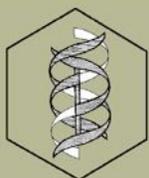


Revista de Educación Bioquímica

REB 2018



Órgano de información de la
Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM

Facultad de Medicina



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental
Universidad Nacional Autónoma de México

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

ALICIA GAMBOA DE BUEN

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA

Sección Bioquímica y Farmacología Humana
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

VÍCTOR M. VALDES LÓPEZ

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAIN HERZBERG

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

Departamento de Fisiología y Farmacología
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina Humana, Universidad Juárez del Estado de Durango

MARÍA MALDONADO VEGA

Departamento de Investigación. Centro de Innovación Aplicada en
Tecnologías Competitivas, AC. León, Gto., Mexico

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos Periódica, Iresie, Redalyc, Latindex y Scielo.

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 37, Número 4, diciembre de 2018, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México. Correo E: reb@bq.unam.mx
<http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/index.html>

Editor responsable Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2015-113014523300-203, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en diciembre del 2018.

El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial. Se autoriza la reproducción parcial o total de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

EL HORIZONTE DE LA EDICIÓN GENÓMICA

Rafael Camacho Carranza

José Víctor Calderón Salinas.....99

ARTÍCULOS

ESTUDIO DE LAS CÉLULAS CANCEROSAS Y SU ACTIVACIÓN CELULAR EN EL CÁNCER DE MAMA

López-Naranjo F.,

Ávila-Álvarez E. P.

Guadarrama-Flores B.,

Córdova-Moreno R.,

Hernández-Rodríguez N. A.....100

DINÁMICA ORGANELAR Y FUNCIONAL DE LAS CÉLULAS TRONCALES

Fátima Eréndira Benítez Ramírez.....111

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ

CONCEPTOS DE OBESIDAD

Yolanda Saldaña Balmori.....120

EL FRAUDE DE LAS PREDATORY CONFERENCES O CONFERENCIAS FANTASMA

123

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

CONCEPTOS DE OBESIDAD

Yolanda Saldaña Balmori.....126

XXVII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE

BIOQUÍMICA, A. C.127

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE

EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2017.....129

INSTRUCCIONES PARA LOS

COLABORADORES DE LA REVISTA DE

EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....131

EDITORIAL

EL HORIZONTE DE LA EDICIÓN GENÓMICA

La palabra horizonte proviene del francés "horizon", que a su vez deriva del latín y éste de dos palabras griegas: *ὁρίζων* (horizōn) y *ὄρος* (hóros, "límite"); por lo que cuando hablamos del horizonte, no sólo nos referimos al límite de lo actualmente posible, sino también a los límites de lo que no se quiere transgredir. En este sentido hoy nos encontramos delineando el horizonte de la edición del genoma humano, que mediante la tecnología CRISPR/Cas9 nos permite la manipulación de nuestro milenario reservorio de experiencia evolutiva que es nuestro genoma y que nos define.

Estamos sentados al borde de un abismo de expectativas relativas a la solución de grandes problemas genéticos, de enfermedades incurables y de susceptibilidad a ataques virales o parasitarios. Estamos ansiando evitar el dolor evitable. Pero nos asusta el costo, la tentación de la cosificación de la persona humana, el terrible sentimiento de creer ser capaces de mejorar lo que generaciones de ensayos evolutivos lograron en el humano. Creemos tener las respuestas suficientes para tomar las riendas de nuestro curso evolutivo, sin los torpes vaivenes de los múltiples caminos truncados, a los cuales llevan los derroteros estocásticos de la trayectoria evolutiva.

Podemos tomar la delantera al curso de la evolución, lograr que se allanen los cuellos de botella selectores, que dictatorialmente impulsan a la muerte o a la no adecuación de los individuos, en beneficio de los más aptos, los que retomarán la siguiente etapa para nuevamente ser sometidos a las presiones de selección sucesivas que conducirán inevitablemente a la extinción de la especie, o a la sucesión de una nueva que nos remplace. Pero ya no será así, nosotros tomaremos el mando... ¿O no?

Recientemente, He Jiankui, un científico en el área de la edición genómica, de la Universidad del Sur de Ciencia y Tecnología de China en Shenzhen, anunció haber editado el gen CCR5 en una célula huevo, simultáneo a la fertilización in vitro, de un padre portador de VIH, por lo que, para tener hijos libres de este agente viral, He eliminó el receptor celular del virus (1). Dos niñas gemelas nacieron de esta intervención (Lula y Nana). La secuencia genómica aparentemente no muestra alteraciones secundarias. He afirma estar dispuesto a asumir el

costo de las críticas a fin de lograr este beneficio para una familia que tenía miedo a tener hijos ante la posibilidad de contagiarlos con el virus del SIDA.

En este escenario, las críticas al trabajo de He han sido fuertes y seguramente conducirán a sanciones administrativas severas, y van desde diferentes ángulos como que el experimento fue reportado el 25 de noviembre de 2018 en un video de YouTube y no mediante los canales de comunicación adecuados, que se editó un gen para el cual se desconoce su función natural y por tanto su papel en el desarrollo embrionario, que existe otro receptor celular del VIH el CXCR4, por lo cual no son totalmente impermeables las niñas a la entrada del VIH, que existen otras opciones para evitar la edición en embriones, que la tecnología CRISPR/Cas9 aún genera rearrreglos aleatorios en sitios distantes del genoma, etc.

Los directivos de las Academias de Ciencias de China en Beijing, la de Ciencias, y la Nacional de Medicina de E.E.U.U. en Washington, D.C., lanzaron el 13 de diciembre un llamado a la comunidad internacional para sentar las bases de acuerdos que permitan enfrentar, desde el punto de vista ético y legal, las posibilidades que la tecnología de la edición genómica ha abierto. Se avecinan tiempos en los cuales nos enfrentaremos a decisiones que nos sacudirán, pero no es el principal problema. Varios de nosotros somos personas con esquemas maduros en cuanto a nuestras opiniones, la pregunta que nos tenemos que hacer es, si como profesores de nuestros estudiantes los estamos preparando para ese escenario, ya no tan futuro.

1) Cyranoski D. y Ledford H. (2018) Genome-edited baby claim provokes international outcry. *Nature* 563: 607-608. doi: 10.1038/d41586-018-07545-0

Rafael Camacho Carranza
Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental. Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM

José Víctor Calderón Salinas
Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN

ESTUDIO DE LAS CÉLULAS CANCEROSAS Y SU ACTIVACIÓN CELULAR EN EL CÁNCER DE MAMA*

López-Naranjo, F**¹, Ávila-Álvarez, E. P¹, Guadarrama-Flores, B²,
Córdova-Moreno, R¹, Hernández-Rodríguez, N. A³.

¹División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco (UAM-X).

²Laboratorio de Bioquímica y Biotecnología Enzimática. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular A (DBBMA). Facultad de Veterinaria. E-30100 Espinardo. Universidad de Murcia (UM), España.

³Laboratorio de Transducción de señales. División de Investigación Clínica. Instituto Nacional de Cancerología.

**Correspondencia: correo E: flopez@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

En México se diagnostican 25 nuevos casos de cáncer de mama (tasa de incidencia de 100.000 mujeres mayores a 25 años). La principal causa de muerte por cáncer es la metástasis, donde la trombina y su receptor PAR1, constituyen un sistema factor de crecimiento/receptor relevante en el proceso invasivo del cáncer. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad de las ERKs en relación al potencial invasivo de dos líneas celulares de cáncer de mama asociado a la expresión del receptor PAR1 de trombina, y conocer la contribución específica de las MAP cinasas como inhibidor específico. En las dos líneas celulares se encontró un incremento significativo de ERK2. Esto sugiere que las diferencias entre la activación de las isoformas de ERKs, podría evidenciar algún tipo de regulación entre ellas.

ABSTRACT

25 new cases of breast cancer (death rate of 100,000 women over 25 years) are diagnosed in Mexico. The leading cause of death by cancer is metastasis, where Thrombin and its receptor, PAR1, constitute a system relevant receptor/growth factor in the invasive cancer process. The objective of this study was to determine the activity of the ERKs in relation to the invasive potential of two cell lines of breast cancer associated with the expression of Thrombin receptor PAR1, and know the contribution specified in the MAP kinase inhibitor specific. A significant increase of ERK2 were found in the two cell lines. This suggests that the differences between the activation of ERKs isoforms, could reveal some type of regulation among them.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama, es el cáncer más común entre las mujeres con casi 1.7 millones de casos diagnosticados en 2012, esto representa 1 de cada 3 cánceres detectados en pacientes femeninas (1,2). Su evolución es compleja y a pesar de los avances en los tratamientos oncológicos en México, la tasa de incidencia en 2014 fue de 28.75 casos nuevos por cada 100 mil mujeres de 20 años y más, la tasa de mortalidad de mujeres mayores a 25 años, a consecuencia de cáncer de mama ascendió a 100

mil entre 2002 y 2011, lo que equivale al diagnóstico de 25 nuevos casos diarios de este tipo de neoplasia (3). Una de las principales causas de mortalidad por cáncer es la metástasis (4). La tasa de mortalidad en México se ha incrementando, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática (INEGI) reportó que en 2016 se presentaron 16 defunciones por cada 100 mil mujeres de 20 años y más; por lo tanto en nuestro país a nivel legislativo se han promovido cambios en los procesos médico sanitarios para tratar de contener esta tendencia, la Norma Oficial Mexicana NOM-

PALABRAS

CLAVE:

Cáncer de mama, PAR, MAP cinasas.

KEY WORDS:

Breast cancer, PAR, MAP kinases.

041-SSA2-2011 para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama, propone tres medidas de detección: la autoexploración, el examen clínico de las mamas y la mastografía (5).

La autoexploración es cuestión de conciencia poblacional, se debe realizar a partir de los 20 años; el examen clínico a partir de los 25 años y la mastografía entre los 40 a los 69 años; esto dependerá de los antecedentes clínicos familiares, se recomiendan los estudios cada dos años. Aunque esta situación se puede atender en cualquier momento que la paciente detecte indicios de alteraciones en sus senos y/o ganglios linfáticos debajo del brazo (Diario Oficial de la Federación [DOF], 2011). La metástasis es un proceso de múltiples etapas que implica la difusión de las células cancerosas de un tumor primario a órganos distantes (6). Algunos ejemplos de biomarcadores son glucoproteínas que debido a su falta de sensibilidad y especificidad diagnósticas, no sirven para la detección del cáncer en los estadios iniciales de la enfermedad, su concentración se dispara en presencia de células cancerosas y se relaciona directamente con el tamaño del tumor, varias sustancias se clasifican como biomarcadores tumorales, los cuales pueden ser producidos por el tumor o estar asociados a este (antígenos, enzimas, proteínas específicas y metabolitos) también depende de los antecedentes patológico tumorales de la familia, son detectables en diferentes fluidos biológicos (7). El PAR-1 es el receptor principal de trombina en las plaquetas y produce la activación de la plaqueta con concentraciones bajas de trombina (EC50, 50pM), mientras que PAR-4 necesita concentraciones de trombina mayores (EC50, 5.000pM). Se ha encontrado que los receptores activados por proteasas (PAR), están implicados de manera importante en el desarrollo del cáncer de mama, ya que se expresa en fibroblastos relacionados con la metástasis, en vasos sanguíneos, miocitos, y macrófagos en el microambiente tumoral (8).

Independientemente de la impactante situación emocional de las pacientes y su familia, el sector salud nacional reportó en el año 2002, que la carga socio económica anual promedio fue de \$ 110 459, esto varía con el grado de avance del cáncer mamario: para las mujeres diagnosticadas en la estadio I tuvo un costo de \$ 74 522, mientras que para el estadio II fue de \$102 042, \$ 154 018 en el estadio III y de \$ 199 274 en el estadio IV, es decir que conforme avanza el estadio de la enfermedad así se incrementarán los gastos de su atención médica. Diversos estudios realizados sobre el costo de la atención del cáncer de mama señalan que la detección temprana y oportuna es

la alternativa más efectiva en términos del costo (9).

Las MAP cinasas no se encuentran asociadas directamente con el receptor membranal, necesitan activarse por componentes intermediarios cuya actividad sí puede depender del propio receptor; en modelos animales se ha demostrado que la activación de PAR1 aumenta muchas veces la temprana incidencia de metástasis e incrementa la adhesión de células tumorales en el endotelio, estas cascadas de señalización se activan por mitógenos, los cuales son componentes frecuentes en la transducción de señales de células eucarióticas, en donde su principal función en la transducción de estímulos extracelulares que son reconocidos por los receptores específicos, integrando las respuestas intracelulares correspondientes (10).

Existen estudios que indican que modificaciones epigenéticas provocan cambios en el desarrollo de la glándula mamaria, incrementando su vulnerabilidad de blancos epiteliales para la transformación maligna, estos cambios se pueden manifestar en la vida adulta por expresión alterada de transcritores como ER y MAP cinasas, y por alteración de la morfología de glándula mamaria, la cual induce cambios en las unidades terminales ductales lobulares (12). La trombina es el agonista plaquetario más potente que también facilita la producción de fibrina desde el fibrinógeno. Se ha demostrado la importancia del receptor de la trombina: PAR1 en el cáncer de mama, en donde presenta altos niveles de expresión en líneas celulares tumorales y cultivos primarios de células tumorales y se correlacionan con su grado de invasividad (11), se han detectado niveles altos de mRNA de PAR1 en muestras de pacientes con cáncer de mama tipo carcinoma ductal infiltrante, en comparación con los bajos niveles encontrados en células normales y de hiperplasia pre-maligna atípica intraductal, existen otras isoformas PAR2, PAR3 y PAR4 (18).

El PAR1 es un oncogén, sobre expresado en las células cancerosas y su activación contribuye a la malignidad del tumor y al proceso metastásico invasivo. Se ha demostrado que la trombina activa a PAR1, y éste a su vez moviliza proteínas-cinasas activadas por mitógenos (p44 y p42 también llamado ERK1/2) que conducen a la proliferación celular. La trombina también utiliza al EGFR (factor de crecimiento epidérmico), para retransmitir señales que promueven el crecimiento celular y la invasión del tumor, demostrándose que el bloqueo de EGFR puede disminuir de manera considerable el aumento del crecimiento del tumor; este fenómeno al parecer podría estar relacionado con los efectos de activación de ERK1/2 (19,20,21).

Las proteín-cinasas poseen una amplia variedad de sustratos, tales como: proteínas estructurales, enzimas metabólicas, reguladores del ciclo celular, factores de transcripción. Debido a ello, las rutas de transducción de señal, tienen un papel crucial en la regulación de procesos celulares fundamentales como la proliferación celular, la diferenciación celular; cualquier perturbación en la vía de transducción desregula los procesos celulares y da lugar a la formación de fenotipos malignos. (17). En la cascada de señalización, la secuencia de las isoformas ERK1 y ERK2 es idéntica en un 84% y están involucrados en una gran variedad de procesos celulares y fisiológicos. Sin embargo al igual que todas las proteín-cinasas, contienen extensiones N y C terminal, lo que proporciona especificidad de señalización. ERK1 posee una inserción de 17 residuos de aminoácidos en su extensión N-terminal. La familia ERK1/2 tiene una inserción de 31 residuos de aminoácidos dentro del dominio cinasa, que proporciona especificidad funcional. Existe evidencia provisional de la función diferencial de estas isoformas. ERK1/2 participan en la regulación de una gran variedad de procesos que incluyen la adhesión celular, la progresión del ciclo celular, la migración celular, la transcripción, la diferenciación, el metabolismo, la proliferación, la invasión y la supervivencia celular (12, 13). ERK1/2 en la cascada de señalización tienen varias funciones distintas que difieren de acuerdo a su localización subcelular, por lo que la actividad nuclear ERK1/2 (p-ERK), ha sido asociada con tumores malignos mamarios y su mal pronóstico (23). Se ha sugerido que la hiperexpresión de estas MAP cinasas puede ser un proceso clave en el potencial metastásico de cáncer de mama, y que su inhibición puede ser un método prometedor para disminuir el crecimiento del tumor (3, 19). La cascada de señalización MEK / ERK integra pistas extracelulares de los receptores de la superficie celular para la expresión génica y la regulación de múltiples proteínas celulares. ERK cascada juega un papel crucial en múltiples procesos celulares como la proliferación celular. Sin embargo, el uso de inhibidor MEK para tratar cáncer de mama, no ha sido del todo exitosa (22).

Existen varias líneas celulares disponibles para el estudio de cáncer de mama. MCF-7 se le considera de bajo potencial maligno y es la línea celular más extensamente usada para estudiar la biología del cáncer; fue obtenida de un adenocarcinoma de mama, es negativa a la expresión del receptor EGF y al receptor PAR1 de la trombina, pero positiva al receptor de estrógeno alfa. MDA-MB-231 también usada ampliamente como una línea celular de cáncer de mama altamente invasiva; proviene de una metástasis de glándula mamaria, es positiva

a la expresión del receptor EGF y al receptor PAR1 de la trombina (23, 24). El objetivo del presente trabajo fue determinar la activación de ERK's en relación al potencial invasivo en la línea celular MCF-7 y la línea celular MDA-MB-231, asociado a la expresión del receptor PAR1 de trombina y conocer la contribución específica de MAP cinasas como inhibidor específico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo celular

Se emplearon dos líneas celulares epiteliales humanas de cáncer de mama, MCF-7 (negativa al receptor PAR1) y MDA-MB-231 (positiva a la expresión del receptor de EGF y al receptor PAR1 de la trombina), se crecieron en medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium GIBCO-BRL, Gaithersburg, USA) suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS) (GIBCO-BRL, Gaithersburg, USA), L-glutamina (200mM) (GIBCO-BRL, Gaithersburg, USA) y los antibióticos: penicilina (10,000U) y estreptomycin (10mg/ml) (Sigma, St Louis, USA). La línea MCF-7 se mantuvo con MEM (GIBCO-BRL, Gaithersburg, USA), medio de cultivo sin rojo de fenol. Todos los cultivos se mantuvieron en una incubadora (REVCO, México) a 37°C y al 5% de CO₂. Se tripsinizó una monocapa celular totalmente confluyente y se sembraron 750,000 células/mL de medio de cultivo, en cada pozo de placas de 6 pozos. Se preincubaron por 24 hrs para asegurar su adherencia a la placa; Después, se cambió el medio sustituyendo el suero (FBS) por el suplemento: Insulina, Transferrina y Selenio (ITS) disuelto al 1% en medio de cultivo y se incubaron nuevamente por 24 hrs.

Obtención de lisados celulares

Para buscar inducir diferencias en las líneas celulares a nivel experimental transcurrida la segunda incubación en presencia del medio suplementado con ITS, la línea MDA-MB-231 se estimuló con 10 nM de EGF (factor de crecimiento epidérmico) por pozo a diferentes tiempos (5,15, 30 y 60 min), como control negativo se empleó un tiempo 0, sin estimulación. La línea celular MCF-7 se estimuló con FBS que contiene estradiol y algunos otros factores, se estimuló a los mismos tiempos y se empleó el mismo control de tiempo cero. Con ayuda de un gendarme, se recuperaron las monocapas celulares en buffer de fosfatos (PBS). Se obtuvieron los pellet de células, a éstos últimos se les agregó buffer de lisis (Western Blotting buffer B 1X), adicionado con inhibidores de proteasas (leupeptina, pepstatina, ácido okadaico y aprotinina), en con-

centración 1 μ l/mL. La incubación duró 20 min a 4°C. Posteriormente se recuperó el lisado celular por centrifugación a 14000 rpm/15 min/4°C). El lisado se almacenó a -70°C para su uso posterior.

Cuantificación e integridad de proteínas totales

Se determinó la cantidad de proteínas totales en cada uno de los lisados celulares mediante el método de Bradford 17. Se realizó la separación de proteínas (100 μ g/ml) por electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% a 70 V/15min, y a 80 V/2.30 horas en una cámara CBG-250 (BioRAD, México). Una vez concluida la electroforesis, para verificar la integridad y la estimación de p42 y p44 presentes en cada lisado celular, los geles fueron teñidos con azul de Coomassie. Como control de peso molecular se empleó el marcador Rainbow Molecular Weight Markers Amersham Biosciences, que posee proteínas recombinantes coloreadas, dando diferente color a cada banda correspondiente a cada peso molecular.

Determinación de ERK1 y ERK2 por Western Blot

Una vez separadas las MAP cinasas ERK1 (p44) y ERK2 (p42), por electroforesis se transfirieron del gel de poliacrilamida a una membrana PVDF, en una cámara semi-seca CBG-250 (BioRAD, México), a 12 V/1 hora. Concluida la transferencia, se bloquearon los sitios de unión inespecífica presentes en la membrana de PVDF con una solución Buffer de Tris adicionada con Tween 20 al 0.05% y suplementada con leche descremada al 5%. Se incubó una hora en agitación orbital suave a temperatura ambiente. Después se incubó la membrana en presencia del anticuerpo primario p-ERK (IgG2a monoclonal obtenido en ratón) (Santa Cruz, sc-7383) a una concentración final de 1:2000 disuelto en la solución bloqueadora. Las incubaciones con los anticuerpos primarios se llevaron a cabo por 16 horas a 4°C con agitación orbital suave. Terminado este tiempo se lavó la membrana con TBS-T y se puso en contacto con el anticuerpo secundario anti-mouse (IgG-HRP; Santa Cruz, sc-2031) o anti-rabbit (IgG-HRP; Santa Cruz, sc-2030) diluido en concentración 1:6666. Este se incubó por 1 hora a temperatura ambiente con agitación orbital suave. Después se volvió a lavar con TBS-T para eliminar el exceso de anticuerpo y se le adicionaron los reactivos de detección ECL-Plus (Amersham PLC) a temperatura ambiente. La membrana se incubó entonces por 5min más, se absorbió el exceso de reactivo con un papel y se reveló mediante el uso de un equipo

automatizado KODAK Image Station. Los tiempos de exposición fueron variables dependiendo de la intensidad de la señal de luz emitida y se evaluó esta intensidad. Cada membrana se re-usó al menos 5 veces. En cada membrana se probó la presencia de ERK fosforilado y de las proteínas ERK1 y ERK2 totales. Se empleó el anticuerpo primario anti-ERK1 (IgG policlonal obtenido en conejo; Santa Cruz, sc-94) y el anti-ERK2 (IgG monoclonal obtenido en conejo; Santa Cruz, sc-1647).

Ensayos de fosforilación in vitro (actividad cinasa: KA)

Los ensayos de actividad cinasa (fosforilación in vitro) para ERK1/2, se llevaron a cabo empelando los lisados celulares estimulados en las condiciones y tiempos antes descritos para cada línea celular. En este caso se inmunoprecipitaron específicamente las ERK1/2 de cada lisado celular. Esto se logró mediante una incubación (20 min/4°C) de cada lisado celular, en presencia de 1 μ g/ μ L del anticuerpo dirigido contra ERK1 y ERK2. Transcurrido este tiempo, los lisados celulares, se incubaron en agitación constante en presencia de perlas de agarosa (beads) cubiertas con proteína G durante 2 horas a 4°C. Las proteínas G que recubren a dichas perlas de agarosa, unen con alta afinidad al tipo de IgG de los anticuerpos empleados. Después de este tiempo de incubación y una vez eliminado cualquier interacción no específica con la proteína G (mediante lavados con buffer de lisis), se desarrolló el ensayo de actividad cinasa. Las perlas de agarosa que contenían a las ERK1/2 recuperadas de los lisados celulares, se incubaron en buffer de MAPK cinasas, suplementado con inhibidores de proteasas y ATP 100 μ M marcado radioactivamente y sin marcar en presencia de 1 μ g de un sustrato universal para MAP cinasas. La reacción se llevó a cabo por 30 minutos a 30°C y con agitación suave (Thermoblock- eppendorf). Transcurrido este tiempo de incubación, se detuvo la reacción, se separaron las proteínas marcadas radioactivamente de las perlas de agarosa (incubación a 95°C/5 min), y se vertieron en un gel de poliacrilamida preparado al 12% para separar a las proteínas. El gel se secó (Gel dryer-Amersham), y se expuso a placas de auto radiografía para ser analizado posteriormente en el Kodak Image Station.

Análisis estadístico

La significancia estadística de los resultados se analizó mediante el empleo de pruebas T de Student de dos colas. Un valor de $P < 0.05$ se considera significativo.

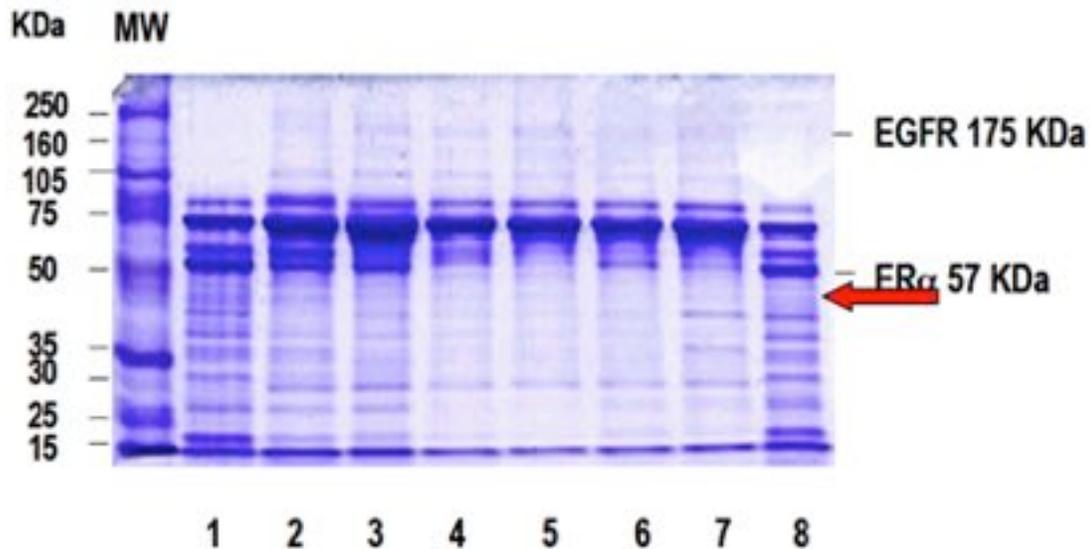


Figura 1. Gel de poliacrilamida al 12 %, teñido con azul de Coomassie. En el primer carril se encuentra el marcador de peso molecular. A la izquierda, se indica el peso molecular en KiloDaltones (KDa), de cada proteína presente en el marcador. En los carriles marcados 1-8, se distingue claramente una serie de bandas definidas en cada uno, que muestra las diferentes proteínas presentes en los lisados celulares. Los carriles 4-7 parecen tener menor concentración de proteína (se observan menos bandas debajo de 50 KDa). No se observa ningún barrido que sería indicativo de degradación proteica. Se indican los pesos moleculares de dos receptores (EGFR y ER α), sólo como referencia. Se observa una diferencia en la concentración de proteínas en cada carril.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación e integridad de proteínas totales

La cuantificación de proteínas se realizó a partir de una curva estándar, utilizando un stock de albúmina humana 1.4 μ g/ μ L como control, obteniéndose un coeficiente de correlación de 0.97 ± 0.02 . Así mismo, mediante electroforesis y tinción con azul de Coomassie, a través de la formación de un complejo con las proteínas presentes en el lisado celular, las cuales conservaron su integridad y reflejan un patrón constante, bien definido en los pesos moleculares. Al ser recuperados de la monocapa de cultivo no presentaron degradación, el colorante se une principalmente a residuos de arginina, triptófano, tirosina, histidina y fenilalanina (Fig. 1).

Las EGFR pesan 175 KDa, ER 57KDa y las ERK1 y ERK2 pesan 44 y 42 KDa, respectivamente. Generalmente se observan como un doblete. Es decir, son dos bandas en paralelo, generalmente separadas por la misma distancia, en el mismo gel. Estas se observan entre las bandas del marcador de peso molecular que corresponde a 35 y 50 kDa. En la figura 1, se observan muy claramente en los lisados celulares de los carriles 1, 2, 3 y 8 como lo indica la flecha roja de la figura 1.

Expresión de PAR1 en líneas celulares de cáncer de mama

En lisados celulares de cada línea celular: la MCF-7 de bajo potencial invasivo y la MDA-MB.231 (MDA) de alto potencial invasivo, se probó por inmunoblot la presencia del receptor de trombina PAR1. Como puede observarse en la figura 2, cuando se empleó el anticuerpo anti-PAR1 sólo se detecta una banda que corresponde a la línea celular de alto potencial invasivo (MDA) como lo indica la flecha roja.

Además de probar en estos lisados celulares la presencia de PAR1, se determinó en las mismas muestras (misma membrana de PDV) otros dos receptores de la familia del factor de crecimiento epidérmico el EGFR1 (EGFR) y el EGFR2. Las líneas celulares se obtienen de tejido metastásico y se clasifican en función de la localización fisiopatológica a partir de la cual han sido aisladas, uno de los prototipos más utilizados para el estudio de células hormonoindependientes ha sido la línea MDA-MB231, permite identificar células malignas compatibles con carcinoma primario de mama. Éstos también se encontraron presentes en la línea celular de alto potencial invasivo MDA como puede verse claramente en la Figura 2, donde en el primer y segundo panel se observan bandas muy claras en el carril de en medio (MDA). A fin de

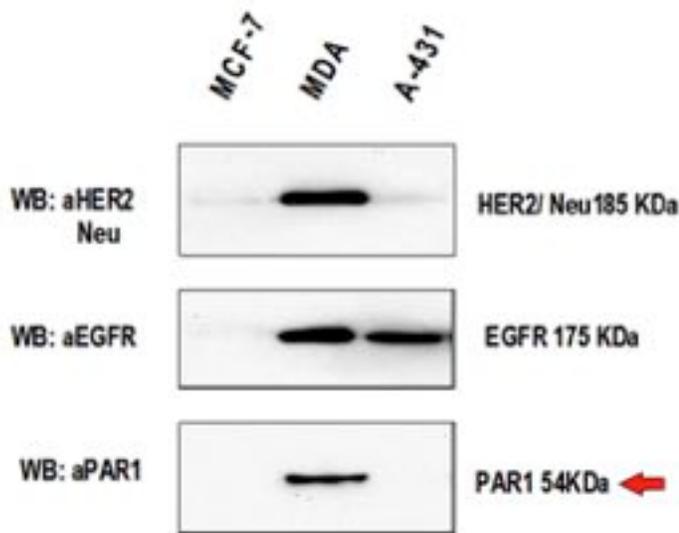


Figura 2. Expresión de PAR1 en líneas celulares de cáncer de mama. Se muestran las líneas celulares de bajo (MCF-7) y alto potencial invasivo (MDA), así como una línea comercial (A-431). Se observa la respuesta de las líneas celulares a diferentes receptores como son HER2/Neu; EGFR; PAR1.

contar con un control se empleó un lisado celular comercial. Éste proveniente de una línea celular epitelial (A-431) que se ha reportado positiva para EGFR (Fig. 2, tercer carril), esta última línea celular muestra una banda muy tenue correspondiente al peso molecular del receptor control (175 KDa).

Estos estudios confirmaron en la línea celular poco invasiva MCF-7, bajos niveles de expresión de PAR1 y la ausencia de EGFR, y corroboraron la presencia del receptor PAR1 de la trombina y del EGFR en la línea celular de cáncer de mama con alto potencial invasivo MDA-MB-231, como lo reportaron Kamath y Meydani (20). Esto resulta congruente, ya que PAR1 y EGFR, están relacionados con el estadio del tumor y el cáncer metastásico, lo que justifica que la expresión de PAR1 y EGFR se encuentren presentes en la línea MDA y no en la línea MCF-7. Así mismo, se ha demostrado que PAR-1 recluta transitoriamente beta arrestinas, que funcionan como un andamio para promover la activación de ERK1/2 (9), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación.

Expresión y activación de ERK1 y ERK2 en la línea celular MCF-7

En la figura 3A, se muestran los resultados de la estimulación de las células MCF-7, con suero bovino fetal (SBF) al 10%, y el anticuerpo dirigido contra la forma activa (fosforilada) de las ERK (indistinta-

mente de ERK1 o ERK2), durante: 0 minutos (1), 5 minutos (2), 15 minutos (3), 30 minutos (4), 60 minutos (5) y 90 minutos (6). Se observa una banda de diferente intensidad en todos los carriles. A los 5 minutos se observa un claro aumento en la intensidad de la banda correspondiente a una mayor cantidad de la proteína ERK1 fosforilada. Ésta siguió aumentando hasta los 30 minutos; tiempo en el que se observó la máxima respuesta de las ERK1 a la estimulación con SBF al 10%. Esta estimulación de la actividad de las ERKs disminuyó con el tiempo. Sin embargo, no se regresó a los niveles iniciales de ERKs observados en el tiempo cero, ni siquiera después de 90 minutos de estimulación con SBF al 10% (carril 6). En cambio para ERK2, se observó un incremento sostenido y significativo en su activación después de 5 minutos de la estimulación celular. Esta activación fue baja y se mantuvo constante hasta los 60 minutos en que se observó un ligero incremento de la intensidad de la banda (fosforilación). Tiempo después del cual, se observó una baja en la fosforilación. Sin embargo, tampoco en este caso se regresó a los niveles de ERK2 previos a la estimulación, observada a tiempo cero. En la figura 3B, se exhiben los resultados representativos de varios blots en los que se observó la misma tendencia de resultados de la estimulación con suero bovino fetal (SBF) al 10 % y el anticuerpo dirigido contra la ERK fosforilada a diferentes tiempos en la línea MCF-7. La intensidad de las bandas se cuantificó mediante un análisis densitométrico realizado en el Kodak image station.

Una vez aisladas las proteínas activas ERK1/2 en la línea celular de bajo potencial invasivo MCF-7, se les sometió a un ensayo de fosforilación in vitro, con ATP marcado radioactivamente. Esto permitió monitorear la cantidad de cada una de las ERKs que se fosforilaron en cada lisado celular in situ (Fig. 4A). En la figura 4B, se exhibe el análisis densitométrico realizado en el Kodak image station.

La expresión directa y específica obtenida de ambas MAP cinasas en la línea MCF-7, al ser estimulada con suero bovino fetal (FBS), se pudo deber a que éste contiene un gran número de factores de crecimiento y estimuladores de la proliferación celular, entre los que se encuentran altos niveles del receptor de estrógeno alfa, del cual se sabe puede modular la activación de las células MCF-7, ya que estas células poseen su respectivo receptor 17. Sin embargo al parecer la forma estructural de cada isoforma de ERK (Fig. 6), podría estar influyendo en la forma de activación específica de cada una de ellas, lo cual podría justificar que en este caso ERK1 presente una activación máxima a

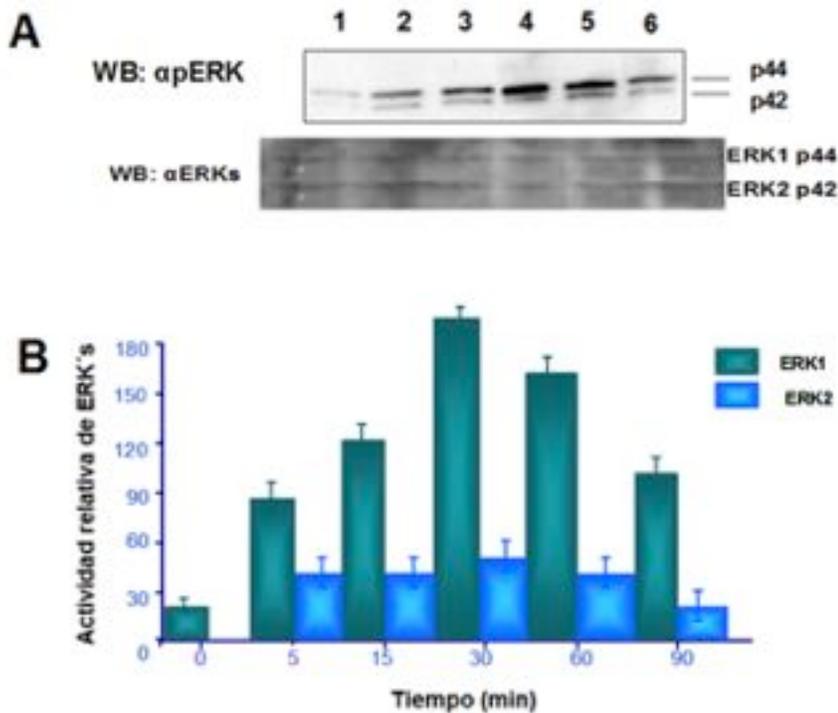


Figura 3. Línea celular MCF-7 estimulada con suero bovino fetal (SBF) al 10 %. A) Activación de la ERK1, cuando se trabajó con el anticuerpo dirigido contra la ERK fosforilada a 0 minutos (1), 5 minutos (2), 15 minutos (3), 30 minutos (4), 60 minutos (5) y 90 minutos (6). B) Análisis densitométrico del inmunoblot realizado para las ERK1 y ERK2 a diferentes tiempos. La gráfica es el resultado del análisis densitométrico realizado en 10 experimentos independientes. Cabe mencionar que hace falta la presencia de una proteína constitutiva que permita realizar adecuadamente de la cuantificación densitométrica.

los 30 minutos, es decir dependiente del tiempo; mientras que ERK2 haya mostrado un significativo incremento sostenido.

A fin de confirmar la contribución específica de las ERKs en la activación antes presentada, este último ensayo de fosforilación in vitro, se repitió en

presencia de un inhibidor específico de las ERKs. MEK funciona como la cinasa que activa a ERK, por lo tanto ERK es el sustrato de MEK, además U0126 es el inhibidor de MEK. Este se denomina U0126 e interactúa específicamente con la proteína cinasa que funge como el sustrato de las ERK1/2 y que se

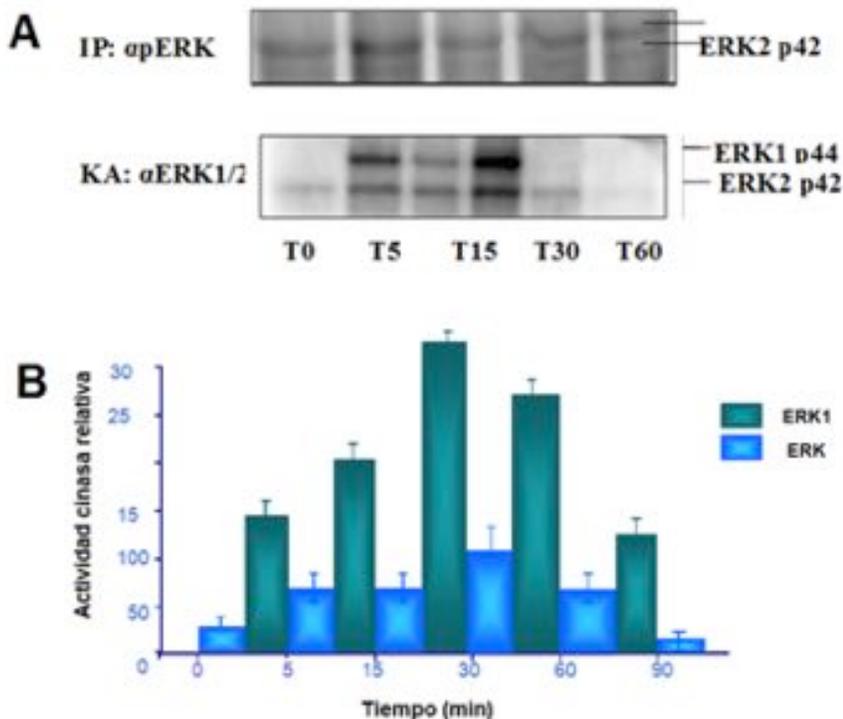


Figura 4. Análisis del ensayo de actividad cinasa: KA, realizado para las ERK1 y ERK2 en la línea celular de bajo potencial invasivo MCF-7. A) Se observa un incremento de la ERK1 hasta alcanzar un punto máximo de estimulación a los 30 minutos. Se muestra que la ERK2 se activa en menor proporción que la ERK1 y se mantiene constante hasta los 30 minutos después de estimular a la línea celular MCF-7 con SBF al 10%. B) Análisis densitométrico del ensayo de actividad cinasa para las ERK1 y ERK2. La gráfica es el resultado del análisis densitométrico realizado en 3 experimentos independientes.

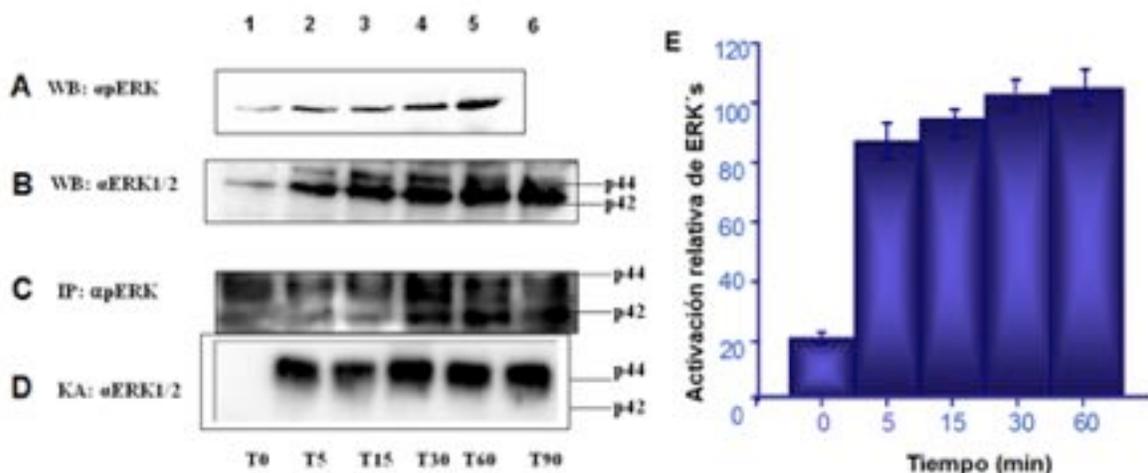


Figura 1. Se muestra un perfil de activación (fosforilación) de las ERK1 y ERK2 cuando se estimuló a las células de alto potencial invasivo (MDA-MB-231), con EGF (10 nM). A) Se observan las 2 MAP cinasas de interés. B) Intensidad de las bandas para ERK1 y ERK2 con sus pesos moleculares respectivos, obtenidas por Western Blot. C) Diferencia en la intensidad de las bandas de la figura B, en relación al tiempo, por Inmuno precipitación. D) Se observan las bandas resultantes de la fosforilación obtenidas en el ensayo de Actividad cinasa. E) Análisis densitométrico del inmunoblot. La gráfica es el resultado del análisis densitométrico realizado en 10 experimentos independientes.

denomina MEK1 y MEK2. En presencia de U0126, se inhibió por completo la actividad de las ERKs. Es decir, que los lisados celulares de la línea con bajo potencial invasivo, que fueron preincubadas con U0126 por 20 minutos y después estimuladas con SBF al 10% se sometieron a la inmunoprecipitación (separación específica) de las ERK1/2 y aunque se incubaron en presencia de un sustrato de ERKs y ATP marcado radioactivamente. No se observó ninguna señal o banda. Es decir que la inhibición fue del 100% (datos no mostrados). Esto se debe a que el inhibidor específico del sustrato de las ERKs: MEK U0126, media la fosforilación de las ERK1 y ERK2 (19, 20).

Expresión y activación de ERK1 y ERK2 en la línea celular MDA-MB-231

En la figura 5A, se muestran los resultados que se obtuvieron de la activación (fosforilación) de las ERK1 y ERK2, cuando se estimuló a las células de alto potencial invasivo (MDA-MB-231), con EGF (10 nM) durante: 0 minutos (1), 5 minutos (2), 15 minutos (3), 30 minutos (4), 60 minutos (5) y 90 minutos (6). Se muestran bandas de diferente intensidad en cada uno de los carriles. En el primero de éstos se observa una banda de muy baja intensidad (aunque al tiempo cero no se estimuló a las células, y no se esperaba activación de las ERKs, se observa una banda tenue). Desde los primeros 5 minutos y hasta los 60 minutos en que se desarrolló

este experimento, se observó un claro aumento en la intensidad de la banda correspondiente a una mayor cantidad de ERK1 activa. En este ensayo, se reportó una inhibición en la expresión de ERK2, ya que no se logró observar la banda correspondiente a esta cinasa. Este experimento se repitió en forma independientemente, al menos 10 veces y mostró gran reproducibilidad, independientemente del tiempo de estimulación de la línea celular con alto potencial invasivo MDA-MB-231.

En la figura 5E, se muestra la intensidad de las bandas se cuantificó mediante un análisis densitométrico realizado en el Kodak image station. Estos resultados se confirmaron mediante la realización de una inmunoprecipitación específica de las ERK1 y ERK2 del lisado celular total. Una vez aisladas las proteínas activas ERK1/2 se les puso en contacto con un sustrato específico en presencia de ATP marcado radioactivamente. Esto permitió monitorear la cantidad de cada una de las ERKs que se fosforiló en cada lisado celular in situ.

La activación de las ERKs en la línea celular MDA, podría atribuirse específicamente al receptor de EGFR, ya que en éste estudio y en reportes previos, se ha observado que en las células estimuladas con EGFE, se encuentran expresados niveles importantes de EGFE 20, 21, como se corroboró en este estudio con la línea MDA y A-431 (Fig. 2). Esta investigación muestra por primera vez una activación selectiva de la ERK1 y una inhibición de la ERK2 en las células de la línea MDA, presentándose

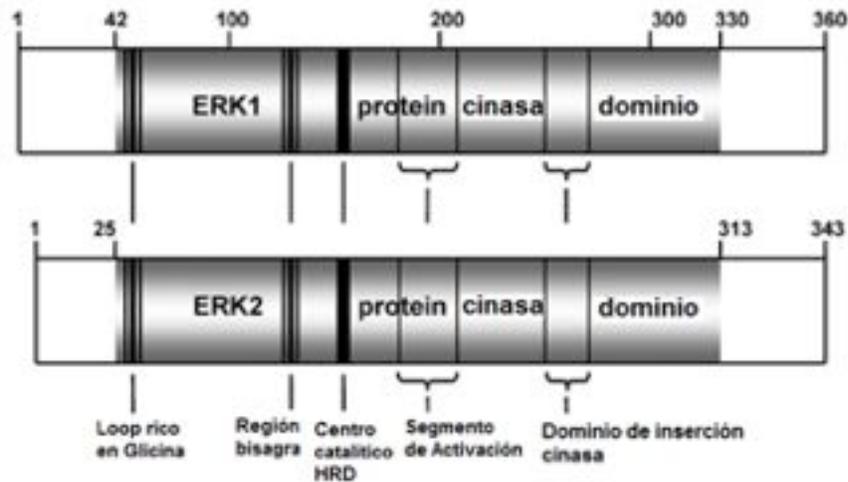


Figura 6. Arquitectura de ERK1 y ERK2 humana. Los números son los de residuos de aminoácidos. Tomada de 27.

estos efectos en las ERKs de manera independiente durante los diferentes tiempos de estimulación con EGF. Lo anterior podría evidenciar que la estructura específica de cada isoforma ERK (Fig. 6), cumple una función biológica concreta, y podría apoyar la hipótesis de que aunque no se conocen funciones únicas para ERK1 y ERK 2, esto no significa que no existan, puesto que se ha demostrado, que ningún animal puede sobrevivir con un solo alelo ERK (20, 22, 23).

El ensayo de fosforilación in vitro, también se repitió en presencia del inhibidor específico de las ERKs: U0126, en donde se inhibió por completo la actividad de las ERKs, debido a que no se realizó la fosforilación de ERK1 y ERK2.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio, sugieren que existe una modulación diferente de las vías de transducción de señales a nivel de las ERKs, en el proceso de la progresión tumoral del cáncer de mama. Se resalta, que posiblemente las diferencias entre la activación de las dos isoformas de las ERK, podría evidenciar algún tipo de regulación entre ellas. Estos trabajos de investigación, son importantes ya que aportan elementos sobre la identificación de los mecanismos moleculares que regulan la sensibilidad/resistencia de las células cancerosas, con el fin de mejorar la calidad de vida de las pacientes con este tipo de neoplasia. 

REFERENCIAS

1. Abdel Z AM, Eldeib AM. (2016) Breast cancer classification using deep belief networks. *Expert Systems with Applications*. 46: 139-144.
2. DeSantis C, Siegel R, Jema A. American Cancer Society. (2012) Breast cancer facts and figures 2011-2012. Atlanta: American Cancer Society, Inc.; 1-36.
3. Sánchez B JJ. (2015) Mortality trends and risk of dying from breast cancer in the 32 states and 7 socioeconomic regions of Mexico, 2002-2011. *Epidemiology Biostatistics and Public Health*. 12(1): 1-12.
4. Zeisberg M, Neilson EG. (2009) Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest*. 119 (6): 1429-1437.
5. "Estadísticas a propósito del día mundial de la lucha contra el cáncer de mama". (2015) INEGI Aguascalientes, Ags.
6. Lim, HC, Multhaupt H AB, Couchman JR. (2015) Cell surface heparin sulfate proteoglycans control adhesion and invasion of breast carcinoma cells. *Molecular Cancer* 14(1):15.
7. Hermida LI, Sánchez TE, Nerín SC, Cordero BR, Mora EI, Pinar SJ. (2016) Marcadores Tumorales. *REV CLÍN MED FAM*; 9(1): 31-42.

8. Lidfeldt J, Bendahl PO, Forsare C, Malmström P, Fernö M., Belting M. (2015) Protease activated receptors 1 and 2 correlate differently with breast cancer aggressiveness depending on tumor ER status. *PLOS ONE*. 10(8): e0134932.
9. Marie KF, Arreola OH, Velázquez E, Dorantes J, Méndez O, Ávila BL. (2009) El costo de la atención médica del cáncer mamario: el caso del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev. Salud Pública de México*. vol. 51 supl.2
10. Ichimura K, Shinozaki K, Tena G, Sheen J, Henry Y, Champion A, Kreis M, Zhang S, Hirt H, Wilson C, Heberle BE, Ellis BE., Morris PC, Innes RW, Ecker JR, Scheel D, Klessig DF, Machida Y, Munsy J, Ohashi Y and Walker JC. (2002) Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci* 7: 301-308.
11. Santillán B JG, Quiroz OH, Mendieta ZH, Gómez O LM. (2013) Expresión génica y receptores hormonales en cáncer mamario. "El camino hacia la búsqueda de terapias preventivas". *Revista de Medicina e investigación* 1(1): 1-42.
12. Kamath L, Meydani A, Foss F, Kuliopulos A. (2001) Signaling from protease activated receptor-1 inhibits migration and invasion of breast cancer cells. *Cancer Res* 61: 5933.
13. Even RS, Uziely B, Cohen P, Grisaru GS, Maoz M, Ginzburg Y, Reich R, Vlodaysky I, Bar SR. (1998) Thrombin receptor over expression in malignant and physiological invasion process. *Nat Med* 4(8):909-914.
14. Ceballos CG, Maldonado LV, Hernández RN. (2007) Signaling induced by PAR1 on breast cancer cell lines is correlating with its invasive potential. *BMC Cancer*. 7(1):A10. doi:10.1186/1471-2407-7-S1-A10
15. Ohshiro K, Bui N TM, Natha R SD, Schwartz AM, Levine P, Kumar R. (2012) Thrombin stimulation of inflammatory breast cancer cells leads to aggressiveness via the EGFR-PAR1-pak1 pathway. *International Journal of Biological Markers*. 27(4):e305-e313.
16. Maiello MR, D'Alessio A, Bevilacqua S, Gallo M, Normanno N, De Luca A. (2015) EGFR and MEK Blockade in Triple Negative Breast Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 116(12):2778-2785.
17. Ortiz M JM. (2009) Proteína quinasas como dianas farmacológicas. *Real academia nacional de farmacia*. Farmacia 11 28004 Madrid. Spain DOI: <http://dx.doi.org/ES/monoranf.v0i0.808:15-45>.
18. Roskoski RJ. (2012) ERK1/2 MAP kinases: Structure, function, and regulation. *Pharmacological Research*. 66:105- 143.
19. Hsu YL, Hou MF, Kuo PL, Huang YF, Tsai EM. (2013) Breast tumor-associated osteoblast-derived CXCL5 increases cancer progression by ERK/MSK1/Elk1/snail signaling pathway. *Oncogene* 32(37): 4436-4447.
20. Roser B, Pouysségur J, and Lenormand P. (2016) ERK1 and ERK2 Map Kinases: Specific Roles or Functional Redundancy?. *Front Cell Dev Biol*. 4: 53:1-23. doi: 10.3389/fcell.2016.00053
21. Smith BN, Burton LJ, Henderson V, Randle DD, Morton DJ, Smith BA, Taliaferro SL, Nagappan, P, Yates C, Zayzafoon, M, Leland WK, Chung VA, Odero M. (2014) Snail Promotes Epithelial Mesenchymal Transition in Breast Cancer Cells in Part via Activation of Nuclear ERK2. *PLOS ONE*. 9 (8):e104987.
22. Kabir MH, Suh EJ, Lee C. (2012) Comparative phosphoproteome analysis reveals more ERK activation in MDA-MB-231 than in MCF-7. *International Journal of Mass Spectrometry*. (309): 1- 12.
23. Chu HW, Cheng CW, Chou WC, Hu LY, Wang HW, Hsiung CN, Hsu HM, Wu PE, Hou MF, Shen CY, Yu JC. (2014) A novel estrogen receptor-microRNA 190a-PAR-1-pathway regulates breast cancer progression, a finding initially suggested by genome-wide analysis of loci associated with lymph-node metastasis. *Human Molecular Genetics*. 23 (2):355-367.
24. Bradford M MA. (1976) Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. (72): 248-254.
25. Kamath L, Meydani A. (2001) Signaling from Protease Activated Receptor-1 inhibits migration and invasion of breast cancer cells. *Cancer Res*. (61): 5933-5940.
26. Ray LB, Sturgill TW. (1998) Insulin-stimulated microtubule-associated protein kinase is phosphorylated on tyrosine and threonine in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. (85):3753-3757.
27. Roskoski, JR. (2012) MEK1/2 dual-specificity protein kinases: structure and regulation. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 417:5-10.

28. Prenzel N, Zwick E, Daub H, Leserer M, Abraham R, Wallasch Ch, Ullrich A. (1999) EGF-receptor transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. *Nature*. 402:884-888.
29. Prenzel N, Zwick E, Leserer M, Ullrich A. (2000) Tyrosine kinase signalling in breast cancer Epidermal Growth factor receptor: convergence point for signal integration and diversification. *Breast Cancer Res*. 2:184-190.
30. wLefloch R, Pouysségur J, Lenormand P. (2008) Single and combined silencing of ERK1 and ERK2 reveals their positive contribution to growth signaling depending on their expression levels. *Molecular and Cellular Biology*. 28: 511-27.

DINÁMICA ORGANELAR Y FUNCIONAL DE LAS CÉLULAS TRONCALES*

Fátima Eréndira Benítez Ramírez

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, 04510, CdMx, México. Correo E: fatimabr314@gmail.com

RESUMEN

Las células troncales son células de potencia celular variable con capacidad de autorrenovación, que participan en la formación, mantenimiento y restauración tisular durante el desarrollo embrionario y la vida adulta. El compromiso que adoptan las células troncales hacia un destino celular específico es producto de la estrecha coordinación entre los componentes de célula troncal y su nicho. A lo largo del proceso de compromiso celular, los organelos de la célula troncal se someten a cambios estructurales, funcionales y metabólicos. Esta revisión contrasta las modificaciones organelares, en el núcleo, citoesqueleto y mitocondria, que se presentan cuando la potencia celular de las células troncales embrionarias (ESCs) cambia al conservarse o diferenciarse hacia un tipo celular específico.

ABSTRACT

The stem cells are cells of variable cellular potency with self-renewal capacity, which participate in the tissue formation, maintenance and repair during embryonic development and adult life. The cellular commitment that the stem cells adopt towards a specific cellular fate is the product of the narrow line between the components of the stem cell and its niche. Throughout the process of cellular commitment, the stem cell organelles undergo structural, functional and metabolic changes. This review focuses on the organellar modifications, in the nucleus, cytoskeleton and mitochondria that occurs when the cellular potency of embryonic stem cells (ESC) changes to be conserved or differentiated towards a specific cell type.

PALABRAS

CLAVE:

Células troncales, potencialidad celular, autorrenovación, biología del desarrollo, reprogramación celular, nicho, diferenciación, medicina regenerativa.

KEY WORDS:

Stem cells, cellular potency, self-renewal, developmental biology, cellular reprogramming, niche, differentiation, regenerative medicine.

INTRODUCCIÓN

Las células troncales son células de potencial de diferenciación variable capaces de autorrenovarse. Es decir, las células troncales pueden generar células hijas idénticas a las progenitoras (autorrenovación) y también pueden producir diversos tipos de células diferenciadas (1, 2). Estas particulares características, convierten a las células troncales en los actores estelares en la formación y mantenimiento tisular durante el desarrollo embrionario y la vida adulta.

En el desarrollo embrionario se generan diversas células con distinto potencial de diferenciación. Una célula totipotente es el cigoto, un ovocito fecundado, que posee la capacidad *transitoria* de generar todos los linajes embrionarios y extraembrionarios (saco

vitelino, cordón umbilical y placenta) (3–5). Es decir, a partir de una sola célula totipotente (cigoto) se pueden generar aproximadamente 37.2 billones de células (6) clasificadas en 220 tipos celulares, para el caso de un humano adulto. Dicho número de células comienza a formarse cuando el cigoto se divide mitóticamente para dar lugar al blastocisto, una estructura embrionaria compuesta por un conjunto de células pluripotentes, denominado *masa celular interna* (ICM por sus siglas en inglés) y por el *trofoectodermo*, un tejido diferenciado con potencia altamente restringida, que origina el tejido placentario (7–9). Debido a las diferencias en potencialidad entre los componentes del blastocisto, su formación es la primera diferenciación del embrión.

Las células troncales pluripotentes son de menor potencia celular que las células totipotentes, ya que derivan únicamente tipos celulares embrionarios (3). Entre las células troncales pluripotentes, se encuentran las células troncales embrionarias (ESCs) y las células troncales de pluripotencia inducida (iPSCs). Las ESCs se generan de la ICM del blastocisto y pueden diferenciarse a los tipos celulares que derivan de las tres líneas germinales (endodermo, mesodermo o ectodermo) pero no a linajes extra embrionarios (4-6, 8). Mientras que las iPSCs se obtienen por la reprogramación celular de células adultas ya diferenciadas, comúnmente fibroblastos. La reprogramación celular se logra cuando se expresan en la célula adulta 4 genes que codifican a los factores de transcripción, Sox2, c-Myc, Klf4 y Oct4 (10,11), mediante la infección de las células adultas con vectores retrovirales que llevan insertos de los 4 genes de pluripotencia. Después de un par de semanas, las células adultas infectadas se seleccionan por su capacidad de formar colonias similares a las ESCs o por su resistencia al antibiótico neomicina. Las iPSCs son herramientas de alto potencial en medicina personalizada pues su uso elimina el rechazo inmunológico presente en los trasplantes tisulares provenientes de distintos donantes. Además, a partir de la diferenciación dirigida de las iPSCs hacia un tipo celular específico se pueden obtener distintas líneas celulares, sustituyendo así la obtención de líneas celulares a partir de cultivos primarios derivados de tejidos de modelos animales.

En la etapa tardía del desarrollo embrionario y en la vida postnatal, la renovación y reparación tisular queda al mando de las células troncales adultas (ASC). Las ASC pueden autorrenovarse y son multipotentes, es decir, con señales apropiadas las ASCs se diferencian a los tipos celulares del órgano al que pertenecen (1,12). De las ASC se derivan las células troncales unipotentes (USC) que se autorrenuevan y diferencian a solo un linaje celular, como el nombre lo indica (1,13), por ejemplo, las células troncales de la espermatogonia son células troncales germinales del epitelio seminífero de los testículos se diferencian únicamente a espermatozoides (14), (Fig. 1).

El control exquisito en los procesos de diferenciación se obtiene por el alto grado de coordinación entre el nicho celular, los factores solubles, las células vecinas, la matriz extracelular, las fuerzas mecánicas y las propiedades internas de la célula troncal (estado de compactación de la cromatina, expresión diferencial de genes, etc.) que se orquestan al unísono del tiempo, espacio e historia celular (15-19).

Conocer la dinámica organelar y funcional de las células troncales es imprescindible para su fu-

turo uso en medicina regenerativa personalizada, desarrollo de fármacos e investigación biomédica. Por esa razón, esta revisión se enfoca en los aspectos celulares que regulan y participan en la dinámica funcional de las células troncales en diferentes estados de potencialidad y durante su diferenciación.

Rol de la Arquitectura nuclear en la definición del destino celular de las ESC

Las células troncales requieren un genoma altamente plástico para mantener su potencialidad o diferenciarse. Al iniciar la diferenciación, se implementan programas de expresión diferencial de genes que comprometen el destino celular brindando a cada tipo celular un perfil transcripcional único (5).

Dentro del núcleo celular existen compartimentos subnucleares que constituyen plataformas para la organización nuclear, ésta se refiere a las posiciones adoptadas por genes individuales y por regiones específicas del genoma, en los territorios cromosomales al interior del núcleo (7, 20-21). Dichas posiciones regulan la expresión diferencial de genes durante la diferenciación, al igual que otros elementos nucleares como la composición de la lámina nuclear, la ubicación y estructura del nucléolo (22-23), las histonas y los complejos de factores transcripcionales (5, 7, 23-25).

El potencial de diferenciación de las ESCs está determinado en gran parte por la interacción entre los factores de transcripción, los efectores de las vías de señalización y los reguladores epigenéticos que en conjunto regulan el silenciamiento o activación de grupos de genes específicos que desencadenan en cambios de programas de expresión génica. Esta sofisticada plasticidad requiere de una continua remodelación en la estructura y accesibilidad de dominios específicos de la cromatina, generada por el constante intercambio entre las proteínas nucleares y el DNA, que dispone a la cromatina predominantemente en dos formas, la transcripcionalmente activa y menos condensada eucromatina y la altamente condensada y usualmente reprimida, heterocromatina. La cromatina de las ESCs contiene una menor abundancia de heterocromatina constitutiva comparado con sus contrapartes diferenciadas y además se caracteriza por la deposición estratégica de las variantes de histonas en elementos clave de regulación y por la unión dinámica de proteínas estructurales de la cromatina como HP1 (26, 27).

La dinámica de la cromatina en gametos maduros, células troncales y células somáticas se puede estudiar mediante la identificación y seguimiento

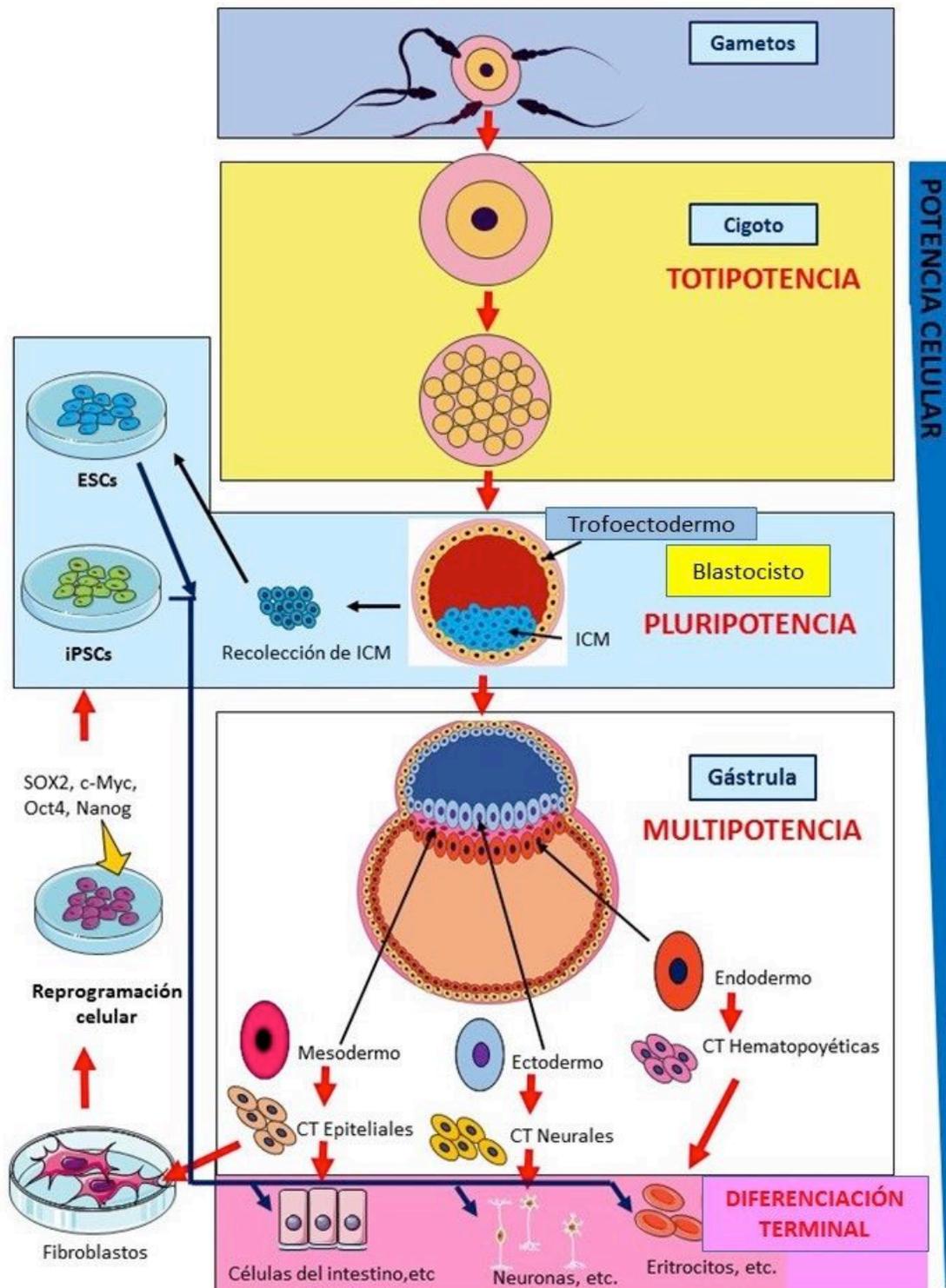
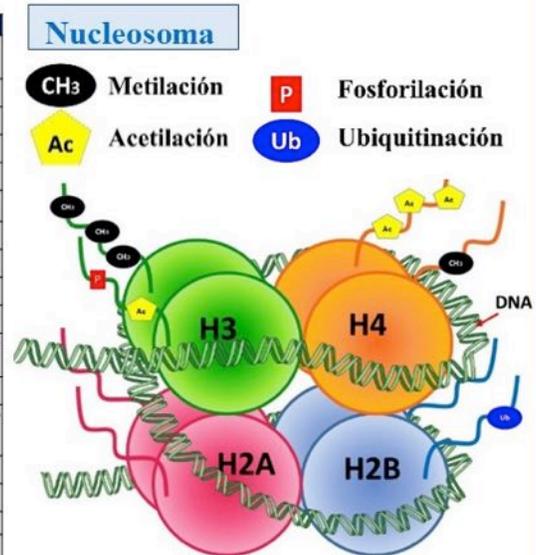


Figura 1. Células troncales. A partir del cigoto totipotente se derivan todos los tejidos embrionarios y extraembrionarios de un organismo en desarrollo. Las células troncales pluripotentes se pueden obtener a partir del ICM del blastocisto, que al cultivarse *in vitro* generan las ESCs que pueden diferenciarse a los linajes de 3 capas germinales. A su vez, las células troncales multipotentes se diferencian en diversos linajes celulares derivados de una sola capa germinal. Mientras que las células troncales unipotentes pueden diferenciarse sólo a un linaje derivado de una capa germinal específica. Por otra parte, las células diferenciadas como los fibroblastos pueden reprogramarse para obtener estados pluripotentes resultando en las iPSCs.

Caja 1. Código de Histonas: Las modificaciones químicas en las histonas afectan la expresión génica a través de cambios en la estructura tridimensional de la cromatina.

El DNA eucariótico se empaqueta en nucleosomas, cada uno se compone de 8 histonas enrolladas de DNA. Las células eucariontes contienen principalmente 5 histonas: H1, H2A, H2B, H3 y H4. Las últimas 4 son las histonas centrales mientras que la H1 no es parte del nucleosoma, ya que se une al linker de DNA. El nucleosoma se forma por un tetrámero de H3-H4 y por 2 copias del dímero H2A-H2B. La región amino-terminal de las histonas se somete a modificaciones químicas, como fosforilaciones (P), metilaciones (Met), acetilaciones (Ac) y ubiquitinaciones (Ub) en algunos de sus residuos, cada modificación puede repercutir en la expresión génica, debido a que se afecta la estructura de la cromatina, a esto se le ha denominado el código de histonas (Sukesh R Bhaumik, 2007).

Histona	Residuo	Modificación	Función putativa
H3	K4	Mono-Met.	Marca de elementos regulatorios asociados con potenciadores y otros elementos distales, pero también enriquecidos río abajo del inicio de transcripción.
H3	K4	Di-Met.	Marca de elementos regulatorios asociados con potenciadores y promotores.
H3	K4	Tri-Met.	Marca de elementos regulatorios asociados con promotores
H3	K9	Mono-Met.	Preferencia por el extremo 5' de genes.
H3	K9	Di-Met.	Marca epigenética asociada con la represión transcripcional.
H3	K9	Tri-Met.	Marca de represión asociada con heterocromatina y elementos repetitivos.
H3	K9	Ac.	Activación de la Transcripción.
H3	S10	P	Activación de la Transcripción.
H3	K14	Ac.	Evita la metilación de H3-K9.
H3	K27	Tri-Met.	Marca de represión transcripcional asociada con promotores inactivos.
H3	K36	Tri-Met.	Marca que promueve la actividad de las Desacetilasas de histonas (HDACs) evitando así la transcripción.
H3	K79	Di-Met.	Marca asociada con la transcripción, con preferencia por el extremo 5' de los genes.
H4	R3	Di-Met.	Marca de activación de la transcripción que puede reclutar proteínas de unión a metilo e influir en la deposición de otras marcas postraduccionales en las proximidades.
H4	K5	Ac.	Ensamble de nucleosomas
H4	K12	Ac.	Ensamble de nucleosomas.
H4	K16	Ac.	Ensamble de nucleosomas.
H2B	K120	Ub.	Activación de la Transcripción.



de proteínas características de los distintos estados de potencia celular y diferenciación, a través de imagenología (microscopía) *in vivo* de una célula individual (28), por FRAP (*Flourescence Recovering After Photobleaching*) y DNA FISH (*Flourescence In Situ hybridization*). Utilizando esta tecnología, E. Meshorer y colaboradores (28) compararon la dinámica nuclear durante la diferenciación *in vivo* de las ESC pluripotentes y la de los precursores neurales derivados de las ESC (NPCs por sus siglas en inglés). Reportaron que las ESC presentaban un patrón de heterocromatina dispersa, mientras que, en las NPCs la cromatina se encontraba compactada y concentrada en una posición distinta a la de las células ya diferenciadas. Estos cambios fueron paralelos con un incremento de *H3-K9Met3* (marcador epigenético para la heterocromatina silenciada) en las NPCs con respecto a las ESCs, aunado a una disminución en la acetilación de las histonas H3 y H4 en las NPCs comparadas con las ESCs (Caja 1). Lo que sugiere que, las ESC preservan su pluripotencia manteniendo una fracción de cromatina libre de histonas y otra asociada a proteínas, pues el recambio libre de histonas genera un estado de activación, referido como "respiración" de la cromatina, y que la reducción en la potencia celular está directamente relacionado con un aumento

en la compactación de la cromatina, dicho de otro modo, una disminución en la "respiración" de la cromatina.

Como se mencionó anteriormente, la composición de la lámina nuclear también tiene un papel importante en la regulación de genes durante la diferenciación, las láminas (proteínas de la lámina nuclear) tipo B están presentes en la mayoría de los tipos celulares desde la primera división del cigoto hasta la adultez. Contrastadamente, las láminas tipo A solo se detectan en las células diferenciadas (29) y en la línea celular de carcinoma embrionario (30), por lo que la expresión de lámina A/C se utiliza como marcador de diferenciación en ESCs humanas y murinas (31). Esto sugiere que niveles bajos de lámina A podrían ser un prerrequisito para el estado toti/pluripotente. Sin embargo, los reportes indican que se trata de una regulación más compleja y aún desconocida, ya que la sobre expresión de lámina A en las ESCs no afecta la expresión de genes pluripotentes, ni el potencial de diferenciación o crecimiento (31).

Por otra parte, es importante considerar que la función celular no depende sólo de cambios transcripcionales, sino que también depende en gran medida de la regulación en la síntesis, plegamiento y degradación de proteínas. La traducción del RNA

mensajero (RNAm) cambia a lo largo de la diferenciación y división celular, de modo que, por lo general las células en división tienden a sintetizar más proteínas que las células que no se dividen. Una excepción a lo anterior son las ESCs, que a pesar de su alta capacidad proliferativa, mantienen bajos niveles de síntesis y acumulación proteica puesto que presentan una menor fracción de RNAm asociada con polisomas traduccionalmente activos y un aumento en la capacidad del proteosoma en comparación con células diferenciadas (32). Esto sugiere que los niveles bajos de proteínas alcanzadas por una traducción reducida y un aumento en la degradación promueven el mantenimiento de las ESCs.

Estos datos son evidencia de la naturaleza plástica de los elementos nucleares que al adquirir ciertas conformaciones estructurales regulan la expresión de genes cuyos productos proteicos se traducen y degradan diferencialmente para conservar determinado estado de potencialidad en la célula troncal o promover su diferenciación.

El Citoesqueleto se somete a una intensa remodelación durante la diferenciación

El citoesqueleto es una red intracelular compuesta por tres familias de proteínas filamentosas, los microtúbulos, filamentos de actina y filamentos intermedios. Esta red controla las funciones mecánicas y espaciales de las células, además regula las respuestas celulares dependiendo del microambiente externo, ya que convierte las fuerzas mecánicas de tensión, contracción y de corte en señales intracelulares que influyen en las respuestas fisiológicas de la célula, por ejemplo en el movimiento estructural, la contracción celular, etc. Este fenómeno, en el que un estímulo mecánico se transforma en una señal eléctrica o química que desencadena un proceso fisiológico, se denomina mecanotransducción. La diferenciación es un evento de cambios funcionales y estructurales, por lo que el citoesqueleto de las células troncales se remodela continuamente a lo largo de su transformación a una célula especializada (16, 18, 19). Liana C. Boraas y colaboradores (15) evaluaron la remodelación citoesquelética a lo largo de la diferenciación de las células troncales pluripotentes (ESCs e iPSCs), mediante inmunocitoquímica para la detección de marcadores estructurales (actina, vimetina, nesrina y Lámina A/C). Encontraron que las iPSCs y ESCs poseen una morfología pequeña y redonda, que carece de la red de citoesqueleto extensa que sí se observa en fibroblastos de ratón (MEFs) que ya son células especializadas. Interessantemente, las iPSCs reprogramadas de los mismos MEFs pre-

sentan una morfología citoesquelética intermedia entre ESCs-MEFs, es decir, en la reprogramación de MEFs a iPSCs el citoesqueleto es remodelado a un estado "menos desarrollado" en las iPSCs resultantes. (Fig 2). Adicionalmente se encontró que la aplicación de estrés de corte, una fuerza de fricción que resulta del deslizamiento de una "capa" o "corriente" de un fluido sobre otra de igual magnitud de velocidad pero en sentido opuesto

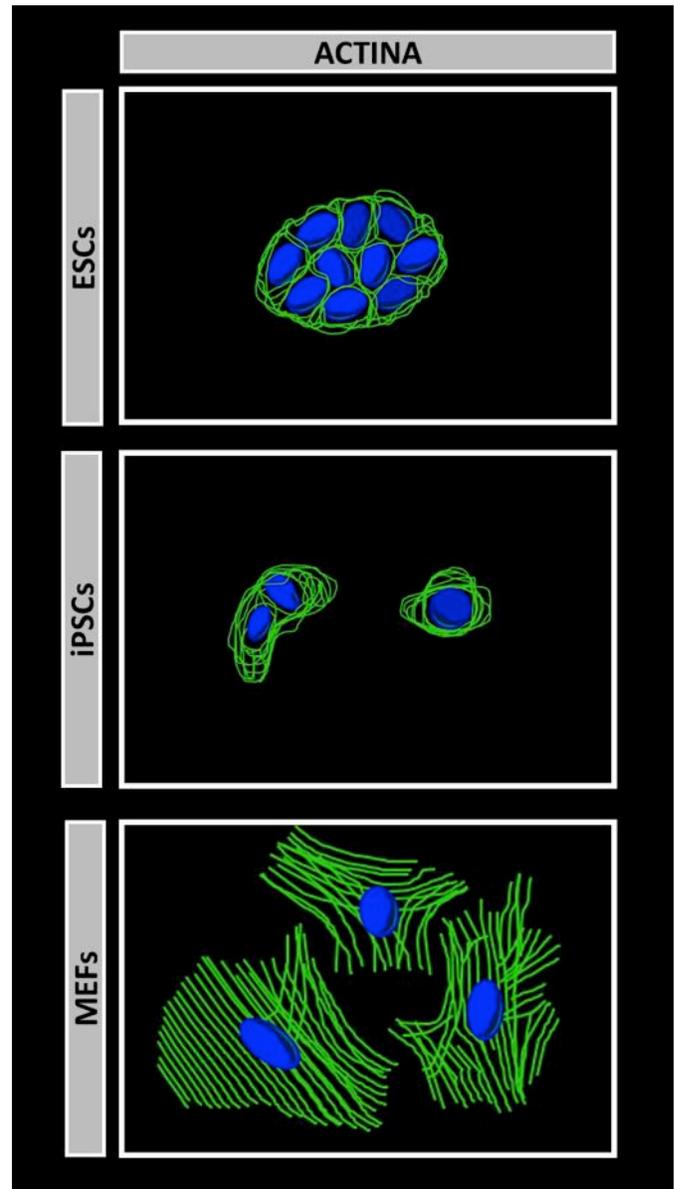


Figura 2. Organización del citoesqueleto de actina en las células troncales pluripotentes y diferenciadas. Imágenes obtenidas por Microscopía Confocal que muestran cambios en la estructura de los filamentos de actina (verde), DAPI, núcleos (azul) en las ESCs, iPSCs y los fibroblastos de embrión de ratón (MEFs) ya diferenciados.*Imagen recreada de los resultados en (15).

Caja 2. Estrés o Esfuerzo de corte en células.

El **esfuerzo o estrés de corte**, se define como la fuerza de fricción aplicada por unidad de área fuerza de fricción que resulta del deslizamiento de una “capa” o “corriente” de un fluido sobre otra de igual magnitud de velocidad pero en sentido contrario.

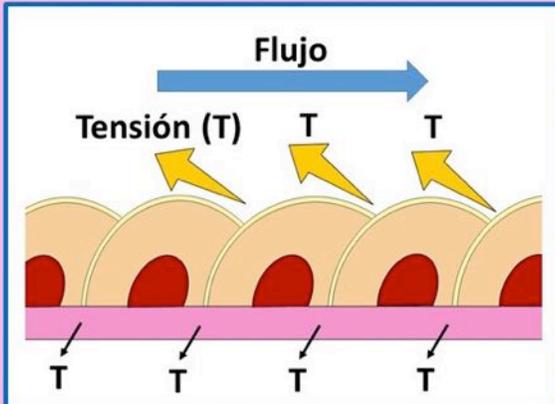


Figura 1.2. Generación de tensión en la membrana celular mediante la aplicación de estrés de corte. La tensión es menor en las uniones célula-célula inferiores y mayor en las superiores. Entre más rápido sea el flujo mayor será la tensión.

En los sistemas biológicos, en el fluido extracelular existe el estrés de corte, debido a que el fluido imparte tensión (T) a lo largo de la superficie membranal de las células. Por ejemplo el estrés del flujo sanguíneo sobre las células epiteliales de los vasos sanguíneos, será el estrés de corte. (35). **(Fig 1.2)**

El estrés de corte actúa sobre las células a través de receptores de membrana e influencia la expresión de genes mediante la fosforilación de factores de transcripción para inducir la remodelación del citoesqueleto y la activación de las vías MAPK/ERK 1/2 y SAPK/JNK 1/2 en procesos de adhesión, diferenciación, apoptosis y arresto celular.

Uno de los ejemplos más conocidos de la acción del estrés de corte en la diferenciación es la estimulación biomecánica de las células troncales mesenquimales (MSCs) como mayor contribuyente a la diferenciación exitosa hacia células endoteliales de los vasos sanguíneos (36). Este conocimiento es esencial para la fabricación de vasos sanguíneos sintéticos y el cultivo de las MSCs.

(Caja 2) promueve la diferenciación a mesodermo, lo apunta a que las fuerzas mecánicas del exterior pueden comprometer el destino celular.

Esto es importante para la medicina personalizada, debido a que las iPSCs se cultivan *in vitro*, pero se trasplantan *in vivo*, lo que implica un cambio drástico en el microambiente, y por lo tanto en las fuerzas mecánicas presentes en el nicho de la célula troncal, que pueden afectar el comportamiento de la célula troncal y por ende, la eficacia del trasplante.

Variabilidad en la estructura y función mitocondrial en las células troncales

La mitocondria es un organelo de doble membrana dentro las células eucariotas, que ejerce roles críticos en la fisiología de la célula, incluyendo, generar energía metabólica (ATP) por fosforilación oxidativa, funcionar como una plataforma para la señalización celular a través de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), regular la homeostasis de calcio y desencadenar la apoptosis (Vía intrínseca de la apoptosis).

La mitocondria tiene su propio genoma compuesto únicamente por 37 genes, para el caso de humanos, por lo que depende del genoma nuclear para sintetizar el resto de sus proteínas y componentes. Como se describió anteriormente, la diferenciación

de las ESCs requiere cambios en la expresión de los genes nucleares, sin embargo, este requerimiento no es suficiente para terminar exitosamente la diferenciación, pues son necesarios los cambios funcionales y morfológicos de todos los componentes celulares.

El número de mitocondrias, su estado metabólico, su actividad transcripcional y de síntesis proteica se modifican durante la diferenciación, tal y como se describe en un análisis ultraestructural hecho mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) que reveló que las ESCs humanas (hESCs) poseen mitocondrias alargadas, ovaladas y tubulares, similares a las presentes en la masa celular interna (ICM) del blastocito. Mientras que las ESCs murinas (mESCs) poseen mitocondrias esféricas y ovaladas, lo que indica una morfología mitocondrial diferente entre especies, que probablemente se deba a las necesidades energéticas distintas.

Interesantemente, en las hESCs existe menor actividad del factor de transcripción del DNA mitocondrial (TFAM) y las mitocondrias son pocas y se distribuyen alrededor del núcleo, en comparación con cardiomiocitos diferenciados que presentan más mitocondrias localizadas uniformemente en el citoplasma (33). Cuando las hESCs migran separándose de su colonia de origen, exhiben un grupo de mitocondrias en solo un polo citoplasmá-

tico, este grupo eventualmente prolifera ocupando el otro polo celular, rodeando así al núcleo; este cambio se acompaña de un incremento en la expresión de genes de DNA mitocondrial (mtDNA) y de factores de transcripción de mtDNA que se refleja en un aumento en el número de mitocondrias. Sin embargo, los cardiomiocitos derivados de la diferenciación de hESCs presentan niveles reducidos de expresión de factores de factores de transcripción y replicación de mtDNA a pesar de poseer un alto contenido mitocondrial localizado bipolarmente en el citoplasma. Debido a esta observación inesperada es importante continuar con el análisis del contenido de mtDNA durante la diferenciación de las hESCs pues se debe asegurar que las células diferenciadas a partir de las hESCs pueden adoptar el metabolismo propio del tejido diferenciado por largos periodos de tiempo para su uso en terapia de trasplantes.

Los requerimientos energéticos para cada célula se reflejan en diferencias metabólicas específicas del tipo celular. En el caso de las células troncales que poseen un metabolismo glucolítico se encuentran las iPSCs, ASCs y las primed ESCs, que son ESCs derivadas del epiblasto después de la implantación del blastocisto en la cavidad uterina, en contraste con el metabolismo de las ESCs derivadas del epiblasto antes de la implantación denominadas naive ESCs y células diferenciadas, que es predominantemente oxidativo (34).

Por lo descrito en los párrafos anteriores, podemos concluir que los distintos requerimientos metabólicos en diferentes poblaciones de células troncales (ESCs, iPSCs, ASCs) y células diferenciadas se manifiesta en la heterogeneidad del número, forma y contenido de las mitocondrias que las integran.

CONCLUSIÓN

Las células troncales son células con capacidad de autorrenovación y con potencial variable para diferenciarse a diversos tipos celulares, por lo que son esenciales en la formación y mantenimiento tisular durante el desarrollo embrionario y la vida adulta. El control exquisito en diferenciación o autorrenovación depende de una dinámica altamente organizada entre los componentes internos de la célula troncal y de su nicho.

Conocer la regulación de la dinámica organelar y funcional de las células troncales es de importancia para las terapias futuras con células troncales en medicina regenerativa o para el desarrollo de fármacos o como modelo y herramienta para la investigación biomédica.

GLOSARIO

Actina: Proteína que forma filamentos (polímeros) y participa en la contracción muscular, estructura, movilidad y unión celular.

Blastocisto: Estructura embrionaria de número celular variable formada por la masa celular interna (ICM) y el trofoectodermo.

Destino celular: El tipo celular específico que incluye el comportamiento y el estado epigenético.

DNA FISH: Técnica que utiliza una secuencia específica de DNA marcada con un fluoróforo que se hibrida con su contraparte, y así permite identificar la posición de secuencias de DNA in situ (27).

FRAP: Técnica que permite la explorar dinámica de proteínas es decir, su movilidad y cinética en células individuales in vivo. Se realiza en un film delgado que posee sondas fluorescentes que se someten al blanqueamiento y cuantifica la difusión lateral en 2 dimensiones.

Fuerza de tensión: Fuerza de tracción transmitida axialmente por medio de un objeto continuo unidimensional, es también el par de fuerzas acción-reacción que actúan en cada extremo de dichos elemento.

Histonas: Familia de proteínas básicas que se asocian con el DNA en el núcleo y participan en su condensación.

Microambiente: Entorno inmediato a pequeña escala de un organismo o una parte de un organismo, especialmente como una parte distinta de un entorno más amplio.

Naive ESCs: ESCs derivadas del epiblasto naive pre-implantado del blastocisto maduro.

Nestina: Proteína de filamentos intermedios tipo VI característica de los progenitores neurales.

Nicho de una célula troncal: Sitio anatómico del tejido que provee un microambiente específico que promueve que las células troncales mantengan un estado indiferenciado y de autorrenovación. El nicho regula la participación de las CT en la regeneración, homeostasis y reparación tisular.

Potencial de diferenciación: Número de posibles destinos celulares que una célula puede adquirir.

Primed ESCs: ESCs pluripotentes derivadas el epiblasto ya implantado que ya está preparado para la especificación de linaje y compromiso en respuesta al estímulo de tejidos extraembrionarios.

Reprogramación celular: Cambio artificial del destino celular.

TEM: Técnica de microscopía que transmite un haz de electrones en un espécimen para formar una imagen.

Territorio cromosomal: Región específica que ocupa un cromosoma en el núcleo.

Vectores retrovirales: Construcción de DNA artificial derivada de un retrovirus, usada para insertar secuencias específicas en el genoma de un organismo.

Vimetina: Proteína de filamentos intermedios tipo II. 

REFERENCIAS

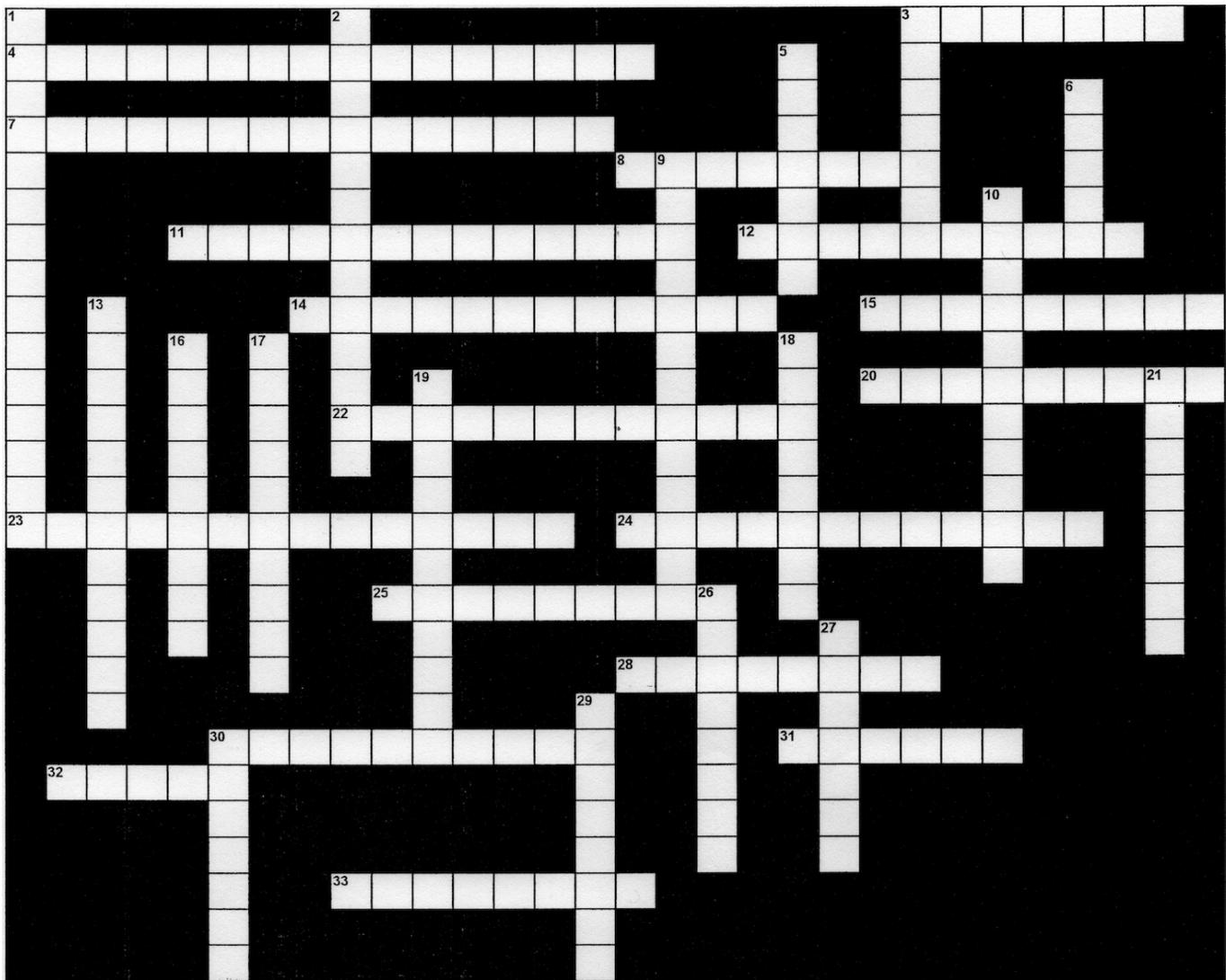
- Verfaillie CM (2002) Adult stem cells: Assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol* 12: 502–508.
- Greulich P, Simons BD (2016) Dynamic heterogeneity as a strategy of stem cell self-renewal, *PNAS*, 113: 1–6.
- Bošković A, Eid A, Pontabry J, Ishiuchi T, Spiegelhalter C, Raghunath Ram EVS, Meshorer E, Torres-Padilla ME (2014) Higher chromatin mobility supports totipotency and precedes pluripotency in vivo. *Genes Dev* 28: 1042–1047.
- Dang-Nguyen, TQ, Torres-Padilla ME (2015) How cells build totipotency and pluripotency : nuclear, chromatin and transcriptional architecture. *Curr Opin Cell Biol* 34: 9–15.
- Meshorer E, Misteli T (2006) Chromatin in pluripotent embryonic stem cells and differentiation, *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 540–546.
- Bianconi E, Piovesan A, Facchin F, Beraudi A, Casadei R, Frabetti F, Vitale L, Pelleri MC, Tassani S, Piva F, Perez-Amodio S, Strippoli P, Canaider S (2013) An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol* 6: 463–471.
- Borsos M, Torres-Padilla ME (2016). Building up the nucleus : nuclear organization in the establishment of totipotency and pluripotency during mammalian development, *Gen Dev* 30: 611–621.
- Ishiuchi T, Torres-Padilla ME (2013) Towards an understanding of the regulatory mechanisms of totipotency. *Curr Opin Genet Dev* 5: 512–518.
- Hardarson T, Caisander G, Sjögren A, Hanson C, Hamberger L, Ludin K (2003) A morphological and chromosomal study of blastocysts developing from morphologically suboptimal human pre-embryos compared with control blastocysts. *Hum Reprod* 18: 399–407.
- Scudellari M (2016) A decade of iPS cells. *Nature*, 534: 310–312.
- Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663–676.
- O'Connor TP, Crystal RG (2006) Genetic medicines: treatment strategies for hereditary disorders, *Nat Rev Genet* 7: 261–276.
- Blanpain C, Horsley V, Fuchs E (2007) Epithelial Stem Cells: Turning over New Leaves, *Cell*. 128: 445–458.
- Aponte Manuel P, (2015) Spermatogonial stem cells: Current biotechnological advances in reproduction and regenerative medicine. *World J Stem Cells* 7: 669–680.
- Boraas LC, Guidry JB, Pineda ET, Ahsan T (2016) Cytoskeletal Expression and Remodeling in Pluripotent Stem Cells. *PLoS One* 11: 1–16.
- Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW (2010) Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science* 324: 1673–1677.
- Even-Ram S, Artym V, Yamada KM (2006) Matrix control of stem cell fate. *Cell* 126: 645–647.
- Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE (2006) Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 126: 677–689.
- Mcbeath R, Pirone DM, Nelson CM, Bhadriraju K, Chen CS (2004) Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. *Dev Cell* 6: 483–495.

20. Cremer T, Cremer C, Schneider T, Baumann H, Hens L, Kirsch-Volders M (1982) Analysis of chromosome positions in the interphase nucleus of Chinese hamster cells by laser-UV-microirradiation experiments. *Hum Genet* 62: 201–209.
21. Parada L, Misteli T (2002) Chromosome positioning in the interphase nucleus. *Trends Cell Biol.* 12: 425–432.
22. Spector DL, Lamond AI (2011) Nuclear speckles. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3: 1–12.
23. Peric-Hupkes D, Meuleman W, Pagie L, Bruggeman SW, Solovei I, Brugman W, Gräf S, Flicek P, Kerkhoven RM, van Lohuizen M, Reinders M, Wessels L (2010) Molecular maps of the reorganization of genome-nuclear lamina interactions during differentiation. *Mol Cell* 38: 603–613.
24. Sleeman JE, Trinkle-Mulcahy L (2014) Nuclear bodies: new insights into assembly/dynamics and disease relevance. *Curr Opin Cell Biol.* 28: 76-83.
25. Solovei I, Grandi N, Knoth R, Volk B, Cremer T (2004) Positional changes of pericentromeric heterochromatin and nucleoli in postmitotic Purkinje cells during murine cerebellum development. *Cytogenet Genome Res* 105: 302–310.
26. Eiges R, Benvenisty N (2002) A molecular view on pluripotent stem cells. *FEBS Letters*, 529: 135–141.
27. Tee WW, Reinberg D (2014) Chromatin features and epigenetic regulation of pluripotency states in ESCs. *Development* 141: 2376-2390.
28. Meshorer E, Yellajoshula D, George E, Scambler PJ, Brown DT, Misteli T (2006) Hyperdynamic plasticity of chromatin proteins in pluripotent embryonic stem cells. *Dev Cell* 10: 105–116.
29. Röber RA, Weber K, Osborn M (1989) Differential timing of nuclear lamin A / C expression in the various organs of the mouse embryo and the young animal : a developmental study. *Development* 105: 365-378.
30. Peter M, Nigg EA (1991) Ectopic expression of an A-type lamin does not interfere with differentiation of lamin A-negative embryonal carcinoma cells. *J Cell Sci.* 100: 589-598.
31. Constantinescu D, Gray HL, Sammak PJ, Schatten GP, Csoka AB (2006). Lamin A/C expression is a marker of mouse and human embryonic stem cell differentiation. *Stem Cells* 24: 177–185.
32. Buszczak M, Signer RA, Morrison SJ (2014) Cellular differences in protein synthesis regulate tissue homeostasis. *Cell* 159:242-251.
33. St John JC, Ramalho-Santos J, Gray HL, Petrosko P, Rawe VY, Navara CS, Simerly CR, Schatten GP (2005) The expression of mitochondrial DNA transcription factors during early cardiomyocyte in vitro differentiation from human embryonic stem cells. *Cloning Stem Cells* 7:141-153.
34. Margineantu, DH, Hockenbery DM (2016) Mitochondrial functions in stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 38: 110–117.
35. White R. Charles, John A. Frangos (2007) The shear stress of it all: the cell membrane and mechanochemical transduction. *Phil. Trans R. Soc* 362: 1459-1467.
36. Kim DH, Heo SJ, Kang YG, Shin JW, Park SH, Shin JW (2016) Shear stress and circumferential stretch by pulsatile flow direct vascular endothelial lineage commitment of mesenchymal stem cells in engineered blood vessels. *J Mater Sci Mater Med* 27: 60.

CRUCIBIOQ[®]

CONCEPTOS DE OBESIDAD

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@bq.unam.mx



HORIZONTALES

- 3** Se produce en los adipocitos cuando aumenta su contenido de grasa, se libera a la sangre y envía una señal al núcleo ventromedial del hipotálamo para que se inhiba el apetito.
- 4** Las complicaciones de este tipo asociadas con la obesidad, ocasionan aplanamiento de

los cuerpos vertebrales, artrosis generalizada especialmente en las rodillas y en la columna lumbar.

- 7** Entre un 2 a 3% de los individuos que presentan obesidad se debe a un daño _____, el cual puede ocasionarse por hipogonadismo, hipotiroidismo, ovario poliquístico, síndrome de Cushing o bien por lesiones hipotalámicas.
- 8** Se producen en el estómago y estimulan el apetito sus receptores se encuentran en el núcleo arcuato y el el ventromedial.

- 11** Son las partículas de lipoproteína que transportan a los triacilgliceroles y al colesterol de la dieta desde el intestino hacia los tejidos.
- 12** Molécula que forma parte de la membrana, además es precursora de hormonas, pro-vitaminas, ácidos biliares; un valor ideal para este tipo de lípido es de 140 a 200 mg/dl en sangre, la elevación de esta cifra puede conducir a daño cardíaco.
- 14** Paradójicamente este problema -en muchas ocasiones- coincide con la obesidad, debido a una ingesta alta en carbohidratos y lípidos y baja en proteínas.
- 15** El hipotiroidismo es un trastorno _____ que afecta el funcionamiento de la glándula tiroi-des responsable de la regulación metabólica, debido a ello las personas que lo padecen, con frecuencia pueden tener problemas de sobrepeso u obesidad a pesar de una dieta controlada.
- 20** Tipo de ácido graso que no se puede sintetizar por la especie humana y que es indispensable para el buen funcionamiento del organismo.
- 22** Hormona cuya secreción está modulada por la insulina, tiene la función de disminuir la unión de los monocitos a las células endoteliales; en los casos de obesidad se encuentra disminuida.
- 23** Esta patología se caracteriza por la presencia de placas fibrosas con colesterol en la pared interna de los vasos sanguíneos, lo que conduce a que disminuya la luz arterial y decrezca el flujo sanguíneo.
- 24** Nombre que recibe la obesidad ocasionada por la lesión del núcleo ventromedial, lo que provoca aumento del apetito, hiperfagia y disminución de la actividad motora.
- 25** Se caracteriza por que el índice de masa corporal (IMC) está entre 25 y 29.9 kg/m².
- 28** Son dos hormonas neuropeptídicas (A y B) sintetizadas por el hipotálamo lateral y posterior, tienen la función de estimular el apetito y aumentar la ingesta alimenticia.
- 30** Síndrome en el que la obesidad está relacionada con intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertensión.
- 31** Tipo de ácidos liberados por la acción de la lipasa; cuando hay suficiente cantidad de glicerol-3-fosfato proveniente de la vía glucolítica, éstos se reesterifican y producen triacilgliceroles que alimentan a los adipocitos.
- 32** Las personas con sobrepeso, obesidad, diabetes tipo 2 y resistencia a la insulina es muy posible que presenten esta patología identificada como hígado _____.
- 33** Hormona proteica que se libera ante el aumento de glucosa en la sangre, es lipogenética ya que propicia el almacenamiento de grasa en los adipocitos, cuando su valor desciende su efecto es lipolítico.

VERTICALES

- 1** Hormona que tiene la función de contraer la vesícula biliar y que permite la salida de la bilis al duodeno.
- 2** Nombre que reciben los complejos moleculares que transportan triacilgliceroles, fosfolípidos y colesterol; según su composición se clasifican en quilomicrones, VLDL, LDL y HDL.
- 3** Enzimas secretadas por el estómago y el páncreas, su función principal es hidrolizar a los triacilgliceroles en ácidos grasos y monoacilglicerol, los que atraviesan la membrana intestinal y después de reconstituirse forman parte de los quilomicrones.
- 5** En este grupo quedan incluidas diferentes moléculas hidrofóbicas: ácidos grasos, triacilgliceroles, colesterol, ácidos biliares, hormonas sexuales, vitamina E, etc.
- 6** Las alteraciones cardiovasculares del _____ están relacionadas con: taquicardias, hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca, infarto al miocardio y tromboflebitis entre otras.
- 9** Como consecuencia de la obesidad hay una serie de alteraciones, entre otras, las _____ en las que hay problemas de hipoventilación, bronquitis crónica, neumonía, insuficiencia cardiorrespiratoria y apnea nocturna.
- 10** Proceso acelerado por la diabetes mellitus mediante el cual los ácidos grasos al oxidarse dan lugar a acetoacetato, β -hidroxibutirato y acetona, dichas moléculas son utilizadas como combustible en los tejidos periféricos.
- 13** La _____ arterial presente en aproximadamente el 50% de los obesos se debe en parte, a que la hiperinsulinemia conduce a un aumento en la reabsorción de sodio y agua.
- 16** Nombre con el que se designa a la obesidad en donde el exceso de grasa se localiza en la parte inferior del abdomen, caderas y piernas.
- 17** Células que constituyen a los tejidos blanco y pardo, las del primer grupo se encuentran en el adulto conteniendo gran cantidad de grasa y funcionan como reservorio de energía, las del segundo grupo son abundantes en el recién

- nacido poseen menor cantidad de grasa, tienen muchas mitocondrias y tienden a generar calor.
- 18** Enfermedad caracterizada por hiperglucemia, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, esta última puede deberse a que ante la hiperfagia de los obesos se suprime la síntesis de receptores de la hormona.
- 19** Tipo de hígado graso que se produce por movilización excesiva de lípidos para llenar los requerimientos energéticos.
- 21** Así se designa a la obesidad en la que el individuo tiene un marcado exceso de grasa en cara, cuello, y parte superior del abdomen, puede presentarse además hiperinsulinismo, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, entre otras.
- 26** Alteración del sistema regulador del peso corporal que conduce a la acumulación excesiva de grasa, en este proceso pueden intervenir factores ya sean genéticos, hormonales, sociales, ambientales, psicológicos; en muchas ocasiones se deben a que la ingesta calórica excede al gasto energético.
- 27** Se produce por la degradación de los principios alimenticios para ser utilizada en funciones metabólicas y térmicas por los seres vivos.
- 29** Una de las causas de la obesidad es la regulación anormal de este tipo de moléculas peptídicas que son producidas en diferentes tejidos.
- 30** La llamada obesidad _____ es cuando el índice de masa corporal (IMC) es igual o superior a 40 kg/m^2 , esta situación produce graves problemas para la salud y la calidad de vida del individuo.

EL FRAUDE DE LAS PREDATORY CONFERENCES O CONFERENCIAS FANTASMA

Enrique Claro

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular
Universitat Autònoma de Barcelona

Si un profesor universitario o un científico no tiene bien configurado su filtro de correo electrónico basura, habrá observado que en los últimos años están proliferando en su bandeja de entrada todo tipo de mensajes. Algunos son fáciles de identificar como fraudulentos; otros, en cambio, pueden resultar más difíciles de detectar, pues alimentan el ego científico del receptor del mensaje. Pueden invitar, por ejemplo, a enviar un manuscrito a determinada revista, que tras su aceptación en un proceso que nada tiene que ver con el *peer-review system*, enviará una factura astronómica en concepto de gastos de publicación. En otros casos, los mensajes contienen invitaciones a participar en conferencias científicas que no parecen del todo claras. Este tipo de congresos suele tener títulos altisonantes y de contenido muy general, contando con decenas de simposios que, de acuerdo con la disparidad de sus títulos, se diría que cubren todo o casi todo el saber de la humanidad. Frecuentemente, el correo electrónico de invitación a la conferencia incluye una lista de científicos de prestigio mundial que, supuestamente, han confirmado su asistencia. Ejemplos de este tipo de conferencias son la International Conference on Earth Science and Geo Science (1), Global Congress and Expo on Biomaterials (2), o World Gene Convention 2018 (3).

Con seguridad, la mayoría de los profesionales sabe que en el primer caso se trata de lo que se conoce como *predatory journals* (4), revistas supuestamente científicas con poco o nulo control de calidad, cuyo objetivo es generar beneficio económico; en el segundo caso, son congresos falsos, conocidos en el mundo científico como *predatory conferences* (5). Estos supuestos congresos generan beneficios en concepto de inscripción y, principalmente, de actividades paralelas, pues en muchos casos están organizados por agencias de viajes. Las conferencias suelen realizarse en salas de hotel, cuentan con pocos asistentes aparte de los

conferenciantes y, por supuesto, los científicos de prestigio que habían confirmado su asistencia jamás aparecen. Ambas actividades son evidentemente un fraude y, a la vez, hacen un daño tremendo a la percepción social de la ciencia y de los científicos, como lleva años denunciando Jeffrey Beall, de la Universidad de Colorado en Denver (6, 7), y otros, como Dana Roth, del Cal Tech (8).

A mediados de abril de 2018 recibí una invitación para participar en el *9th World Gene Convention-2018*, que tendría lugar en Singapur durante el mes de noviembre. En el mensaje, se me invitaba a dar una charla sobre el tema "*Brain Specific Kinase-1 BRSK1/SAD-B associates with lipid rafts: modulation of kinase activity by lipid environment*", que tendría lugar dentro del "*Symposium 6-3: Biotransformation and Bioprocesses*". El título que me proponían no es otro que el de un artículo que publiqué en 2011, junto con mis colegas del Departamento de Bioquímica de la Universidad Autònoma de Barcelona en la revista *Biochemica et Biophysica Acta* (9).

Para llamar la atención de mis alumnos del master de Bioquímica y Biología Molecular de la UAB (10) sobre las conferencias fraudulentas, decidí responder a este correo manifestando mi interés en asistir. El objetivo de mi cruzada fue conseguir una carta de aceptación en la que fuera patente el escandalosamente nulo nivel científico del antedicho evento. Para ello, durante una serie de mensajes que crucé con los organizadores, conseguí que aceptasen una conferencia con estas dos características especiales:

- A) Un título larguísimo y además surrealista, delirante, disparatado (elija usted el calificativo), que alude a la Tierra Media de JRR Tolkien, a la raza Klingon de la serie Star Trek, a la lengua catalana y a unas cuantas palabras pseudotécnicas de sonido rimbombante:

"A new prospective era in photogold management of the kling-on syndrome in Middle-earth areas: lipidological insights on nanoelectrochip transduction in cardiac arrest and synapse bridging. Metabolomic outbursts for a new anaplerotic self-regulated pathway conveying glycolitic cat-a-lan lessons."

- B) Un autor que pertenece a la Klingon society, perteneciente a una institución radicada en Kono's, planeta natal de los Klingon, de nombre "taH pagh taHbe". Debo aclarar que éste es un famoso verso de Shakespeare traducido a la lengua Klingon (11).

Es difícil de creer, y por eso adjunto la carta como prueba que debería servir de aviso a científicos que pudieran sentirse tentados por los cantos de sirena de este tipo de invitaciones. Es evidente que si esta propuesta ha sido aceptada para participar en el *9th World Gene Convention-2018*, cualquier título bien intencionado será aceptado, con el consiguiente perjuicio económico para la persona estafada; en un supuesto aún peor, queda patente que no hace falta mucha imaginación para intentar construirse un currículum científico fraudulento.

Referencias

1. <https://scientificfederation.com/earth-science-2018/>
2. <https://scientificfederation.com/biomaterials-2019/>
3. <http://www.bitcongress.com/wgc2018/default.asp>
4. https://en.wikipedia.org/wiki/Predatory_open-access_publishing
5. https://en.wikipedia.org/wiki/Predatory_conference
6. Beal J (2012) Predatory publishers are corrupting open Access. *Nature* 489, 179.
7. Beal J (2016) Ban predators from the scientific world. *Nature* 534, 326.
8. <https://libguides.caltech.edu/c.php?g=512665&p=3503029>
9. Rodríguez-Asiain et al. (2011) Brain Specific Kinase-1 BRSK1/SAD-Bassociates with lipid rafts: modulation of kinase activity by lipid environment. *Biochim. Biophys. Acta* 1811, 1124-1135.
10. <https://www.uab.cat/web/estudiar/masteres-oficiales/informaciongeneral-1096480309770.html?param1=1096480140580>
11. http://memory-alpha.wikia.com/wiki/The_Klingon_Hamlet



Acceptance Letter

Professor Dr. Enrique Claro PhD

President of the Kling-on Syndrome Society

taH pagh taHbe'

87H21 Qo'noS

It is our great pleasure to accept your lecture with the title of "A new prospective era in photogold management of the kling-on syndrome in Middle-earth areas: lipidological insights on nanoelectrochip transduction in cardiac arrest and synapse bridging. Metabolomic outbursts for a new anaplerotic self-regulated pathway conveying glycolitic cat-a-lan lessons" at BIT's 9th Annual World Gene Convention-2018, which will take place in Singapore during November 13-15, 2018.

WGC-2018 features a very strong technical program, mainly focused on: breakthroughs in gene, advances genomics & genetics, new research of DNA and RNA, focus on basic research, the frontier research of life sciences, new biotherapy discovery, emerging areas for medicine applications, robust technology development, and cutting-edge Biotechnology. It aims to provide a platform for all experts from academia, industry and national labs to discuss latest hot researches and achievements. Attendees will hear world-class speakers discussing the challenges and opportunities facing the gene, biotechnology and life sciences field. The business & academic experts who are from home and abroad will give excellent speeches

Singapore, one of most modern countries in Asia, is blessed not only with the best conference facilities but also has exciting attractions to offer; colorful island beaches, family friendly facilities, and etc. We are sure that you will enjoy your stay in Singapore apart from gaining ideas and experience from the conference.

Thank you very much and we look forward to your active support and participation.

Sincerely yours,

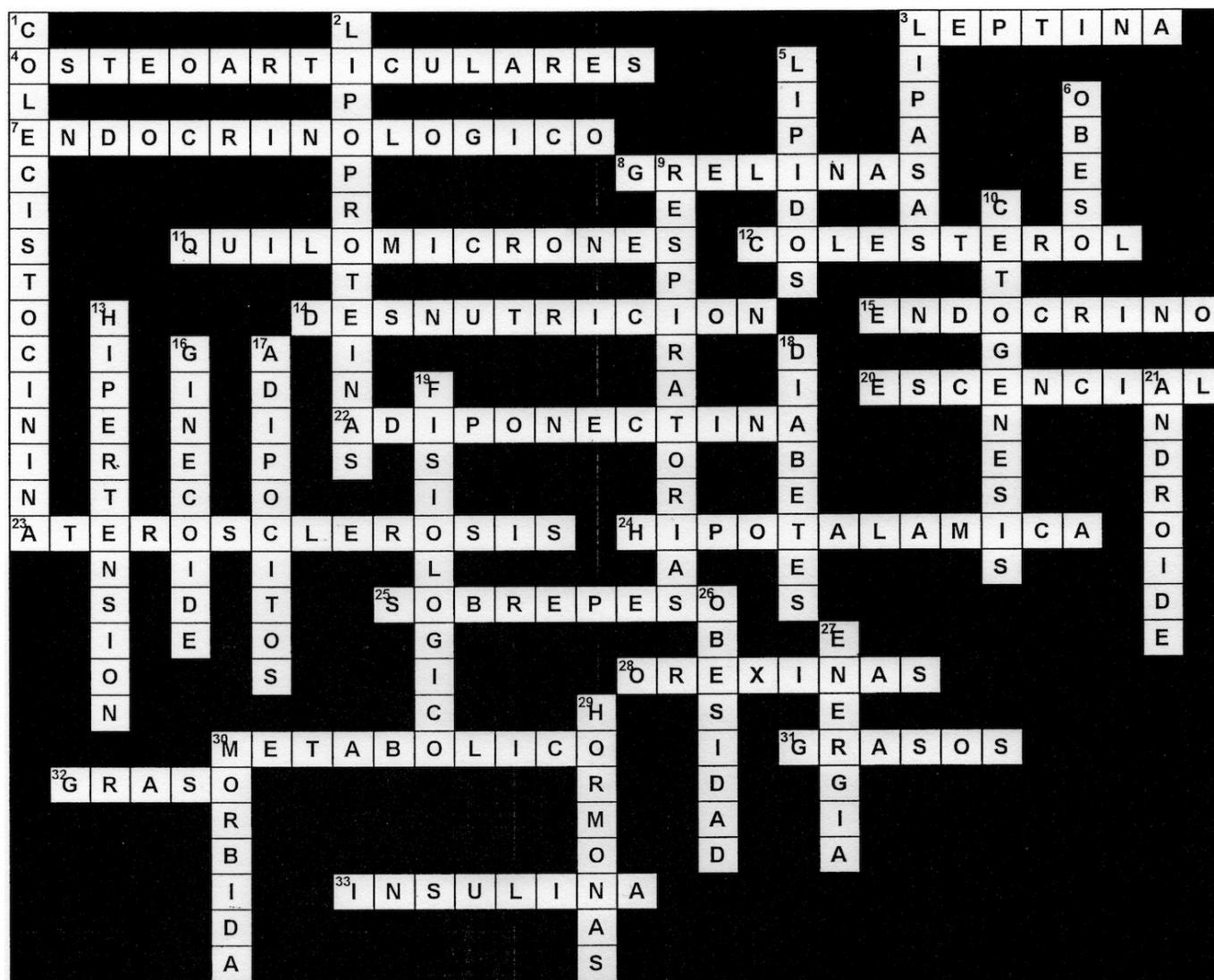
Organizing Commission of WGC-2018
No. 1 Hui Xian Yuan
Dalian Hi-tech Industrial Zone
LN 116025, China
Tel: 0086-411- 84799609 EXT 816
Email: teresa@gene-congress.com



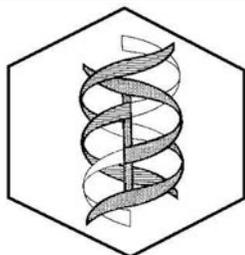
SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ[®]

CONCEPTOS DE OBESIDAD

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@bq.unam.mx



LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.



XXVII CONGRESO

10 y 11 de junio de 2019

SEDE

Universidad Nacional Autónoma de
México

Ciudad Universitaria. Cd. de México

Facultad de Medicina



<https://www.google.com.mx/search?hl=es419&source=hp&biw=&bih=&q=FOTOGRAFIA+UNAM+MEDICINA>

Auditorio “Alberto Guevara” (anexo al “Fernando Ocaranza”).



Horario lunes 10 de junio y martes 11 de junio de 9:00 a 14:00 y de 16:00 a 19:00 horas.

Se busca fortalecer la enseñanza de la Bioquímica y compartir experiencias docentes; este Congreso se realiza en la Facultad de Medicina de la UNAM con el apoyo del Departamento de Bioquímica. El eje temático central es “Enseñanza Bioquímica”, integrando participaciones en las que la academia nacional comparta sus experiencias educativas.

BASES

- 1.-Se invita participar a profesores(as) que imparten Bioquímica o áreas afines del nivel medio superior, superior y posgrado, además de alumnos en grupo de trabajo presidido por profesor(es) participante(s).
- 2.-Los trabajos a exponer deberán ser propuestas de aspectos pedagógicos sobre los aprendizajes o contenidos de planes y programas de asignatura, asociados con la realización de actividades frente a grupo, teóricas, experimentales, metodologías de aprendizaje, evaluación, planeación educativa, resultados educativos, competencias, materiales didácticos, tesis, investigación educativa, entre otras.
- 3.-Cada trabajo a participar tendrá **un autor** y hasta **4 coautores**, mismos que serán considerados como participantes y deberán inscribirse al **Congreso** y asistir, otorgándose los reconocimientos personales respectivos como ponentes y asistentes, siempre y cuando se

cumpla con los requisitos de pago de inscripción al Congreso.
Por favor no incluya en el trabajo a personas que no asistirán.

4.-La participación puede ser como ponente-asistente, bien únicamente como asistente.

5.-Para participar como ponente, se deberá enviar a más tardar el **10 de mayo de 2019:**

a.- El resumen del trabajo a presentar a la dirección electrónica esther.revuelta@yahoo.com.mx elaborado de acuerdo al formato indicado en esta convocatoria (punto No. 7). El número máximo de trabajos por participante es de 5.

b.-Escaneo del pago realizado en el banco a la cuenta de la AMPB A.C.

PAGO DE INSCRIPCIÓN AL CONGRESO

A.-Con anticipación para registro y programación de trabajo a presentar en el congreso

- Depósito bancario de \$1000.00 (un mil pesos 00/100 MN) por profesor participante y asistente.

-Depósito Bancario de \$500.00 peso00/100 MN para alumno participante y asistente .

BANCO: BBVA Bancomer al número de cuenta: **0133718123 Cuenta CLABE (012180001337181237)** a nombre de la **Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C.** Enviar copia del documento emitido por banco al hacer el depósito, a la dirección electrónica:

asoc.mex.prof.bq@gmail.com esto es un requisito para enviarle la carta de aceptación. (Conservar el documento original para presentarlo al inicio del Congreso en su inscripción).

b.- Pago personal (sólo para los asistentes, no ponentes) en efectivo el día de inicio del XXVII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C.
(10 Junio 2019)

c.-*La aportación económica que Usted realice, incluye: inscripción al Congreso, renovación anual a la Asociación como agremiado e incorporación como integrante a la Asociación de los nuevos participantes.*

Se entregará constancia de asistencia al Congreso y por ponencia en cada trabajo, individualmente.

EJES TEMÁTICOS DEL CONGRESO:

A.-Paradigmas educativos, enseñanza, aprendizaje, evaluación, metodologías, estrategias, investigación educativa en Bioquímica y áreas afines.

B.-Experiencias educativas y resultados.

C.-Investigación en Bioquímica.

D.-Otros

TIPOS DE PRESENTACIÓN DE TRABAJO EN EL CONGRESO

Los trabajos al Congreso se presentarán en una de dos versiones de presentación que corresponde a: **oral o cartel**, asignados de acuerdo al orden de envío a la mesa directiva organizadora del evento y de acuerdo a disponibilidad de horario.

En caso de enviar más de un trabajo, **uno de ellos será elegido para presentación oral y los demás en cartel** (se solicita indique que trabajo preferiría que se deba programar como ponencia oral).

Al saturarse la programación de trabajos en presentación oral, se asignará presentación en cartel.

El registro de trabajos a presentarse tienen como fecha límite el 10 de mayo de 2019, debiendo entregarse por escrito vía correo electrónico a la

dirección: asoc.mex.prof.bg@gmail.com el resumen del trabajo con una extensión de 4 a 6 cuartillas, de acuerdo a las especificaciones siguientes:

I.-Documento elaborado en Word versión 2003, 2007 ó 2010, letra Arial 12, interlineado 1.5 en formato de ensayo, citando las fuentes de información de la que se extraen las ideas o que dan fundamento al texto elaborado.

Con el siguiente contenido:

a.-ENCABEZADO: Centrado en mayúsculas y minúsculas, (letra Arial 14 negrita, interlineado 1.5) que contenga: Título del trabajo a presentar; Autores (Apellidos, nombres); Institución de procedencia; Dirección de la Institución; Direcciones electrónicas de los autores del trabajo.

b.-RESUMEN

c.-FUNDAMENTOS TEÓRICOS REFERENTES AL TEMA A PRESENTAR.

d.-OBJETIVO(S)

e.-METODOLOGÍA

f.-RESULTADOS

g.-DISCUSIÓN O ANÁLISIS DE RESULTADOS

h.-CONCLUSIONES

i.-REFERENCIAS.

Los trabajos se modificarán en formato para ajustarse al formato de las memorias.

II- Los carteles se colocarán al inicio de la sesión y el o los autores deberán permanecer frente a ellos para su explicación, durante el horario en que sea programado.

III- Los trabajos serán revisados y en su caso, aceptados por el Comité Científico del Congreso.

Solicitamos a Ustedes calidad en los trabajos, existiendo la posibilidad de solicitar a los autores modificaciones y adecuaciones a los resúmenes de sus ponencias enviadas para su aprobación.

IV.- Los resultados de aceptación de trabajos a participar se dará a conocer por escrito en documento enviado por la Presidenta de la AMPB A.C. vía correo electrónico del 11 al 15 de Mayo de 2019.

POR FAVOR CONSIDERE LAS FECHAS INDICADAS PARA LA RECEPCIÓN DE LOS TRABAJOS YA QUE SE DEBE ELABORAR CON TIEMPO LA MEMORIA DEL CONGRESO. AGRADECEMOS SU COLABORACIÓN.

V.- Cualquier situación no prevista en la convocatoria presente será resuelta por el Comité Organizador.

SOLICITAMOS ACTUALICE SUS DATOS COMO MIEMBRO INTEGRANTE DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, MANTENGA SU VIGENCIA.

INFORMES

* María Esther Revuelta Miranda.

Presidenta AMPB, A.C.

FES-Cuautitlán UNAM. Sección Bioquímica y Farmacología Humana. Campo I.

Teléfono 044 55 1683-9732.

esther.revuelta@yahoo.com.mx o

asoc.mex.prof.bg@gmail.com

*Juan Manuel Torres Merino.

Secretario-Tesorero AMPB, A.C.

FES-Cuautitlán UNAM. Sección Bioquímica y Farmacología Humana. Campo I.

Teléfono 044 55 2086-2611.

torresmerino_manuel@yahoo.com.mx

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2018

AUTORES DE EDITORIALES

Calderón Salinas José Víctor. (2018) La charlatanería disfrazada de Ciencia. REB 37 (1):1-3

Camacho Carranza Rafael y Calderón Salinas José Víctor. (2018) El horizonte de la edición genómica. REB 37 (4) 99

Martínez Sámano Jesús y Juárez Oropeza Marco Antonio. (2018) Acceso libre a la información científica, ¿Existen barreras para la ciencia? REB 37 (3):65-66

Patiño Pérez Claudia. (2018) La formación del médico. REB 37 (2):39-40

AUTORES DE LOS ARTÍCULOS

Benítez Ramírez Fátima Eréndira. (2018) Dinámica organelar y funcional de las células troncales. REB 37 (4):111-119

Delgado Ramírez Mayra, Rodríguez Menchaca Aldo Azmar. (2018) Funciones no-canónicas de los canales de potasio activados por voltaje. REB 37 (2):41-47

González Andrés y Fillat María F. (2018) Aspectos metodológicos de la expresión de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. REB 37 (1):14-27

López Naranjo F, Ávila Álvarez. Guadarram Flores, Córdova-Moreno, Hernández-Rodríguez N. A. (2018). Estudio de las células cancerosas y su activación celular en el cáncer de mama. REB 37 (4):100-110

Ramírez-Bohórquez Eric, García-Cruz Diana, Ortega-Pacheco Diego, Siliceo-Murrieta José I, Ramón-Canul Lorena Guadalupe, Ramirez-García Sergio Alberto. (2018) Implicaciones clínicas de la expresión de genes que codifican para proteínas de las uniones estrechas: el caso de TJP1. REB 37 (3):67-74

Rodríguez-Alonso Gustavo, Shishkova Svetlana. (2018) Estudio del transcriptoma mediante RNA-seq con énfasis en las especies vegetales no modelo. REB 37(3):75-88

Romero Aguilar Lucero, Guerra Sánchez Guadalupe, Luqueño Bocardo Oscar I, Pardo Vázquez Juan Pablo. (2018) La cinasa de residuos de serina y treonina blanco de la rapamicina (TORC1) es esencial en el metabolismo celular de los eucariontes. REB 37(1):4-13

Tixi Verdugo Wilma Inés, Fernández Mejía María Cristina. (2018) Prevención prenatal de la diabetes y obesidad. REB 37 (2):48-55

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. (2018) Convocatoria al XXVI Congreso. REB 37 (1):32-33

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. (2018) Convocatoria al XXVII Congreso. REB 37 (4):127-128

Blanco Salazar María José. (2018) ¿Quién necesita receptores cuando existen balsas lipídicas? REB 37 (2):59-60

Claro Enrique. (2018) El fraude de las Predatory conferences o conferencias fantasma. REB 37 (4):123-125

Salceda Sacanelles Rocío. (2018) Obituario: Ricardo Miledi y Dau (1927-2017). REB 37(3):34

Saldaña Balmori Yolanda. (2018) Enfermedades relacionadas con el metabolismo de los lípidos. CRUCIBIOQ y su Solución REB 37 (1):28-31 y 35

Saldaña Balmori Yolanda. (2018) Degradación de aminoácidos esenciales. CRUCIBIOQ y su Solución REB 37 (2):56-58 y 61

Saldaña Balmori Yolanda. (2018) Conceptos de genética. CRUCIBIOQ y su Solución. REB 37 (3):89-90 y 95

Saldaña Balmori Yolanda. (2018) Conceptos de obesidad. CRUCIBIOQ y su Solución REB 37 (4):120-122 y 126

Vega Garzón Juan Carlos. (2018) Aminoestructura: Una propuesta pedagógica para

el aprendizaje de los veinte aminoácidos que comúnmente se encuentran en las proteínas. REB 37 (3):91-94

TÍTULOS DE EDITORIALES

Acceso libre a la información científica, ¿Existen barreras para la ciencia? (2018) Jesús Martínez Sámano y Marco Antonio Juárez Oropeza. REB 37 (3):65-66

Charlatanería disfrazada de Ciencia. La (2018) José Víctor Calderón Salinas. REB 37 (1):1-3

Formación del médico. La (2018). Claudia Patiño Pérez. REB 37 (2):39-40

horizonte de la edición genómica. El (2018) Camacho Carranza Rafael y Calderón Salinas José Víctor. REB 37 (4) 99

TÍTULOS DE LOS ARTÍCULOS

Aspectos metodológicos de la expresión de proteínas recombinantes en Escherichia coli. (2018) González Andrés y Fillat María F. REB 37 (1):14-27

Cinasa de residuos de serina y treonina blanco de la rapamicina (TORC1) es esencial en el metabolismo celular de los eucariontes. La (2018) Romero Aguilar Lucero, Guerra Sánchez Guadalupe, Luqueño Bocado Oscar I, Pardo Vázquez Juan Pablo REB 37(1):4-13

Dinámica organelar y funcional de las células troncales. (2018). Benítez Ramírez Fátima Eréndira. REB 37 (4):111-119

Estudio de las células cancerosas y su activación celular en el cáncer de mama. (2018). López Naranjo F, Ávila Álvarez. Guadarram Flores, Córdova-Moreno, Hernández-Rodríguez N. A. REB 37 (4):100-110

Estudio del transcriptoma mediante RNA-seq con énfasis en las especies vegetales no modelo. (2018) Rodríguez-Alonso Gustavo, Shishkova Svetlana REB 37(3):75-88

Funciones no-canónicas de los canales de potasio activados por voltaje. (2018) Delgado Ramírez Mayra, Rodríguez Menchaca Aldo Azmar. REB 37 (2):41-47

Implicaciones clínicas de la expresión de genes que codifican para proteínas de las uniones estrechas: el caso de TJP1. (2018) Ramírez-Bohórquez Eric, García-Cruz Diana, Ortega-Pacheco Diego, Siliceo-Murrieta José I, Ramón-Canul Lorena Guadalupe, Ramirez-García Sergio Alberto. REB 37 (3):67-74

Prevención prenatal de la diabetes y obesidad. (2018) Tixi Verdugo Wilma Inés, Fernández Mejía María Cristina. REB 37 (2):48-55

TÍTULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Amino-estructura: Una propuesta pedagógica para el aprendizaje de los veinte aminoácidos que comúnmente se encuentran en las proteínas. (2018) Vega Garzón Juan Carlos. REB 37 (3):91-94

Conceptos de genética. CRUCIBIOQ y su Solución. (2018) Saldaña Balmori Yolanda. REB 37 (3):89-90 y 95

Conceptos de obesidad. CRUCIBIOQ y su Solución. (2018) Saldaña Balmori Yolanda. REB 37 (4):120-122 y 126

Convocatoria para presentar trabajos en el XXVI Congreso. (2018) Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. REB 37 (1):32-33

Convocatoria para presentar trabajos en el XXVII Congreso. (2018) Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. REB 37 (4):127-128

Degradación de aminoácidos esenciales. CRUCIBIOQ y su Solución. (2018) Saldaña Balmori Yolanda. REB 37 (2):56-58 y 61

Enfermedades relacionadas con el metabolismo de los lípidos. CRUCIBIOQ y su Solución. (2018) Saldaña Balmori Yolanda. REB 37 (1):28-31 y 35

fraude de las Predatory conferences o conferencias fantasma. El (2018) Claro Enrique. REB 37 (4):123-125

Obituario: Ricardo Miledi y Dau (1927-2017). (2018) Salceda Sacanelles Rocío. REB 37(3):34

¿Quién necesita receptores cuando existen balsas lipídicas? (2018) Blanco Salazar María José. REB 37 (2):59-60

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB)

La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La Revista está dirigida a investigadores, profesores y estudiantes de posgrado, licenciatura y educación media superior. Los trabajos que se someten a evaluación para su posible publicación no deben de haberse presentado total o parcialmente en otras publicaciones.

Se aceptan únicamente contribuciones originales con estricto contenido científico en forma de artículos de investigación, de revisión, de crítica, de análisis y otras comunicaciones que tengan que ver con diversas formas de estimular el aprendizaje de la bioquímica y sirvan de apoyo a investigadores, profesores y alumnos, tanto en aspectos de investigación, académicos y de actualización.

I. Los artículos se deben ajustar a los siguientes lineamientos editoriales:

1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando departamento, institución, ciudad, estado y país y la dirección de correo electrónico del autor responsable. La afiliación de los autores se indicará con números entre paréntesis. Se proporcionará un título breve con un máximo de 60 caracteres.

2) Resumen. Se deberán incluir dos resúmenes, uno en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de 350 caracteres.

3) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.

4) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima recomendada de 15 cuartillas a doble espacio, en "Times New Roman 12" como fuente de la letra, sin formato de texto, tabuladores o pies de página. Las figuras y tablas se presentarán separadas del texto.

5) Referencias. Se indicarán en el texto con números entre paréntesis de acuerdo a su orden de aparición. Las referencias se enlistarán al final del trabajo y deben contener para los artículos: apellidos e iniciales de todos los autores, año

de publicación entre paréntesis, título completo del artículo y después de un punto, el nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen y antecedido por dos puntos, el número de la primera y última páginas, de acuerdo con el siguiente ejemplo: Martin GM, Austad SN, Johnson TE (1996) Generic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. *Nature Gen* 113:25-34. Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma: Wood KJ (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The Molecular Biology of Immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, Ann Arbor, Michigan, USA, pp 81-104. Los libros podrán incluir las páginas totales o las consultadas y se citarán de acuerdo con este ejemplo: Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

6) Figuras y Tablas. Las figuras se pueden presentar en formato "jpg" o integradas en un archivo de "Power Point" o del mismo "Word" separadas del texto del artículo. Las figuras pueden presentarse en colores, con fondo y sombreado. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales y separadas del texto del artículo. Las figuras y las tablas se deberán numerar con arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros después de la reducción. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y en su caso

obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula y entre paréntesis (Fig. 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

7) Abreviaturas. Las abreviaturas seguirán las normas de la IUPAC, aquellas específicas o poco comunes deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

II. Otras comunicaciones incluyen: resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, problemas teóricos, ejercicios prácticos, juegos didácticos con orientación educativa, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, entre otras. Éstas deberán seguir los siguientes lineamientos:

- 1) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 2) Se aceptará un máximo de 10 referencias que se citarán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrán incluir figuras o tablas, con las características que se indican en el inciso I-6.

Los manuscritos que no cumplan con las especificaciones de la Revista no serán aceptados de primera instancia para su revisión.

Los manuscritos serán evaluados por lo menos por tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los autores en anónimo y quienes en todo momento permanecerán anónimos para los autores y entre

ellos; los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a un mes. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas con anonimato entre ellos al Editor en Jefe. El resultado de la evaluación puede ser: rechazado, enviado para correcciones o aceptado. Una vez obtenida una evaluación global, el Editor en Jefe enviará las evaluaciones al autor responsable para que corrija e incorpore en el manuscrito las diferentes observaciones o en su caso, indique su opinión a observaciones que considere discutibles en los dictámenes de los revisores. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la Revista, en un lapso no mayor a 30 días naturales; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. De ser necesario el Comité Editorial podrá enviar nuevamente el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de revisión, todo ello continuando con el anonimato. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera, se enviarán al autor responsable.

Los archivos electrónicos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica como archivos adjuntos (reb@bq.unam.mx), con atención al Editor en Jefe y a partir de una dirección de correo electrónico que será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá indicar plenamente su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje enviado se deberá expresar la solicitud para considerar la posible publicación del artículo, el título del mismo, los nombres completos de los autores y su adscripción institucional, así como el número, tipo y nombre de los archivos electrónicos enviados. En el mismo texto se debe de aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista en su forma total o parcial, para su evaluación o que el mismo está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe de aclarar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.