaje: el de sentido amplio (que se refiere al desarrollo cognitivo global del individuo y es continuo) y el de sentido estricto (que se refiere a la adquisición de datos e informaciones específicas y puntuales).
- En cuanto al paradigma sociocultural, de acuerdo con los escritos vygotskianos, “el buen aprendizaje” es aquel que precede al desarrollo. Uno de los conceptos fundamentales es el de Zona de Desarrollo Próximo, que se refiere al área intermedia entre lo que un sujeto aún no hace por sí mismo, pero lo puede llegar a hacer con la ayuda de alguien más experimentado (nivel de desarrollo potencial). Esto se relaciona con el concepto de andamiaje y evidencia la importancia de la interacción social para el aprendizaje.
- Dentro del paradigma humanista, Rogers fue quien más analizó el concepto de aprendizaje, y fundamenta que se vuelve significativo cuando involucra a la persona como totalidad y se desenvuelve de manera vivencial o experiencial. Por lo tanto, para lograrlo, es importante que el alumno vea el contenido como algo importante para sus objetivos personales (que sea un proceso autoiniciado), que sea él quien decida y se responsabilice de lo que aprenderá. Para ello, será importante eliminar los contextos amenazantes y, en su lugar, crear un ambiente de respeto, comprensión y apoyo para los alumnos.

Ahora bien, cada uno de nosotros aprendemos de diferente manera, sólo basta mencionar que, para aprender sobre un tema, a algunas personas les parecerá más conveniente hacer un resumen y otras tantas, escuchar la explicación de alguien más. Esto obedece a la teoría de las inteligencias múltiples de Gardner, quien sugirió desde la década de los 80, que existen múltiples tipos de inteligencias que reflejan diferentes maneras de interactuar con el mundo: lingüística, lógico-matemática, corporal-kinestésica, musical, espacial, naturalista, interpersonal e intrapersonal (5).

Esta desafiante teoría, subrayó que cada individuo posee una combinación única de capacidades que pueden ser desarrolladas y aprovechadas en diferentes contextos educativos y laborales. Por lo tanto, cada uno de los individuos manifiestan diferentes maneras de aprender, produciendo así un aprendizaje diferenciado.

De este punto surgen los estilos de aprendizaje, definidos por Keefe como aquellos “*rasgos cognitivos, afectivos y fisiológicos que sirven como indicadores relativamente estables, de cómo los alumnos perciben interacciones y responden a sus ambientes de aprendizaje*” (5).

Los estilos de aprendizaje son teorías que describen las diversas formas en que las personas prefieren recibir, procesar y entender la información. Señalan la manera en que el estudiante percibe y procesa la información para construir su propio aprendizaje (6). La idea central es que cada individuo tiene un método o combinación de métodos preferidos para aprender, y entender estos estilos puede ayudar a optimizar no sólo el aprendizaje, sino también la enseñanza.

Según González Clavero (2011), los estilos de aprendizaje se pueden copiar o imitar de una persona a otra, siempre y cuando, el patrón sea positivo. Otro modo de desarrollar el estilo de aprendizaje es por exploración, es decir, el estudiante emplea combinaciones de estilos hasta que, con el paso de los años, consolida un estilo particular de acuerdo con sus intereses y posibilidades (y casos de éxito o fracaso).

Existen varios modelos que categorizan los estilos de aprendizaje, entre los más conocidos están el modelo de Kolb, el VAK, y el de Honey y Mumford (2):

- El modelo de Kolb clasifica los estilos de aprendizaje en acomodador, divergente, convergente y asimilador.
- El modelo VAK es uno de los más conocidos, y parte de las características de los aprendices según el sistema de representación sensorial dominante, de tal manera que los clasifica en visuales, auditivos y kinestésicos.
- El modelo de Honey y Mumford se centra en las preferencias individuales de las personas (actitudes y comportamientos). Crearon un cuestionario de estilos de aprendizaje (*Learning Styles Questionnaire* o LSQ) en el que proponen cuatro estilos: activo, reflexivo, teórico y pragmático.

<b>Tabla 1. Estrategias de acuerdo con el estilo de aprendizaje (Díaz, 2012)</b>		
<b>Modelo</b>	<b>Estilo de aprendizaje</b>	<b>Estrategias</b>
Kolb y Fry (1995)	Divergente	Lluvia de ideas, ejercicios de simulación, analogías, realización de experimentos, resolución de adivinanzas, crucigramas, rompecabezas, construcción de organizadores gráficos.
	Asimilador	Análisis de textos, ordenamiento de datos, participación en debates, realización de investigaciones y consultas, elaboración de informes.
	Convergente	Actividades manuales, elaboración de gráficos y mapas, clasificación de información, resolución de problemas, demostraciones prácticas.
	Acomodador	Expresión artística, uso de la imaginación, actividades de periodismo, trabajos grupales, discusión socializada, elaboración de composiciones.
VAK, por Bandler y Grinder (mediados de la década de los 70)	Visual	Imágenes, gráficos, diagramas y mapas. Contacto visual con interlocutores.
	Auditivo	Conferencias, discusiones, grabaciones y podcasts.
	Kinestésico	Modelos 3D que permitan tocar, manipular y experimentar.
Honey y Mumford (1986)	Activo	Lluvia de ideas, solucionar problemas, discusiones grupales, rompecabezas, competiciones y juegos de roles.
	Teórico	Elaboración de modelos, estadísticas, aplicación de teorías.
	Pragmático	Estudios de caso, resolución de problemas, discusiones.
	Reflexivo	Discusiones, cuestionarios de autoanálisis, observación directa en actividades, entrevistas.

Por supuesto, si cada estilo de aprendizaje tiene características particulares, es lógico suponer que hay estrategias metodológicas que benefician más el aprendizaje según el estilo propio de cada alumno (tabla 1).

Otro de los factores que influyen en el resultado del aprendizaje es la motivación, que se define como

el conjunto de razones, intereses, expectativas y valores que impulsan a una persona a realizar una acción determinada (7). La motivación es esencial para el aprendizaje, ya que determina el grado de atención, esfuerzo, persistencia y satisfacción que se dedica a la actividad de aprender.

La motivación y el aprendizaje están estrechamente relacionados, ya que se influyen mutuamente de forma bidireccional. Por un lado, la motivación afecta al aprendizaje, ya que determina el nivel de implicación, el interés, la curiosidad, la autoeficacia y la atribución que se tiene sobre la tarea de aprender. Estos aspectos influyen en la forma de procesar, almacenar y recuperar la información, así como en el rendimiento académico y la satisfacción personal (8). Por otro lado, el aprendizaje afecta a la motivación, ya que el éxito o el fracaso en el logro de los objetivos de aprendizaje modifica las creencias, las actitudes, las emociones y las expectativas que se tienen sobre la propia capacidad y el valor de la tarea. Estos cambios pueden reforzar o debilitar la motivación para seguir aprendiendo (7).

Existen diferentes tipos de motivación, según la fuente, la dirección y la intensidad de la misma. Una clasificación habitual es la que distingue entre la motivación intrínseca y la motivación extrínseca (9). La motivación intrínseca se refiere al interés y el placer que se siente al realizar una actividad por sí misma, sin esperar ninguna recompensa externa. La motivación extrínseca se refiere a la realización de una actividad por obtener algún beneficio o evitar algún castigo externo a la actividad. Ambos tipos de motivación pueden influir en el aprendizaje, pero la motivación intrínseca se asocia con un mayor nivel de profundidad, autonomía, creatividad y persistencia en el proceso de aprendizaje (9).

Para fomentar la motivación en el ámbito educativo, se pueden aplicar diversas estrategias, tanto a nivel individual como grupal. Algunas de estas estrategias son las siguientes (7):

- Establecer objetivos de aprendizaje claros, específicos, desafiantes y alcanzables, que generen expectativas de éxito y retroalimentación.
- Proporcionar tareas de aprendizaje variadas, significativas, relevantes y atractivas, que estimulen el interés, la curiosidad y la creatividad.
- Favorecer la autonomía, la elección y la participación de los estudiantes en el diseño, la ejecución y la evaluación de las actividades de aprendizaje.
- Crear un clima de aprendizaje positivo, de confianza, de respeto, de colaboración y de apoyo, que promueva la autoestima, la autoeficacia y la pertenencia.
- Reconocer y valorar el esfuerzo, el progreso y el logro de los estudiantes, ofreciendo recompensas y refuerzos adecuados y equitativos.

Ahora bien, un gran reto que enfrentamos es que el aprendizaje se logre con sentido y permanencia. El teórico estadounidense David Ausubel introdujo en la década de 1960 el concepto de aprendizaje significativo, para referirse al proceso en el cual la

nueva información se conecta de manera sustancial y no arbitraria con el conocimiento previo del alumno.

Para lograrlo, resulta importante que la nueva información sea relevante y tenga significado para el aprendiz. La base del aprendizaje significativo es que la nueva información se logre anclar en la estructura cognoscitiva existente, por lo que la información que se proporcione debe estar estructurada de manera que facilite la comprensión y la integración. No obstante, también se requiere un compromiso activo del estudiante, evidenciado por su disposición y capacidad para relacionar la nueva información con su conocimiento existente.

De tal manera que, para alcanzar el aprendizaje significativo, podemos adoptar diferentes estrategias, como las siguientes:

- Activación de conocimientos previos. Antes de introducir un nuevo tema, habrá que explorar lo que los estudiantes ya saben y analizar cómo se relaciona con el nuevo material. Pueden hacerse discusiones, preguntas iniciales o cualquier otra actividad de repaso.
- Uso de organizadores previos. Ayudan a los estudiantes a conectar lo que están a punto de aprender con lo que ya saben. Pueden ser esquemas, resúmenes o conceptos clave.
- Enseñanza contextualizada. Presentar la nueva información.

Uno de los factores que se relaciona estrechamente con el aprendizaje significativo es la metacognición. Ésta es entendida como un proceso mental de orden superior que capacita a los individuos para planear y monitorear sus aprendizajes, analizar sus propios desempeños e identificar las habilidades y estrategias requeridas para realizar las tareas y lograr sus metas (10).

La metacognición también está relacionada con una capacidad valiosa: el aprendizaje autorregulado. Éste se refiere a la capacidad de los estudiantes para dirigir y controlar sus propios procesos de aprendizaje; incluye la planificación, el monitoreo y la evaluación de su comprensión y desempeño. La importancia de este tipo de aprendizaje radica en varios aspectos: como la autonomía y responsabilidad del propio aprendizaje, y la motivación (al ser capaces de establecer los propios objetivos y estrategias). Finalmente, esto se relaciona con un mejor rendimiento académico.

Cabe destacar que faltan investigaciones específicas sobre aprender a aprender. Este concepto suele confundirse con estrategias de aprendizaje, que, aunque son procesos útiles, no son suficientes para alcanzar los objetivos de la metacognición, es decir, la comprensión y regulación consciente del proceso de aprendizaje.

No obstante, un alumno demuestra haber desarrollado la capacidad de aprender a aprender cuando, tanto en sus actividades escolares como personales, participa activamente en su proceso de aprendizaje. Este estudiante tiene la habilidad de buscar información en diversas fuentes, como libros, revistas o recursos electrónicos, y establece conexiones entre la información adquirida y sus conocimientos previos, así como con su entorno y experiencias cotidianas. Además, comunica sus ideas de manera efectiva, plantea preguntas reflexivas y adopta una postura crítica ante la información recibida. Así mismo, es capaz de resolver problemas de manera creativa, argumentar sus puntos de vista y desarrollar un proceso de aprendizaje autónomo y reflexivo, con una creciente conciencia de sus propios métodos y una mayor habilidad para percibir las implicaciones de sus aprendizajes en sus interacciones sociales.

Si bien las estrategias pedagógicas no son sinónimo de aprender a aprender, su conocimiento y correcta aplicación facilitan el proceso de aprendizaje. Una estrategia pedagógica es el resultado de un proceso de toma de decisiones (de manera consciente, controlada e intencionada) donde los estudiantes y docentes planean su actuación, seleccionan los procedimientos adecuados que utilizarán como herramientas flexibles para aprender y regular el proceso de aprendizaje, adaptándose a las diferentes tareas u objetivos.

El uso de estrategias nos ayuda a lograr los objetivos, proporciona un plan estructurado que nos ayuda a ahorrar tiempo, recursos y energía. Además, nos brinda la confianza para alcanzar lo que deseamos obtener.

Existen cuatro grupos en los que se analizan las estrategias pedagógicas (11):

- **Cognitivas:** Se refiere a las habilidades internas que el estudiante utiliza para dirigir su atención, proceso de aprendizaje, memoria y pensamiento.
- **Enseñanza:** Engloba una serie de actividades educativas diseñadas específicamente para los

estudiantes, adaptadas a sus características individuales, así como a los recursos disponibles y los contenidos curriculares.

- **Didácticas:** Se refieren al conjunto de acciones y operaciones, tanto físicas como mentales, que facilitan la interacción del estudiante con el contenido de estudio y promueven la colaboración con otros compañeros durante el proceso de aprendizaje, con el fin de realizar tareas con la calidad requerida.
- **Aprendizaje:** Consiste en una serie de pasos o habilidades que el estudiante adquiere y utiliza de manera deliberada como herramienta flexible para aprender de manera significativa, así como para resolver problemas y cumplir con las exigencias académicas.

Algunos ejemplos de actividades en estrategias pedagógicas se presentan en la siguiente tabla (Tabla 2).

### Conclusiones y reflexiones finales

En conclusión, el arte de aprender es una habilidad fundamental que todos podemos desarrollar y perfeccionar a lo largo de nuestras vidas. Enseñar y aprender a aprender no solo enriquece nuestro conocimiento, sino que también nos capacita para enfrentar los desafíos del mundo moderno con creatividad y resiliencia.

A través de métodos pedagógicos efectivos y estrategias prácticas, podemos fomentar una cultura de aprendizaje continuo que beneficia tanto a estudiantes como a educadores. Al entender y aplicar estos principios, no sólo mejoramos nuestras capacidades individuales, sino que también contribuimos al crecimiento y desarrollo de nuestra comunidad y sociedad en general.

Así, el viaje del aprendizaje se convierte en un proceso enriquecedor y sin fin, una aventura constante en la que siempre hay algo nuevo por descubrir y dominar.

**Tabla 2. Estrategias pedagógicas de acuerdo con su clasificación**

Tipo de estrategia	Ejemplo de actividades
Cognitivas	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Utilizar técnicas de organización, como esquemas o mapas mentales, para mejorar la comprensión y retención de la información.</li> <li>● Aplicar técnicas de concentración, como la meditación o la atención plena, para mejorar la capacidad de enfocarse en tareas específicas.</li> <li>● Emplear métodos de memorización, como la repetición espaciada o la asociación de ideas, para facilitar el recuerdo de conceptos clave.</li> <li>● Utilizar estrategias de pensamiento crítico, como el análisis de argumentos o la</li> </ul>

	evaluación de evidencia, para mejorar la capacidad de razonamiento y análisis.
Enseñanza	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Realizar actividades de aprendizaje activas, como debates o proyectos de investigación, para fomentar la participación y el compromiso de los estudiantes.</li> <li>● Utilizar recursos multimedia, como videos o presentaciones interactivas, para adaptar el contenido a diferentes estilos de aprendizaje.</li> <li>● Implementar técnicas de gamificación, como juegos educativos, para hacer el aprendizaje más divertido y motivador.</li> <li>● Proporcionar realimentación constructiva y personalizada para ayudar a los estudiantes a identificar áreas de mejora y fortalecer sus habilidades.</li> </ul>
Didácticas	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Realizar actividades de trabajo en equipo, como proyectos colaborativos o discusiones grupales, para fomentar la colaboración y el intercambio de ideas entre los estudiantes.</li> <li>● Utilizar herramientas tecnológicas, como plataformas de aprendizaje en línea o aplicaciones educativas, para facilitar la interacción y el acceso a recursos educativos.</li> <li>● Implementar técnicas de enseñanza diferenciada, como la adaptación del contenido a diferentes niveles de habilidad o interés, para atender las necesidades individuales de los estudiantes.</li> <li>● Promover el aprendizaje autónomo, brindando a los estudiantes la oportunidad de explorar y descubrir el conocimiento por sí mismos, con el apoyo del docente como guía.</li> </ul>
Aprendizaje	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Tomar notas efectivas utilizando técnicas o métodos para resumir y organizar la información durante las clases o lecturas.</li> <li>● Realizar pruebas o actividades de recuperación periódicas para fortalecer la retención de la información.</li> <li>● Definir objetivos de aprendizaje específicos y medibles para enfocar el esfuerzo de estudio.</li> <li>● Integrar videos o infografías para mejorar la comprensión de conceptos complejos.</li> <li>● Explicar los conceptos en voz alta o escribir sobre ellos para reforzar la comprensión y el recuerdo.</li> <li>● Participar en grupos de estudio o discusiones en línea para intercambiar ideas y perspectivas con otros estudiantes.</li> <li>● Emplear acrónimos (mnemotecnias), imágenes mentales o asociaciones vívidas para recordar información de manera más efectiva.</li> </ul>

## Referencias

1. Real Academia Española: Diccionario de la lengua española, 23<sup>a</sup> ed., [versión 23.7 en línea]. <https://dle.rae.es> [11 de junio de 2024].
2. Díaz, E. (2012). Estilos de aprendizaje. *Eidos* (5), 5-11.
3. Castellanos Simons, D., Castellanos Simons, B., Llivina Lavigne, M. J. & Silverio Gómez, N. (2001). Hacia una concepción del aprendizaje desarrollador. La Habana: Instituto Superior Pedagógico Enrique José Varona.
4. Hernández, G. (1997). Módulo Fundamentos del Desarrollo de la Tecnología Educativa (Bases Psicopedagógicas) Coordinador: Frida Díaz Barriga Arceo. México: Editado por ILCE- OEA.
5. González Clavero, M. V. (2011). Estilos de aprendizaje: su influencia para aprender a aprender. *Revista de estilos de aprendizaje*, 4 (7).
6. Castro, S., & Guzmán de Castro, B. (2005). Los estilos de aprendizaje en la enseñanza y el aprendizaje: Una propuesta para su implementación. *Revista de Investigación* (58), 83-102.
7. Schunk, D. H., Pintrich, P. R. & Meece, J. L. (2008). Motivación en contextos educativos: Teoría, investigación y aplicaciones. Pearson.
8. Pintrich, P. R. & Schunk, D. H. (2002). *Motivation in education: Theory, research and applications*. Merrill Prentice Hall.
9. Ryan, R. M. & Deci, E. L. (2000). Intrinsic and extrinsic motivations: Classic definitions and new directions. *Contemporary Educational Psychology* 25(1), 54-67.
10. Coutinho, S. A., & Neuman, G. (2008). A Model of Metacognition, Achievement Goal Orientation, Learning Style, and Self-Efficacy. *Learning Environments Research* 11, 131-151.

11. García Mauri, R. D. (2020). Aprender a aprender. Referencia Pedagógica 8(2), 203-218.
12. García Palacios, E. (2012). Aprender a Aprender. Eutopía Revista del Colegio de Ciencias y Humanidades para el Bachillerato, 110-112.



### **Dra. Diana Sesma Castro**

Egresada de la Licenciatura de Médico Cirujano por la Facultad de Medicina (FM) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Estudios de posgrado en psicoterapia y educación en Ciencias de la Salud.

Jefa de la Unidad de Desarrollo Académico de la Secretaría de Educación Médica, FM-UNAM.

Especialista en formación docente; cuenta con amplia experiencia en el diseño e impartición de actividades formativas en diversas temáticas como: Comunicación y Profesionalismo en Entornos

Educativos Virtuales, Estrategias Didácticas en Ciencias de la Salud, Herramientas Digitales para la Evaluación, Diseño Instruccional en la educación basada en competencias, entre otros.

Ponente del diplomado de la DGAPA "Planeación, Didáctica y Evaluación en Ciencias de la Salud" en el módulo 2, Didáctica y evaluación para el desarrollo de actitudes y valores, y módulo 5, Realimentación en el proceso educativo, y del módulo 4, Evaluación basada en TICs del diplomado "Fundamentos y Procesos de la Evaluación Educativa: Tendencias Actuales 2023".

Profesora de las asignaturas "Informática Biomédica I" e "Informática Biomédica II" del Departamento de Informática Biomédica, FM-UNAM, y de la asignatura Estrategias y Ambientes de Aprendizaje Innovadores de la Maestría en Innovación Educativa en Ciencias de la Salud de la Universidad Westhill.

Sinodal del examen profesional en la modalidad de titulación por Actividad de Investigación y evaluadora del examen profesional práctico de la carrera de Médico Cirujano en las modalidades Examen Clínico Objetivo Estructurado (ECO) y Ante Paciente Real (APR).

Elaboradora de reactivos para el CENEVAL.

Autora del capítulo "Comunicación intergeneracional e interdisciplinar" y coautora de los capítulos "Análisis de decisiones clínicas", "La formación docente en la Licenciatura de Médico Cirujano de la Facultad de Medicina de la UNAM" e "Identidad y Formación Temprana a la Docencia".



Memoria del LI Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Micrografía: el arte de observar la naturaleza a través de un microscopio

### Micrography: the art of observing nature through a microscope

Andrade, Silvia.     

Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY).

✉ Calle 43 No. 130 x 32 y 34 Chuburná de Hidalgo. CP 97205, Mérida, Yucatán, México; [silvana74@gmail.com](mailto:silvana74@gmail.com)

Editor responsable: Mercedes Esparza Perusquía  
DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2024.48.21>

Recibido: 16 de mayo de 2024

Revisado: 7 de junio de 2024

Aceptado: 10 de junio de 2024

En el 2014 curso el primer posgrado internacional de Fotografía Científica, impartido por el renombrado fotógrafo español Luis Monje, en la Universidad de Alcalá de Henares, España. Sus obras se distinguen por la interdisciplina entre el arte y la ciencia. Recientemente recibió la distinción de JEOL por su obra Gysophilia y en el año 2023 presentó la exposición Estrambótico en la ciudad de León, Guanajuato.

A inicios del presente año 2021 presentó su primer videomapping “El jardín secreto” junto con el artista visual Josué Abraham junto con la galería al aire libre en el Museo Regional de Antropología de Yucatán Palacio Cantón en Mérida compartiendo la obra “La Inteligencia de las Flores”. En 2019 expuso en el Colegio de San Ildefonso con en la exposición El arte de comer insectos. En el 2018 participo con su obra en el libro "la inteligencia de las flores de Maurice Maeterlinck editado por Zopilote Rey y también publicó su libro Oráculo de la colección Luz Portátil junto al maestro Arturo González Cosío editado por Artes de México.

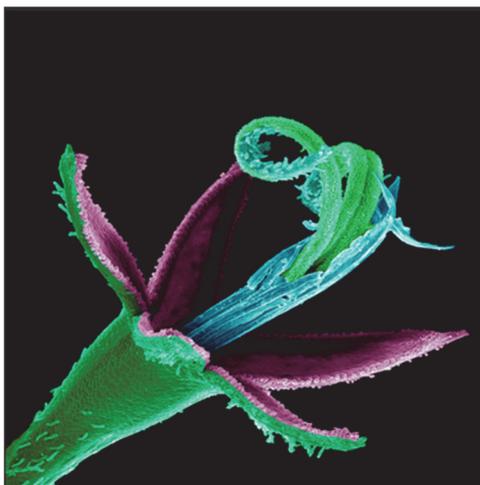


Figura 1. *Porophyllum punctatum*.

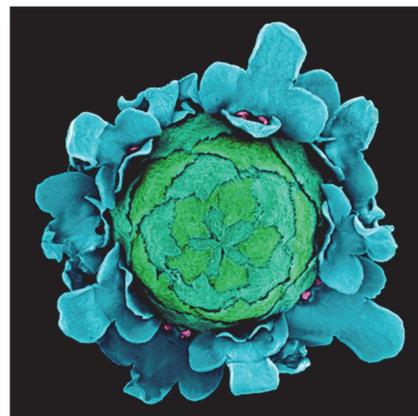


Figura 2. *Phyla stoechadifolia*.

Ha publicado en las revistas mexicanas como México Desconocido, Cuartoscuro (Selección de los mejores fotógrafos de naturaleza) y la Revista de National Geographic Latinoamérica y España, en esta última revista su publicación recibió en el año 2012 el “National Geographic Award” por el mejor fotodiario publicado a finales del 2011. El año pasado presento Laberintos ocultos de las rejeras de Chapultepec un total de 70 fotografías y presento su trabajo personal Oráculo en el centro Cultural Olimpo de la ciudad de Mérida (Beca FONCA 2016). Además, en el 2016 obtuvo el SONY WORLD AWARD para la categoría nacional de México, y gana el Lens Culture Award Nature Single Image.



Figura 3. *Gasteracantha cancriformis*.

En el 2015 fue la única mexicana seleccionada para presentar su obra en THE FENCE en New York USA Y ATLANTA, lo que le valió una publicación en el portal WPO (World Photography Organization) y en el New Republic NY. En el 2012 Gana el Premio Latinoamericano de Fotografía en la Categoría Fine Art, otorgado por el famoso Fotógrafo Rene Burri. Su obra ha sido presentada en Estados Unidos, Brasil, El Reino Unido, Alemania, España, República Dominicana y México. Ha ganado el Primer lugar en Fine Art, el I Festival de la Imagen FINI2011. En el año 2009 gana la VIII Bienal de Fotografía Puebla de los Ángeles, recibió la mención de honor en la Bienal Nacional de Artes Yucatán y el Premio Nacional de Fotografía Científica. Participó en la plataforma ArtWiki en la 7 Bienal de Berlín con su serie “Nada nos detendrá” para ser presentado durante el año en la plataforma Art Wiki. Premio Extraordinario FOTCIENCIA 2011 en España entre otras distinciones en el mundo de la fotografía científica.



Figura 4. *Megaceruscubiculus*.

### Estrambótico

Estrambótico. adj. coloq. Extravagante, irregular y sin orden.

Si existe una palabra que pueda describir la obra de Silvia Andrade (Silvana) es, estrambótico. Aunque discrepando en la definición de la RAE (Real Academia Española) al mencionar “sin orden”. Quizá sea un orden incomprensible y por qué no decirlo un orden universal que nuestro intelecto no logra descifrar...un orden divino. ¿Alguna vez ha pensado en la belleza de la ciencia?

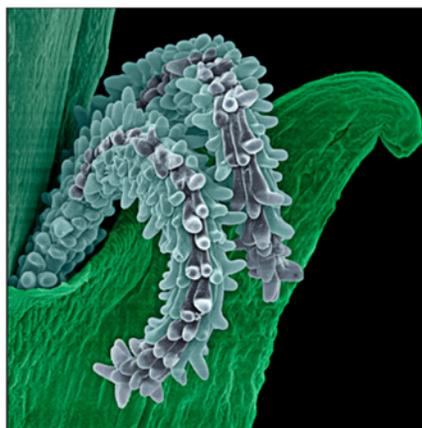


Figura 5. *Cyperus papyrus*.

Silvana Andrade muestra desde niña un interés y fascinación por los patrones naturales, por el mundo invisible a nuestros ojos. Derivado de ello, es que la artista comienza a mostrar su ímpetu y curiosidad. Gracias a sus padres, quienes la inician e involucran en la vida científica, que Silvana comienza la exploración con el microscopio a la edad de ocho años. Al observar este mundo microscópico, el

universo de Silvana se vuelve macro, su visión se expande y se afana a la microscopía electrónica. Su trayectoria científica, su talante y su talento le han permitido experimentar con el Microscopio Electrónico de Barrido, un tipo de microscopio que utiliza electrones en lugar de luz para formar una imagen, permitiéndole así, crear piezas que se distinguen por la interdisciplina entre el arte y la ciencia.



Figura 6. *Melipona beecheii*.

Actualmente es la encargada del Microscopio de Barrido en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Las piezas mostradas en esta exhibición provienen de las series Megacerus, La Inteligencia de las flores y Gypsophila. Estas piezas le han valido la obtención de galardones nacionales e

internacionales, entre el que destaca el Premio Nacional de México dentro del concurso Sony World Photography Awards. Influenciada por el naturalista alemán Ernest Haeckel, Andrade propone obras coloridas, intervenidas y finamente extraídas. Son obras estrambóticas, piezas hermosas que cuestionan el lugar en el mundo de la humanidad (no el tamaño). Son piezas que ratifican nuestras limitantes y que muestran el artificio de una estética recóndita. Es así, que Silvana, además de deleitarnos visualmente, provoca en el espectador un “shock” coexistencial y polemiza a instruidos y eruditos en temas simbióticos entre el arte/ciencia y la semiótica estética.

Texto y curaduría: Óscar Ascencio Covarrubias.

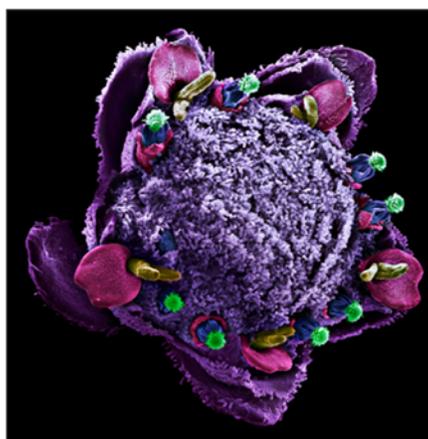


Figura 7. *Parthenium hysterophorus*.



**I.Q.I. Silvia Andrade Canto.**  
**Microscopio Electrónico de Barrido-**  
**CICY.**

Silvia Andrade Canto es Ingeniera Química Industrial, se especializa en 2004 en el área de microscopía electrónica de barrido al mismo tiempo inicia sus estudios de fotografía en los talleres de artes visuales de la Universidad Autónoma de Yucatán, a partir de esa fecha ella continúa cursando diversos talleres y cursos de fotografía y arte con personalidades con David Adamson, Gerardo Montiel Klimt, Armando Saéñz Carrillo, Ernesto Bazán, Pedro Tzontemec entre otros.





Versión electrónica en <http://biosensor.facmed.unam.mx/mensajebioquimico/>



# MENSAJE BIOQUÍMICO

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

### REQUISITOS

Los manuscritos propuestos deberán de cumplir con las siguientes características:

- Ser manuscritos originales e inéditos, no remitidos a otra revista.
- Todo material aceptado para su publicación quedará como propiedad de la revista Mensaje Bioquímico.
- Los manuscritos deberán ser enviados a cualquiera de las direcciones de correo electrónico señaladas por el Comité Editorial en la carta invitación.

### FORMATO

#### *Formato del Manuscrito*

Los trabajos constarán de un mínimo de 20 cuartillas, y un máximo de 30, incluyendo: carátula, resúmenes, manuscrito, tablas, cuadros, figuras, referencias y semblanza con foto.

#### *Carátula*

- Título en español e inglés máximo 15 palabras, no incluir abreviaturas o siglas.
- Nombre completo de los autores, comenzando por quien presentará el trabajo (apellido paterno, materno y nombre).
- Departamento de adscripción, institución de procedencia y dirección física.
- Datos de correspondencia: dirección electrónica y teléfono.

#### *Resúmenes*

- En español e inglés (No utilizar abreviaturas ni citar referencias).
- Extensión máxima de media cuartilla, cada uno.
- Palabras clave en español e inglés (máximo 6).
- Resumen gráfico (imagen gráfica del texto).

#### *Texto*

- Tipo Times New Roman a 12 puntos, con espacio de 1.5, a renglón seguido, en procesador de textos computarizado (WORD), empleando los criterios estándar del mismo procesador, como es margen y tamaño de hoja carta.

- Los nombres genéricos, fórmulas químicas, posología y vías de administración, indicados y expresados conforme la nomenclatura internacional.

#### *Ilustraciones*

- Un máximo 12 (cuadros, esquemas, figuras y fotografías).
- Figuras homogéneas con números arábigos progresivos de acuerdo con el orden de aparición en el texto, deben tener títulos y pie de figura.
- Tablas homogéneas identificadas con números arábigos, progresivos, de acuerdo con el orden de aparición en el texto, encabezadas por un título y cuya información no se repita en el texto.
- Las figuras deben ser enviadas en formato JPEG con una resolución mínima de 300 dpi atendiendo a las siguientes indicaciones:

Las imágenes a color se requieren en modo RGB (para su visualización a color en su formato online).

En caso de tratarse de imágenes donde sólo haya diferentes tonos de gris o gráficos en blanco y negro, deberán guardarse en modo “Escala de grises” ó “Blanco y negro”, según corresponda.

Las imágenes deberán estar recortadas y cercanas al tamaño que se desean. Los tamaños estándar para el ancho de las figuras son a una columna (7.2 cm) y a dos columnas (15.6 cm).

En caso de aparecer texto, asegurarse que sea legible en el tamaño que se desea (mínimo 8 puntos).

Todas las figuras y tablas que no sean de su autoría deberán de ir referenciadas o con el permiso correspondiente.

Para el resumen gráfico, se mantienen los mismos requerimientos de resolución. Este puede ser una figura del mismo texto modificada con el objetivo de impactar en el lector de manera creativa y fácil. El resumen gráfico sólo aparecerá en la versión electrónica del artículo.

#### *Referencias*

- Máximo 100, numeradas en orden progresivo.
- Las citas de las referencias dentro del texto deberán aparecer

entre paréntesis cuadrados.

- Para las referencias de artículos se utilizará el formato establecido por The Journal of Biological Chemistry, se anexan ejemplos:

#### Artículos

MacDonald, G. M., Steenhuis, J. J. y Barry, B. A. (1995) J. Biol. Chem. 270, 8420-8428.

#### Libros

López, CC. El razonamiento médico. Madrid, España: Ed. Díaz de Santos; 1994.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. y Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

#### Capítulos de libro

Anspaugh S. Educating library users in two-years higher education institution. En: John Lubans Jr, editor. Educating the library user. New York, USA: RR Bowker Company; 1974. P. 69-82.

#### Libro electrónico

Montero, M., & Sonn, C. C. (Eds.). (2009). Psychology of Liberation: Theory and applications. doi: 10.1007/978-0-387-85784-8

#### Artículo de periódico en línea

Duhigg, C. (12 de septiembre de 2009). Toxic waters: Clean Water laws are neglected, at a cost in human suffering. The New York Times. Recuperado de <http://www.nytimes.com/2009/09/13/us/13water.html?em>

#### Informe gubernamental

Federal Interagency Forum on Child and Family Statistics. (2011). America's children: Key national indicators of well-being, 2011. Washington, DC: U.S. Government Printing Office. Recuperado de [http://www.childstats.gov/pdf/ac2011/ac\\_11.pdf](http://www.childstats.gov/pdf/ac2011/ac_11.pdf)

#### Sitio web

Centre for Academic Writing (2006). The List of References Illustrated [en línea]. Disponible en: <http://home.ched.coventry.ac.uk/caw/harvard/index.htm> [20 Julio 2006]

#### *Semblanza con foto*

Deberá ser de media cuartilla con las mismas características de formato del manuscrito. La fotografía deberá ser en formato JPEG con una resolución mínima de 300 dpi. En caso de no recibir una imagen o la enviada no corresponda con el expositor, el Comité Organizador se reserva el derecho a obtener una imagen de la web ó dejar el espacio en blanco.

#### *Notas adicionales*

- No utilizar pies de página.
- No numerar las páginas.
- Evitar el uso de hipervínculos hacia sitios web.

#### **PROCESO EDITORIAL**

Después de enviar su trabajo a la dirección electrónica donde se recibió la invitación a participar, se enviará al Comité Editorial para su revisión. Al terminar este periodo, un miembro del comité le hará llegar su escrito con las observaciones pertinentes. Terminado el periodo de revisión, se elaborará la prueba de galera correspondiente para su aprobación final por parte del autor. Una vez autorizado el manuscrito final, no podrán hacerse correcciones ó enmiendas.

#### **CONSIDERACIONES FINALES**

Por tratarse de un evento académico, desarrollado con el único fin de difundir los avances de las ciencias bioquímicas, es de hacer notar que ni los conferencistas ni el Comité Editorial RECIBEN REMUNERACIÓN ALGUNA POR SU TRABAJO.

Es importante aclarar que aquellos trabajos que no cumplan con los requisitos solicitados, así como con el tiempo de entrega, NO SERÁN PUBLICADOS en el Mensaje Bioquímico.



Versión electrónica en <http://biosensor.facmed.unam.mx/mensajebioquimico/>



# MENSAJE BIOQUÍMICO

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

### REQUIREMENTS

Proposed manuscripts must fulfill the following requirements:

- They must be unpublished and original manuscripts, not considered for publication in other journals.
- All accepted material for publication will be the property of Mensaje Bioquímico.

Manuscripts must be sent to any of e-mail address specified by Editorial Board in the invitation letter.

### FORMAT

#### *Manuscript format*

- Manuscript must be a minimum of 20 pages and a maximum of 30, including title page, abstract, manuscript, tables, figures, references and author's biographical note and photograph.

#### *Title page*

- Title in Spanish and English with a maximum of 15 words. Do not use acronyms or abbreviations.
- Authors' full names, beginning with the presenter author (last name and given name).
- Institution, department and address.
- E-mail address and phone number.

#### *Abstract*

- Must be in Spanish and English (without references and abbreviations).
- Maximum extension of half of one page, each.
- Key words in Spanish and English, maximum 6.
- Graphical abstract.

#### *Text*

- 12-points Times New Roman with 1.5 line spacing, in a computerized text processor (WORD) using default margin and page settings.
- Generic names, dosage and administration routes of drugs or chemicals substances must be indicated and expressed according to the international nomenclature.

#### *Pictures*

- Maximum 12 (including tables, figures and pictures).
- Figures must be identified with progressive Arabic numerals according to their appearance in the text and must contain a caption and a brief explanation.
- Tables must be identified with progressive Arabic numerals according to their appearance in the text and must contain a caption whose information should not be repeated in the text. All figures including the graphical abstract must be sent in JPEG format with a minimum resolution of 300 dots per inch (DPI) attend to the following indications:

Color images must be in RGB mode (for right visualization in the on line format).

For black and white graphics or images in gray scale, they must be saved as "black and white" or "gray scale".

Image size must be cropped and close to the actual size in the article. Standard width sizes for one column and two columns are 7.2 and 15.6 cm respectively.

Please note that if the picture includes any text, it should be at least 8 points in order to be clear.

Selected figure for graphical abstract can be creatively modified in order to impact to the reader.

All figures and tables that have been taken from another source must be adequately referenced and with author's permission.

For the graphic summary, the same resolution requirements are maintained. This can be a figure of the same modified text with the objective of impacting the reader in a creative and easy way. The graphic summary will only appear in the electronic version of the article.

#### *References*

- Maximum 100, numbered in progressive order.
- Citations inside the text must appear in square brackets.
- Citation format must be according to The Journal of Biological Chemistry, as follows:

For articles

MacDonald, G. M., Steenhuis, J. J. y Barry, B. A. (1995) J. Biol. Chem. 270, 8420-8428.

For books

López, CC. El razonamiento médico. Madrid, España: Ed. Díaz de Santos; 1994.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. y Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Book chapters

Anspaugh S. Educating library users in two-years higher education institution. In: John Lubans Jr, editor: Educating the library user. New York, USA: RR Bowker Company; 1974. P. 69-82.

Electronic book

Montero, M., & Sonn, C. C. (Eds.). (2009). Psychology of Liberation: Theory and applications. doi: 10.1007/978-0-387-85784-8.

Online newspaper

Duhigg, C. (12 de septiembre de 2009). Toxic waters: Clean Water laws are neglected, at a cost in human suffering. The New York Times. Retrieved from <http://www.nytimes.com/2009/09/13/us/13water.html?em>

Government report

Federal Interagency Forum on Child and Family Statistics. (2011). America's children: Key national indicators of well-being, 2011. Washington, DC: U.S. Government Printing Office. Retrieved from [http://www.childstats.gov/pdf/ac2011/ac\\_11.pdf](http://www.childstats.gov/pdf/ac2011/ac_11.pdf)

Web site

Centre for Academic Writing (2006). The List of References Illustrated [online]. Available from <<http://home.ched.coventry.ac.uk/caw/harvard/index.htm>> [20 July 2006]

*Biographical sketch with picture*

Must be of half of a page with the same characteristics of the manuscript. Picture should be in JPEG format, with a minimum resolution of 300 DPI. If Editorial Board does not receive an adequate photograph, they will decide if the reserved space should be empty or they will take any satisfactory speaker picture from the web.

*Additional notes*

- Do not use footers.
- Do not use page numbering.
- Avoid the use of hyperlinks.

**REVISION PROCESS**

After submission the manuscript will sent to the Editorial Board for review. After this, one member of the Editorial board will send you the paper including suggestions and comments. After review, proof correction will be sent to author for final approval. The final manuscript cannot be modified in any way.

**FINAL CONSIDERATIONS**

For being an academic event developed with the unique proposes to transmit the advances of the Biochemical Sciences, should be noted that neither the speakers nor the editorial board **SHOULD RECEIVE ANY REMUNERATION FOR THEIR WORK.**

It is important to clarify that those manuscripts that do not meet the requirements requested and delivery time, **WILL NOT BE PUBLISHED** in Mensaje Bioquímico.