

VIII

CONGRESO
DE TRANSDUCCIÓN
DE SEÑALES

4 - 7 DE NOVIEMBRE 2019

CONFERENCIAS INVITADAS

MAPKs y una ATPasa de H⁺, enlazando las transducciones de señales y de energía

Marina Gavilanes Ruiz¹, I. Giordano Ponce Pineda¹, Carla D. González Córdova¹, Laura Carmona Salazar¹, Mariana Saucedo García², Arturo Guevara García³. Tel. 55 5622 5376; gavilan@unam.mx

¹Dpto. de Bioquímica. Facultad de Química, UNAM. Cd. Universitaria, Coyoacán. 04510, Cd. de México

²Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo. México

³Instituto de Biotecnología, UNAM. Cuernavaca, México

Una vía de transducción de señales puede estar bifurcada y ser parte de redes transmisoras de información a través de la célula. La señal es el evento disparador que activa las rutas de transducción y culmina en una respuesta constituida por varios eventos metabólicos, cuya conexión con los elementos inmediatos anteriores casi siempre no está bien establecida. Las cascadas de MAP cinasas pertenecen a la parte intermedia de muchas vías transductoras de señales diversas. Los blancos directos de las MPKs son en general factores de transcripción que una vez que son fosforilados activan o desactivan genes específicos. Como consecuencia, cambian los niveles de expresión de enzimas, impactando el metabolismo celular. Hasta ahora, las enzimas que expresan las respuestas finales en las vías de transducción mediadas por cascadas de MAP cinasas en plantas han sido poco identificadas. En el caso de las respuestas a bajas temperaturas, las MPK3, MPK4 y MPK6 se han relacionado con la activación de genes de respuesta a frío. Algunos de estos genes codifican a proteínas que protegen al cloroplasto durante la congelación, pero la mayoría de los blancos indirectos de las cascadas de MAP cinasas son aún desconocidos. En este trabajo, describimos la caracterización de la actividad de la ATPasa de H⁺ de la membrana plasmática de plantas de *Arabidopsis thaliana* que no expresan a la MPK3, MPK4 o MPK6 y que son expuestas a condiciones de aclimatación al frío. Encontramos diferencias en los parámetros cinéticos de esta enzima translocadora de H⁺ y en sus niveles en la membrana plasmática, lo cual sugiere que MPK3, MPK4 y MPK6 regulan la actividad de esta ATPasa cuando las plantas son expuestas a bajas temperaturas.

Este trabajo ha sido financiado por DGAPA, UNAM (PAPIIT IN220618), Facultad de Química (PAIP 50009115) y CONACYT, México (238368 y 252001).

Marina Gavilanes Ruiz¹, I. Giordano Ponce Pineda¹, Carla D. González Córdoba¹, Laura Carmona Salazar¹, Mariana Saucedo García², Arturo Guevara García³. Tel. 55 5622 5376; gavilan@unam.mx

¹Dpto. de Bioquímica. Facultad de Química, UNAM. Cd. Universitaria, Coyoacán. 04510, Cd. de México

²Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo. México

³Instituto de Biotecnología, UNAM. Cuernavaca, México

A signal transduction pathway may have bifurcations and may constitute part of nets that transmit information across the cell. The signal, the triggering event that activated the transduction routes commonly ends in a response constituted by several ultimate metabolic events, which connection is not well known with the previous transducers. The MAP kinase cascades are part of the intermediate sections of many signaling pathways. The direct targets of the MAPK enzymes are in general transcription factors that once that are phosphorylated, activate or deactivate specific genes. As a consequence, expression levels of enzymes change, impacting cell metabolism. So far, the last factors in charge of expressing the final response are barely identified. In the case of the response to low temperatures, MPK3, MPK4 and MPK6 have been implied in the activation of cold-responsive genes. Some of these genes encode proteins that protect the chloroplast membrane during freezing, but most of the final indirect targets of the MAP cascades remain elusive. In this work, we describe the characterization of the plasma membrane H⁺-ATPase activity in *Arabidopsis thaliana* lines lacking the expression of MPK3, MPK4 or MPK6 that are exposed to cold acclimation conditions. We found differences in the kinetics of this H⁺-translocating enzyme and in its membrane content, suggesting that MPK3, MPK4 and MPK6 control the activity of the enzyme in plants that are exposed to low temperatures.

This work was financed by DGAPA, UNAM (PAPIIT IN220618), Facultad de Química (PAIP 50009115) and CONACYT, México (238368 and 252001).

Dos pozas independientes de AMPc en hepatocitos, aseguran una respuesta receptor-específica [Two independent pools of cAMP ensure receptor response specificity in hepatocytes].

Héctor Riveros-Rosas¹, Raquel Guinzberg¹, Antonio Diaz-Cruz², Carlos Acosta-Trujillo¹, Maria Magdalena Vilchis-Landeros¹, Héctor Vazquez-Meza¹, Carlos Lozano-Flores³, Natalia Chiquete-Felix⁴, Alfredo Varela-Echavarría³, Salvador Uribe-Carvajal⁴, y Enrique Piña¹.

¹Depto. Bioquímica, Fac. Medicina, UNAM, Cd. México; ²Depto. Nutrición Animal y Bioquímica, Fac. Medicina Veterinaria y Zootécnica, UNAM, Cd. México; ³Instituto Neurobiología, UNAM, Querétaro; ⁴Instituto Fisiología Celular, UNAM, Cd. México, México. Tel: +52 55 5623 2284; email: epgarza@unam.mx ; hriveros@unam.mx

Dentro de una misma célula existen diferentes receptores acoplados a una proteína G, que estimulan la producción de AMPc, y no obstante que emplean el mismo segundo mensajero, la célula responde de manera diferente a cada uno de estos receptores. La regulación espacio-temporal del AMPc dentro de la célula es indispensable para obtener una respuesta receptor-específica. Los mecanismos a través de los cuales se genera una respuesta receptor-específica al AMPc recién sintetizado dentro de la célula, aún no están completamente elucidados.

En membranas aisladas de hepatocitos, nuestro grupo identificó dos macrocomplejos proteícos, estructural y funcionalmente independientes, que responden a la presencia de adenosina y que producen, utilizan, regulan y degradan su propia poza de AMPc; la cual no difunde y se mantiene secuestrada en la proximidad del propio complejo, para producir una respuesta celular específica. Cada uno de estos complejos está acoplado a un receptor de adenosina diferente, ya sea el A_{2A} o el A_{2B}, los cuales, al ser activados, estimulan la producción de AMPc. Sin embargo, dentro de cada macrocomplejo, la activación del receptor estimula una cascada de señalización diferente, lo cual fue confirmado midiendo la inhibición en la producción de AMPc, mediada por anticuerpos específicos. Así, la estimulación selectiva del receptor A_{2A} activa la adenilil ciclasa 6 (AC6), la cual se mantiene unida a la proteína AKAP79/150 para producir AMPc que activa a otras 2 proteínas ligadas al mismo complejo: la proteína cinasa A (PKA) y la fosfodiesterasa 3A (PDE3A). En contraste, la estimulación selectiva del receptor A_{2B} estimula a la adenilil ciclasa 5 (AC5), que se encuentra ligada a D-AKAP2, que al producir AMPc activa a su vez a EPAC2, y la fosfodiesterasa 3B (PDE3B), ambas unidas también a D-AKAP2. Resultados de experimentos de co-inmunoprecipitación y de microscopia confocal, así como de análogos del AMPc nos proporcionan evidencia física y funcional de que las proteínas involucradas en cada una de estas cascadas de señalización están organizadas en macrocomplejos o “señalisomas”, y que el AMPc que se genera dentro de cada uno de ellos no difunde fuera del mismo. Así, cada “señalisoma” constituye una unidad de señalización funcional mínima, con su propia maquinaria para sintetizar y regular de manera independiente su propia poza de AMPc. Esto garantiza que cada “señalisoma” transmite un mensaje único e inequívoco a través de la célula.

Investigación realizada gracias al CONACyT 166733 (EP) y el Programa UNAM-PAPIIT IN218112, IN214518 (EP), IT203414 (MV-L), y IN225016, IN218819 (HR-R).

SIMPOSIO ESTUDIANTES

El uso de un péptido engrapado basado en SHARPIN revela dos vías de señalización que regulan la expresión de los genes E6 y E7 del virus del papiloma humano (HPV)

Francisco Antonio Aguilar-Alonso, Federico Bernal ✉

✉ Laboratory of Protein Dynamics and Signaling, National Cancer Institute, National Institutes of Health, 1050 Boyles street, Fredrick, MD, USA, 21701-21702, Tel: 301-594-2651, bernalf@mail.nih.gov

SHARPIN es un promotor tumoral que funciona como andamiaje para la regulación de diversos componentes de señalización celular, como son: el complejo de ensamblaje de ubiquitina lineal (LUBAC), la fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa (PTEN), integrinas, entre otros. En específico SHARPIN inhibe al supresor tumoral PTEN. El silenciamiento de SHARPIN resulta en una disminución en la viabilidad de células de DUO145 y HeLa. Efecto que se rescata tras el silenciamiento de PTEN solo en DUO145, sugiriendo que en HeLa SHARPIN modula otros procesos de supervivencia distintos a PTEN.

HeLa es una línea celular de carcinoma cervicouterino positiva para las proteínas E6 y E7 del virus del papilloma humano (HPV). Aunque, en células positivas para HPV, MDM2 está presente, la regulación negativa de p53 por parte de la E6 prevalece, haciendo que éstas células sean insensibles a fármacos que interfieren con la interacción entre MDM2 y p53, como es la nutilina-3a.

Un péptido engrapado es una molécula macrocíclica, a la cual la adición de un puente hidrofóbico (grapa) entre dos aminoácidos modificados promueve su estructura secundaria, mejorando su permeabilidad y estabilidad en sistemas celulares.

En nuestro laboratorio hemos diseñado y sintetizado un péptido engrapado que simulan una de las hélices del motivo de amarre de LUBAC (LTM) de SHARPIN (LTMP). LTMP provoca la disociación e inhibición de LUBAC, resultando en la disminución en la actividad de NF-κB y generando la muerte de células de cánceres humanos, pero no en células no tumorales. Sorpresivamente, LTMP mostró un efecto sinérgico con nutilina-3a en su capacidad para inducir muerte y reactivar a p53 en la línea celular HeLa. Efecto que se debió a la repressión de la expresión de los genes E6 y E7. Análisis de perfiles de expresión (RNAseq) revelaron que solo el 26% de los genes afectados por LTMP fueron también afectados por el tratamiento con glioxina, un conocido inhibidor de LUBAC. El silenciamiento de SHARPIN, pero no de HOIP (centro catalítico de LUBAC, resultó en una disminución en los niveles de E6 y sensibilizó a células HeLa a muerte y reactivación de p53 por el tratamiento con nutilina-3a. Estos resultados indican que SHARPIN regula la expresión de E6 y E7 independientemente a LUBAC. La sobreexpresión de SHARPIN, pero no de dos formas mutantes incapaces de activar LUBAC, generaron una disminución en los niveles de E6, mientras que la inhibición de NF-κB provocó el efecto contrario. Estos resultados indican que, como se ha demostrado previamente por otros autores, NF-κB es un represor de la expresión de E6. SHARPIN, pero no sus formas mutantes que carecen de parte o todo el LTM, interacciona con el represor transcripcional CDP. LTMP, así como el silenciamiento de SHARPIN, provocaron la activación y el reclutamiento de CDP al promotor de los genes E6 y E7. Estos resultados indican que SHARPIN posee un doble papel en la regulación de E6 y E7 en células positivas para HPV. Por una parte, SHARPIN interacciona e inhibe a CDP permitiendo la expresión constitutiva de los genes de HPV, lo cual puede inactivarse por el tratamiento con LTMP; por otra parte, niveles elevados de SHARPIN conllevan a la activación de LUBAC y NF-κB, lo cual reprime, también, la expresión de E6. Nuestros resultados muestran que LTMP, en combinación con nutilina-3a es una atractiva combinación para el tratamiento de cánceres derivados del HPV.

Nanopartículas de oro recubiertas de quitosano inducen diferentes mecanismos de muerte celular dependiente de ROS en células leucémicas K562 y CEM

Martín Gerardo García-Juárez¹, Helen Yarimet Lorenzo-Anota¹, Diana G. Zarate-Triviño¹, Cristina Rodríguez-Padilla¹, Ana Carolina Martínez-Torres^{1*}.

¹Laboratorio de Inmunología y Virología Facultad de Ciencias Biológicas; Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Av. Pedro de Alba S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolas de los Garza, Nuevo León, México. CP 66455. Tel. +52 (81) 83 29 40 00 Ext. 6424.

ana.martinezto@uanl.edu.mx.

En México los cánceres hematológicos son la principal causa de muerte en menores de 20 años, y anualmente mueren alrededor de 5,000 adultos debido a esta enfermedad, convirtiéndolo en un serio problema de salud pública sin importar la edad. Existen tratamientos que generan apoptosis de las células leucémicas, sin embargo, éstas adquieren quimiorresistencia debido a mutaciones intrínsecas de las células. Dada esta problemática, es importante la búsqueda, el diseño y el desarrollo de nuevos tratamientos que tengan selectividad específica por las células cancerosas. La nanotecnología ha propuesto a las nanopartículas de oro (AuNPs) para el desarrollo de terapias innovadoras y de diagnóstico. Las AuNPs recubiertas de quitosano (CH-AuNPs) son inductores de muerte celular selectivos en las células cancerosas HeLa y MCF-7 sin afectar las células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Teniendo en cuenta la selectividad y la citotoxicidad de las CH-AuNPs, analizamos si la selectividad se debe al linaje celular o las características moleculares propias de las células cancerosas. Por lo tanto, evaluamos la citotoxicidad y el mecanismo de muerte celular regulada en células de leucemia linfocítica aguda T (CEM) y en células de leucemia mieloide crónica (K562), y de forma simultánea en células sanas del mismo linaje (PBMC y células de médula ósea, MO). Las CH-AuNPs se sintetizaron por el método de Turkevich con un tamaño de 3-10nm. Demostraron citotoxicidad selectiva en las células CEM y K562, sin comprometer la viabilidad de la contraparte no tumoral, PBMC y MO. El mecanismo de muerte celular inducida por las CH-AuNPs involucra la producción masiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), moléculas responsables del daño mitocondrial y nuclear, de la activación de la caspasa-3 y de la muerte celular. El mecanismo de MCR es dependiente de la línea celular; induciendo apoptosis en células CEM y necroptosis en células K562, ambos inducen autofagia como mecanismo pro-supervivencia. Con esta investigación, se pretende dar la pauta al desarrollo de un tratamiento alternativo para cánceres hematológicos quimioresistentes. Abriendo las puertas a próximos estudios que permitan probar la efectividad *in vivo*, además de la posibilidad de acoplar a las CH-AuNPs con agentes que permitan abarcar más tipos de MCR, para evitar así la resistencia de las células cancerosas al tratamiento.

Efecto de IL-2 sobre la apoptosis en células de cáncer de cérvix

María del Carmen Lagunas Cruz, Arturo Valle Mendiola, Mayra Isabel Mendoza Zepeda e Isabel Soto Cruz.

Laboratorio de Oncología Molecular L9-PB UMIEZ, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, Batalla 5 de mayo s/n, Col. Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, CDMX. Tel: 56230796, email: sotocruz@unam.mx; lagunascruzmaryc@comunidad.unam.mx

El cáncer es una enfermedad multifactorial y representa un problema de salud pública a nivel mundial. En México el cáncer de cérvix, ocupa el segundo lugar en incidencia precedido por el cáncer mama. Considerando que en México el cáncer de cérvix es un grave problema de salud pública, se buscan terapias que permitan disminuir la proliferación de las células malignas, por lo que se ha considerado a la interleucina 2 como un posible candidato.

La interleucina 2 (IL-2) se ha utilizado para tratar diferentes tipos de cáncer que expresan el receptor de IL-2 (IL2-R). Nuestro equipo de trabajo ha reportado que el IL-2R se expresa en células de cáncer de cérvix y que tiene un papel importante en la proliferación de estas células. Recientes investigaciones de nuestro grupo de trabajo indican que 100UI/mL de IL-2 arresta las células en fase G1 a las 48h e induce bajo porcentaje de apoptosis. **Por otro lado el cisplatino es un tratamiento de excelencia contra diferentes tipos de cáncer debido a su efecto apoptótico.** Sin embargo se desconoce el papel de la IL-2 junto con cisplatino sobre la inducción de apoptosis en células de cáncer de cérvix. En este trabajo analizamos el papel de 100 UI/mL de IL-2 sobre la inducción de apoptosis en las líneas de cáncer de cérvix HeLa e INBL, las cuales posteriormente se incubaron con cisplatino por 24 y 48h. Nosotros reportamos que en las células HeLa, no se observan diferencias entre la apoptosis inducida por cisplatino con y sin detención celular. En las células INBL, el cisplatino disminuye su efecto apoptótico cuando las células se arrestan. Teniendo en cuenta estos resultados, concluimos que la IL-2 podría conferir protección a las células contra la apoptosis.

La fosforilación de Orai1 en los residuos S27/S30 facilita su interacción con el Receptor de IP₃ y estabiliza el estado inactivado de este receptor en células HeLa

Ericka Martínez Martínez¹, Víctor Hugo Sánchez Vázquez¹, Daniel León Aparicio¹, Juan Manuel Arias², Juan Antonio Rosado Dionisio³ y Agustín Guerrero Hernández^{*1}.

¹Departamento de Bioquímica, Cinvestav-IPN; México. ²UIICSE, Facultad de Estudios Superiores campus Iztacala, UNAM. ³Departamento de Fisiología, Universidad de Extremadura. *México, 14-740, Ciudad de México, 07000. Teléfono: +52 (55) 5747 3800, ext. 5249. aguerrero@cinvestav.mx.

El ion Ca²⁺ es un segundo mensajero que participa en la regulación de diferentes procesos celulares mediante incrementos transitorios en la concentración de Ca²⁺ citoplásmico ([Ca]_i)¹. Las dos principales fuentes de Ca²⁺ son el espacio extracelular y el retículo endoplásmico (ER). En células no excitables, la entrada de Ca²⁺ operada por depósito (SOCE, por sus siglas en inglés), es un mecanismo común y ubicuo de influjo de Ca²⁺ y está ampliamente descrito que las dos principales proteínas involucradas; son la proteína STIM-1 y los canales Orai².

La activación del canal Orai1 ocurre de la siguiente manera, en condiciones basales, cuando el nivel de calcio luminal en el ER es alto, el dominio mano EF de STIM-1, que se encuentra del lado luminal, está unido a Ca²⁺, no obstante, cuando el nivel de Ca²⁺ del ER disminuye (por activación del receptor de IP₃, IP₃R), la proteína STIM-1 se oligomeriza y forma unos agregados que permiten su acercamiento a la membrana plasmática, induciendo de esta forma la activación de los canales Orai1 y así permitiendo el transporte de Ca²⁺ del espacio extracelular al citoplasma³. Finalmente la bomba SERCA transporta el Ca²⁺ del espacio extracelular al lumen del ER, recuperando los niveles altos de Ca²⁺ luminal y así evitando el estrés del ER⁴.

Datos de nuestro laboratorio, basados en registros simultáneos de Ca²⁺ del citoplasma (Fura-2) y de Ca²⁺ luminal (Mag-Fluo 4), sugieren que la sobre-expresión de los canales Orai1, además de permitir la entrada de Ca²⁺, estarían inhibiendo la actividad del IP₃R una vez que ha sido activado por un agonista, ya que no bastó con vaciar el ER únicamente con taspigargina (TG), por lo cual decidimos estudiar si las PKCs (activadas por diacilglicerol y Ca²⁺) participaban en el proceso. Para esto se sobre-expresó la mutante Orai1 S27A/S30A, que no puede ser fosforilada por PKC⁵ y se observó que Orai1 mutante no pudo inhibir la reducción del Ca²⁺ luminal inducida por la aplicación de ATP y TG.

Por lo anterior decidimos usar la mutante fosfomimética Orai1 S27D/S30D, que inhibió la liberación tardía de Ca²⁺ del ER, aún en la presencia de inhibidores de PKC (Gö 6983), lo cual sugiere que estos residuos estarían participando en esta inhibición, posiblemente mediante una interacción proteína-proteína. La interacción entre Orai1 y el IP₃R la abordamos mediante la técnica de Ensayos de Ligación por Proximidad (PLA), que depende del uso de anticuerpos específicos. PLA mostró que la sobre-expresión de Orai1 y de Orai1 S27D/S30D aumenta la interacción con el IP₃R, mientras que Orai1 S27A/S30A presentó una menor interacción con el IP₃R. Interesantemente, la aplicación de agonista productor de IP₃ acentuó estas diferencias en las interacciones. Por lo que hemos propuesto que la fosforilación de estos residuos de Orai1 es necesaria, más no suficiente para la inhibición por Orai1 de la liberación de Ca²⁺ vía el IP₃R, debido a que se requiere la activación previa del IP₃R.

Referencias:

- [1] Jonathan Soboloff, *et al.*, (2012). *Nat Rev Mol Cell Biol.* 13:549-565.
- [2] Iskandar F. Abdullaev *et al.*, (2008) *Circ Res.* 103: 1289–1299.
- [3] Prakriya M *et al.*, (2006). *Nature.* 443 (7108): 230-233.
- [4] Jonathan Soboloff *et al.*, (2006). *J. Biol. Chem.* 281:20661-20665.
- [5] Takumi Kawasaki *et al.*, (2010). *J. Biol. Chem.* 285:25720–25730.

La especificación y maduración de las células acinares pancreáticas requiere un preciso patrón temporal de expresión de Prox1

Angélica Sofía Martínez-Ramírez, Thomas Borders, Beatriz Sosa-Pineda
Feinberg Cardiovascular and Renal Research Institute, Feinberg School of
Medicine, Northwestern University

Simpson-Querrey Biomedical Research Center, 8-500, 303 East Superior
Street, Chicago, Illinois, 60611, 312-503-4457,

angelica.ramirez@northwestern.edu

El páncreas es una glándula mixta con funciones endocrina y exocrina. El páncreas en el ratón emerge de dos brotes (ventral y dorsal) a partir del endodermo del intestino proximal, alrededor del día embrionario (E) E9.5-E10.5. Estos primordios proliferan, se ramifican y producen precursores endocrinos y exocrinos a partir de E12.5-E13.5. Los precursores acinares se localizan en las puntas de las ramificaciones y su diferenciación requiere una red regulatoria transcripcional que incluye a Ptf1a, Rbpjl y otros factores de transcripción (FT). En el páncreas maduro las células acinares producen, almacenan y secretan los zimógenos de las enzimas digestivas, mientras que los ductos transportan los zimógenos en un fluido de bicarbonato y los vierten en el intestino.

Previamente reportamos un FT homeodominio (Prox1) que es ampliamente expresado en el páncreas embrionario de ratón. La caracterización de los ratones nulicigotos de Prox1 demostró que la actividad de Prox1 se requiere para el crecimiento, ramificación y especificación endocrina durante el desarrollo del páncreas. Utilizando RNAseq, recientemente reportamos que las vías de adhesión celular (sobre regulada) y desarrollo de las células beta (regulada a la baja) eran las 2 vías principalmente afectadas por la deficiencia de Prox1 en E13.5. Estos resultados también identificaron un incremento en la expresión de múltiples transcritos acinares “tardíos” (zimógenos y componentes de los gránulos de secreción). Prox1 se expresa transitoriamente en las células acinares durante la diferenciación y no se detecta en las células maduras. Nuestros resultados sugieren que la actividad de Prox1 se requiere en los precursores acinares durante un periodo de tiempo corto para restringir la expresión de genes específicos por lo que planteamos la hipótesis de que la expresión sostenida de Prox1 afecta la maduración de las células acinares. Para resolver esta pregunta generamos un modelo de ratones transgénicos (Prox1^{acOE}) en los que se mantiene la expresión de Prox1 en las células acinares de forma sostenida. En los páncreas de ratones Prox1^{acOE} recién nacidos encontramos expresión disminuida de genes que codifican para FT necesarios para la maduración (Rbpjl), para múltiples proteínas ribosomales, tripsinogenos y para proteínas de los gránulos de secreción. Además, los ratones Prox1^{acOE} mostraron múltiples alteraciones en el páncreas similares a las observadas en otros modelos murinos de pancreatitis y estrés en el retículo endoplásmico. En conclusión, identificamos a Prox1 como un nuevo regulador del desarrollo acinar pancreático. Nuestros hallazgos sugieren que la presencia de modificaciones genéticas que puedan afectar la expresión acinar de Prox1 pueden resultar en una patología pancreática severa.

Planta que buen cloroplasto encamina, en sobreviviente de congelación culmina. Efectos de las MAP cinasas en la fotosíntesis durante la aclimatación al frío.

Ilian Giordano Ponce-Pineda^a, Carla Daniela Gonzalez-Cordova^a, Laura Carmona-Salazar^a, Ángel Arturo Guevara-García^b, Marina Gavilanes-Ruiz^a.

^a Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. Universitaria, 04510, Ciudad de México. México.

^b Departamento de Biología Molecular de Plantas, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biotecnología, 62210, Cuernavaca, Morelos.

Las plantas deben adaptarse para enfrentar la estación fría durante su ciclo de vida. Esta aclimatación al frío permite la sobrevivencia de la planta a la congelación, mediante una reprogramación génica y metabólica. Esta reprogramación conlleva a una serie de eventos como la activación de las cascadas de cinasas activadas por mitógenos (MAPKs), las cuales son componentes de la señalización intracelular involucradas en diversos aspectos de la fisiología de la planta. Dentro la estructura celular, el cloroplasto es usualmente el organelo mayor y más rápidamente afectado durante el frío, donde comúnmente la actividad del fotosistema II se ve inhibida y los niveles de clorofilas, carotenos y xantofilas son alterados. En nuestro laboratorio trabajamos con plantas *Arabidopsis thaliana* silvestres (wt) y mutantes incapaces de expresar las cinasas MPK3, MPK4 o MPK6, las cuales fueron aclimatadas a 4 °C por una semana (AC) o mantenidas a 22 °C (NA). Se encontró que las plantas AC aumentaron su sobrevivencia a la congelación comparadas con las plantas NA, excepto en la mutante *mpk6*. Los niveles de clorofila total no variaron entre tratamientos, excepto en la planta wt AC, en donde se encontró un ligero aumento. La eficiencia fotosintética no se vio afectada tras la AC en todos los genotipos, y únicamente la absorción de los pigmentos antena por centro de reacción disminuyó en la mutante *mpk4* en ambas condiciones. Al analizar la ultraestructura celular se encontró que los cloroplastos tenían una forma fusiforme en las condiciones NA, excepto en la *mpk6*, en la que algunos se encontraban de forma esférica. Al ser aclimatadas, los cloroplastos parecieron unirse a la membrana plasmática, excepto en la *mpk6*, en la que la forma esférica se vio más marcada, además de perder la organización de los tilacoides y de internalizarse ligeramente en la célula. Un estudio preliminar de algunos transcritos de genes involucrados en la respuesta a frío muestra un aumento en *COR15A* (Protein Cold-Regulated 15A, proteína con actividad crioprotectora) tras ser aclimatadas a frío, a excepción de la *mpk6*, donde no pareció haber efecto alguno. Estos resultados indican una posible regulación diferencial de la fotosíntesis por parte de las MPK3/4/6 en el proceso de aclimatación al frío.

Este trabajo fue financiado por DGAPA, UNAM (PAPIIT IN220618), Facultad de Química (PAIP 50009115) y CONACYT, México (238368).

El contexto celular en la regulación transcripcional

Diana G. Ríos-López*, Bibiana Ortega Dominguez, Yuli Aranda López, David Martínez Pastor & Marina Macías-Silva

Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, C.P. 04510. MEXICO. e-mail: drios@ifc.unam.mx*

La regulación de la expresión de genes es tipo celular y contexto específico. Nosotros estudiamos la regulación transcripcional del co-regulador transcripcional de la vía de Hippo: TAZ en un modelo hepático. El hígado es uno de los principales órganos encargados de mantener la homeostasis del organismo. Los hepatocitos son el principal tipo celular de este órgano, y llevan a cabo la mayoría de sus funciones. Alteraciones en este tipo celular conllevan a la transformación de los hepatocitos y el desarrollo del hepatocarcinoma que es el tipo de cáncer de hígado más común y el 7º tipo de cáncer con más casos en el mundo reportado en 2018. Se ha observado que existe una correlación entre el desarrollo del hepatocarcinoma y un incremento en los niveles de TAZ. El TGF- β es una citocina pleiotrópica que puede actuar como un factor citostático o promotor de tumores dependiendo del contexto celular. Se ha determinado que el TGF- β puede regular la expresión de TAZ a través de vías no canónicas mediante mecanismos diferentes de acuerdo al tipo celular; por lo tanto, nosotros estamos interesados en determinar si el TGF- β regula la expresión de TAZ a través de su vía canónica en células de hepatocarcinoma. Análisis de la región promotora del gen que codifica para *TAZ* indican la existencia de sitios de unión para las proteínas Smad. Estudios de la expresión de TAZ mediante ensayos de WB, y gen reportero en células HepG2 sugieren que TAZ es regulado por la vía de TGF- β /Smad2.

Este trabajo esta apoyado con recursos de PAPIIT/DGAPA, UNAM.

Sobreexpresión del canal K_{ATP} mitocondrial en carcinoma mamario triple negativo

Julio César Rodríguez Flores, Javier Francisco Alamilla González y Ricardo Antonio Navarro Polanco.

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Colima
Av. 25 de Julio #965, Las Víboras. C.P. 28045. Colima, Col.
Teléfono: 312 316 1129 Ext. 47507
Dr. Ricardo Antonio Navarro Polanco, magdal@uacol.mx

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es el subtipo de carcinoma mamario más agresivo y menos estudiado. Inicialmente con estudios RT-PCR encontramos que el canal Kir6.2 (K_{ATP}) incrementó drásticamente su expresión en las líneas de CMTN de distintos estadios tumorales. Por tal razón, en el presente trabajo estudiamos los aspectos funcionales de los canales K_{ATP} en dos líneas celulares de estadios I y II de CMTN y una línea celular de epitelio mamario no tumoral. Para lo cual se realizaron registros de corrientes macroscópicas en condiciones de fijación de voltaje en la configuración de célula completa. Sorpresivamente, los experimentos electrofisiológicos mostraron que el canal K_{ATP} no se expresa funcionalmente en las membranas plasmáticas de las células de CMTN. Por lo tanto, en los siguientes experimentos nos enfocamos en determinar la localización del canal K_{ATP} mediante inmunocitoquímica (ICC) y microscopia confocal. Las micrografías que se obtuvieron evidenciaron la localización del canal K_{ATP} mayoritariamente intracelular, con una clara distribución perinuclear. Con base en diversos reportes previos, estos resultados sugerían la expresión de un canal K_{ATP} mitocondrial. Posteriormente, realizamos experimentos de colocalización utilizando un triple marcaje (núcleo-mitocondria- K_{ATP}). Los resultados mostraron una colocalización positiva entre el canal K_{ATP} y mitocondria en las líneas celulares de CMTN, pero no así para la línea no cancerosa. Finalmente, la modulación del canal K_{ATP} mitocondrial con distintos fármacos (abridores y bloqueadores) afectó la viabilidad y proliferación de las líneas celulares de CMTN, interesantemente, este efecto no se observó en la línea celular no tumoral. Estos resultados sugieren que el canal K_{ATP} mitocondrial es un potencial blanco molecular en el tratamiento y diagnóstico temprano del CMTN.

Apoyado por FON.INST-CONACYT: FC-2015-99 a RANP

Análisis del efecto antioxidante de la prolactina en los astrocitos de ratón.

Miriam Ulloa¹, Fernando Macías¹, Rodrigo Manuel Aroña¹, Josué Rivera¹, Carmen Clapp¹, Gonzalo Martínez de la Escalera¹, Edith Arnold^{1,2}.

¹Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Querétaro, México. ²CONACYT Catedrática–Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro, México. Teléfono: 4422381028; Correo: earnoldh@gmail.com

Los astrocitos preservan la homeostasis neural, manteniendo la integridad sináptica, proporcionando protección y soporte metabólico a las neuronas y regulando la respuesta inflamatoria. Varios tipos de estrés, lesiones y enfermedades cerebrales inducen disfunción mitocondrial y estrés oxidativo que conducen a la muerte de astrocitos y por ende a neurodegeneración. La prolactina (PRL) es una hormona peptídica adeno-hipofisiaria que limita la gliosis y la degeneración de la retina neural que está sometida a estrés lumínico y tiene acciones antioxidantes en el epitelio pigmentario retiniano (Arnold et al., 2014; Thébault, 2017). En estudios recientes encontramos que el receptor de la PRL se expresa en los astrocitos de rata en cultivo y los protege contra el daño inducido por un estrés oxidativo, incrementando la expresión de enzimas antioxidantes y su capacidad antioxidante. En este trabajo, investigamos el efecto de la falta de señalización de la PRL en la respuesta antioxidante de astrocitos bajo estrés oxidativo. Se realizaron cultivos primarios de astrocitos corticales de ratones neonatos carentes (*Prlr*^{-/-}) o no (*Prlr*^{+/+}) del receptor de PRL (PRLR) y fueron tratados con concentraciones crecientes de PRL (0.01-10 nM) por 24 horas al término de las cuales se indujo un daño por estrés oxidativo inducido con 400 μ M de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por 3 horas. Se evaluó la viabilidad celular, la producción de especies reactivas (ROS) y la actividad enzimática, mediante los ensayos de MTT, la oxidación de DCFDA y DHE, y kits comerciales, respectivamente. En condiciones basales la ausencia del PRLR provocó un aumento en la producción de ROS, pero no disminuyó la viabilidad celular de los astrocitos, ni alteró la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa (GPx) y la superóxido dismutasa (SOD) en comparación a los astrocitos que si expresan al PRLR. Cuando se indujo el daño oxidativo con H_2O_2 en los astrocitos que expresan al PRLR (*Prlr*^{+/+}), la PRL inhibió la disminución de la viabilidad celular, inhibió el aumento en los niveles de ROS y aumentó la actividad enzimática de la GPx y la SOD. Mientras que ninguno de estos efectos de la PRL se observó en los astrocitos de ratones carentes del PRLR. Estos resultados sugieren que las acciones de la PRL mediadas a través de su receptor son específicas para la respuesta antioxidante de los astrocitos, por lo que la PRL podría ser un potencial factor terapéutico en patologías cerebrales que cursan con un incremento en el estrés oxidativo, tales como la diabetes.

Agradecemos el apoyo técnico de Fernando López Barrera, Xarubet Ruiz Herrera y Alejandra Castilla por su asistencia técnica. Apoyado por CONACYT CB254728.

Autor responsable Dra. Edith Arnold Hernández

VII

CONGRESO
DE TRANSDUCCIÓN
DE SEÑALES

4 - 7 DE NOVIEMBRE 2019

CARTELES

CANALES IONICOS

Caracterización de la movilización de calcio por agonistas purinérgicos en células HeLa

Rodrigo Contreras Gaytán, Ericka Martínez Martínez, y Agustín Guerrero Hernández. Departamento de Bioquímica, Cinvestav-IPN; México. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco, C.P. 07360, Ciudad de México. Teléfono: (52) (55) 5747-3950 Correo-e: aguerrero@cinvestav.mx

El ATP extracelular modifica la conducta celular a través de unirse a los receptores purinérgicos de la membrana plasmática. Esta superfamilia está constituida por receptores-canales (P2X)⁽¹⁾ y por receptores acoplados a proteínas G (P2Y)⁽²⁾. Los primeros son canales no selectivos permeables al Ca^{2+} que incrementan la concentración intracelular de calcio ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) por lo mismo son sensibles al gradiente electroquímico de Ca^{2+} y al potencial de membrana. Los segundos, como el receptor P2Y2, presente en células HeLa, se acoplan a las proteínas $G_{q/11}$ y esto conduce a la producción de IP_3 y DAG como resultado de la activación de la fosfolipasa $\text{C}\beta$. El IP_3 incrementa la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ por activar al RIP_3 presente en el retículo endoplásmico (ER).

El incremento transitorio de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ inducido por el ATP en células HeLa se pudiera deber a movilización de los depósitos intracelulares y a la entrada de Ca^{2+} a través de canales de la membrana plasmática puesto que las células HeLa expresan tanto P2Ys como P2Xs⁽³⁾. En presencia de Ca^{2+} externo, el incremento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ inducida por el ATP es cercana a 1 μM , sin embargo, en ausencia de Ca^{2+} externo, la respuesta a ATP es menor a 300 nM. Estos datos sugieren que el ATP produce un incremento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ por estimular mayoritariamente la entrada de Ca^{2+} del medio extracelular. La despolarización de las células con alto potasio reduce el gradiente electroquímico para la entrada de Ca^{2+} y bajo estas condiciones la amplitud de la respuesta de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ inducida por ATP fue similar a la obtenida en ausencia de Ca^{2+} externo. Esto sugiere que la entrada de Ca^{2+} inducida por ATP ocurre por canales no selectivos permeables al Ca^{2+} , ya sea P2Xs o los TRPCs. Descartamos la entrada de Ca^{2+} regulada por depósito (SOCE) porque la sobreexpresión de la dominante negativa de Orai1 (Orai1E106A) no produce ninguna diferencia en la amplitud de la respuesta al ATP, lo cual sugiere que SOCE no participa con ATP. Por otro lado, el ATP sí produjo un vaciamiento parcial del ER que varió según las condiciones experimentales. ATP y tapsigargina vació el ER sólo un 10% en presencia de Ca^{2+} externo, un 30% en ausencia de Ca^{2+} externo e intermedio de 20% en alto potasio. Estos datos sugieren que el vaciamiento del ER por ATP está afectado por la presencia de Ca^{2+} externo. Además, el vaciamiento del ER por preincubar a las células con tapsigargina, un inhibidor selectivo de la bomba de Ca^{2+} SERCA del ER, produjo la completa inhibición de la respuesta al ATP y por lo mismo este dato sugiere que el ATP produce principalmente una liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares por lo tanto utiliza los receptores P2Ys más que los P2Xs.

Para conciliar esta aparente paradoja de la dependencia del Ca^{2+} externo a la liberación de Ca^{2+} del RE por el ATP, pensamos que este agonista induce una pequeña entrada de Ca^{2+} necesaria para reclutar, mediante la liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} o también conocida como CICR (por sus siglas en inglés), la poza completa de los receptores de IP_3 presentes en el retículo endoplásmico. Esto sugiere que la entrada de Ca^{2+} y la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico no son dos eventos independientes en la señalización por calcio y más bien son dos eventos fuertemente interconectados.

Referencias:

1. Schmid R, Evans RJ. ATP-Gated P2X Receptor Channels: Molecular Insights into Functional Roles. *Annu Rev Physiol.* 2019;81(1):43–62.
2. Erb L, Weisman GA. Coupling of P2Y receptors to G proteins and other signaling pathways. Vol. 1, Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling. 2012. p. 789–803.
3. Welter-Stahl L, da Silva CM, Schachter J, Persechini PM, Souza HS, Ojcius DM, et al. Expression of purinergic receptors and modulation of P2X7 function by the inflammatory cytokine IFN γ in human epithelial cells. *Biochim Biophys Acta - Biomembr.* 2009;1788(5):1176–87.

TMEM16A REGULA LA POLIMERIZACIÓN DE ACTINA A TRAVÉS DE FAK Y ERK1/2 DURANTE LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA

Ana Lilia Roa Espitia, Tania Reyes Miguel, Aideé Saray López Torres, Monica Lizbeth Salgado Lucio, Joaquín Cordero Martínez J, Enrique Othón Hernández González.

Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Av Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, CP 07360. CDMX, México. E-mail: eoton@cell.cinvestav.mx

La capacitación es uno de los procesos más importantes para la fisiología de los espermatozoides de los mamíferos, este representa una serie de cambios bioquímicos, metabólicos y fisiológicos experimentados por los espermatozoides y que les permiten llevar a cabo la reacción acrosomal (RA) y la hipermotilidad. En conjunto estos eventos habilitan a los espermatozoides para fertilizar a los óvulos. Durante la capacitación, los espermatozoides experimentan cambios como: sustracción de colesterol de la membrana plasmática, incrementos en la fosforilación de proteínas en residuos de Tyr y en la captación de bicarbonato, hiperpolarización del potencial de membrana (E_m), y polimerización de actina, entre otros. Este último tiene una relevancia importante ya que su inhibición inhabilita a los espermatozoides para fusionarse con la membrana plasmática del óvulo. Recientemente, nuestro grupo reportó que la inhibición del canal de cloro dependiente de calcio, TMEM16A, provoca serias alteraciones en los procesos de la capacitación, la RA y hipermotilidad. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el papel de TMEM16A sobre la polimerización de actina y la posible vía de señalización que lo relacionada con este proceso. Adicionalmente, los efectos de TMEM16A fueron comparados con los de otros canales de Cl^- , CFTR y CCL. Los resultados obtenidos muestran: 1) La inhibición de TMEM16A, impidió la polimerización de actina que se da durante la capacitación, efecto que no fue observado cuando se inhibió a CFTR o CCL. 2) La inhibición de TMEM16A no permitió la activación de RhoA durante la capacitación. 3) Cuando TMEM16A fue inhibido, Fak125 no se autofosforila en Tyr397. 4) Recientemente, hemos demostrado que la activación de Fak125 está relacionada con la activación de ERK1/2, que a su vez está relacionada con la activación del GEF de RhoA, GEF-H1. Cuando se inhibió a TMEM16A, también se impidió la activación de ERK1/2. En conjunto los resultados sugieren que la actividad de TMEM16A, que mantiene la homeostasis intracelular de Cl^- , es importante para la actividad de cinasas como FAK125 y ERK1/2, las cuales son parte de las vías de señalización que regulan la polimerización de actina y que permiten que los espermatozoides adquieran su habilidad fertilizante y se fusionen con la membrana plasmática del óvulo.

CONACYT No. 284183 [EOHG]

ESTUDIO IN SILICO DE BORO DERIVADOS DE AMINO ACIDOS ALFA-AMINO AROMATICOS COMO POTENCIALES INFLEXIONADORES DE CANALES TRPV

Rosalez Melvin Nadir^{ab}, Abad Garcia Antonio^{ab}, Soriano-Ursua Marvin Antonio^a

*Department of Physiology, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politecnico Nacional,
Plan de San Luis & Díaz Miron s/n, Mexico City, 03510, Mexico: e-mail:
soum13mx@gmail.com*

El dolor es la principal causa de consulta a nivel mundial, siendo el dolor neuropático el tipo de dolor con más dificultad terapéutica. El dolor neuropático es una de las principales complicaciones post quimioterapia y se presenta en más del 50% de los pacientes diabéticos. Para la transducción de las señales nerviosas del dolor intervienen varios elementos, dentro de los cuales el catión de calcio se encuentra estrechamente relacionado. Dentro de los canales que se encuentran a nivel de la membrana plasmática, se encuentran los canales de potenciales de receptores transitorios (TRP's), y los que se relacionan con la transducción del dolor y la entrada no selectiva de calcio y sodio, son los TRPV, y para vaniloide, con mayor importancia el TRPV1, 2 y 3. Las boroxazolidonas siendo derivados de 2-Aminoetildifenil borinato, 2-APB, una molécula conocida con uniones hacia los TRP incluyendo las anteriores, mas aminoácidos esenciales, se espera que presenten una mayor fuerza de Gibbs y Ki que el 2-APB. Para esto se hizo un estudio computacional de dockeo para estos 3 receptores y sus correspondientes compuestos con el análisis e interpretación de los datos arrojados de este estudio. Se unen con mayor afinidad que su compuesto base, además de presentar menor Ki que el 2-APB, pero se requiere el estudio in vivo en un modelo murino para describir si hay activación o inhibición a las concentraciones correspondientes, de estos canales, además de poder describir sus perfiles tóxicos y letales.

Los canales BK están asociados a los receptores IP3 y pueden ser regulados a través de receptores P2Y en cáncer de mama triple negativo

Rodrigo Zamora Cárdenas, Eloy Gerardo Moreno Galindo y Ricardo Antonio Navarro Polanco

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Colima. Laboratorio de fisiología molecular de canales iónicos. Av. 25 de julio 965 col. Villa san Sebastián, Colima, Col. 28045, (312) 3161129, ext. 47507, magdal@ucol.mx

Los canales de K^+ modulados por Ca^{2+} y voltaje, de gran conductancia (BK) contribuyen en la regulación de múltiples procesos fisiológicos tanto en células excitables como no excitables. Recientemente, se ha mostrado su participación en el desarrollo de procesos oncogénicos. Sin embargo, no existen investigaciones que vinculen a estos canales en el inicio y progresión de los diferentes tipos de cáncer de mama, incluyendo el más agresivo, el triple negativo (CMTN). En este sentido, nuestro objetivo fue investigar el papel del canal BK en la fisiopatología del CMTN. Para ello, registramos la corriente BK mediante la técnica de fijación de voltaje, en la configuración de célula completa, en tres líneas celulares epiteliales mamarias: MCF-10A (no-tumoral), HCC1395 y HCC1143 (estadios I y IIA de CMTN, respectivamente). La corriente BK se identificó con el bloqueador selectivo paxilina (500 nM), la cual abolió ~95 % de la corriente macroscópica, denotando ser la corriente de K^+ con mayor contribución en las tres líneas celulares. Dichos experimentos, al ser realizados con BAPTA 5 mM en la solución interna, y debido a que la actividad del canal BK es favorecida por el Ca^{2+} citosólico, sugieren una asociación con una fuente de Ca^{2+} que permite su activación. Tratando de discernir dicha fuente, encontramos que la remoción de Ca^{2+} extracelular, así como el bloqueo o activación farmacológica de receptores de rianodina (con 10 y 0.1 μM de rianodina, respectivamente) no repercuten sobre la actividad macroscópica del canal BK; descartando así a los canales permeables a Ca^{2+} de la membrana plasmática y a los receptores de rianodina de los depósitos intracelulares como posible fuente de activación de los canales BK. Por el contrario, la activación indirecta de los receptores IP3, mediante la liberación de IP3 inducida por la activación de los receptores P2Y (usando ATP 25 μM), incrementó tanto la activación de la corriente macroscópica sensible a paxilina en célula completa, como la probabilidad de apertura del canal BK en registros de canal unitario. Adicionalmente, mediante inmunocitoquímica, se observó que dicho canal BK presentó una distribución espacial en forma de grupos o conglomerados en la membrana plasmática, sugiriendo su presencia en balsas lipídicas y su asociación a receptores IP3, de acuerdo a los experimentos funcionales. Dicha asociación entre los receptores IP3 y los canales BK podría estar contribuyendo a la carcinogénesis de las células de CMTN, y con ello proporcionar una nueva estrategia terapéutica para este carcinoma.

CINASAS Y FOSFATASAS

La Ruta de Señalización PAK1/CaMKII γ Regula la Migración e Invasión en Células de Cáncer de Mama Humano

Luis Enrique Arias Romero¹, Héctor Iván Saldivar Cerón^{1,2}, Olga Villamar Cruz¹ y Genaro Patiño López³.

¹ Unidad de Investigación en Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios #1, Los Reyes Iztacala. Tlalnepantla, Estado de México, México. email: larias@unam.mx

² Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México.

³ Laboratorio de Investigación en Inmunología y Proteómica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Ciudad de México, México.

Las proteínas PAK son una familia de cinasas de serina/treonina, activadas por las GTPasas pequeñas Cdc42 y Rac1. Distintos estudios sugieren que algunos miembros de esta familia, principalmente PAK1, desempeñan un papel clave en los “*hallmarks*” del cáncer al regular procesos celulares como la reorganización del citoesqueleto de actina, la progresión del ciclo celular, angiogénesis y la supervivencia. Sin embargo, los sustratos relevantes de PAK1 encargados de controlar estos eventos celulares no han sido completamente caracterizados.

Un estudio reciente, empleando microarreglos de fosfoanticuerpos, nos permitió identificar distintas proteínas señalizadoras cuya actividad se ve afectada por el silenciamiento genético de PAK1, algunas de estas moléculas son sustratos conocidos de esta cinasa y otras son potenciales nuevos sustratos, los cuales podrían tener relevancia durante la iniciación y/o progresión tumoral. En este trabajo mostramos que la proteína cinasa dependiente de Ca²⁺/Calmodulina II γ , CaMKII γ ; es fosforilada por PAK1 en el residuo de Thr287, que ambas proteínas interactúan físicamente en distintas líneas celulares de cáncer de mama humano, que la inhibición farmacológica o silenciamiento con siRNAs dirigidos contra PAK1 reducen drásticamente los niveles de fosforilación de CaMKII γ en la Thr287, y que la sobreexpresión de un mutante de PAK1 cuya actividad es inducida con rapamicina, incrementa la fosforilación de CaMKII γ en ese mismo residuo. Además, estudios farmacológicos mostraron que la inhibición combinada de PAK1 y CaMKII γ tiene un efecto sinérgico potente e induce apoptosis en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7, SK-BR3 y MDA-MB-231, pero no en la línea celular de epitelio de glándula mamaria no transformado MCF10A.

De manera interesante, observamos que la inhibición farmacológica combinada de PAK1 y CaMKII γ reduce en más de un 90% la migración e invasión celular. Por otra parte, un análisis bioinformático nos permitió determinar que pacientes de cáncer de mama cuyos tumores presentan altos niveles de expresión de PAK1 y CaMKII γ , tienen una peor supervivencia que las pacientes cuyos tumores presentan bajos niveles de expresión de ambas proteínas. Finalmente, un estudio preliminar por inmunohistoquímica, muestra que en algunos tumores de mama humanos ambas proteínas se encuentran sobreexpresadas, por lo que la inhibición farmacológica de esta nueva ruta de señalización podría resultar benéfica para el tratamiento del cáncer de mama.

El papel del TGF β 1 y TGF β 3 en la formación de fibrosis en miofibroblastos hipertróficos humanos.

Alejandro Cabrera-Wrooman, Alejandra Yoselin González-Muñiz, Rene Abarca-Buis y Edgar Kröttsch.

Laboratorio de Tejido Conjuntivo, Instituto Nacional de Rehabilitación "Luis Guillermo Ibarra Ibarra". Calzada México-Xochimilco 289, Coapa, Arenal Tepepan, 14389 Ciudad de México, México. 59991000 ext: 14706 aca_w@yahoo.com.mx

Cuando la piel sufre una lesión lleva a cabo el proceso de reparación, este paso por el cual la piel repara sus heridas es llamado cicatrización. La cicatriz hipertrófica es una enfermedad que genera fibrosis en la piel, la cual es caracterizada por una producción y regeneración incrementada de la matriz extracelular, y es causada principalmente por un aumento en la reparación de la herida. La cicatrización hipertrófica es caracterizada por fibrosis e inflamación, la cual está asociada con el aumento en la citosinas inflamatorias y factores de crecimiento. La superfamilia del factor de crecimiento tumoral beta (TGF β) es un importante mediador de la reparación de heridas, también se ha demostrado promueve la diferenciación de fibroblastos hacia miofibroblastos. Existen tres isoformas del TGF β (TGF β 1, 2 y 3), cada isoforma participa en el proceso de cicatrización de una manera diferente dependiendo del contexto. En particular el TGF β 1 es la isoforma que más prevalece en los tejidos, y algunas de sus funciones son: proliferación diferenciación y desarrollo de fibrosis. En comparación, la isoforma TGF β 3 se ha encontrado que promueve una no-cicatrización en el tejido fetal y en el adulto una disminución en la formación de cicatriz aguda o hipertrófica. El TGF β señala a través de sus receptores transmembranales activando la vía de las SMADs, aunque también se ha mostrado que activa otras vías como las de las MAPKs. Hasta la fecha no se conocen cuáles son las vías por las cuales el TGF β 3 se encuentra participando en la formación o disminución de la cicatrización hipertrófica

El objetivo de este trabajo es conocer el papel del TGF β 1 y TGF β 3 en el desarrollo de fibrosis en miofibroblastos hipertróficos humanos aislados a partir de biopsias de pacientes con cicatriz hipertrófica.

Los resultados mostraron un aumento en la expresión de la PKC comparándolo con el control cuando las células son estimuladas con TGF β 1 en miofibroblastos. Interesantemente la línea celular BJ1 incrementó la expresión de PKC cuando son fueron estimuladas con TGF β 3 y no así cuando fueron estimuladas con TGF β 1. La incubación con TGF β 1 y TGF β 3 en los miofibroblastos hipertróficos demostraron que la MAPK incrementa su expresión y se observa localizada principalmente en el núcleo a los 10 min de incubación. Interesantemente, cuando se incubaba con BIM las MAPK no se localiza en el núcleo. Por otro lado, encontramos que la proteína AKT presentó una mayor expresión en los miofibroblastos comparándolo con los fibroblastos, además de que incrementó su expresión cuando fueron estimuladas con ambos factores de crecimiento y esta expresión se observa en la zona perinuclear y en el citoplasma. Interesantemente, la inhibición de la PKC disminuyó la expresión de AKT en miofibroblastos. La activación del receptor para TGF β activa a la MAPK y a AKT en fibroblastos y en miofibroblastos hipertróficos. El TGF β 1 activa a la PKC en miofibroblastos y no así en fibroblastos de piel normales. La PKC parece estar regulando a la MAPK y a AKT en miofibroblastos

Cultivos enriquecidos en células troncales cancerosas poseen activa la etapa de sensado de la vía de Respuesta a Daño al ADN

Heriberto Abraham Valencia-González^{1,3}, Graciela Ruiz Ramírez^{2,3}, Elizabeth Ortiz-Sánchez³, Alejandro García-Carranca³

¹Doctorado en Ciencias Bioquímicas UNAM; ²Genética y Biología Molecular CINVESTAV-IPN; ³Instituto Nacional de Cancerología SSA México & Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM. Av. San Fernando no. 22. Col Sección XVI. Tlalpan, Ciudad de México, México. C.P. 14080. carranca@iibiomedicas.unam.mx

Resumen

La vía de respuesta a daño al ADN (DDR) es una compleja red de señalización que conduce la reparación del ADN; abarca desde el sensado, la transducción y la mediación de señales de daño en el material genético hasta la respuesta celular. Dañar el ADN empleando radiación ionizante (IR) es una de las estrategias para eliminar células cancerosas; sin embargo, hay tumores que se muestran poco sensibles a la IR. Esta característica se le ha atribuido a una subpoblación de células tumorales denominadas células troncales cancerosas (CSC) y se ha propuesto que reparan el daño del ADN de manera más eficiente que otras células tumorales, resistiendo la quimio o radioterapia, causando incluso recurrencia clínica y metástasis. El objetivo del trabajo fue establecer la diferencia en la expresión de los componentes de la etapa de sensado de daño entre cultivos enriquecidos en CSC, cultivados como esferas, y cultivos no enriquecidos, cultivados como monocapa, así como la sobrevivencia después de la exposición a IR. Comparamos la respuesta a IR entre cultivos no enriquecidos y enriquecidos en CSC de las líneas celulares de cáncer HeLa y MCF-7. El enriquecimiento en CSC de células HeLa se verificó mediante la presencia de la proteína CD49f y la actividad de ALDH. Luego, evaluamos si existían diferencias en los elementos sensores de la vía DDR. Encontramos que los cultivos de CSC fueron menos sensibles a IR que los cultivos convencionales. Observamos en cultivos de CSC sin IR una expresión basal más alta de las proteínas pATM, γ H2A.X y PARP1 escindida. Estos hallazgos proporcionan la primera evidencia de que las proteínas sensores de daño del ADN están presentes y se activan preferentemente en CSC, a diferencia de la mayor parte de las células en cultivos en monocapa. La comprensión de la vía DDR puede proporcionar información sobre la resistencia celular a la radioterapia, así como identificar algún blanco que sensibilice a las CSC a las terapias citotóxicas y, en el futuro, pueda mejorar los tratamientos contra el cáncer.

Identificación de la Oncoproteína Lyn como un Potencial Nuevo Sustrato de la Proteína Fosfatasa de Tirosinas 1B

Olga Villamar Cruz¹, Marco Antonio Loza Mejía², Genaro Patiño López³ y Luis Enrique Arias Romero¹

¹ Unidad de Investigación en Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios #1, Los Reyes Iztacala. Tlalnepantla, Estado de México, Mexico. C. P. 54090. email: larias@unam.mx

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad La Salle Campus Ciudad de México, Benjamin Franklin 47, Cuauhtémoc, México 06140, México.

³ Laboratorio de Investigación en Inmunología y Proteómica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico.

Las proteínas fosfatasa de tirosina (PTPs) juegan un papel importante en la regulación de diversos procesos celulares como la proliferación, migración, sobrevivencia, apoptosis y progresión del ciclo celular entre otros. Una molécula que ha llamado la atención de la industria farmacéutica en los últimos años es la proteína fosfatasa de tirosinas 1B (PTP1B), debido a que se encuentra sobreexpresada en cáncer de mama, hígado, colon, esófago y ovario. Los estudios más detallados sobre la participación de PTP1B en cáncer, han sido en modelos de cáncer de mama positivos a HER2, en los que se ha observado que PTP1B promueve la transformación celular al activar las vías de las MAPK y de Src. Sin embargo, estudios con modelos murinos de cáncer de mama deficientes de PTP1B arrojan resultados inconsistentes en lo que se refiere a los niveles de activación de las vías de señalización antes mencionadas, por lo que es necesario identificar nuevos sustratos de esta fosfatasa que pudiesen estar involucrados en el proceso de transformación celular. Con este propósito, se realizó un estudio de fosfoproteómica, en el que se identificaron más de 380 potenciales nuevos sustratos de PTP1B. De manera interesante, entre estos potenciales sustratos se encuentra la proteína tirosina cinasa de tipo no receptor Lyn, la cual se encuentra hiperactiva en distintos tipos de tumores. En este trabajo, mostramos que PTP1B forma un complejo estable con Lyn *in silico*, que un péptido correspondiente a los aminoácidos 392-402 de Lyn fosforilado en el residuo de Y397 es desfosforilado por PTP1B *in vitro*, y que ambas proteínas interactúan en un contexto celular mediante experimentos de co-inmunoprecipitación y co-localización. Estos resultados sugieren que Lyn es un nuevo sustrato de PTP1B, por lo que es de nuestro interés estudiar en el futuro cual es el efecto de esta desfosforilación en la actividad biológica de Lyn.

MENSAJEROS GASEOSOS

Expresión del ARNm que codifica para las isoformas de la NOS y las subunidades de la GCs en el sistema auditivo del *Gallus domesticus* durante el desarrollo embrionario

Valeria Zuleta^{1*}, Eduardo Monjaraz¹, Beatriz Rocha¹, Amira Flores¹

¹Instituto de Fisiología Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

*C.P.:72580, Tel: 222 5434825; correo electrónico:

valeri.zuleta19@gmail.com

Estudios recientes demuestran que la vía de señalización NO-GMPc está involucrada en el desarrollo de los sistemas sensoriales de muchas especies de animales. En nuestro laboratorio se ha demostrado mediante un estudio de expresión génica la existencia de las tres isoformas de la NOS en el sistema vestibular en edades embrionarias de 15, 17, 19 y 21 días, Encontramos una disminución en la frecuencia de descarga de las aferentes de manera dependiente con la edad y la concentración al aplicar los inhibidores de la NOS, L-NOARG y 7-NI. Además encontramos un aumento en la descarga basal de las aferentes con la aplicación del donador de NO (NOR-3) y del 8-Br-GMPc; la coaplicación de 8-Br-GMPc y NMDA incrementó la descarga espontánea de las aferentes lo que demuestra que la síntesis de NO es un proceso mediado por el receptor a glutamato NMDA, y que las acciones del GMPc se producen por la activación de esta vía.

Por lo anterior el objetivo de este estudio fué determinar la presencia del ARNm que codifica para las tres isoformas de la NOS (NOS_I, NOS_{II}, NOS_{III}) y las subunidades (α y β) de la GCs en la papila basilar del pollo mediante la técnica de RT-PCR en edades E-15(n=20), E-18(n=20) y E-21(n=20). El ARNm fue extraído usando el Kit Quick-RNA™ MiniPrep, el ADNc sintetizado se sometió a PCR y sus productos separados por electroforesis y visualizados con tinción de bromuro de etidio, la intensidad de las bandas se midieron escaneando el gel y el procesamiento de imágenes se hizo con Image J. Nuestros resultados revelaron la presencia de las tres isoformas de la NOS y de las subunidades α y β de la GCs con expresión diferencial durante el desarrollo embrionario, esto quiere decir que observamos un pico de expresión en la edad E-18, tanto para la NOS como la GCs, dicha expresión disminuye conforme el embrión se acerca a la eclosión (E-21), esto ocurre en el ganglio y en el epitelio sensorial. Los datos obtenidos sugieren que la NOS y las subunidades (α y β) de la GCs estarían siendo reguladas a lo largo del desarrollo embrionario del pollo y al parecer como ya se ha reportado, el NO producido estaría interviniendo en la maduración celular, la receptorgénesis y muerte celular programada. Podemos inferir, además, que la presencia de la NOS y la GCs podría estar jugando un papel importante en la modulación de la actividad eléctrica espontánea de las neuronas aferentes auditivas mediante la producción de NO y su posterior unión a la GCs, todo esto a través de la activación de los receptores a glutamato tipo NMDA.

PROTEINAS

Mecanismos de señalización involucrados en la relocalización nuclear de la GTPasa Rac1 en respuesta a estrógenos.

Eduardo Castañeda-Saucedo, Angélica Martínez-López, Sonia Castillo-Lluva, Miguel A. Mendoza-Catalán, Napoleón Navarro-Tito.

Universidad Autónoma de Guerrero,-Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Ciudad Universitaria Sur. Av. Lázaro Cárdenas s/n. Col. La haciendita, Chilpancingo, Gro. México.
Tel. 7471066864. Correo electrónico: ecastaneda@uagro.mx

La GTPasa RAC1 regula una gran variedad de procesos celulares, y se ha demostrado que se encuentra sobreexpresada o hiperactivada en diversos tipos de cáncer. RAC1 tiene una señal de localización nuclear funcional y se ha observado la presencia de Rac1 en el núcleo en distintas líneas celulares tumorales y en tumores humanos. La acumulación nuclear de Rac1 puede ser inducida por estímulos como EGF y estrógenos. En este trabajo investigamos los mecanismos involucrados en la acumulación nuclear de RAC1 en respuesta a estrógenos en células HaCat y HeLa. La localización subcelular de RAC1 se analizó mediante inmunocitoquímica, inmunofluorescencia y fraccionamiento celular. La activación y fosforilación de Rac1 se analizó mediante ensayos de Pull-down o inmunoprecipitación. Encontramos que los estrógenos inducen la fosforilación de Rac1 en residuos de treonina, así como su activación en células HaCaT, y que estos eventos son necesarios para que RAC1 se acumule en el núcleo en respuesta a estrógenos. En células HeLa, los estrógenos inducen la fosforilación de RAC1 pero no su activación, e incrementan la acumulación nuclear de una forma constitutivamente activa de RAC1 pero no de la forma silvestre o la forma dominante negativa de RAC1. Los resultados muestran que el mecanismo de translocación nuclear en respuesta a estrógenos es dependiente del estado de fosforilación y activación de RAC1.

Interacción del Receptor α_{1A} Adrenérgico con Proteínas Rab Durante la Desensibilización

Gustavo de los Santos-Cocotle¹, Juan Carlos Martínez-Morales¹, María Teresa Romero-Ávila¹, Guadalupe Reyes-Cruz², Jesús Adolfo García-Sáinz¹

1 Departamento de Biología Celular y del Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CP 04510, Ap. Postal 70-248; Ciudad de México, México. Correo [electrónico: agarcia@ifc.unam.mx](mailto:agarcia@ifc.unam.mx).

2 Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional-CINVESTAV, Av Instituto Politécnico Nacional 2508; Col. San Pedro Zacatenco, Mexico City, Mexico.

Los receptores adrenérgicos son miembros de la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G y se han dividido entre tres grupos: α_1 , α_2 y β adrenérgicos tomando en cuenta perfiles farmacológicos, principal vía de señalización y filogenia. Los receptores α_1 adrenérgicos median algunas de las principales acciones de las catecolaminas naturales, la adrenalina y la noradrenalina. Participan en muchos procesos fisiológicos esenciales, como la neurotransmisión simpática, la modulación del metabolismo hepático, el control del tono vascular, la contracción cardíaca y la regulación de la actividad del músculo liso en el sistema genitourinario.

Está bien establecido que las proteínas Rab funcionan en el anclaje/acoplamiento de las vesículas a su compartimento objetivo, lo que lleva a la fusión de las membranas. En este proyecto se evaluó la asociación del receptor α_{1A} adrenérgico/mCherry y las proteínas Rab5/eGFP, Rab7/eGFP y Rab9/eGFP (enhanced-green fluorescent protein, por sus siglas en inglés) expresadas de forma transitoria en células HEK-293 mediante el uso de la técnica de Transferencia de Energía de Resonancia de Förster (FRET, por sus siglas en inglés) bajo el estímulo de Noradrenalina (agonista total) y Oximetazolina (agonista parcial).

Los datos obtenidos en este trabajo indican que el receptor α_{1A} adrenérgico con la noradrenalina conduce a una asociación con las proteínas Rab 5 y Rab 7, lo que sugiere que el receptor se va a degradación; mientras que cuando el receptor se estimula con oximetazolina se asocia con las proteínas Rab 5 y Rab 9 lo que sugiere que el receptor toma la vía retrógrada para reciclaje lento a la membrana plasmática. Estos datos indican que existe una internalización diferencial cuando es noradrenalina u oximetazolina.

El trabajo se realizó con apoyo de CONACYT y DGAPA-UNAM

Tráfico vesicular del receptor LPA₁ durante las desensibilizaciones homóloga y heteróloga

Karla Daniela González-Ruiz¹, Juan Carlos Martínez-Morales¹, Guadalupe Reyes-Cruz², Jesús Adolfo García-Sáinz¹

¹Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX,

²CINVESTAV-IPN, CDMX agarcia@ifc.unam.mx 55 5622 5613

Los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) son una familia amplia con gran cantidad de ligandos que participan en múltiples respuestas celulares fisiológicas. Un fenómeno importante entre los receptores es la internalización de los mismos, siendo un proceso complejo, que incluye a muchas diferentes proteínas, entre ellas las proteínas Rab. Estas proteínas son GTPasas, reguladoras del transporte intracelular, como en la endocitosis y la exocitosis. Entre los GPCRs, se encuentran los receptores para el ácido lisofosfatídico, denominados LPA₁₋₆. Así el ácido lisofosfatídico, LPA, es un mensajero intercelular, un lípido bioactivo muy importante, pues regula una gran cantidad de procesos celulares, como migración, sobrevivencia, agregación plaquetaria, contracción de músculo liso, reorganización del citoesqueleto, entre otros. En este trabajo, se realizaron transfecciones transitorias con el receptor LPA₁-mCherry y las proteínas Rab5-EGFP, Rab7-EGFP y Rab9-EGFP en células HEK 293. Con el objetivo de estudiar la posible interacción del receptor con las proteínas Rab, se utilizó microscopía confocal con la técnica de Förster Resonance Energy Transfer (FRET, por sus siglas en inglés). Las células HEK 293 transfectadas se estimularon con el agonista, LPA y por PMA comparando los resultados con una condición basal, es decir, sin ningún estímulo. Igualmente, se estudió la internalización del receptor con los mismos ligandos mencionados. También se estudió la internalización con paroxetina, la cual tiene la capacidad de inhibir a la proteína GRK2 que es clave en la desensibilización e internalización de los GPCRs. Por otro lado, se encontró que cuando se estimula con LPA, el receptor se asocia con las proteínas Rab5, Rab7 y Ra9, mientras que, cuando se estimula con ésteres de forbol, sólo se asocia con Rab5. Esto sugiere que con LPA, el receptor toma la vía retrógrada, lo que conlleva a un reciclaje lento, mientras que con PMA, sugiere un reciclaje rápido vía endosomas tempranos.

El proyecto fue apoyado por donativos de la DGAPA-UNAM y CONACyT

Las proteínas-G participan en la inhibición por vasoinhibina de las acciones de la trombina

Juan Pablo Robles, Magdalena Zamora, Gonzalo Martínez de la Escalera, y Carmen Clapp.

Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, 76230, México. Tel. (442)-238-1028. Email clapp@unam.mx

La trombina es determinante en la coagulación, pero también es un potente estimulador de la angiogenesis, la vasopermeabilidad, el crecimiento tumoral y las metástasis. La trombina señala a través de la familia de receptores activados por proteasas (PARs) que actúan a través de proteínas G ($G\alpha_{12/13}$, $G\alpha_{q11}$, $G\alpha_i$, and $G\beta_\gamma$) para activar distintas vías (RhoGEFs-Rho-Rac, $PLC\beta$ - IP_3 - Ca^{2+} , $PLC\beta$ -DAG-PKC-Raf1-MAPK, and PI3K-Akt) que promueven la motilidad, supervivencia y proliferación de células endoteliales, plaquetas, miocitos, células epiteliales y neuronas. Por otro lado, la vasoinhibina es un regulador negativo de la angiogenesis y vasopermeabilidad, a través de inhibir la activación de vías de señalización en la célula endotelial (Ras-Tiam1-Rac-Pac1, $PLC\gamma$ - IP_3 - Ca^{2+} , Ras-Raf1-MAPK; and PI3K-Akt) que se conoce son activadas por la trombina. En este trabajo encontramos que la vasoinhibina inhibe la angiogenesis y la vasopermeabilidad inducidas por trombina, evaluadas mediante la proliferación, migración, supervivencia y la resistencia transendotelial y permeabilidad a albúmina de células endoteliales en cultivo. Asimismo, observamos que la vasoinhibina reduce la agregación plaquetaria in vitro inducida por trombina y el efecto estimulante de la trombina sobre la proliferación, migración, invasión y supervivencia de células de cáncer de mama y de próstata. Mediante el uso de agonistas y antagonistas específicos, demostramos que la vasoinhibina bloquea la activación de los PAR1, 2 y 4, pero no del PAR3. Estos hallazgos sugieren que la vasoinhibina inhibe la señalización de las proteínas G, ya que el PAR3 es el único que no está relacionado con estas proteínas. En conclusión, la vasoinhibina antagoniza las acciones de la trombina y, por lo tanto, podría estar involucrada en la regulación de la hemostasia y la reparación tisular e influir sobre el crecimiento y la metástasis tumoral, a través de mecanismos dependientes e independientes de la angiogenesis. Este es el primer trabajo donde se muestran efectos directos de la vasoinhibina sobre células tumorales. Finalmente, la vasoinhibina es uno de los pocos inhibidores de los PARs y su señalización podría afectar otros receptores acoplados a proteínas G. Estos hallazgos apoyan la potencialidad terapéutica de la vasoinhibina en enfermedades como el cáncer, la retinopatía diabética y la trombosis.

Agradecemos la asistencia técnica de Fernando López, Xarubet Ruiz, Martín García, Alejandra Castilla, Adriana González Gallardo, Daniel Mondragón, y Antonio Prado. Esta investigación fue financiada por los donativos CONACYT 289568 y A1-S-9620.

RECEPTORES

Análisis *in silico* descriptivo de un análogo borado de levodopa como potencial activador del receptor D₂ dopaminérgico y su evaluación experimental en un modelo murino de la enfermedad de Parkinson.

Antonio Abad-García, Mónica Barrón-González, Melvin Nadir Rosalez, Marvin A. Soriano Ursúa*

Sección de Estudios de Posgrado e Investigación Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis y Diaz Mirón, s/n. Col. Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, 11340, CDMX, México. E-mail: soum13mx@gmail.com

Los receptores dopaminérgicos en el Sistema Nervioso Central (SNC) activan cascadas de señalización complejas posterior a la interacción con ligandos endógenos o exógenos.¹ La enfermedad de Parkinson es una entidad caracterizada por el agotamiento paralelo de dopamina y células dopaminérgicas que causa una disminución en los movimientos coordinados y que hoy en día el "gold standard" farmacológico del tratamiento es la restitución exógena por la administración de levodopa que induce de manera crónica discinesias inducidas por el metabolismo de la misma y la formación de quinonas.²

La adición del átomo de boro en moléculas derivadas de alfa amino ácidos ha conducido al estudio y caracterización de un grupo de compuestos denominados boroxazolidonas que han mostrado tener una mayor afinidad por receptores GPCRs de la familia de receptores adrenérgicos. Debido a esto y que los adrenerreceptores tienen una homología similar a los receptores dopaminérgicos en estudios de secuenciación³, en el presente trabajo se estudia, mediante el anclaje molecular las interacciones de una boroxazolidona de levodopa con el receptor D₂ humano (PDB: 6CM4)⁴ y las comparamos con aquellas ya descritas de la molécula de dopamina con este receptor clave como potencial target farmacológico. Nuestros resultados se caracterizaron por valores de pKi más altos de los primeros contra los segundos y una respuesta más temprana de recuperación del síndrome parkinsonico inducido en nuestro modelo murino.⁵

CONCLUSIÓN

El grupo de las boroxazolidonas caracterizado químicamente por la formación de un anillo heterocíclico mostraron una gran afinidad por el sitio de unión de la dopamina en el receptor D₂ humano, lo cual apoya los resultados experimentales en el modelo murino sobre la mejoría sintomática a la discinesia, así como el seguimiento en el estudio de las propiedades farmacológicas de este grupo de compuestos las diferentes vías de señalización de los GPCRs.

REFERENCIAS

- (1) Jackson, D. M.; Westlind-danielssont, A. DOPAMINE RECEPTORS: MOLECULAR BIOLOGY , BIOCHEMISTRY A N D BEHAVIOURAL ASPECTS. **1994**, 7258 (94).
- (2) Alarcón Aguilar, A.; Santamaría, A.; Königsberg, F. Modelos Neurotóxicos De La Enfermedad De Parkinson Y Disfunción Mitocondrial. *Reb* 29(3) **2013**, 29 (3), 92–100.
- (3) Ruth, A. L. O.; Itzia, M. L. E. F. C.; Soriano-ursúa, J. G. T. M. A. Design , Synthesis and in Vitro Evaluation of a Dopa-Organoboron Compound That Acts as a Bladder Relaxant through Non-Catecholamine Receptors. *Mol. Divers.* **2018**.
- (4) Wang, S.; Che, T.; Levit, A.; Shoichet, B. K.; Wacker, D.; Roth, B. L. Structure of the D2 Dopamine Receptor Bond to the Atypical Antipsychotic Drug Risperidone. *Nat. Publ. Gr.* **2018**, 1–24.
- (5) Sedelis, M.; Hofele, K.; Auburger, G. W.; Morgan, S.; Huston, J. P.; Schwarting, R. K. W. MPTP Susceptibility in the Mouse: Behavioral, Neurochemical, and Histological Analysis of Gender and Strain Differences. *Behav. Genet.* **2000**, 30 (3), 171–182.

Expresión de los receptores a estrógenos ER α y GPR30 en un modelo de carcinogénesis cervical murino K14-E7.

Ivon Allende-Adelaido¹, Rodolfo Ocadiz-Delgado², Napoleón Navarro-Tito¹, Patricio Gariglio², Eduardo Castañeda-Saucedo¹

¹Laboratorio de Biología Celular del Cáncer - Universidad Autónoma de Guerrero. ² Laboratorio de Oncología Molecular – CINVESTAV.

FCQB-UAGro. Av. Lázaro Cárdenas s/n. Col. La haciendita, Chilpancingo, Gro. CP 39087. Cel. 7471066864. castaneda@uagro.mx

El cáncer cérvicouterino (CaCU) es la cuarta neoplasia más frecuente en mujeres de todo el mundo. Estudios en ratones transgénicos que expresan E6/E7 del VPH-16 bajo el promotor de citoqueratina 14 humana (K14E6/K14E7) confirman que la infección por VPH-AR es necesaria pero no es suficiente para el desarrollo del CaCU. En ratones transgénicos (K14E6/K14E7), la exposición a estrógenos (E₂) exógenos induce una progresión neoplásica en el epitelio escamoso del cuello uterino. En un modelo de ratones K14-E7 se demostró que los ratones que carecían genéticamente de ER α (ER α ^{-/-}) no desarrollaron lesiones cervicales invasivas al ser tratados con estrógenos. Por otro lado, el papel del receptor de estrógenos transmembranal GPR30 en la carcinogénesis cervical ha sido poco estudiado. Recientemente, se demostró que el GRP30 se localiza tanto en membrana como en citoplasma en las células tumorales, y que la localización citoplásmica se correlaciona con una mejor supervivencia de las pacientes. En este trabajo encontramos que durante la carcinogénesis cervical inducida por estrógenos en ratones K14E7, hay una pérdida de la expresión de ER α y un incremento en la expresión de GPR30. La señal de GPR30 se observó predominantemente citoplásmica durante los primeros, y su localización se volvió fuertemente citoplasmáticas. Nuestros datos sugieren que la localización de GPR30 en membrana, aumenta significativamente con el tratamiento con estrógenos y podría estar correlacionada con la progresión tumoral.

La chaperonina de *Mycobacterium tuberculosis* “Cpn60.2” modula las respuestas de activación de los linfocitos T humanos.

Den Alejandro Alvarado-Velázquez^{1,3}, José Ignacio Veytia Bucheli¹, Estefanía Alemán-Navarro^{1,4}, Clara Espitia², Yvonne Rosenstein¹

Instituto de Biotecnología, UNAM, Campus Morelos, Cuernavaca, Morelos, México¹, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, CDMX, México², Posgrado en Ciencias, UAEM, Cuernavaca, Morelos, México³, Posgrado en Ciencias Bioquímicas, UNAM, CDMX, México⁴.

Correspondencia: Av. Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos, tel: 777-329-1663, denale@ibt.unam.mx

Resumen

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*) es el agente etiológico causante de la tuberculosis, una enfermedad prevalente que primordialmente afecta los pulmones y anualmente mueren aproximadamente 1.4 millones de personas globalmente.

Tras la infección, algunos individuos pueden desarrollar “tuberculosis primaria progresiva” o bien desarrollan una infección latente, caracterizada por la formación de granulomas. En ellos se encuentran macrófagos alveolares (MΦ), macrófagos espumosos, células multinucleadas, neutrófilos (zona central); linfocitos T CD4⁺, T CD8⁺, linfocitos B y fibroblastos (zona periférica). La función del granuloma es encapsular a *Mtb* y evitar su esparcimiento. Los MΦ y las células dendríticas (DC) activadas inducen respuestas Th1, Th17, Th2 y Treg. Particularmente, los linfocitos Th1 son los principales productores de IFN-γ, cuya función es potenciar las actividades microbicidas para contener y eliminar al patógeno. Además, las células Th17 secretan IL-17, la cual promueve la producción de otras citocinas inflamatorias y el reclutamiento de monocitos y neutrófilos hacia el granuloma.

Cpn60.2 es una chaperonina esencial para el crecimiento de *Mtb*, localizada en el citosol y la pared celular externa. En esta última localización es una adhesina que favorece la interacción con macrófagos a través de sialomucina CD43. CD43 es una glicoproteína altamente sialada que se expresa en todas las células linfoideas y modula la activación de linfocitos T, disminuyendo el umbral de activación y dirigiendo la diferenciación de los linfocitos T hacia un perfil Th1. Recientemente, nuestro grupo demostró que la interacción entre CD43 y Cpn60.2 da lugar a la producción de TNF tanto en macrófagos humanos como en murinos. Además, se demostró que los ratones CD43^{-/-} fallan en producir IFN-γ e IL-17 cuando se les reta con *Mtb* en comparación con sus contrapartes WT. El presente estudio tuvo como objetivo determinar cómo Cpn60.2 impacta en la respuesta de activación de los linfocitos T humanos activados vía TCR, TCR-CD43 o TCR-CD28. Dicha activación fue evaluada a través de la expresión de los marcadores de activación CD69, CD40L y CD25 así como la secreción de citocinas a las 24 y 72 horas. Nuestros resultados muestran que Cpn60.2 regula negativamente la activación de los linfocitos T.

Participación de los Receptores Estrogénicos (α & β) en la Apoptosis Durante la Diferenciación Sexual Cerebral en *Oreochromis Niloticus*

Chávez - García, Ricardo.^{1*}, Contreras-Ramos, Alejandra², Ortega- Camarillo, Clara³, Figueroa-Lucero, Gerardo⁴, Prado- Flores, Guadalupe⁵, Vergara- Onofre, Marcela⁵

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias". UAM- Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, C.P. 04960 México CDMX * rchavezuamxoc@gmail.com

RESUMEN

El tejido cerebral presenta una alta sensibilidad a la presencia de hormonas esteroides durante los periodos críticos del dimorfismo sexual, en donde las células neuronales sufren cambios en las etapas tempranas del desarrollo, sin embargo, existen especies que presentan estos cambios en todas las etapas del desarrollo como el caso de los peces teleósteos. Esto último sucede debido a que la determinación del sexo en estos organismos se puede modificar por diversos factores externos, tanto ambientales, prevalencia del sexo en la población y así mismo mediante tratamientos hormonales. Se conoce que los receptores estrogénicos pueden delimitar la vía hacia la sobrevivencia o muerte por apoptosis en las células neuronales durante los periodos críticos de la diferenciación sexual cerebral, esto último es regulado mediante la presencia o ausencia de las hormonas esteroides, es por ello que el propósito de este estudio fue evaluar la participación de los receptores estrogénicos α y β como reguladores de los genes moduladores de la apoptosis como Bax, Bcl-2, p53 y FAS en el tejido cerebral durante reversión sexual por medio de la hormonal 17- β etinil-estradiol y la 17- α metil-testosterona. A través de la microscopia confocal y qPCR en tiempo real logramos determinar que la actividad de los genes reguladores de la apoptosis se presenta a los 7, 10 y 15 días de edad para los organismos sometidos a tratamiento hormonal en comparación al grupo control. Con estos resultados podemos asumir que el periodo crítico de la participación de estos receptores ocurre entre el día 7 y 10 debido a la presencia del tratamiento hormonal el cual actúa sobre diferentes factores de transcripción génica relacionados con la diferenciación sexual mediante la activación de los procesos de muerte por apoptosis a edades tempranas del desarrollo neuronal en donde se observó que el equilibrio apoptótico entre Bax y Bcl-2 se mantiene hacia la señalización de sobrevivencia celular mediante la presencia del RE- α tanto para organismos masculinizados y feminizados, mientras que en el caso de FAS y la p53 se incrementa su presencia mediante la activación de ER- β relacionado con la muerte por apoptosis en las etapas más adultas de los tiempos de medición en el fenotipo femenino.

Efecto de una lectina recombinante de frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius*) sobre el receptor EGFR en células de cáncer de colon

José Luis Dena Beltrán¹, Porfirio Nava Domínguez², Dania Martínez Alarcón¹, Dulce María Palmerín Carreño¹, Teresa García Gasca¹

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

Cerro de las Campanas, s/n, Centro Universitario, Santiago de Querétaro.

²Depto de Fisiología, Biofísica y Neurociencia, CINVESTAV-Unidad Zacatenco

Correo electrónico: tggasca@gmail.com

Las lectinas son proteínas con capacidad de unirse a carbohidratos de manera específica y reversible. Su distribución es ubicua, siendo las lectinas de leguminosas las más estudiadas por presentar características con interés farmacéutico. Una de las lectinas en investigación por su potencial farmacéutico son extraídas a partir del frijol Tépari, las cuales han presentado un efecto citotóxico diferencial, además de reducir neoplasias malignas en etapas tempranas en ratas con cáncer de colon inducido químicamente. La purificación de lectinas del frijol Tépari presenta desventajas en cuanto a tiempo, rendimiento y pureza. Por lo cual se optó por la producción heteróloga en la levadura *Pichia pastoris*, contrarrestando las desventajas de la purificación convencional. Actualmente, se evaluó la bioactividad de la lectina recombinante (Lr) sobre células de cáncer de colon, demostrando que su efecto de inducir muerte celular por apoptosis se conservó. Sin embargo, aún se desconoce el efecto de la Lr sobre receptores fundamentales en la carcinogénesis de colon como el EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico). La presencia de glicosilaciones aberrantes del dominio extracelular del EGFR puede ser considerado como blanco para el reconocimiento de proteínas como las lectinas por lo que se evaluó su efecto. La Lr del frijol Tépari induce hiperfosforilación y degradación por vía lisosomal del EGFR sobre células de cáncer de colon, modulando proteínas río abajo que conlleva a una muerte celular por apoptosis. Por otra parte, se determinó el efecto de la Lr sobre una línea celular que no expresa el EGFR y se demostró que no induce apoptosis. Nuestros resultados sugieren que la Lr causa apoptosis por su interacción con el EGFR.

“El Receptor Sensor de Calcio (CaSR) promueve la expresión de la GTPasa Rab27b en células de cáncer de mama”

Carlos Alejandro Egusquiza Alvarez^a, Margarita Valadez Sánchez^a, José Vázquez-Prado^b, y Guadalupe Reyes Cruz^a

Departamentos de Biología Celular^a y Farmacología^b del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN)

Dirección postal: Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, teléfono: 5575684317,

e-mail: cegusquiza3@gmail.com, guadaluper@cell.cinvestav.mx

El Receptor Sensor de Calcio (CaSR) es un receptor acoplado a proteínas G (GPCR) cuyo papel fisiológico fundamental es regular la homeostasis del calcio en el organismo. Sin embargo, este receptor se ha encontrado sobreexpresado en células de cáncer de mama, donde se ha visto asociado a la secreción de diversos factores que contribuyen a aumentar la agresividad de los tumores. Previamente se ha demostrado que la GTPasa Rab27b está implicada en la secreción de factores inducida por el CaSR, además esta GTPasa está vinculada a la baja supervivencia de pacientes con cáncer de mama. Por ello, en el presente trabajo nos propusimos evaluar el efecto del CaSR sobre los niveles de expresión de Rab27b, pues la modulación de esta GTPasa podría ser clave para aumentar los niveles de secreción en células tumorales y hacer a éstas más agresivas. Nuestros resultados muestran que el CaSR regula positivamente la expresión de Rab27b en células de cáncer de mama (MCF-7 y MDA-MB-231), pero no en células epiteliales de mama no tumorigénicas (MCF-10-A). En células MCF-7 demostramos que el efecto del CaSR como promotor de la expresión de Rab27b es inhibido por el NPS-2143, un antagonista alostérico de este receptor. Por otro lado, nuestros resultados muestran que la Proteína Kinasa A (PKA), así como la maquinaria transcripcional y traduccional de la célula están implicadas en la cascada de transducción de señales a través de la cual el CaSR regula positivamente la expresión de Rab27b. Un análisis bioinformático permite sugerir que los factores de transcripción AP-2- α , GATA-1, YY-1, IRF-2, ER α y GR potencialmente regulados por PKA y/o implicados en la progresión del cáncer de mama, posiblemente participen en la regulación de la expresión del gen que codifica para Rab27b, ya que en la región promotora del mismo existen sitios de consenso de unión para estos factores transcripcionales. Interesantemente también encontramos que la simulación *in vitro* de la condición de hipoxia tumoral potencia el efecto ejercido por el CaSR sobre los niveles de expresión de Rab27b en células MDA-MB-231 y MCF-7. Todos los resultados obtenidos en este trabajo permiten adjudicar una nueva función para el CaSR en cáncer de mama, la de regular positivamente la expresión de la GTPasa Rab27b como un posible mecanismo para estimular la secreción de diversos factores e incrementar la agresividad de los tumores.

Expresión de los receptores GPR-43 en células gustativas de tipo II en corpúsculos gustativos de papila caliciforme de Ratón.

Daniela Denisse Flores-Montufar, Sergio Montoya-Montoya, Berenice Yahuaca-Juárez, Víctor Meza-Carmen, Rafael Ortiz-Alvarado.

Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Calle Tzintzuntzan No. 173 Colonia, Matamoros C.P. 58240, Morelia, Michoacán, México. Correo: rortizalvarado@gmail.com Telefono 443 3142152 ext. 208.

El sistema olfativo y particularmente el sistema sensorial del gusto informan al organismo acerca de la calidad de los alimentos ingeridos, estableciendo en la actualidad, Cinco sub-modalidades sápidas que permiten la percepción de los estímulos dulces, salados, agrios, amargos y umami contenidos en los alimentos, han sido descritos. Sin embargo, la atracción innata de los mamíferos por los alimentos grasos. Plantea la posibilidad de una nueva modalidad orosensorial dedicada a la percepción de lípidos, dependiente de su estructura química y que se exprese de manera selecta sobre células gustativas de tipo II, que usan como transducción a la proteína Gustducina. Durante mucho tiempo, se pensaba que los lípidos de la dieta sólo se detectaban por el nervio trigémino (textura y viscosidad de la percepción) y por señales retronasales olfativas. En este trabajo se muestran evidencias, a través de cortes histológicos sobre papila caliciforme de ratón de la cepa C57BL/6J y su inmunotinción (anticuerpos anti-GPR-43 y anti-gustducina) y microscopía confocal, para las señales del receptor GPR43 y su expresión en células gustativas de tipo II, en ratón adulto y permiten apoyar su participación en la percepción de los ácidos grasos de cadena corta (agcc) y la intervención de la proteína G, específica del sistema gustativo, denominada Gustducina, lo cual establecería una vía de transducción de señales particular para la detección de ácidos grasos de cadena corta, como son el ácido acético, propiónico y butírico, los cuales se encuentran en la dieta de mamíferos, como es el *Homo sapiens*.

Literatura.

Corte Osorio L.Y., Martínez Flores H.E., Ortiz Alvarado R. 2011. Effect of dietary fiber in the quantitative expression of butyrate receptor GPR43 in rats colon. Nutr Hosp. Nutr Hosp. 26(5):1052-8.

FFA4 receptor association with endocytic Rab proteins by homologous and heterologous receptor desensitization.

Emmanuel Flores-Espinoza¹, Aldo Meizoso-Huesca¹, Sócrates Villegas-Comonfort¹, Teresa Romero-Ávila¹, Guadalupe Reyes-Cruz², Jesús Adolfo García-Sainz^{1*}.

¹. Departamento de Biología Celular y del Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Ciudad Universitaria, UNAM, Cd. Mx. C.P. 04510.

². Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN, Cd. Mx. C.P. 07360.

* agarcia@ifc.unam.mx, Tel. +52 55 56225613

El receptor 4 de ácidos grasos libres (FFA4) es un GPCR que es activado por ácidos grasos de cadena media y larga como el ácido docosahexaenoico (DHA), entre otros. Los efectos de la señalización de FFA4 por cada uno de sus ligandos en diferentes poblaciones celulares, han sido ampliamente estudiados; sin embargo, poco se sabe de la regulación y destino del receptor posterior a su desensibilización e internalización.

En este trabajo estudiamos la dinámica de localización de FFA4 en diferentes endosomas mediante microscopía confocal y FRET en células HEK 293 co-transfectadas con el receptor FFA4 fusionado a mCherry y alguna de las proteínas Rab (4, 5, 7, 9 u 11) fusionadas a eGFP. Esto, debido a que cada una de esas Rab funciona como marcador y regulador de la formación de determinado tipo de endosoma. La internalización del receptor se indujo mediante dos tipos de desensibilización, homóloga (por unión de su ligando DHA) y heteróloga (por activación de la PKC con PMA o insulina).

Los datos de FRET muestran que existe una asociación diferencial del receptor con la proteína Rab5 (indicadora de la presencia del receptor en endosomas tempranos), con la Rab9 (presente en endosomas en maduración) y Rab 11 (presente en endosomas de reciclaje) dependiente de la naturaleza de la desensibilización de FFA4 (homóloga o heteróloga). No se observaron diferencias en la asociación de FFA4 con Rab4 (endosomas de reciclaje rápido) y Rab7 (endosomas tardíos). Por otro lado, el tipo de desensibilización influye en la cinética de internalización de FFA4. Actualmente continuamos profundizando en los mecanismos de determinación del destino celular de FFA4 por los dos tipos de desensibilización.

Proyecto apoyado por: *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Dirección General de Apoyo al Personal Académico.*

Modulación por GABA a través de receptores ionotrópicos GABA_A y GABA_C de la actividad eléctrica espontánea de las neuronas aferentes auditivas del embrión de *Gallus domesticus*.

Ana Lourdes González¹, Eduardo Monjaraz¹, Amira Flores^{1*}

¹Instituto de Fisiología. BUAP.

*C.P.:72570; Tel: 222 265 6229; Correo electrónico:
amrayo@yahoo.com.mx

El presente trabajo estudia el papel de GABA en el sistema auditivo en el embrión de pollo, a través de su interacción con los receptores ionotrópicos GABA_A y GABA_C. Existen antecedentes en la literatura y en nuestro laboratorio sobre la acción excitadora de GABA durante el desarrollo embrionario y postnatal temprano, la cual es mediada por receptores GABA_A. Cortés y cols., (2013), caracterizaron el efecto de GABA en las aferentes vestibulares durante el desarrollo embrionario y postnatal, encontrando que GABA incrementó la frecuencia de la descarga basal de las aferentes vestibulares de una manera dependiente de dosis e inversamente proporcional a la edad del pollo. Hasta el momento no existe ningún reporte del papel de GABA en el sistema auditivo periférico de las aves durante el desarrollo embrionario. En este trabajo empleamos embriones de 15, 17, 19 y 21 días. Se registró la actividad eléctrica aferente de la papila basilar mediante la técnica de registro extracelular multiunitario. Construimos una curva dosis-respuesta de GABA (10^{-3} - 10^{-5} M, n=60). Encontramos que GABA ejerce un importante efecto excitador y que es mayor en edades embrionarias tempranas como E15 y E17, mientras su acción decreciente en edades previas a la eclosión, principalmente con la concentración de 10^{-3} M. Cuando aplicamos los antagonistas TPMPA (antagonista de GABA_C, 10^{-4} M, n=5) y bicuculina (antagonista de GABA_A, 10^{-5} M, n=5), observamos una disminución significativa de la respuesta excitadora de las aferentes auditivas a la aplicación de GABA. Esto parece indicar que GABA produce un incremento de la frecuencia de la actividad eléctrica espontánea de las aferentes auditivas que parece ser mediado por receptores ionotrópicos a GABA (GABA_A y GABA_C). El efecto excitador de GABA puede ser debido a un cambio en el gradiente de concentración de Cl⁻, ya que durante etapas tempranas la concentración de Cl⁻ intracelular es alta, debido a la expresión de los cotransportadores NKCC1, los cuales van disminuyendo en las etapas tardías del desarrollo. De esta forma, GABA podría actuar como un facilitador de la descarga espontánea de las aferentes auditivas, permitiendo la liberación del neurotransmisor (glutamato).

REGULACIÓN DEL RECEPTOR PARA ÁCIDOS GRASOS TIPO 1, FFA1.

Guzmán-Silva Alejandro, Romero-Ávila Tere, Solís Karina Helivier, Villegas Comonfort Sócrates, Medina Luz del Carmen, Martínez-Morales Juan Carlos, García-Sainz J Adolfo.

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

Tel. +52 55 56225613 aleckz.guzman@gmail.com agarcia@ifc.unam.mx

El GPR40, es una proteína de 300 aminoácidos (31kDa) con elevada expresión en células β pancreáticas y en células enteroendócrinas del intestino; en páncreas favorece la liberación de insulina dependiente de glucosa (Itoh et al., 2003; Mancini & Poitout, 2013) y en intestino la liberación de incretinas como la colecistocinina (CCK), el polipéptido inhibidor gástrico (GIP) y el péptido similar a glucagón tipo 1 (GLP-1) (Itoh et al., 2003; Mancini & Poitout, 2013). Diversos estudios se han encaminado en la síntesis de moléculas que mimeticen el efecto activador de los ácidos grasos, ya que puede ser una alternativa terapéutica en el tratamiento de pacientes con diabetes mellitus tipo II (Hauge et al., 2015; Milligan, Alvarez-Curto, Watterson, Ulven, & Hudson, 2015; Srivastava et al., 2014).

En el presente trabajo abordamos los sitios de fosforilación del FFA1, como moduladores de la función del receptor. Generamos líneas celulares de expresión regulada por tetraciclinas (Sist TReX) en células HEK 293 que expresan diferentes construcciones del receptor FFA1 unido a la proteína verde fluorescente (GFP). Dichas construcciones son variaciones del receptor FFA1 en las cuales se han sustituido aminoácidos fosforilables en la tercera asa intracelular (T215V) y en el extremo carboxilo (T287V, T293V y S298A) por aminoácidos incapaces de incorporar grupos fosfatos en su estructura. Una vez generadas las mutantes evaluamos los siguientes parámetros: localización celular del receptor por microscopia confocal; movilización de calcio intracelular en presencia de su agonista endógeno con el uso de Fura-2 AM como indicador de calcio; estado de fosforilación con técnicas de radio marcado (^{32}P) y finalmente activación de ERK1/2 por técnicas de western blot.

Hasta el momento hemos observado que al sustituir los sitios de fosforilación del FFA1 por aminoácidos no fosforilables, la localización del receptor tiende a incrementarse en el interior de la célula. Ensayos de fosforilación demostraron que los sitios sustituidos, son efectivamente susceptibles a fosforilación; sin embargo, no descartamos la participación de otros residuos. La movilización de calcio por la vía del inosito 1,4,5-trifosfato no parece afectarse en ningún caso de las mutantes. Finalmente al evaluar el efecto de éstos sitios en la activación de ERK1/2, observamos una disminución de la respuesta, con respecto al tiempo de las variantes del receptor FFA1 con respecto al receptor. Con los datos obtenidos podemos mencionar que los sitios de fosforilación están regulando la localización celular del receptor así como la activación celular a largo plazo; aun queda evaluar los sitios de fosforilación por espectrometría de masas y el tráfico vesicular del receptor.

Identificación de sitios de fosforilación en el receptor α_{1B} -adrenérgico humano

David A. Hernández-Espinosa, Gabriel Carmona-Rosas, Marco A. Alfonso-Méndez, Rocío Alcántara-Hernández y Jesús Adolfo García-Sáinz.

Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ap. Postal 70-248, Ciudad de México CP 04510, México. Tel. 56225613

agarcia@ifc.unam.mx

Los receptores acoplados a proteínas G transmiten una variedad de señales a través de la membrana celular, regulando de esta manera la actividad celular a través de la función de proteínas intermediarias denominadas proteínas G. En esta familia de proteínas receptoras se encuentra el receptor α_{1B} -adrenérgico el cual media los efectos de las catecolaminas, como la epinefrina y la norepinefrina, mediante el acoplamiento de la proteína Gq. La activación del receptor provoca la hidrólisis del PIP₂, formando dos segundos mensajeros que en conjunto conducen a la activación de la proteína cinasa C (PKC). Posteriormente, los receptores se fosforilan, desencadenando su desensibilización e internalización, un proceso mediado por la familia de cinasas acopladas a proteínas G (GRK) y/o por la actividad de la PKC.

Anteriormente se había reportado que el receptor α_{1B} -adrenérgico se fosforilaba en dos grupos separados de residuos de serina localizados en el extremo carboxilo, uno por PKC (S396 y S402) y otro por GRK2 (S406, S410 y S412) durante la desensibilización e internalización del receptor. Sin embargo, en nuestro laboratorio se ha reportado, para los receptores adrenérgicos α_{1A} y α_{1D} , la existencia de sitios de fosforilación, no solo en el extremo carboxilo, sino también en la tercera asa intracelular.

Por lo anterior, nosotros decidimos estudiar, por medio de espectrometría de masas la posible presencia de sitios fosforilables en la tercera asa del receptor y de posibles nuevos sitios en el extremo carboxilo, además de los ya reportados. Para ello se investigó la fosforilación del receptor en condiciones basales y durante la desensibilización homóloga y heteróloga. La fosforilación basal fue detectada en sitios ubicados tanto en la tercera asa intracelular como en el extremo carboxilo; y el número de sitios detectados aumentó por el tratamiento con el agonista natural y por la activación farmacológica de la PKC.

Proyecto apoyado por CONACYT (253156 y 882) y DGAPA (IN200915).

“El receptor de bradicinina (bk2r) como sensor de flujo en la membrana luminal endotelial”

Alejandra Medina Hernández, Aurelio Hernández Méndez, Ricardo Espinosa Tanguma.

Facultad de Medicina, UASLP.

Av. Venustiano Carranza 2405. Col. Los Filtros. CP 78210. San Luis Potosí, S.L.P

Teléfono: (444) 826 23 00 ext. 6666. alejandra.medina@uaslp.mx

Se ha reportado que existen diversos componentes de las células endoteliales capaces de sentir el flujo (mecanorreceptores), entre ellos se encuentran los receptores acoplados a proteínas G (GPCR's). Los mecanorreceptores responden a cambios en el flujo sanguíneo con respuestas celulares como contracción, vasodilatación y remodelamiento celular. Los mecanismos mediante los cuales las células convierten éstas señales mecánicas a señales biológicas aún no son completamente entendidos. Uno de los receptores pertenecientes a la familia de los GPCR's que se ha demostrado es sensible a flujo es el de bradicinina (BK2R). En el presente trabajo se estudió el mecanismo mediante el cual la respuesta a la bradicinina es modificada por cambios en el flujo e hipotetizamos que el extremo amino terminal del receptor localizado extracelularmente juega un papel importante. Entonces, medimos la respuesta, presión de perfusión (PP), a la estimulación del RB por su agonista después de incubar la preparación con la enzima proteolítica α -Quimotripsina para probablemente remover el extremo amino terminal. La PP de arterias carotideas aisladas incubadas con bradicinina es aumentada al elevar el flujo. Asimismo, la pre-incubación con la enzima aumentó significativamente la PP en respuesta a la bradicinina de arterias carotideas pero el efecto producido por el aumento del flujo se perdió. En células endoteliales de arteria carótida en cultivo el aumento en la velocidad de flujo se asoció a un incremento transitorio de la expresión de p-ERK y este efecto no fue modificado por la presencia de la toxina pertusis. Nuestros resultados sugieren que una parte del BK2R localizado en el espacio extracelular, probablemente el extremo amino terminal, le confiere sensibilidad al flujo al BK2R y que, además, el efecto del flujo no es mediado por activación de una proteína Gi. Estudios adicionales se necesitan realizar para identificar el componente estructural del BK2R o de estructuras asociadas al BK2R que puedan conferirle su propiedad de mecanosensor. De igual manera sería interesante evaluar los cambios en la expresión de otras proteínas como src o akt y ver si su expresión y/o función se ve afectada por el flujo. Además, es muy necesario identificar la proteína G que participa en la vía de señalización que se activa por la interacción de la bradicinina con su receptor.

Expresión de los Receptores Gustativos de Tipo Tas1R en células serotoninérgicas de tipo III en corpúsculos gustativos de Papila Caliciforme de Ratón.

Sergio Montoya-Montoya, Daniela D. Flores Montufar, Berenice Yahuaca-Juárez, Rafael Ortiz-Alvarado.

Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Calle Tzintzuntzan No. 173 Colonia, Matamoros C.P. 58240, Morelia, Michoacán, México. Correo: rortizalvarado@gmail.com Telefono 443 3142152 ext. 208.

Los vertebrados entre ellos los mamíferos han desarrollado diversos sistemas de percepción sensorial, donde los sistemas de quimiorrecepción juegan un papel determinante para poder identificar posibles fuentes de alimentación, riesgos de intoxicación, así como para determinar comportamientos sociales, esto asociado a los sistemas olfativos y gustativos, en el caso particular del sistema gustativo se reconocen cinco modalidades gustativas, amargo, ácido, salado, umami y dulce, las últimas dos modalidades gustativas están relacionadas por los receptores de tipo transmembranal denominados Tas1R, encontrando tres diferentes receptores, Tas1R1, Tas1R2 y Tas1R3, los cuales se expresan de las células gustativas de los corpúsculos gustativos de los mamíferos, estos receptores son los responsables de unirse a las moléculas sápidas de tipo dulce, carbohidratos, y poder establecer la percepción gustativa de tipo dulce a partir del sistema gustativo. Quedan aun por elucidar las vías de comunicación intracelular e intercelular a nivel de corpúsculo gustativo, donde intervienen diversas moléculas que funcionan como neurotransmisores clásicos y factores tróficos, entre ellos la serotonina, la cual se encuentra contenida en las células de tipo III en los corpúsculos gustativos, en mamíferos. En el presente trabajo se muestran evidencias, a partir de cortes histológicos en papila caliciforme de ratón de la cepa C57BL/6J, la inmunotinción de células gustativas para los receptores de tipo Tas1R y su co-expresión con las células que contienen a la serotonina (células gustativas de tipo III), lo cual puede establecer una vía de comunicación intracelular con los receptores y las formas diméricas de tipo Tas1R1/Tas1R2 y Tas1R2/Tas1R3 en células gustativas que exhiben un perfil serotoninérgico, lo cual permite explorar a través de herramientas farmacológicas (inhibidores) de la síntesis y recaptura de serotina en modelos murinos de Diabetes Mellitus (DM) y así poder establecer disfunciones en la percepción gustativa (disgeusia) en la DM, la cual compromete la integridad y funcionalidad del Sistema Nervioso Periférico a nivel gustativo en la percepción del sabor dulce mediado por el sistema serotoninérgico y los receptores transmembranales de tipo Tas1R.

Literatura. Ortiz-Alvarado R¹, Guzmán-Quevedo O, Mercado-Camargo R, Haertle T, Vignes C, Bolaños-Jiménez F. 2006. Expression of tryptophan hydroxylase in developing mouse taste papillae. FEBS Lett. 2006 2;580(22):5371-6.

Caracterización molecular y electrofisiológica de subunidades formadoras de receptores aniónicos, activados por la histamina, del tallo ocular del acocil *Procambarus clarkii*.

Itzel Scarlett Moreno-Ramírez¹, Ubaldo García-Hernández², Juan Manuel Arias-Montaño^{1†}.

†Autor responsable: jmarias@comunidad.unam.mx; 55-5623-1333 ext. 39766.

¹Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Avenida de los Barrios 1, Col. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090.

²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, Ciudad de México, Código Postal 07360.

En los vertebrados, los receptores de la familia del asa Cys por lo general son heteropentámeros, resultado de la combinación de varias docenas de subunidades. Estos receptores se activan al unir su ligando (GABA, Gly, acetilcolina o serotonina) y permiten el influjo ya sea de cationes o aniones, lo que despolariza o hiperpolariza, respectivamente, la membrana en la que se expresan. Si bien la estructura general de estos receptores es similar en los invertebrados, en estos organismos muestran en ocasiones una permeabilidad opuesta a la de sus homólogos en vertebrados, e incluso son activados por neurotransmisores totalmente diferentes, tales como el Glu y la histamina (HA). Los registros de corrientes de neuronas aisladas del órgano X del acocil *P. clarkii* muestran respuestas a la mayoría de los neurotransmisores citados, lo que indica su presencia en estas células. Para la HA, se ha reportado una respuesta bifásica, con componentes transitorio y sostenido, una permeabilidad aniónica, $EC_{50} = 3.3 \mu\text{M}$ y $n_H = 2.6$. Con el fin de identificar las subunidades que forman estos receptores, usamos el transcriptoma del tallo ocular del acocil disponible en las bases de datos del NCBI para diseñar oligonucleótidos específicos y amplificar tres ADNc (nombrados PchisCI1–3) que codifican para péptidos que presentan una alta identidad (49–60%) con subunidades previamente caracterizadas provenientes de la mosca *Drosophila*. El análisis de la secuencia de aminoácidos muestra la arquitectura típica de las subunidades que son miembros de la familia Cys, i.e. cuatro segmentos transmembranales (TMs), extremos amino y carboxilo intracelulares y tres asas que conectan los TMs. Además, los aminoácidos presentes en el filtro de selectividad predicen una permeabilidad aniónica. La aplicación de HA en las células HEK293 que expresan ya sea la subunidad PchisCI1 o la PchisCI2, genera una corriente aparentemente aniónica, cuya curva concentración-respuesta muestra EC_{50} de 59.57 μM y 23.11 μM , y n_H de 1.58 y 1.36, respectivamente.

Evaluación de la variante de cáncer A278P del receptor Lphn2 en la remodelación del citoesqueleto de actina y la adhesión celular

Estefania Yoceli Ojeda Muñoz y Antony Boucard Jr.

Centro de investigación y de estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco, Departamento de Biología celular. Av Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco C.P 07360, Tel. 55-57473800 ext. 5561 y antonyboucardjr@cell.cinvestav.mx

Las latrofilinas (Lphns) son receptores de adhesión acoplados a proteínas G (aGPCR) que se expresan en diversos tejidos como riñón, corazón, pulmón y particularmente en el cerebro. Las tres isoformas de Lphns de mamíferos (Lphn1, Lphn2 y Lphn3) participan en eventos biológicos que requieren adhesión célula-célula, como la formación de sinapsis neuronales e inflamación. En particular, la expresión ubicua de Lphn2 es esencial para la supervivencia, por lo que se sugiere un papel en el desarrollo y también podría desempeñar funciones celulares básicas, existen evidencias por su capacidad robusta para modular el citoesqueleto de actina, un componente de todas las células eucariotas. Recientemente, se analizaron tejidos tumorigénicos detectando en cáncer de ovario la presencia de una variante en el gen Lphn2; una mutación de una alanina en el sitio 278 por una prolina (A278P). Sin embargo, sigue sin conocerse cómo esta mutación podría afectar las propiedades del receptor. En este trabajo se evaluó si la mutación A278P localizada en la región extracelular del dominio olfactomedina del receptor Lphn2 afectaba su biogénesis o su capacidad para mediar la adhesión celular y la remodelación del citoesqueleto de actina. Se utilizó mutagénesis sitio dirigida para generar la mutación A278P que se insertó en Lphn2 fusionado a un epítipo FLAG y mVenus para fines de detección. La expresión de la variante Lphn2-A278P en células HEK293T reveló niveles similares a los de Lphn2 de tipo silvestre. Los análisis morfológicos de las estructuras de F-actina detectaron que la variante de Lphn2 previno la inhibición de la formación de filopodios inducida por el Lphn2 y al mismo tiempo aumento la formación de blebs. Curiosamente, los ensayos de adhesión revelaron que la mutación A278P anulaba selectivamente la capacidad de Lphn2 para establecer la adhesión celular con células que expresan FLRT3, sin afectar los eventos de adhesión mediados por teneurina 4. Estos datos sugieren que existe una pérdida selectiva de las propiedades de adhesión de Lphn2 generadas por la mutación A278P y podría participar en la etiología del cáncer, una enfermedad caracterizada por una pérdida en la comunicación intercelular.

EVALUACIÓN IN SILICO DE BORODERIVADOS ANÁLOGOS DE MELATONINA SOBRE EL RECEPTOR HUMANO MT1

Rosario I. Olivares Domínguez, Mónica Barrón-González, Antonio Abad-García, Melvin Nadir Rosalez, Marvin A. Soriano Ursúa[†] Eunice D. Farfán-García

Sección de Estudios de Posgrado e Investigación Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis y Diaz Mirón, s/n. Col. Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, 11340, CDMX, México. E-mail: soum13mx@gmail.com

Los boroderivados han atraído la atención del mundo como nuevas moléculas con múltiples aplicaciones, entre ellas algunas que potencialmente son aplicables a patologías humanas de gran impacto global.⁽¹⁾ Por ejemplificar, dentro de las diversas enfermedades que cursan con un deterioro cognitivo y pérdida de memoria se encuentran las enfermedades de Alzheimer y Parkinson. Diversas sustancias han sido estudiadas para su tratamiento y se requieren de mayores herramientas farmacológicas; cabe destacar los recientes hallazgos que se han hecho acerca del papel de la melatonina en los procesos fisiológicos y fisiopatológicos relacionados a estas patologías, descubriendo que tiene un efecto importante de neuroprotección pero aún no bien elucidado.⁽²⁻⁴⁾

La presente investigación se basó en analizar la interacción mediante estudios in silico de melatonina, análogos, y boroderivados con relación estructural sobre la recientemente publicada estructura del receptor humano de melatonina MT1 (PDB code: 6ME2)⁽⁵⁾.

Los resultados obtenidos demuestran que la mayoría de los compuestos organoborados alcanzan el sitio de unión del ligando endógeno y los valores de afinidad estimados (pKi) son comúnmente más altos que para aquellos análogos estructurales sin el átomo de boro incluido. Dentro de los residuos involucrados para el reconocimiento se hallan aquellos conservados entre la familia A de los receptores acoplados a proteínas G.

CONCLUSIÓN

Los compuestos boroderivados análogos a melatonina tienen mayor afinidad sobre la estructura tridimensional del receptor MT1 humano. Esto apoya la intención de generar, por síntesis, nuevos boroderivados de estructura análoga a melatonina para ser potencialmente empleados en patologías donde este receptor ha sido involucrado.

REFERENCIAS

- (1) Soriano-Ursua, M. A., Das, B. C., & Trujillo-Ferrara, J. G. (2014). Boron-containing compounds: chemico-biological properties and expanding medicinal potential in prevention, diagnosis and therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 24(5), 485-500.
- (2) Wu, Y. H., Zhou, J. N., Van Heerikhuize, J., Jockers, R., & Swaab, D. F. (2007). Decreased MT1 melatonin receptor expression in the suprachiasmatic nucleus in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 28(8), 1239-1247.
- (3) Adi N., Mash, D. C., Ali, Y., Singer, C., Shehadeh, L., & Papapetropoulos, S. (2010). Melatonin MT1 and MT2 receptor expression in Parkinson's disease. *Medical science monitor*, 16(2), BR61-BR67. (3)Ruya Kuru, S. Y. (2018).
- (4) Farfán-García, E. D., Gómez-Marques, R., Barrón-González, M., Pérez-Capistran, T., Rosales-Hernández, M. C., Pinto-Almazán, R., & Soriano-Ursúa, M. A. (2019). Monoamines and their derivatives on GPCRs: potential therapy for Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer research*.
- (5) Stauch, B., Johansson, L. C., McCorvy, J. D., Patel, N., Han, G. W., Huang, X. P., ... & Brehm, W. (2019). Structural basis of ligand recognition at the human MT 1 melatonin receptor. *Nature*, 569(7755), 284.

Asociación del receptor a cannabinoides CB2 con el nucléolo de células de carcinoma mamario triple negativo.

Linley Pammely Prado-Celis, Rodrigo Zamora-Cárdenas, Ricardo Antonio Navarro-Polanco

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Colima,
Laboratorio de Fisiología Molecular de Canales Iónicos

Ave. 25 de Julio 965 Col. Villa San Sebastián, Colima, Col. 28045, (312) 3161129,
ext.47507, magdal@ucol.mx

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es el subtipo de cáncer más agresivo y de peor pronóstico, se caracteriza por la ausencia de receptores de estrógeno, progesterona y del factor de crecimiento epidérmico humano HER2. Debido a su rápida proliferación celular, respecto de otros subtipos de cáncer de mama, este genera mayor metástasis, reincidencia y mortalidad. Actualmente, la búsqueda de marcadores moleculares que puedan servir para diagnóstico temprano y posible tratamiento han revelado la participación de algunos receptores acoplados a proteínas G como el receptor CB2. En particular, existe amplia evidencia del uso de este receptor en la terapia antitumoral de varios tipos de cáncer. Se ha reportado que los cannabinoides, agonistas para este receptor, disminuyen la progresión tumoral, inhiben la propagación y migración de células cancerosas induciendo apoptosis en estadios avanzados. Sin embargo, aún se desconoce cómo es que estos receptores pueden participar en estos procesos, y más aún en estadios iniciales, de ahí el interés por investigar la presencia de este receptor CB2 en uno de los tipos de cáncer con mayor reincidencia a nivel mundial. En este trabajo se analizó la expresión y localización del receptor CB2 en una línea celular de CMTN derivada del primer estadio tumoral (HCC1395) y en una línea celular de epitelio mamario no tumoral (MCF-10A) mediante inmunocitoquímica y el análisis de imágenes por microscopia confocal. Los resultados mostraron que el receptor CB2 está sobreexpresado en la línea celular HCC1395, y se encuentra expresado preferencialmente en la interfase celular. Así mismo, se observó en ambas líneas celulares que existe una clara asociación entre los elementos de mayor fluorescencia, identificados como agregados moleculares del CB2, con los nucléolos.

Caracterización del receptor NMDA y del transportador ZnT-1 en el sistema vestibular del pollo.

Ana María Ramírez^{1,2}, Eduardo Monjaraz¹, Jorge Cebada² y Amira Flores¹. Instituto de Fisiología C.P. 72570 y Facultad de Medicina C.P. 72420, BUAP.

Email: amrayo@yahoo.com.mx

Existe evidencia sobre la presencia de los receptores NMDA durante el desarrollo embrionario en el sistema nervioso central, sin embargo, hay pocos estudios que determinen la presencia de dichos receptores a nivel periférico como lo es en el sistema vestibular. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue identificar la presencia del receptor NMDA en el sistema vestibular del pollo en una preparación *in vitro* en edades embrionarias (15, 18, 21) y postnatales (P10). Mediante la técnica de registro extracelular multiunitario se realizó una curva dosis-efecto-edad de NMDA (10^{-6} M a 10^{-3} M, n=60) en E15, E18 y E21. Observamos un aumento en la frecuencia de disparo de las aferentes vestibulares, mostrando una tendencia directamente proporcional con la edad. Aplicamos el antagonista no competitivo Ifenprodil, el cual provocó una disminución sobre la respuesta de las aferentes vestibulares a NMDA, lo que nos permitió deducir que en nuestra preparación está presente la subunidad GluN2B (n=15). Existe evidencia además, de que el zinc es considerado como un modulador alostérico negativo de los receptores NMDA y que muestra una afinidad en concentraciones nanomolares por la subunidad GluN2A, esta subunidad se caracteriza por un aumento en su expresión en edades postnatales, por lo que en nuestros objetivos también estuvo determinar el efecto del quelante TPEN (10^{-5} M y 10^{-4} M) sobre la respuesta inducida por NMDA de las aferentes vestibulares, para lo cual observamos que existe un aumento significativo a dicha respuesta en edades de E21 y P10 (n=15). Hay también estudios que indican una posible interacción entre el transportador ZnT-1 y la subunidad GluN2A, por lo que determinamos la presencia del transportador ZnT-1 y de las subunidades GluN1, GluN2B y GluN3A del receptor NMDA mediante la técnica de RT-PCR.

Nuestros resultados electrofisiológicos y moleculares indican que el receptor NMDA participa en la actividad eléctrica de las aferentes vestibulares y al parecer está constituido por las subunidades GluN1, GluN2B y GluN3A, a su vez, los resultados también nos permitieron identificar la presencia del transportador ZnT-1 mostrando una mayor expresión en edades cercanas a la eclosión (E21) y en edades postnatales (P10) con localización predominante en el ganglio vestibular.

La disminución de la expresión del receptor de prolactina bloquea la adipogénesis y modifica la funcionalidad de los adipocitos.

Xarubet Ruiz-Herrera, Natalia García-Orihuela, Juan Pablo Robles, Magdalena Zamora-Corona, Gonzalo Martínez de la Escalera, Carmen Clapp, Yazmín Macotela

Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Neurobiología, UNAM. Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, 76230, México. Tel: 442 2381029. macotelag@unam.mx

La obesidad es una enfermedad que se caracteriza por el almacenamiento excesivo de grasa corporal, provocando la pérdida de la función del tejido adiposo conduciendo al desarrollo de resistencia a la insulina. Niveles bajos de prolactina (PRL) en suero se asocian con mayor prevalencia de obesidad, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico. Recientemente, en nuestro laboratorio mostramos que la PRL promueve la sensibilidad a la insulina sistémica, a través de preservar la funcionalidad el tejido adiposo. Específicamente, en roedores la PRL previene la hipertrofia de los adipocitos inducida por una dieta alta en grasas e induce hiperplasia en dicho tejido, incrementa la expresión del factor proadipogénico *Pparg* y disminuye la expresión de la citocina proinflamatoria *Il1b*, además de aumentar los niveles de adiponectina en suero (adipocina que favorece la sensibilidad a la insulina). Mientras que, en humanos, los niveles de PRL circulante correlacionan positivamente con la expresión de marcadores de funcionalidad del tejido adiposo, como *AdipoQ*, *Glut4* y *Pparg*. En este trabajo, el objetivo es evaluar si la PRL ejerce un efecto directo sobre los preadipocitos y adipocitos, regulando su diferenciación y función. Para ello, disminuimos la expresión del receptor de PRL (Prlr) utilizando RNA de horquilla corta (short hairpin-shRNA) en vectores lentivirales, en cultivos primarios de preadipocitos y adipocitos viscerales y subcutáneos, para evaluar la capacidad de diferenciación y la expresión de marcadores de funcionalidad, respectivamente; además, indujimos resistencia a la insulina en adipocitos maduros y evaluamos el efecto de la PRL. El shRNA contra el Prlr (shRNA-Prlr) disminuyó en un 80% la expresión del Prlr en preadipocitos y adipocitos comparado con la secuencia control (shRNA-Ctrl). La disminución de la expresión del Prlr bloqueó la diferenciación de preadipocitos viscerales y subcutáneos, disminuyendo la acumulación de gotas lipídicas y reduciendo la expresión de marcadores de diferenciación: *Pref1*, *Zfp423*, *Cebpa* y *Pparg*. Mientras que la disminución de la expresión del Prlr en adipocitos maduros viscerales y subcutáneos redujo la expresión de marcadores de funcionalidad: *Adipoq*, *Lep* y *Glut4*. Por último, el tratamiento con PRL previno la resistencia a la insulina inducida por TNF α en adipocitos subcutáneos, ya que rescató la fosforilación de AKT inhibida por el TNF α . Estos resultados muestran que la PRL a través de su receptor actúa directamente sobre las células adiposas, en los preadipocitos regulando su diferenciación y en los adipocitos modificando su función, y apoyan la hipótesis de que los niveles reducidos de PRL durante la obesidad contribuyen a la disfunción del tejido adiposo. Trabajo auspiciado por CONACYT (261168 y 284771).

Comparación del efecto antiproliferativo de la oleamida en la línea celular de glioblastoma de rata RG2 y astrocitos primarios

Laboratorio de Medicina Traslacional, Instituto Nacional de Cancerología, SSA, CDMX, 14080, México

Ana Laura Torres Román, Biol. Víctor Manuel García Hernández, Dra. Erika Betzabé Ruiz García, Dr. Abelardo Meneses García, Dr. Abel Santamaría Del Ángel, Dra. Alette Ortega Gómez^a

^a Alette Ortega-Gómez, Ph.D. Avenida San Fernando 22, Belisario Domínguez Sección XVI, CDMX 14080, México. Tel.: (+5255) 5628-0400 (x 64506); E-mail: ortega.alette@gmail.com

Introducción: El glioblastoma multiforme se considera el tumor más agresivo del sistema nervioso central sin embargo su tratamiento no es satisfactorio debido a la baja supervivencia de los pacientes por lo que es necesario el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. El sistema endocannabinoide se ha asociado a eventos antiproliferativos en varios tipos de tumores a través de la activación de los receptores cannabinoideos CB1 y CB2 presentes en las células tumorales lo que induce la activación de cascadas de señalización que culminan en muerte celular. La oleamida (ODA) es un agonista endocannabinoide del receptor CB1 que se ha asociado con la inhibición de uniones Gap en células tumorales, no obstante, su efecto en eventos antiproliferativos relacionados a la inducción de muerte celular no ha sido totalmente explorado. **Objetivo:** En este estudio evaluamos el efecto antiproliferativo de ODA en la línea celular de glioblastoma de rata RG2 y lo comparamos con cultivos primarios de astrocitos provenientes de ratas de 8 días post-natales. **Materiales y Métodos:** La línea celular RG2 y los cultivos primarios de astrocitos fueron tratados con ODA en diferentes concentraciones [25 μ M, 50 μ M, 100 μ M y 200 μ M] y tiempos de cultivo (12, 24 y 48 h). Para evaluar los efectos antiproliferativos de la ODA, se determinaron los cambios morfológicos utilizando microscopía de contraste de fase, la viabilidad celular mediante el ensayo MTT, mecanismos de muerte celular utilizando los marcadores de necrosis / apoptosis y la inhibición del ciclo celular por citometría de flujo. **Resultados:** En la línea tumoral RG2 se observó la pérdida de la apariencia poligonal inicial de las células adheridas y su material citoplasmático se orientó hacia la periferia del soma al ser estimuladas con ODA [100 μ M] por 24 y 48 h. Contrario a esto, los cultivos de primarios de astrocitos formaron cúmulos estimulados con ODA [100 μ M] 24h. ODA [100 μ M] disminuye la viabilidad al 60% vs. Control en RG2 y al 80% vs. Control en los cultivos de astrocitos, ambos efectos a la 24 h. El ensayo de citometría de flujo demostró un aumento en la muerte celular apoptótica después de 24 h de tratamiento con ODA [100 μ M] en las células RG2, además, demostró que se produjeron mecanismos de muerte celular inducidos por ODA en la fase G1 del ciclo celular. **Conclusión:** Este estudio sugiere que la ODA ejerce un efecto antiproliferativo selectivo en las células de glioblastoma RG2 en comparación con los astrocitos primarios normales. La oleamida podría usarse como tratamiento coadyuvante con atención estándar para el glioblastoma.

La sulpirida, antagonista del receptor D2 de dopamina, mejora el perfil metabólico y reduce la hipertrofia de los adipocitos en ratones obesos.

Dina Iathzil Vázquez-Carrillo, Elva Adán-Castro, Gabriela Ramírez-Hernández, Areli Báez-Meza, Gonzalo Martínez de la Escalera, Carmen Clapp, Yazmín Macotela.

Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Querétaro, México.

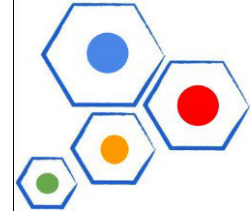
Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, México 76230.

Correo: iathzil.v@gmail.com celular: 4949490352

La obesidad es una enfermedad que afecta a millones de personas en el mundo, e incrementa el riesgo de padecer enfermedades como diabetes tipo 2, cáncer, Alzheimer y enfermedades cardiovasculares. La obesidad se asocia con bajos niveles de prolactina (PRL) en roedores y humanos; mientras que, el tratamiento con PRL en animales obesos, resulta en una mayor sensibilidad a la insulina y una sana expansión del tejido adiposo. El propósito de nuestro estudio es evaluar la capacidad de la sulpirida, fármaco antagonista del receptor D2 de dopamina (actualmente utilizado como adyuvante digestivo y antipsicótico) que eleva los niveles de PRL, para promover la homeostasis metabólica y la funcionalidad del tejido adiposo en condiciones de obesidad. Para ello, ratones adultos de la cepa C57BL/6 se dividieron en 4 grupos: dos recibieron una dieta control y dos una dieta alta en grasa. En cada dieta, un subgrupo fue tratado con sulpirida (30 mg /kg, 30 días) y otro con solución vehículo. Se evaluó el tamaño de los adipocitos del tejido adiposo visceral y subcutáneo mediante histología, además se realizaron ensayos de tolerancia a glucosa e insulina y los niveles circulantes de PRL e insulina se midieron mediante la técnica de ELISA. Como resultados se obtuvo que en animales obesos, la sulpirida incrementa los niveles de PRL, a la vez que reduce los niveles basales de glucosa (en ayuno y condición posprandial) y de insulina sérica, y promueve la tolerancia a la glucosa, mientras que no altera la ingesta de alimento ni el peso corporal de los animales. Además, encontramos que la sulpirida disminuye el área de los adipocitos en el tejido adiposo visceral de animales obesos. Nuestros resultados sugieren que la elevación de los niveles de PRL dados por la administración de sulpirida, mejora la funcionalidad del tejido adiposo y ejerce un efecto hipoglucemiante en condiciones de obesidad.

Agradecemos el apoyo técnico de Ericka de los Ríos, Xarubet Ruiz-Herrera, Fernando López-Barrera, Daniel Mondragón, Antonio Prado, Martín García-Servín y Alejandra Castilla. Proyecto apoyado por CONACYT: Fondo Sectorial de Investigación para la Educación 284771 y Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social 261168 to YM.

TRANSDUCCION DE SEÑALES



Control de la activación de miofibroblastos humanos aislados de cicatrices hipertróficas en hidrogeles de poliacrilamida.

Dalia Stephanie Aguirre Maldonado^{1*}, Alejandro Cabrera Wrooman², Mathieu Hautefeuille¹ y Genaro Vázquez Victorio¹. ¹Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior S/N, Ciudad Universitaria CP 04510, Ciudad de México, México. ²Laboratorio de Tejido Conjuntivo, Centro Nacional de Investigación y Atención de Quemados, Instituto Nacional de Rehabilitación, México. Email: stefiaguirre97@gmail.com

La cicatrización cutánea en las heridas crónicas, se limpia y se efectúa la reparación de la dermis y la epidermis, a lo que siguen la remodelación de la matriz extracelular y resolución de la herida. Es probable que la cicatrización anormal de la herida induzca la formación de cicatrices hipertróficas y queloides, lo que conduce a disfunción, deformidad y problemas mentales en el 30-90% de los pacientes. Los miofibroblastos juegan un papel clave para preservar la homeostasis en la piel y para orquestar la reparación fisiológica del tejido (fibrogénesis). Los fibroblastos y miofibroblastos, son capaces de remodelar la matriz extracelular al secretar metaloproteinasas de matriz e inhibidores tisulares de estas enzimas. Los miofibroblastos y su microambiente forman una comunicación que evoluciona durante la reparación del tejido, con acciones recíprocas que conducen a la diferenciación celular, proliferación, quiescencia, apoptosis o senescencia, y acciones sobre la biodisponibilidad de factores de crecimiento mediante unión, secuestro y activación. Además, el fenotipo miofibroblasto está regulado por tensiones mecánicas a las que están sometidos y, por lo tanto, por la señalización mecánica (mecanotransducción). A través de este estudio, se han caracterizado cultivos primarios de fibroblastos humanos obtenidos de biopsias de piel de cicatrices hipertróficas (Fb-HHS por su traducción al inglés "*Human Fibroblasts from Hypertrophic Scars*"), con el fin de identificar las proteínas presentes y/o ausentes en un fenotipo comparado de mio- y fibroblastos en respuesta a las tensiones mecánicas. Se realizó la preparación de geles de poliacrilamida de diferente rigidez (1, 5 y 20 kPa) sobre cubreobjetos de vidrio, seguido de una fotoadhesión de colágena tipo I para la siembra de los Fb-HHS. Se realizaron ensayos a condiciones similares fijando las células con p-formaldehído a 3, 24, 48 y 72 h (curso temporal). Posteriormente se realizaron ensayos de inmunofluorescencia, marcando α -SMA, fibronectina, YAP/TAZ, α -vinculina, F-actina y α -Smad2 con el fin de analizar su localización, presencia y ordenamiento en cada condición. Así mismo, se realizaron mediciones y análisis estadísticos de esparcimiento celular en función de la rigidez. En los sustratos de menor rigidez se observó una disminución en el número de células y esparcimiento de las mismas; una disminución en la presencia de filamentos de actina y en la presencia de α -vinculina en la periferia; un desordenamiento en la fibronectina. En estos efectos se observa una tendencia directamente proporcional en función de la rigidez (aumento en la proliferación y esparcimiento celular a mayor rigidez, etc).

La secreción de TGF- β en células de melanoma y su comunicación con células cebadas

Isabel Angélica Anaya Rubio¹, Dulce Guadalupe Ávila Rodríguez¹, Claudia González Espinosa², Alfredo Ibarra Sánchez², Marcela Sosa Garrocho¹, Genaro Vázquez Victorio³ y Marina Macías Silva¹.

¹Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, México. 04510. Tel. 55 56 22 5729.

mmaciass@ifc.unam.mx; ²Departamento de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, CP 14330, México; ³Laboratorio Nacional de Soluciones Biomiméticas para Diagnóstico y Terapia (LaNSBioDyT), CDMX, México.

Resumen

El factor de crecimiento transformante β (TGF- β) es una citocina pleiotrópica, que participa en la regulación de diferentes procesos celulares, así como en el desarrollo y progresión de diferentes patologías, como es el cáncer. En donde, puede actuar como un agente pro-tumorigénico, mediando procesos importantes para la progresión tumoral como es la regulación del sistema inmune. Por ejemplo, promoviendo la quimiotaxis de células del sistema inmune hacia el microambiente tumoral. Una de las células del Sistema Inmune que se encuentra relacionada con diferentes tipos de cáncer, son las Células Cebadas. Como es en el caso del cáncer de piel tipo melanoma. El melanoma, es un tipo de neoplasia que expresa y secreta una gran cantidad de factores y moléculas indispensables para la progresión tumoral. Uno de ellos es el TGF- β ; sin embargo, el mecanismo de secreción de esta citocina en células de melanoma no está del todo caracterizado. Recientemente se ha reportado en células de mesotelioma, una nueva forma de secreción de la citocina TGF- β , a través de Vesículas Extracelulares (VE); las VE son mediadores funcionales de la comunicación tumor-estroma y participan en procesos fundamentales para la progresión tumoral. Por lo cual, en el presente proyecto se plantea elucidar los mecanismos de secreción de TGF- β en células de melanoma B16, así como evaluar las acciones de la citocina exógena en células cebadas RBL-2H3. Hasta el momento, hemos encontrado que la citocina TGF- β es secretada por las células de melanoma B16 a través de VE y es reconocida por las células AD293-3TP Lux, al activarse su vía de señalización. Además, encontramos que el TGF- β exógeno logró generar una respuesta en células cebadas RBL-2H3, al activar también su vía de señalización. Estos datos obtenidos, nos permiten seguir estudiando los mecanismos por los cuáles la citocina pudiera regular a las células cebadas en el microambiente tumoral. Y nos lleva a proponer que el TGF- β en VE puede tener un papel muy importante en la comunicación con las células cebadas, favoreciendo la progresión tumoral. Consideramos que el conocimiento generado permitirá entender parte del comportamiento y el desarrollo de este tipo de neoplasias.

Este trabajo fue apoyado por CONACYT, ANR and PAPIIT/DGAPA.

Estudios de la adhesión celular en sustratos con propiedades elásticas y viscoelásticas

Alejandra Jiménez Escobar⁽¹⁾, Sagrario Monserrat Avín Hernández ⁽²⁾, Aarón Cruz Ramírez, Mathieu Hautefeuille y Genaro Vázquez Victorio. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior S/N, Ciudad Universitaria CP 04510, Ciudad de México, México. Email: (1) ale.jimenez97@ciencias.unam.mx; (2) sagrario_avin09@ciencias.unam.mx

Las células son capaces de percibir las propiedades mecánicas del microambiente y transducirlas intracelularmente a señales bioquímicas. Las adhesiones focales son los complejos proteicos que funcionan como sensores de la mecánica del entorno, generan un impacto en el reacomodo del citoesqueleto y a su vez en la regulación de distintas vías de señalización mecanosensitivas, como aquellas de los coactivadores transcripcionales YAP/TAZ y MRTF.

Se ha encontrado que las células responden de manera dependiente a la rigidez del sustrato elástico; sin embargo, se sabe que los tejidos son principalmente viscoelásticos al presentar una capacidad de deformación dependiente del tiempo. Recientemente, se ha observado que esta propiedad del sustrato puede modificar la respuesta de las células cultivadas en sustratos con la misma rigidez. Debido a esto, el presente proyecto realiza un estudio comparativo de la adhesión celular a sustratos elásticos y viscoelásticos mediante la elaboración de hidrogeles de poliacrilamida y estructuras a base de resina IP-S, con elasticidad y viscoelasticidad variable, respectivamente. Sobre estos se siembran fibroblastos embrionarios de ratón 3T3-L1. Se realizan ensayos de inmunofluorescencia y Western Blot para la detección de proteínas de adhesiones focales (vinculina, talina, paxilina), fibras de estrés de actina, así como de los coactivadores mecanosensibles MRTF y YAP/TAZ.

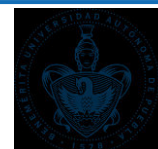
De manera preliminar, se ha encontrado que las células cultivadas en sustratos rígidos (20 kPa) el área de esparcimiento celular aumenta, presentan fibras de estrés de actina y una mayor expresión de las proteínas de adhesiones focales en comparación con los sustratos suaves (0.5 kPa). Se espera que en sustratos de diferente elasticidad y viscoelasticidad, al haber diferentes estímulos mecánicos, exista una modulación de los complejos proteicos de adhesiones focales así como diferente regulación de los coactivadores mecanosensibles YAP/TAZ y MRTF.

Incorporación de proteínas de matriz extracelular de hígados descelularizados a hidrogeles de rigidez variable.

Viviana Barrón Pérez¹, Marisol Ayala Reyes¹, Lorena Omega Martínez Hernández^{1,2}, Miguel Angel Peña Rico², Mathieu Hautefeuille¹ y Genaro Vázquez Victorio¹. ¹Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Interior S/N, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, CDMX. ²Universidad del Papaloapan (UNPA). Tuxtepec, Oaxaca. México.

Email: viviana.bar.23@gmail.com; mar.ayala1863@gmail.com; lorenaomega94@gmail.com

La matriz extracelular (MEC) es un componente acelular presente en los tejidos y órganos, formando una red tridimensional de proteínas y azúcares sulfatados que proporciona un andamio físico para las células que funciona como un soporte estructural, y que además desencadena señales que promueven la diferenciación, migración, proliferación y adhesión celular. Investigaciones han demostrado que en los cultivos celulares *in vitro*, geles de proteínas de MEC de órganos descelularizados, generan un microambiente biomimético que ayuda al mantenimiento del fenotipo de las células. Particularmente en cultivos primarios de hepatocitos, la permanencia del fenotipo celular es importante para la realización de ensayos preclínicos para pruebas de hepatotoxicidad ante nuevos fármacos y para aplicaciones en la ingeniería de tejidos. Por ello, el objetivo de este estudio es mantener el fenotipo y promover la proliferación de cultivos primarios de hepatocitos, a partir del enriquecimiento de proteínas de MEC descelularizadas de hígados normales y en regeneración, y evaluar sus efectos en sustratos con rigidez controlada. Para ello, se obtuvieron MEC de hígados descelularizados de rata jóvenes, posteriormente se liofilizaron las MEC descelularizadas y se obtuvieron las proteínas de MEC mediante la hidrólisis enzimática a diferentes tiempos con dos diferentes enzimas: pepsina y colagenasa. Las proteínas se caracterizaron mediante la electroforesis SDS-PAGE, tinción de nitrato de plata e inmunoblot. Para controlar las propiedades mecánicas de los cultivos se elaboraron hidrogeles de poliacrilamida de distinta rigidez funcionalizados las fracciones enriquecidas de proteínas derivadas de MEC descelularizadas. Interesantemente, se observó un mayor enriquecimiento de colágena tipo I en la fracción correspondiente a 4 h de hidrólisis enzimática por ambas enzimas. Del mismo modo se está caracterizando el enriquecimiento de las proteínas colágena tipo III y IV, que son las proteínas de MEC más abundantes en el hígado. Finalmente, se está evaluando la influencia de las proteínas derivadas de las MEC descelularizadas y los hidrogeles de poliacrilamida en la presencia de los marcadores de fenotipo de los hepatocitos como HNF4, arginasa, glutamina sintetasa y citocromos.



Interacciones proteicas del complejo NuRD, transducción de señales y control del ciclo celular en Leucemia Mieloide Aguda

Lilia Karina Cabrera Cosme^{1,2*}, Ken Ian Mills¹, Adone Mohd-Sarip¹, Maura Cárdenas García²

¹ Centre for Cancer Research and Cell Biology, #97 Lisburn Road BT9 7AE, Belfast, United Kingdom ² Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 13 Sur #2702 CP. 72410, Puebla, México

*Autor responsable, e-mail: lcabreracosme01@qub.ac.uk, tel.: +4407949574522

Resumen

La leucemia mieloide aguda (AML) es un tipo de cáncer hematológico que resulta de la desregulación de los procesos de diferenciación y proliferación en células mieloide del linaje hematopoyético (Grove & Vassiliou, 2014). El esquema actual de tratamiento para AML consiste en administración de fármacos que causan daño al DNA y trasplante de células troncales hematopoyéticas. Lamentablemente, este padecimiento afecta mayoritariamente a pacientes de la tercera edad, por lo cual, la probabilidad de relapso es muy alta (cerca del 50%). Estudios de última generación han demostrado que numerosos genes mutados en AML corresponden a elementos epigenéticos, de entre los cuales destaca el complejo de deacetilasas y remodelador del nucleosoma (NuRD) (Alqarni et al, 2014). Sus subunidades principales comprenden: CHD4, HDAC1/2, MBD2/3 y MTA1/2, aunque se ha demostrado que puede interactuar con proteínas que tienen un papel esencial en la transducción de señales que regulan el ciclo celular en cáncer: SMAD4 (regulación de la vía de TGF β), ZBTB2 (vía de BMP/Smad) y ZFX3 (vía de TGF β y de NF κ B) (Zhao et al, 2018; Sun et al, 2014; Heining et al, 2011). Debido a la importancia de la regulación epigenética en AML, el tratamiento con fármacos que inhiban la actividad de sus componentes enzimáticos podría promover el control sobre la expresión genética, lo que podría ofrecer una alternativa terapéutica para los pacientes que se ven mayormente afectados por este tipo de cáncer (Bewersdorf et al, 2019; O'Shaughnessy & Hendrich, 2013). Durante el presente trabajo, se realizó análisis de secuenciación de RNA (RNA-seq) para conocer los niveles de expresión de subunidades de NuRD, así como que proteínas que interactúan con el mismo. Un análisis posterior en la plataforma STRING resultó en la obtención de datos acerca de las interacciones entre vías de señalización que regulan el ciclo celular. Asimismo, los tratamientos farmacológicos con Mocetinostat y Vorinostat (inhibidores de HDACs) demostraron ejercer efectos diferenciales sobre la expresión proteica de los componentes esenciales del complejo NuRD, junto con las proteínas EZH2, SMAD4, ZBTB2, ZHFX3. Por último, empleando la técnica de Citometría de flujo, se observó una clara modificación en la progresión a través de las diferentes del ciclo celular células bajo el tratamiento farmacológico. En conclusión, el presente trabajo ha demostrado que los inhibidores de HDACs, Mocetinostat y Vorinostat, alteran la expresión de NuRD y las proteínas que intervienen en la regulación del ciclo celular, induciendo principalmente un arresto en distintas fases, de acuerdo a la línea celular y el tiempo de exposición al fármaco. Esto ha sentado las bases para buscar alternativas terapéuticas epigenéticas en AML.

Efecto de la rigidez del sustrato y el factor TGF- β en la TEM y la senescencia en hepatocitos primarios de rata

Beatriz Díaz-Bello, Nathalia Serna-Márquez, Marina Macías-Silva, Genaro Vázquez-Victorio*, Mathieu Hautefeuille*

Facultad de Ciencias, UNAM, Circuito Exterior s/n, Edificio de Biomédicas, planta baja, Laboratorio Nacional de Soluciones Biomiméticas para Diagnóstico y Terapia, LaNsBioDyT, Colonia, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México. Tel.: 56224880 ext. 84074 genvazquez@ciencias.unam.mx, mathieu_h@ciencias.unam.mx

Los hepatocitos primarios son células del tipo epitelial que al ser sembradas sobre sustratos rígidos (cajas Petri de poliestireno o cubreobjetos de vidrio) presentan un cambio de fenotipo del tipo transición epitelio-mesénquima (TEM), que ocurre típicamente a partir del tercer día de cultivo. Esta transición reportada en sustratos rígidos está acompañada de un aumento en la expresión de actina cortical, lo cual se ha relacionado con procesos como la fibrogénesis; también, ocurre un aumento del área celular y la disminución de marcadores de fenotipo epitelial como la proteína E-cadherina. Las cajas de cultivo y el vidrio presentan una rigidez mucho mayor (GPa) con respecto a los valores fisiopatológicos reportados (< 5 kPa). Además, mientras que en experimentos *in vitro* las células responden a TGF- β provocando su transición a mesénquima, *in vivo* no presentan el mismo efecto. Por lo tanto, se decidió estudiar la influencia de este factor en hepatocitos primarios de rata, sembrados en sustratos de menor rigidez y evaluar si existe el mismo efecto de transición epitelio-mesénquima, además de valorar si se presenta en los hepatocitos el proceso de senescencia celular. Para esto se utilizaron hidrogeles de poli(acrilamida) con una rigidez de 1 y 20 kPa, conjugados con matriz extracelular en su superficie (colágena-I), se mantuvieron durante 6 días y se determinó la expresión de actina, E-cadherina, morfología y esparcimiento celular.

Uso de la línea MCF-7 como biosensor para detectar cambios en la señalización de IR/Akt/p70S6K por exposición a sueros humanos eutróficos vs obesogénicos

Laura C. Flores García, José Luis Ventura Gallegos, Mayte G. Cervantes Badillo y Alejandro Zentella Dehesa

Unidad Periférica del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM, Unidad de Bioquímica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
Universidad Nacional Autónoma de México

Vasco de Quiroga No. 15 Col. Belisario Domínguez Sección XVI, Ciudad de México C.P. 14080, 54870900 ext. 2606
azentell@iibiomedicas.unam.mx

Actualmente el cáncer de mama representa un problema de salud pública a nivel mundial, con una incidencia del 23 % y ser la primer causa de mortalidad en mujeres por enfermedad neoplásica (CNEGSR, 2017). Si bien no existe una causa directa para el desarrollo de cáncer de mama, la obesidad se asocia con un aumento en la tasa de incidencia en 30 a 50 % en mujeres con obesidad (Aguilar *et al*, 2012); aunque esta asociación se conoce desde hace más de 20 años, los mecanismos que promueven la aparición de tumoraciones malignas en el epitelio mamario de mujeres con obesidad siguen sin ser comprendidos perfectamente, debido a la gran cantidad de moléculas que son alteradas en el proceso obesogénico, las cuales presentan un efecto sobre la regulación de la vía de PI3K/Akt. Por tal motivo, este estudio presenta la premisa que las diferencias en la composición sérica de mujeres eutróficas promueven un perfil de activación diferencial en la vía PI3K/Akt en células de cáncer de mama en comparación con el suero de mujeres con obesidad. Los resultados obtenidos muestran un incremento en la proliferación celular, activación de la vía de Akt en tiempo más tempranos, expresión diferencial de las isoformas de Akt, incremento de la captación de glucosa y aumento de la migración celular en células expuestas a sueros de mujeres con obesidad en comparación del suero de mujeres eutróficas; además de la aparición de una banda de 48 kDa identificada con el anticuerpo contra pAkt-1, la cual es eliminada por la inhibición del proteosoma y por la estimulación de suero eutrófico que presenta eliminación de la fracción liposomal y exosomal en células de cáncer de mama. Con lo anterior podemos concluir que la activación de la vía de señalización de IR / Akt / p70S6k es modificada por la composición sérica presente en el suero de las mujeres eutróficas frente al suero de las mujeres con obesidad, lo que podría estar asociado con el aumento en la incidencia de cáncer de mama en la población de mujeres con obesidad.

Regulación de la estabilidad de las proteínas Ski y SnoN por el antibiótico puromicina

Karla Ameyali Gómez Ceja, Marcela Sosa Garrocho y Marina Macías Silva

Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de

México, México, Ciudad de México. 04510, tel. 55 56-22-5729. E-mail: mmaciass@ifc.unam.mx

El factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), es una citocina multifuncional involucrada en diversos procesos celulares, tales como: diferenciación, proliferación, migración y apoptosis. El TGF- β realiza sus funciones mediante su unión a receptores tipo I y II con actividad de cinasa de residuos de serina y treonina, los cuales promueven la señalización río abajo, a través de los factores transcripcionales Smad.

Ski y SnoN son proteínas que pertenecen a la familia Ski, son consideradas proto-oncoproteínas al relacionarse su sobreexpresión con la capacidad de inducir transformación en las células. Se encuentran localizadas principalmente en el núcleo y son correpresores claves de las Smad. Cambios en sus niveles de expresión pueden conducir a diversas patologías como fibrosis y cáncer. La estabilidad proteica de Ski y SnoN es principalmente regulada por la señalización del TGF- β , ya que esta citocina causa una disminución de los niveles proteicos de Ski y SnoN al promover su poliubiquitinación y degradación, para así poder llevar a cabo la transcripción de sus genes blanco.

Se ha observado que además de la señalización vía el TGF- β /Smad, los antibióticos puromicina y anisomicina, son capaces de regular negativamente a las proteínas Ski y SnoN promoviendo su degradación vía el proteosoma.

Puromicina es un análogo estructural del aminoacil-tRNA que inhibe la síntesis de proteínas tanto en células procariotas y eucariotas, y activa diferentes vías de MAPK (ERKs, JNKs, p38). A este respecto, de manera interesante, se ha observado que la forma acetilada de puromicina tienen la capacidad de disminuir los niveles de las proteínas Ski y SnoN, sin ejercer un efecto ribotóxico. La regulación de la estabilidad de Ski y SnoN por puromicina depende del contexto celular, ya que solo se ha observado en ciertas líneas celulares.

Con base en lo anterior, en este proyecto se pretende conocer los mecanismos mediante los cuales la puromicina, logra regular de manera negativa a las proteínas Ski y SnoN, evaluando que proteínas se encuentran interaccionando en la promoción de su ubiquitinación.

Este trabajo es apoyado con recursos de PAPIIT/DGAPA, UNAM.

Modificaciones transcripcionales asociadas a la Artritis Reumatoide en etapas muy tempranas de la Artritis Inducida por Adyuvante Complete Freund.

Susana Aideé González-Chávez, César Pacheco-Tena,
Celia María Quiñonez-Flores, Perla María Muñoz-Morales, Gerardo
Pavel Espino-Solís.

Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma
de Chihuahua. Chihuahua, Chihuahua, México.

Responsable: Susana Aideé González-Chávez. Circuito Universitario
Campus II, Chihuahua, Chihuahua, México, CP 31125, Tel: (52) 614-
238-60-30 ext. 3586, email: sagonzalez@uach.mx

Introducción: La artritis inducida por adyuvantes (AIA) es un modelo ampliamente utilizado en el estudio de la artritis reumatoide (AR). Los mecanismos precisos activados por el adyuvante completo de Freund (ACF) no han sido del todo elucidados y el papel de las células tisulares en la activación del proceso patogénico no ha sido previamente explorado. **Objetivo:** Describir las modificaciones transcripcionales en las primeras etapas de la AIA en ratas para comprender mejor los procesos iniciales críticos que dan origen a la artritis. **Métodos:** Ratas Wistar fueron inyectadas con ACF, adyuvante incompleto de Freund (AIF) o solución salina (SS) en los cojinetes plantares traseros y se sacrificaron a las 24, 48 o 96 h para análisis genético e histológico. Los microarreglos de ADN revelaron los genes expresados diferencialmente por los componentes del ACF al comparar los cojinetes inyectados con ACF con aquellos inyectados con AIF y SS. El análisis histológico incluyó la tinción de H&E, inmunohistoquímica para la detección de proteínas claves en las vías de señalización desreguladas e inmunofluorescencia para colocalizar dichas proteínas en células específicas. **Resultados:** Los componentes del ACF desregularon el transcriptoma asociado a la AR en todos los tiempos de análisis. Los genes de las vías de señalización MAPK, Jak-STAT, HIF, PI3K-Akt, TLR, TNF y NF- κ B se encontraron desregulados incluso a las 24 h, cuando las células inmunes (CD4, CD8 y CD68) estaban prácticamente ausentes. Los marcadores clave Erk1/2, Jak-3, Jak-2, TLR-4 e IL-6 fueron inmunodetectados en células tisulares de los cojinetes plantares inyectados con el ACF. **Conclusión:** El ACF desregula los procesos vinculados a la AR en etapas muy tempranas del modelo AA donde las células tisulares juegan un papel fundamental al expresar mediadores clave del proceso patogénico. El AIF no es inactivo y juega un papel sinérgico con los componentes micobacterianos en las alteraciones genéticas.

Cambios transcripcionales e histológicos del proceso inflamatorio y de remodelación articular influenciados por el ejercicio físico en modelos animales de artritis.

Susana Aideé González-Chávez, César Pacheco-Tena, Celia María Quiñonez-Flores, Samara Acosta-Jiménez, Perla María Muñoz-Morales.

Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chihuahua, México.

Responsable: Susana Aideé González-Chávez. Circuito Universitario Campus II, Chihuahua, Chihuahua, México, CP 31125, Tel: (52) 614-238-60-30 ext. 3586, email: sagonzalez@uach.mx

Introducción: Los efectos que el ejercicio puede desencadenar a nivel articular en las artropatías inflamatorias no han sido del todo descritas y por lo tanto no han sido considerados en la administración de ejercicio en los pacientes. **Objetivo:** Evaluar el efecto del ejercicio a nivel transcripcional e histológico en tres modelos animales de artritis. **Métodos:** La inducción de artritis se realizó de acuerdo con los modelos de artritis inducida por proteoglicanos (AIPG) en ratones BALB/c, artritis espontánea en ratones DBA/1 y artritis inducida por adyuvantes (AIA) en ratas Wistar. Los animales fueron ejercitados en una banda sinfín durante 10 semanas. Las articulaciones tarsales se utilizaron para el análisis histológico y genético empleando microarreglos de ADN. Los genes expresados diferencialmente se obtuvieron al comparar los animales ejercitados con aquellos que no realizaron ejercicio. El análisis bioinformático en las plataformas DAVID, STRING y Cytoscape permitió la asociación de estos genes en procesos biológicos y vías de señalización. **Resultados:** En los ratones con AIPG (clínicamente leve), el ejercicio infra-reguló genes del proceso inflamatorio y sobre-reguló otros asociados con la remodelación del cartílago y la mineralización ósea. A nivel histológico, atenuó el infiltrado inflamatorio y la erosión del cartílago. En ratones con artritis espontánea (clínicamente moderada), el ejercicio aceleró la aparición y el nivel de artritis y a nivel histológico aumentó la proliferación anormal de cartílago y hueso. En la AIA, el ejercicio exacerbó los parámetros clínicos e histológicos de la artritis y sobre-reguló genes y vías de señalización del proceso patogénico de la artritis reumatoide, incluida la hipoxia, el estrés oxidativo y la angiogénesis. **Conclusión:** El ejercicio influyó en parámetros íntimamente relacionados con artropatías inflamatorias. Sus efectos diferían según el tipo de artritis. En la artritis leve, el ejercicio tuvo un efecto beneficioso a nivel articular, mientras que en la artritis moderada y severa agravó la inflamación y/o la remodelación de los tejidos, incluida la destrucción ósea. El efecto del ejercicio a nivel molecular requiere más estudios en modelos animales y humanos, para contribuir en el desarrollo de programas con mayor efectividad para los pacientes, un aspecto que hasta la fecha no se ha establecido.

Efecto de la IL-2 sobre la activación de células del sistema inmune y la proliferación tumoral en cultivos de células tumorales cervicales y células mononucleares

*Adriana Gutiérrez-Hoya***, Octavio Zerecero-Carreón, Arturo Valle-Mendiola, Benny Weiss-Steider, Isabel Soto-Cruz.

Laboratorio de Oncología Molecular, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, Batalla 5 de mayo s/n Col. Ejército de Oriente, CP 09230, Ciudad de México, México.

**Investigador CONACYT. Tel: 56230796, adrianagh85@hotmail.com

Introducción: En México, el cáncer cervical es la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres. Las etapas avanzadas están asociadas con mayor transformación celular, la cual afecta mecanismos para inducir sobrevivencia, proliferación, metástasis y facilitan la evasión del sistema inmune así como la resistencia quimioterapéutica. Por tal razón, es importante analizar diferentes moléculas inmunomoduladoras para aumentar la susceptibilidad de las células tumorales a la inducción de muerte. Bajo este contexto, analizamos la IL-2, primordial en la activación del sistema inmune. Previamente, mostramos como distintas líneas celulares de cáncer de cérvix (VPH⁺ y VPH⁻), son sensibles al tratamiento con 100UI/mL de IL-2, disminuyendo su proliferación, debido a la detención transitoria del ciclo celular en G1. Sin embargo, es necesario conocer el efecto de dicha citocina en modelos de co-cultivo de células tumorales y células del sistema inmune, con participación de otras moléculas. **Metodología:** 1) Obtención de células mononucleares (CMN) por gradiente de densidad usando ficoll-paqueTM; 2) Líneas celulares cervicales tumorales (VPH18⁺, VPH16⁺, VPH⁻); 3) Co-cultivos de células tumorales; 4) Determinación de ciclo celular y proliferación con Ioduro de propidio y Ki-67, así como la expresión de CD25, CD44 y CD24 por citometría de flujo. **Resultados:** El tratamiento de CMN con 100UI de IL-2/mL, incrementa la expresión de CD25 hasta en un 8%. Sin embargo, el co-cultivo de CMN con células tumorales (VPH⁺ o VPH⁻) disminuye la expresión de éste (3-4%), la cual puede ser recuperada a estados basales (6%) con la adición de 100UI de IL-2/mL. Por otra parte, la adición de 100UI de IL-2/mL en el co-cultivo de CMN y células tumorales VPH⁻ induce un mayor porcentaje de células T en fase S y G2, que el co-cultivo con células tumorales VPH⁺. Además, el co-cultivo de CMN y células tumorales tratadas con IL-2, disminuye la expresión de Ki67⁺ e incrementan el porcentaje de células en fase sub G1. También, encontramos que el co-cultivo induce cambios morfológicos en las células tumorales, así como un incremento en la expresión de CD44 y una disminución en la expresión de CD24. **Conclusión:** Las células tumorales cervicales secretan componentes que alteran la activación y proliferación de células del sistema inmune. Sin embargo, el tratamiento de células tumorales y CMN con 100UI de IL-2/mL, puede contrarrestar estos efectos e inducir una menor proliferación en células tumorales, así como cambios morfológicos y en la expresión de moléculas asociados a fenotipos troncales.

El estrés primario por aluminio induce tolerancia en células de *Capsicum chinense* a la infección por *Pythium ultimum*

Normig Zoghbi-Rodríguez ¹, Ángela Kú-González ¹, Emanuel Bojórquez-Quintal ², Esteban Sanchez-Rodríguez ², J. Armando Muñoz-Sánchez ¹, Tomas González Estrada¹ y S.M. Teresa Hernández-Sotomayor ¹

¹ Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas. Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) Mérida, Yucatán, México. ² Laboratorio de Análisis y Diagnóstico del Patrimonio (LADIPA). El Colegio de Michoacán. La Piedad, Michoacán, México. e-mail: ths@cicy.mx.

El chile pertenece al género *Capsicum* y constituye un cultivo importante en México con destino hacia el mercado nacional e internacional; sin embargo, su producción está amenazada por diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos que la afectan. Estudios previos han reportado que la exposición de una planta a un estrés primario conduce a la tolerancia a otro estrés posterior. El aluminio puede ser tóxico para algunas plantas y microorganismos patógenos; por ello, en este trabajo se analizó el efecto del pre-tratamiento con aluminio de un cultivo de células en suspensión de *C. chinense* Jacq. que posteriormente interacciona con *Pythium ultimum*, un oomiceto necrotrófico, responsable de la disminución en la producción agrícola en una amplia gama de cultivos incluyendo los de chile. El cultivo de suspensiones celulares se trató previamente con diferentes concentraciones de $AlCl_3$ a pH 4,3 y luego fue retado con una suspensión de micelio de *P. ultimum*. Se evaluaron tanto la integridad celular y la ubicación del aluminio utilizando técnicas de mapeo por microscopía confocal y electrónica; así como la señalización celular de la interacción planta-patógeno a través de los niveles de expresión de genes de las fosfolipasas C y D. Se evidenció que el pretratamiento con aluminio 500 μ M induce tolerancia a la infección, la acumulación de aluminio en el núcleo y la membrana celular, y la modificación de la expresión de genes relacionados con la vía de señalización fosfolípida. Nuestros resultados sugieren que el estrés previo causado por el aluminio, activa la respuesta de defensa, confiriendo tolerancia a la infección por el oomiceto. Este estudio permite dilucidar aspectos de la tolerancia adquirida por estrés múltiple y proporciona datos para futuras estrategias de mejoramiento genético de los cultivares de chile.

Esta investigación ha sido financiada por CONACYT a través de IFC 035/2015 a SMTHS, la beca # 622192 para NZR y la cátedra-CONACYT a EBQ.

La prolactina es un factor neuroprotector de las neuronas hipocampales en condiciones de estrés oxidativo

Fernando Macías¹, Miriam Ulloa¹, Raúl Josué Rivera¹, Rodrigo Manuel Aroña¹, Carmen Clapp¹, Gonzalo Martínez de la Escalera¹, Edith Arnold^{1,2}.

¹Departamento de Neurobiología Celular y Molecular. ²Catedrática CONACYT. Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus UNAM Juriquilla, Querétaro, Querétaro. fmaciaspr@gmail.com

El estrés oxidativo en el cerebro se encuentra relacionado con la aparición y progresión de enfermedades neurodegenerativas. La prolactina (PRL) en el cerebro puede actuar como un agente neuroprotector; se ha reportado que protege a las células del hipocampo contra un daño por excitotoxicidad. También protege a los astrocitos corticales y a las células del epitelio pigmentario retiniano sometidos a un daño oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno (H₂O₂). En este trabajo investigamos si la PRL protege a las neuronas hipocampales bajo estrés oxidativo inducido por H₂O₂ o por cloruro de cobalto (CoCl₂). Cultivos primarios de neuronas del hipocampo obtenidas de embriones de ratón de 16 días de gestación fueron caracterizados por inmunocitoquímica para la expresión del marcador de neuronas: β -III-tubulina. La pureza y madurez del cultivo se analizó mediante la expresión por qRT-PCR de la GFAP (como marcador de astrocitos), sinaptofisina, vGlut1 y PSD95 (como marcadores de sinapsis) y del receptor de la PRL, en los días *in vitro* (DIV) 4, 10 y 12. La mayor expresión de los marcadores medidos fue observada al DIV10. Al DIV10 los cultivos fueron incubados con H₂O₂ (de 25 a 225 μ M) o CoCl₂ (de 100 a 600 μ M), para determinar la LD₅₀. El tratamiento con H₂O₂ indujo un incremento en la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la fragmentación del ADN revelada por la oxidación del 2'-7'-Diclorodihidrofluorescein diacetato y la tinción de TUNEL, respectivamente. Los cultivos fueron incubados o no con PRL (1 nM a 100 nM) al DIV9, 24 horas antes del insulto con H₂O₂ o CoCl₂. La PRL previno el daño inducido por el H₂O₂ de manera dependiente de la concentración, teniendo su efecto máximo a la concentración de 100 nM; pero no así del daño inducido por el CoCl₂, según lo determinado por el ensayo de MTT. De la misma forma, la PRL redujo la producción de ROS inducida por el H₂O₂ pero no por el CoCl₂. Para elucidar el posible mecanismo se analizó en neuronas tratadas con 100 nM de PRL y/o 100 μ M de H₂O₂ la expresión por RT qPCR de los factores apoptóticos: BAX, NOXA, PUMA, BAD, BIM, BAK, Caspasa 3 y BCL2, de los factores reguladores de la autofagia: LC3, BECN1, ATG12 y LAMP2 y de las enzimas antioxidantes: SOD2, GPX1, PRDX1 y PRDX6. La PRL previno el aumento en la expresión de los factores pro-apoptóticos BAX, PUMA, BAD y de los moduladores de la autofagia LC3, BECN1 y ATG12 causada por el H₂O₂. Estos resultados sugieren que la PRL es un factor protector de las neuronas hipocampales contra el estrés oxidativo, mediante la inhibición de la apoptosis y la regulación de la autofagia.

Agradecimientos: Agradecemos a Fernando López, Xarubet Herrera y Alejandra Castilla por su asistencia técnica. CONACYT donativo CB-254728.

El Eje Rho/Rock/F-Actina Promueve la Estabilidad del Co-regulador Transcripcional SnoN.

David Martínez Pastor, Diana Grisel Ríos López, Dra. Marina Macías Silva.
Instituto de Fisiología Celular, Lab. 225 Norte, UNAM.
Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 México D. F.
Tel. +52 55 56-22-5729; e-mail: mmacias@ifc.unam.mx

Resumen.

La proteína SnoN es un co-cofactor transcripcional de la vía de señalización del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), que interacciona con los factores transcripcionales: Smad, para regular esta vía de señalización. SnoN participa en diversos procesos fisiológicos y las alteraciones en su expresión se relacionan con algunas patologías. El TGF- β regula a SnoN transcripcionalmente y a nivel de proteína. El TGF- β induce la degradación de la proteína SnoN mediado por las proteínas Smad2/3 activas, quienes reclutan a las ligasas de ubiquitina E3: Smurf2, APC o Arkadia, mismas que añaden a SnoN moléculas de ubiquitina etiquetándola para su degradación vía sistema ubiquitina-proteosoma (UPS). Interesantemente, SnoN posee una vida media relativamente corta y por lo tanto su recambio celular es muy dinámico, en este sentido la formación basal del complejo de destrucción conformado por Smad2/3/ligasa E3/SnoN presenta relevancia para la degradación de SnoN. Actualmente se ha observado que un mecanismo que regula la estabilidad de SnoN independiente del TGF- β es la dinámica del citoesqueleto de actina. Sin embargo, el mecanismo molecular de como la polimerización de actina (F-actina) aumenta la estabilidad de SnoN no se ha descrito todavía; una posibilidad es que un aumento en la formación de F-actina podría promover la disociación del complejo de destrucción Smad2/3/ligasa E3/SnoN y de esta manera la inhibición de la poliubiquitincación y por consiguiente la degradación de SnoN. Resultados preliminares muestran que la modificación de los patrones de polimerización del citoesqueleto de actina tiene un efecto sobre el estado de ubiquitinación de las proteínas totales y de la proteína SnoN. Asimismo, se observa que al inhibir la dinámica del citoesqueleto de actina presenta una disminución en la fosforilación de Smad2; además que promueve la asociación de SnoN con actina.

Este trabajo está apoyado con recursos de PAPIIT/DGAPA, UNAM.

Efecto del I₂ sobre la viabilidad y capacidad invasiva de células tumorales troncales.

Irasema Mendieta, Winniberg Álvarez-Leon, Evangelina Delgado, Brenda Anguiano, Carmen Aceves. Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Neurobiología, UNAM-Juriquilla. Boulevard Juriquilla 3001, Juriquilla, Querétaro. C.P. 76230. caracev@unam.mx. Tel. 442-238-1067

El neuroblastoma (NB) es el tumor neural sólido extracraneal más frecuente en la población infantil menor de 5 años. Se caracteriza por un amplio espectro de comportamientos clínicos, que pueden ir desde la remisión espontánea de la enfermedad hasta la muerte. Su remisión está asociada a procesos de diferenciación celular e inhibición de los mecanismos de sobrevivencia. Estudios previos de nuestro grupo, mostraron que el suplemento de yodo molecular (I₂) inhibe la viabilidad, induce la apoptosis y en conjunto con el ácido retinoico promueve la diferenciación (aumento de neuritas y expresión marcadores de diferenciación neural); de células de neuroblastoma de baja invasividad. Por otro lado, diversos estudios señalan que en todos los cánceres existen células con la capacidad de formar clonas en dormancia, quimiorresistentes y de gran capacidad invasiva; a este tipo celular se le conoce como células tumorales troncales (CTT). En líneas celulares tumorales inmortalizadas las CTT pueden ser separadas de las parentales (PAR) mediante su cultivo en esferoides, ya que pueden sobrevivir en un medio de baja adherencia y pobre en factores de diferenciación, formando pequeñas colonias esféricas denominadas neuroesferas. Estas CTT exhiben una mayor capacidad tumorigénica en ratones inmunodeficientes. El objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto del suplemento oral de I₂ (0.025%) en el implante y progresión de xenotransplantes de células PAR y CTT de la línea SK-N-AS considerada como altamente invasiva en ratones inmunodeprimidos (Fox1 nu/nu). A las 8 semanas de edad, cada ratón se inoculó en ambos flancos con 5x10⁵ células PAR o CTT. 24 horas después se conformaron: el grupo control (CTRL) y grupo I₂ recibiendo los tratamientos en el agua de beber durante 5 semanas. Los resultados mostraron que independientemente de la presencia de I₂, las CTT desarrollan tumores visibles desde la semana 2, mientras que las células PAR retrasan su aparición hasta la semana 4. Durante la progresión tumoral el suplemento de I₂ retrasó el crecimiento tumoral de ambas células y previno la invasión intramuscular de los xenotransplantes de CTT observados en el grupo control. El suplemento con I₂ no tuvo ningún efecto deletéreo en la salud animal (peso corporal). El análisis molecular de los marcadores de troncalidad e invasión está en curso

Agradecemos la asistencia técnica de Laura Inés García. Trabajo auspiciado por PAPIIT-UNAM 203919 y 209717.

Efecto de IL-2 en la producción de ATP en células de cáncer de cérvix SiHa

Mayra Isabel Mendoza Zepeda, Arturo Valle Mendiola, María del Carmen Lagunas Cruz e Isabel Soto Cruz

Laboratorio de Oncología Molecular L9-PB UMIEZ, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, Batalla 5 de mayo s/n, Col. Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, CDMX. Tel: 56230796, email: sotocruz@unam.com

Introducción:

A nivel mundial, el cáncer cervicouterino ocupa el cuarto lugar estimado en muertes con cerca de 570,000 casos. En México, el cáncer de cuello uterino (CaCu) es la tercera causa de muerte por cáncer en la mujer. El CaCu, se asocia a la infección por el virus de papiloma humano (VPH). El VPH modifica a las células de manera que adquieren características transformadas como proliferación descontrolada, protección contra apoptosis y cambios en el metabolismo celular. En varios modelos tumorales se ha determinado que algunas citocinas activan ciertas vías relacionadas a los cambios presentes en las células cancerosas. En el caso de la Interleucina 2 (IL-2), nuestro grupo de trabajo ha demostrado la presencia de su receptor en las células de cáncer cervical, la activación de la vía JAK/STAT, además de una respuesta diferencial dependiente de la dosis.

En los últimos años se han relacionado diversas vías de señalización con la regulación del metabolismo energético, entre ellas la vía inducida por la IL-2, que regula directamente los componentes de las vías metabólicas incluso en ausencia de factores de crecimiento y, por lo tanto, produce alteraciones metabólicas. El cambio más evidente es el efecto Warburg donde la mayor producción de ATP se genera a partir de la glucólisis y en un menor porcentaje en la mitocondria, de manera que la producción de ATP y metabolitos derivados de la glucosa se ve acelerada.

Nuestro interés se centra en conocer si la IL-2 modifica de manera significativa la producción de ATP en la línea de cáncer de cérvix SiHa cuando se activa la vía JAK/STAT, la cual está relacionada a procesos de ciclo celular y metabolismo.

Material y métodos:

Se sembraron 15000 células de la línea de cáncer de cérvix SiHa en placas de 96 pozos y se estimularon con 10UI/ml y 100UI/ml de IL-2 durante 48h, 24h, 10h, 6h y 30 min. El ATP producido se analizó con el ATP Assay Kit de Merck Millipore y la luz emitida se midió en el luminómetro Fluoroskan Ascent de Thermo Scientific.

Resultados:

Se observó que con el tratamiento con 10UI/ml y 100UI/ml de IL-2 se eleva la producción de ATP, sin embargo la mayor producción se obtuvo con 100UI/ml con un pico a las 6h y 10h; con un máximo de 0.84µg/ml.

Conclusión:

La IL-2 induce una mayor producción de ATP con 100UI/ml de IL-2. Al parecer, este aumento de ATP coincide con la fase de síntesis de DNA en las células de cáncer de cérvix. Nuestros resultados sugieren que estas células tienen la habilidad para reprogramar el metabolismo energético para mantener el crecimiento y la división celular.

Efecto del estrés abiótico producido por el aluminio en la familia de la Fosfolipasa C en *C. arabica* L.

¹Muñoz-Sánchez J. A., ¹González-Mendoza V.M., ¹Sánchez-Sandoval M.E., ²Munnik T. y ¹S.M.T. Hernández-Sotomayor

¹Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Calle 43 x 32 y 34, Núm. 130 Col. Chuburna Hidalgo, C.P. 97205; Mérida Yucatán, México. ²Plant Cell Biology, University of Amsterdam, Swammerdam Institute for Life Sciences, Amsterdam, The Netherlands. email: ths@cicy.mx

Resumen

La adaptación exitosa a la presencia de factores bióticos o abióticos está determinada por la participación de mecanismos de transducción de señales. Nuestro grupo de trabajo desarrolló un modelo de cultivos de suspensiones celulares para estudiar la vía de los fosfoinosítidos, la cual es activada por el aluminio. Los fosfoinosítidos son sustratos de la enzima fosfolipasa C (PLC). En este trabajo estudiamos a los miembros de la familia de la PLC y, evaluamos los perfiles de transcripción en suspensiones celulares de *Coffea arabica* L. (*C. arabica*) en respuesta a la adición de 100 μ M AlCl₃. Los transcritos de la *CaPLC1-4* presentaron cambios en la abundancia después del tratamiento con AlCl₃. Los perfiles de expresión de *CaPLC1* y *CaPLC2* exhibieron un rápido y transitorio aumento. Por el contrario, *CaPLC3* y *CaPLC4* presentaron perfiles de expresión específicos, los cuales fueron regulados negativamente y positivamente respectivamente. Las proteínas CaPLC fueron expresadas de manera heteróloga en *E. coli* así como la PLC de *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*). Se midió la actividad enzimática *in vitro* en ausencia o presencia del AlCl₃, de las CaPLC2, CaPLC4, AtPLC2 y de un extracto crudo obtenido de células de *C. arabica*. El tratamiento con el aluminio ocasionó una inhibición de la CaPLC2 (30%) similar a la de la AtPLC2 y la del extracto crudo; mientras que, la actividad de la CaPLC4 presentó un aumento en respuesta a la presencia del AlCl₃.

Adicionalmente, observamos la localización celular de la región PH de la PLC δ 1 de humanos (YFP-PH_{PLC δ 1}) en células bajo tratamiento con AlCl₃. En las células sin tratamiento observamos una señal fluorescente acumulada hacia la región membranal; sin embargo, en las células bajo tratamiento con AlCl₃, no se observó el mismo patrón de señal. Nuestros resultados sugieren que la PLC pudiera tener una función relevante en la vía de transducción de señales que responde al estrés producido por el aluminio. Esta relevancia se refleja en una posible estrategia de adaptación compleja de las especies de *C. arabica* para superar ambientes adversos en presencia del aluminio.

Este trabajo fue financiado por el proyecto de CONACYT 219893 (SMTHS) y por la beca posdoctoral 166897 (VMGM).

La cafeína inhibe la migración e invasión de células de la línea tumoral mamaria invasiva MDA-MB-231

Mario Israel Oregel Cortez¹, Raúl Díaz Molina¹ and Octavio Galindo Hernández^{1*}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Apartado Postal 21100, Baja California, México. *Correspondencia: Octavio Galindo Hernández, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UABC, Dr. Humberto Torres Sanginés S/N, Centro Cívico, 21000 Mexicali, B.C.; Tel.: 686 557 16 22 ext: 122, E-mail: octavio.galindo@uabc.edu.mx.

Resumen

Evidencia acumulada ha reportado efectos anti-tumorales mediados por altas concentraciones de cafeína plasmática (1, 2) Sin embargo, aún no se ha estudiado si la cafeína presenta efectos anti-cancerígenos en células tumorales mamarias a baja concentración, específicamente en concentraciones fisiológicamente aplicables (<412 μ M). En este estudio, el modelo a utilizar fue la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231, una línea células fenotípicamente similar al cáncer de mama triple negativo. Las células fueron encubadas con diferentes concentraciones de cafeína (0, 250, 500, 1000 μ M). Los procesos de migración e invasión fueron analizados mediante el ensayo de cierre de herida y cámaras de boyden recubiertas con Matrigel. Los cambios moleculares a nivel de expresión y fosforilación proteica fueron analizados mediante Western blot. Nuestros resultados demuestran que la cafeína induce una disminución en la activación y fosforilación de las cinasas FAK y Src, proteínas que están involucradas en la modulación de metástasis en tumores mamarios. De manera interesante, la cafeína no modula la secreción de MMPs en el medio condicionado. Asimismo, los resultados muestran que la cafeína inhibe significativamente la migración e invasión tumoral a concentraciones fisiológicamente aplicables. Los datos antes mencionados confirman que la cafeína presenta la capacidad de regular procesos asociados a la progresión tumoral mamaria *in vitro*. En resumen, nuestros hallazgos demuestran que la cafeína inhibe los procesos de migración e invasión celular en la línea tumoral mamaria MDA-MB-231.

Referencias

1. John Kennedy Oliver, Roderick Paul, Buchanan Ryan, et al, Coffee, including caffeinated and decaffeinated coffee, and the risk of hepatocellular carcinoma: a systematic review and dose-response meta-analysis, *BMJ Open*. 2017 May 9;7(5):e013739.
2. Dong S, Kong J, Kong J, et al., Low Concentration of Caffeine Inhibits the Progression of the Hepatocellular Carcinoma via Akt Signaling Pathway, *Anticancer Agents Med Chem*, 15(4):484- 92.5, 2015.

Estandarización de la técnica de descelularización de riñón de rata Wistar.

Susan Karen Pérez Salazar, Nelly Angélica Morales Guerrero, Alfonso de Jesús Torres Osorio, Hebert Luis Hernández Montiel*.

Facultad de medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, UAQ.

Calle Clavel 200, Prados de la Capilla, CP.76176, Santiago de Querétaro, Querétaro.

Teléfono: 1921200, Ext. 6252.

Correo electrónico: hebertlhm@yahoo.com.mx*

Existen dos factores primordiales que limitan cualquier tipo de trasplante, el primero es la disponibilidad del órgano a trasplantar; el segundo, es el desarrollo de rechazo inmunológico, mediado por el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), que desempeña un papel fundamental (Avenidaño *et al.*, 2003; Brunicardi *et al.*, 2005), postquirúrgicamente.

Actualmente, en México existe una demanda creciente en el trasplante de órganos; anualmente, para cubrir la demanda, se requerirían de aproximadamente 15,939 riñones, 37 corazones, 5,988 córneas, 311 hígados y 2 pulmones (Secretaría de Salud, 2019). En el año 2018, sólo el 20.7% fue candidato a un trasplante (Secretaría de Salud, 2018)

El proceso de descelularización/recelularización es una técnica que busca conservar la compleja arquitectura de la matriz extracelular (MEC) de un órgano para posteriormente, sembrar células madre o pluripotenciales del paciente y reconstruirlo, para que éste pueda ser trasplantado, aboliendo el rechazo inmunológico (Fu *et al.*, 2014; Welman *et al.*, 2015). El desarrollo de las técnicas de descelularización permite que órganos complejos puedan descelularizarse para conservar los componentes de la MEC, necesarios para promover una nueva adhesión celular, migración,

La Prolactina modifica la permeabilidad de la Barrera Hematoencefálica en un modelo *in vitro*

Josué Rivera¹, Rodrigo M. Aroña¹, Miriam Ulloa¹, Fernando Macías¹, Carmen Clapp¹, Edith Arnold^{1,2}, Gonzalo Martínez de la Escalera^{1*}.

¹Departamento de Neurobiología celular y molecular; ²Catedrática-CONACYT, Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus UNAM Juriquilla, Querétaro, México. Teléfono: 4422381028; Correo: earnoldh@gmail.com

La barrera hematoencefálica (BHE) está constituida por las uniones estrechas entre las células endoteliales y controla el intercambio bidireccional. Los mecanismos por los cuales se regula la función de la BHE, así como la participación de los componentes celulares de la unidad neurovascular sobre estos, aún no es del todo claro. En este sentido, la prolactina (PRL) podría ser considerado como un modulador de la unidad neurovascular, debido a que estudios *in vitro* muestran que esta hormona pituitaria tiene la capacidad de aumentar la proliferación de células endoteliales de la vena umbilical bovina y aumentan la expresión de proteínas de uniones estrechas (claudina-5 y ocludina) en monocapas de endotelio cerebral bovino disminuyendo su permeabilidad. Por otra parte, la PRL disminuye la permeabilidad del epitelio mamario *in vivo*. Sin embargo, los efectos de la PRL en la regulación de la permeabilidad de la BHE en el contexto de la unidad neurovascular todavía no han sido caracterizados. Por lo cual, en este trabajo investigamos el efecto de diferentes concentraciones de PRL (0.1, 1, 10, 50 y 100 nM) sobre la permeabilidad de células endoteliales de microvasos cerebrales (MBEC) en co-cultivo con astrocitos corticales en insertos Transwell como modelo *in vitro* de BHE. Los cambios en la permeabilidad transendotelial y paracelular se determinaron midiendo la resistencia eléctrica transendotelial (TEER) y el paso de dextrano acoplado a fluoresceína (FITC), respectivamente. La PRL aumentó significativamente la resistencia eléctrica transendotelial de una manera transitoria y dependiente de la concentración, alcanzando su efecto máximo entre los 5 y 10 minutos pos-tratamiento y regresando al estado basal a los 20 minutos. En concordancia, la PRL disminuyó significativamente la permeabilidad paracelular reduciendo el paso de dextrano-FITC en las temporalidades evaluadas. Estos hallazgos muestran que la PRL es capaz de regular la permeabilidad de la BHE *in vitro*, y sugieren que la PRL podría tener un papel importante en el mantenimiento de la correcta función de la BHE en condiciones fisiológicas y patológicas, colocándola a la PRL como un posible blanco terapéutico en padecimientos donde la permeabilidad de la red microvascular cerebral está comprometida.

Agradecimientos: Nosotros agradecemos a Fernando López-Barrera, Xarubet Ruíz-Herrera y Alejandra Castilla por su asistencia técnica. Apoyado por CONACYT (CB-251509 y CB-254728).

Respuesta de los hepatocitos primarios de hígado de rata a la rigidez en hidrogeles de poliacrilamida

Adriana Rodríguez Hernández^{1,2}, **Asael Gustavo García Vargas**¹, Marina Macías Silva², Mathieu Hautefeuille¹ y Genaro Vázquez Victorio¹. ¹Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior S/N, Ciudad Universitaria CP 04510, Ciudad de México, México. ²Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México.

Email: adriana.rodriquez@ciencias.unam.mx ; tavo.gar.fq@gmail.com

Teléfono: 55 5622 4800 ext. 84074

El hígado es el órgano encargado de procesar los componentes que viajan a través de la sangre para todo el organismo, y su parénquima (los hepatocitos) es el principal tipo celular en llevar a cabo tales funciones. Los hepatocitos se encuentran bien organizados en cordones dentro de la unidad funcional del hígado, el lobulillo hepático, y a través del lobulillo cada hepatocito tiene una función específica. No se conoce bien como, en ese microambiente, se tiene un control de diferentes fenotipos metabólicos. Sin embargo, se sabe que en éste órgano, la rigidez de la matriz extracelular es esencial para que se mantengan sus funciones celulares. Es muy probable que las propiedades mecánicas del tejido dentro del lobulillo hepático también esté jugando un papel en la estructuración fenotípica y funcional del lobulillo. Anteriores estudios muestran que cambios en la rigidez activan cascadas de señalización que dan como resultado la reorganización del citoesqueleto, que está estrechamente relacionada con el esparcimiento de las células (*spreading*). Así mismo, se sabe que la dinámica del citoesqueleto de actina regula la localización subcelular de algunos factores y cofactores transcripcionales. Los cultivos primarios de los hepatocitos presentan la pérdida gradual del fenotipo diferenciado lo que limita el uso de los hepatocitos para pruebas in vitro. El presente trabajo busca preservar fenotipo y función de los hepatocitos primarios, mediante la utilización de sustratos de rigidez controlada (hidrogeles de poliacrilamida -PAAM-) , para evaluar cómo estos cambios de rigidez influyen en la actividad mitocondrial, así como conocer si existe una relación directa de los cambios de la rigidez del sustrato con la activación diferencial de los cofactores transcripcionales mecanosensibles YAP, TAZ, MRTF A y MRTF B, relacionados con cambios morfológicos (*spreading*). Se recubrieron cubreobjetos con colágena tipo I y se fabricaron hidrogeles de PAAM mediante la polimerización de acrilamida 40% y bis-acrilamida 2%, entrecruzados con persulfato de amonio (APS) y TEMED, en los cuales se fijó colágena tipo I usando el método de entrecruzamiento con el uso de Irgacure 2959 y ácido acrílico NHS-esterificado. Dónde posteriormente se cultivaron los hepatocitos primarios, los cuales se aislaron por el método de digestión enzimática por colagenasa y separación de los hepatocitos por gradiente de Percoll. Resultados preliminares muestran que la actividad mitocondrial se ve disminuida con el paso del tiempo del cultivo celular, y por otro lado, los hepatocitos muestran un aumento en su esparcimiento en sustratos con mayor rigidez, así como una localización subcelular nuclear de las proteínas YAP/TAZ.

NUTRIGENÓMICA DEL BORO: MECANISMOS DE SEÑALIZACIÓN INVOLUCRADOS EN LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES

Diana Rodríguez Vera¹, Dr. Rodolfo Pinto-Almazán², Dr. Marvin Antonio Soriano Ursúa¹

¹ Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis y Díaz Mirón, s/n. Col. Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, 11340, CDMX, México.

² Unidad de Investigación Hospital Regional de Alta Especialidad Ixtapaluca, Carretera Federal México-Puebla km 34.5, C.P. 56530. Ixtapaluca, State of Mexico, Mexico.

vera.diana@hotmail.com

Desde el punto de vista nutricional, el Boro (B) es un nutrimento esencial, el cual se ha vinculado como elemento bioactivo con ventajas metabólicas como las siguientes: función del sistema nervioso central, metabolismo mineral y óseo, síntomas artríticos, disminuye el riesgo de algunos tipos de cáncer, cicatrización de heridas, metabolismo energético, facilita la acción hormonal, entre otros. ^(1, 3, 5)

A la fecha el B es uno de los elementos más estudiados, particularmente con relación a su importancia en la nutrición humana.⁽¹⁾ y la manera de administrarlo es por medio de ácido bórico, si bien se considera que de manera natural se adquiere principalmente de frutas, vegetales y algunos productos de origen animal⁽⁴⁾.

Sin embargo, los mecanismos por los que ejerce los efectos biológicos reportados son escasos; tanto en plantas como en animales, el boro es capaz de formar enlaces puentes di-ésteres con grupos cis-diol. Basado en ello, existe evidencia de que los complejos modifican la manera en que actúan algunas enzimas, por ejemplo, las que propician la hidroxilación de la vitamina D hasta su forma activa, el Calcitriol.

⁽⁴⁾ Reacción que ocurre en las mitocondrias de las células renales que requiere además de la presencia del oxígeno, magnesio, NADPH y el citocromo P450. ⁽⁴⁾

Adicionalmente, en este trabajo se compilaron evidencias de interacción de moléculas boradas con minerales como el calcio, el magnesio, iodo y otras formas de hormonas esteroideas, o de la capacidad de modular sus funciones. ⁽⁴⁾ Adicionalmente, existe evidencia de trabajos que sugieren su actividad al menos moduladora sobre receptores acoplados a proteínas G o canales iónicos que pueden ayudar a entender los fenómenos biológicos recientemente reportados que potencialmente confieren protección contra algunas enfermedades de alto impacto en la humanidad, como las cardiovasculares, neurodegenerativas y neoplasias.

CONCLUSIÓN

La información científica existente sugiere que la ingestión dietética de B tiene impacto sobre vías metabólicas esenciales para la prevención de algunas enfermedades. Los mecanismos por los que puede actuar van más allá de la acción reportada sobre algunas enzimas.

REFERENCIA CITADA

- (1) Baldivia A, R. I.-d. (2016). Five causes why boron essentiality on human has not been confirmed: A hypothesis. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 1-5.
- (2) Cristiana Pavlidis, G. P. (2015). Nutrigenomics: A controversy. *Applied & Translational Genomics*, 50-53.
- (3) Ruya Kuru, S. Y. (2018). Boron Content of Some Foods Consumed in Istanbul, Turkey. *Biological Trace Elements Research*.
- (4) José Ramón Vielma, D. P.-B. (2017). El boro, un elemento benéfico que ayuda a prevenir la osteoporosis en el humano: una revisión de literatura. *Avances en Biomedicina*, 216-226.
- (5) Ruya Kuru, S. Y. (2019). Boron rich diet may regulate blood lipid profile and prevent obesity: A non-drug and self-controlled clinical trial. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 191-198.

Participación de CD43 en la regulación de la muerte celular en linfocitos T.

Sara Gloria Sarmientos Pérez^{1,2}, Erika Melchy Pérez¹, Rosario Vera Estrella¹, Juan Pablo Ocelotl-Oviedo¹, María Elena Bravo Adame³ & Yvonne Rosenstein¹

¹Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, Mor., México, ²Posgrado en Ciencias Bioquímicas, UNAM, ³Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Mor.

Correspondencia: saragsp@ibt.unam.mx (777 3291663)

La sialomucina CD43 es una proteína transmembranal tipo I, abundantemente expresada en todos los leucocitos y numerosas células tumorales linfoides y no linfoides. CD43 regula múltiples funciones, como son adhesión, activación, proliferación, supervivencia y apoptosis. Acorde a lo anterior, el análisis proteómico realizado por nuestro grupo con linfocitos T CD4+ aislados de sangre periférica reveló que en respuesta a las señales de CD43 y del TCR se regulan proteínas que participan en proliferación, metabolismo celular (en particular vía del glicólisis), rearrreglos del citoesqueleto y control de la muerte celular. El objetivo de este trabajo fue identificar algunos de los eventos moleculares que participan en la regulación de la muerte celular dependientes de las señales proporcionadas por CD43.

Para evaluar la participación de CD43 en la regulación de la muerte celular, empleamos un modelo de células Jurkat silvestres (JCD43+) o mutantes que no expresan CD43 (JLN), células JLN reconstituidas con CD43 silvestre (JLNCD43+) o con una mutante de CD43 que expresa el dominio extracelular pero que carece del dominio intracelular de CD43 (JLNCD43 Δ IC), o bien linfocitos T humanos. Alternativamente, empleamos células derivadas de un hibridoma murino de linfocitos T (By155.16) transfectado con hCD43wt o bien con hCD43 Δ IC. De una manera general, encontramos que en respuesta a las señales de PMA/IONO o del TCR, o bien las señales de estrés (falta de nutrientes) la expresión de CD43 protege a las células de la muerte y que la expresión de la forma trunca de CD43 resulta ser más deletérea que no expresarla. Nuestros resultados muestran también una expresión diferencial de proteínas involucradas en la regulación de apoptosis, dependiente de la ausencia o presencia de CD43 (CD43wt o CD43 Δ IC). Particularmente, las superóxido dismutasas (SODs) aumentan o disminuyen en condiciones basales de acuerdo a la expresión de CD43. Por otra parte, tras la activación con TCR-CD28 o PMA/IONO, la expresión de CD43 modula la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). La presencia de isoformas específicas de SODs en distintos compartimentos celulares destaca un control estricto de la homeostasis de las ROS, dado que aceleran la formación de peróxido de hidrógeno y oxígeno a partir del anión superóxido. En conjunto, estos resultados indican que la presencia de CD43 protege a las células de la muerte en condiciones de activación y/o estrés, y que en este proceso interviene una estricta regulación de los niveles de ROS.

Caracterización fenotípica del nematodo *Caenorhabditis elegans* crecido en dietas altas en lípidos.

Cintia Soltero Echaury, Ana Elena Peredo Escárcega, Martha Elva Pérez Andrade, Juan Miranda Ríos¹. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto Nacional de Pediatría. ¹Av. De la IMAN #1, 4° Piso, Ciudad de México. C.P. 04530. Tel. 5622-64-23. riosjuanm@biomedicas.unam.mx

Actualmente se han realizado diversos estudios sobre como la nutrición afecta el desarrollo, mantenimiento y la longevidad de los organismos. *C. elegans* es un organismo capaz de proveer una visión integrada del comportamiento de la alimentación. Se sabe que el ayuno promueve la longevidad, así mismo se ha estudiado que la suplementación con glucosa reduce la esperanza de vida y la reproducción de este nematodo, sin embargo poco se ha reportado del impacto de los lípidos en este organismo. El ácido palmítico es un ácido graso saturado de 16 carbonos siendo uno de los más abundantes en la dieta, se ha reportado que induce resistencia a la insulina en mamíferos por medio de tres mecanismos; aumentando la síntesis de complejos lipídicos nocivos, deteriorando la función de orgánulos celulares y encendiendo mecanismos de inflamación, debido a que *C. elegans* presenta conservada la vía de señalización de la insulina, dichos mecanismos podrían tener un impacto sobre el desarrollo, la calidad de vida y la longevidad de este organismo. De acuerdo a lo anterior el objetivo del presente trabajo es “Estudiar el efecto de dietas altas lípidos en el crecimiento, reproducción y longevidad del nematodo *Caenorhabditis elegans*”. La metodología experimental es la siguiente:

Cultivo de *C. elegans* y sincronización: La cepa N2 se creció en cajas con NGM a 18°C, alimentados con *E. coli* OP50 y colesterol. Los gusanos grávidos fueron lisados para obtener sus huevecillos sincronizados. Las larvas L1, se sembraron en cajas con condiciones: Control, Acido Palmítico (0.25, 0.50 y 1.0 mM).

Determinación de la longitud y área de los gusanos: Los gusanos en etapa L4 crecidos en las diferentes condiciones se colocaron en la cámara de Neubauer con una gota de azida de sodio al 10% y fueron fotografiados, sus dimensiones fueron determinadas con el programa image J.

Ensayo de longevidad: Se tomaron 100 larvas en estadio L4 de cada condición de crecimiento, se contaron y se pasaron a cajas nuevas diariamente a partir del primer día de su etapa adulta.

Cuantificación de la progenie: Se tomaron 25 larvas en estadio L4 de cada condición de crecimiento, se colocaron en cajas individuales y fueron cambiadas de caja diariamente desde el primer día de adulto hasta el cuarto día. Se cuantificaron las larvas y los huevecillos que colocó cada gusano adulto en cada caja.

De manera interesante, en nuestros ensayos se encontró que la longevidad de los nematodos se vio extendida de manera dosis dependiente, sin embargo poco se sabe sobre la calidad de vida que presentan estos gusanos adultos, por lo que se pretenden realizar diversos estudios para determinar esta condición.

Participación de la vía de Wnt en la regeneración del sistema nervioso central de *Lumbriculus variegatus*

Aldo Arturo Tellez-Garcia y Fausto Arellano-Carbajal

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro

Universidad Autónoma de Querétaro

Campus Aeropuerto

Anillo Vial Fray Junípero Serra S/N. C.P. 76140

Teléfono: 442 192 1200 Ext. 65333

fausto.arellano@uaq.mx

Durante la embriogénesis, la vía canónica de Wnt regula varios procesos fundamentales para el desarrollo del sistema nervioso central (SNC). Esta vía se encuentra altamente conservada en los distintos phyla animales y, en vertebrados, se ha observado que también participa en la regeneración del axón y su remielinización luego de presentarse diversos tipos de lesiones en el nervio óptico y la médula espinal. Por este motivo, es posible que la activación o inactivación de la vía de Wnt en otras estructuras del SNC tenga el potencial de inducir su regeneración con fines terapéuticos. Sin embargo, la baja capacidad neurorregenerativa de los vertebrados hace complicado el estudio *in vivo* del papel que puede jugar esta vía durante la regeneración. *Lumbriculus variegatus* (Annelida: Clitellata) es una lombriz acuática que tiene la capacidad de regenerar por completo tanto la parte anterior como la parte posterior del cuerpo al ser transectada, incluyendo el cordón nervioso ventral y el cerebro. Para esto, luego de presentarse una lesión, la herida es rápidamente ocluida, se forma un blastema de células desdiferenciadas en el sitio de la lesión, estas células proliferan, se diferencian y, al cabo de un par de semanas, restituyen los tejidos perdidos. Con la intención de determinar si la vía de Wnt participa en la regeneración del SNC de *L. variegatus*, en este trabajo llevamos a cabo un análisis transcriptómico en el cual comparamos los niveles globales de expresión génica entre lombrices regenerantes previamente transectadas y lombrices no transectadas. Entre los principales hallazgos, identificamos algunos componentes de distintas vías de señalización sobrerrepresentados en las condición regenerante. Particularmente, en el caso de la vía de Wnt, encontramos ocho genes de *Wnt* y otros componentes de la vía expresándose durante el proceso de regeneración. Estos primeros resultados dan la pauta para llevar a cabo hibridaciones *in situ* y ensayos de silenciamiento de la expresión para analizar qué papel juega la vía de Wnt durante la regeneración del SNC.

El ácido palmítico y el incremento en la expresión de la proteína RGS2 disminuyen la migración celular, mientras que el incremento en la expresión de la proteína SERCA incrementa la migración en un modelo celular de epitelio renal

J. Gustavo Vázquez-Jiménez, J. René Machado-Contreras, A. Gabriela Leija-Montoya, Mario I. Oregel-Cortéz, M. Esther Mejía-León, Octavio Galindo-Hernández.

Facultad de Medicina Mexicali, UABC CP 21000, Correo: gustavo.vazquez@uabc.edu.mx tel. cel: 5542227625

En las últimas décadas cambios rápidos en los estilos de vida han provocado un alarmante incremento en la prevalencia de obesidad, así como de las complicaciones asociadas a este estado patológico (1). Las personas obesas tienen un riesgo incrementado de desarrollar hipertensión, cardiopatías, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad renal (1). A nivel renal, el exceso de ácidos grasos saturados promueve una respuesta inflamatoria, que de no ser contrarrestada favorece al daño de la barrera de filtración glomerular renal (2). La albuminuria (sobre-excreción urinaria de albumina) se ha constituido como el marcador clínico principal para detectar nefropatía, en el mismo contexto, se ha demostrado que el control metabólico reduce la albuminuria (3), sin embargo, el mecanismo asociado a la recuperación del daño renal aún no se ha resuelto. Uno de los mecanismos más conocidos de reparación tisular es la migración de células epiteliales (4), por tal motivo, determinar los mecanismos que pueden alterar la migración celular ayudará a encontrar posibles blancos terapéuticos para contrarrestar la insuficiencia renal.

En un trabajo previo demostramos que el ácido palmítico induce la disminución en la expresión de la bomba de calcio SERCA (proteína integral de la membrana del retículo endoplásmico encargada de mantener la homeostasis de calcio), esta alteración favoreció la instauración del estado de resistencia a la insulina en un modelo de células endoteliales (5). Por otro lado, Nunn et al, reportaron que ratones alimentados con dieta alta en ácidos grasos saturados incrementaron la expresión de la proteína RGS2 (regulador 2 de la señal de las proteínas G), el incremento en la expresión de esta proteína se ha asociado a una disminución del metabolismo basal (6).

Por todo lo anterior, en el presente trabajo, estudiamos el efecto de las incubaciones de ácido graso saturado palmítico en un modelo de células de epitelio renal (HEK 293), con la finalidad de determinar si la lipotoxicidad induce alteraciones en la migración celular, así como alteraciones en expresión de las proteínas SERCA y RGS2, esto con la finalidad de analizar una probable asociación de estas tres variables.

Interesantemente, nuestros resultados muestran que la incubación con el ácido graso saturado palmítico durante 24 horas en las células HEK 293 indujo la disminución de la migración celular, este efecto se encontró asociado con una disminución en la expresión de la proteína SERCA; sin embargo, la expresión de la proteína RGS2 se encontró incrementada. Al intentar resolver si la expresión de las proteínas SERCA y RGS2 mostraba asociación con las alteraciones de la migración celular, realizamos la transfección de ambas proteínas en nuestro modelo celular; nuestros resultados muestran la sobreexpresión de SERCA incrementa la migración celular, mientras que la sobreexpresión de la proteína RGS2 la disminuye.

Lo anterior muestra que el ácido palmítico induce disminución en la migración de células de epitelio renal al favorecer el incremento en la expresión de la proteína RGS2 y la disminución en la expresión de la proteína SERCA.

Bibliografía

1. Izquierdo-Lahuerta A, Martínez-García C, Medina-Gómez G. Lipotoxicity as a trigger factor of renal disease. *Journal of Nephrology*. 2016.
2. Zhao X, Chen X, Zhang Y, George J, Cobbs A, Wang G, et al. Kidney Injury Molecule-1 Is Upregulated in Renal Lipotoxicity and Mediates Palmitate-Induced Tubular Cell Injury and Inflammatory Response. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 11;20(14):3406.
3. Fioretto P, Stefansson B V., Johnsson E, Cain VA, Sjöström CD. Dapagliflozin reduces albuminuria over 2 years in patients with type 2 diabetes mellitus and renal impairment. *Diabetologia*. 2016;59:2036.
4. Tharmalingam S, Hampson DR. The Calcium-Sensing Receptor and Integrins in Cellular Differentiation and Migration. *Front Physiol*. 2016 May 26;7:190.
5. Gustavo Vazquez-Jimenez J, Chavez-Reyes J, Romero-Garcia T, Zarain-Herzberg A, Valdes-Flores J, Manuel Galindo-Rosales J, et al. Palmitic acid but not palmitoleic acid induces insulin resistance in a human endothelial cell line by decreasing SERCA pump expression. *Cell Signal*. 2016;28(1):53–9.
6. Nunn C, Zhao P, Zou M-X, Summers K, Guglielmo CG, Chidiac P. Resistance to age-related, normal body weight gain in RGS2 deficient mice. *Cell Signal*. 2011 Aug;23(8):1375–86.

Análisis del efecto de 100UI/mL de IL-2 sobre la inducción de autofagia en células de cáncer de cérvix

Alejandra Monserratt Zendejas-García, Adriana Gutiérrez-Hoya, Arturo Valle-Mendiola, Benny Weiss-Steider, Isabel Soto-Cruz

Laboratorio de Oncología Molecular L9PB UMIEZ, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Avenida de 5 de mayo s/n esquina Fuerte de Loreto, colonia Ejército de Oriente, Iztapalapa, CP 09230 Cd. México. Teléfono: 56230796. zalejandra.garcia@gmail.com; sotocruz@unam.mx

Introducción

La segunda causa de muerte por razones oncológicas en la mujer es el cáncer del cuello uterino en México y la cuarta causa en todo el mundo. Las líneas celulares de cáncer cervicouterino de VPH18⁺ HeLa e INBL expresan el receptor para IL-2 a diferencia de las células cervicales normales que no lo expresan, por lo cual esta citocina nos permite conocer su rol en el desarrollo en este tipo de cáncer. Se ha descrito que la IL-2 induce autofagia en diversos órganos, además nuestro equipo de trabajo demostró que el estímulo con altas dosis de IL-2 en células de cáncer de cérvix no resulta en muerte, por lo cual es un blanco para poder determinar si las células de cáncer de cérvix utilizan el proceso de autofagia como un mecanismo de sobrevivencia.

Metodología

Las líneas celulares HeLa e INBL fueron tratadas con 100UI/ml de IL-2 durante diferentes periodos de tiempo; su proliferación se analizó mediante la técnica de cristal violeta, así como observación morfológica con microscopia de campo claro. Se determinó la presencia de LC3b mediante citometría de flujo en un citómetro FACS Aria II de BD. Se analizó la expresión de los genes implicados en la autofagia ATG5, Beclina-1 y LC3B mediante PCR punto final. Se analizó la presencia de LC3b en autofagosomas en microscopio confocal Leica.

Resultados y discusión

El tratamiento con 100 UI/ml de IL-2 induce una disminución en la proliferación de las líneas celulares HeLa e INBL; además, genera cambios morfológicos y un aumento en el tamaño celular. Nuestros resultados muestran que IL-2 induce cambios en la expresión de los genes implicados en el proceso de autofagia ATG5, BECLINA 1 y LC3B. Cuando se analizó la presencia de LC3b en las células tratadas con IL-2 se observan focos de fluorescencia que corresponden a la acumulación de LC3b, en comparación con las células sin tratamiento en las que se observa la proteína LC3b dispersa en el citoplasma de las células.

Conclusión

Nuestros resultados muestran que el tratamiento con 100 UI/ml de IL-2 disminuye la proliferación, modifica la expresión de genes relacionados con autofagia, así como la formación de autofagosomas en las células de cáncer de cérvix, lo cual sugiere que induce autofagia. Se ha demostrado que la cadena gamma del receptor para IL-2 tiene un papel central en la sobrevivencia de linfocitos T y fibroblastos al activar la autofagia. Es posible especular, dado que las células HeLa e INBL expresan la cadena gamma del receptor para IL-2, que esta citocina es responsable de la inducción de autofagia para la sobrevivencia de las células de cáncer de cérvix.

Proyecto apoyado por PAPIIT (IN222218), DGAPA, UNAM.

VIAS INTRACELULARES

Estudio del papel de p53 y sus mutantes en la modulación del señalamiento canónico de la vía Wnt

Eduardo **Alvarado-Ortiz**^{1,3} (eduralv.o@gmail.com), Elizabeth **Ortiz-Sánchez**,²
Alejandro **García-Carrancá**.³

¹Programa de Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México; ²Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Cancerología, Secretaría de Salud, ³Laboratorio de Virus & Cáncer, Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México & Instituto Nacional de Cancerología, Secretaría de Salud. Ciudad de México, México.

Resumen. La regulación de la homeostasis celular está basada en la integración de diferentes vías de señalización, la vía Wnt es una de ellas y su desregulación contribuye al desarrollo de diferentes tipos de enfermedades como el cáncer. La activación canónica de la vía Wnt radica en regular los niveles, estabilidad y localización de β -Catenina. Es bien conocido que la progresión maligna es consecuencia de la activación de oncogenes y la pérdida en la funcionalidad de genes supresores de tumores, en este sentido se ha reportado que p53 es uno de los genes más frecuentemente mutados en los diferentes tipos de cáncer y más aún, la presencia de algunas mutaciones pueden contribuir de manera importante a favorecer la activación de vías oncogénicas. Por ello, el objetivo del presente trabajo es entender los mecanismos en que p53/p53-Mut pueden regular la activación de la vía Wnt dependiente de β -Catenina. Para ello, empleamos como modelo de estudio la línea celular H1299 (nula para p53), y realizamos ensayos de sobreexpresión de p53-Wt y p53-R175H/p53-R273H (p53-Mut). Observamos que existe una regulación negativa por parte de p53-Wt sobre elementos de activación de la vía canónica Wnt, particularmente β -Catenina y el co-receptor LRP6, y que este mecanismo puede ser atribuido de manera específica a la inducción de miR-34a. El efecto de la sobreexpresión de p53 fue evaluado también en esta línea celular, en un modelo de esferas. En estas condiciones observamos una disminución en la forma activa de GSK3- β (Y216), un incremento en la actividad TCF/LEF, así como de un incremento en la actividad enzimática ALDH, un marcador asociado a la troncalidad. De manera interesante, en este modelo observamos que la sola presencia de p53-Mut promueve una ganancia de función que favorece la inactivación de GSK3- β por su fosforilación en la Ser9. La inhibición farmacológica de la vía PI3K/AKT sugiere que el efecto de p53-Mut es regulado por AKT. Nuestros resultados destacan la importancia de p53-Wt y la ganancia de función de p53-Mut en la regulación de vías de señalización asociadas a la progresión oncogénica.

Agradecimientos: CONACYT (0253804, to AG-C) e INCan.

A novel apoptosis suppressor in *C. elegans*

Marti Cadena Sandoval^{1,2}, Elizabeth Veal^{3,*} and Kathrin Thedieck^{1,2,4,*}.

¹Laboratory of Pediatrics, Section Systems Medicine of Metabolism and Signaling, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands.

²Institute of Biochemistry and Center for Molecular Biosciences Innsbruck, University of Innsbruck, Innsbruck, Austria.

³Institute for Cell and Molecular Biosciences, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom.

⁴Department for Neuroscience, School of Medicine and Health Sciences, Carl von Ossietzky University Oldenburg, Oldenburg, Germany. *Correspondence: kathrin.thedieck@uibk.ac.at, k.thedieck@umcg.nl, Kathrin.thedieck@uni-oldenburg.de; elizabeth.veal@newcastle.ac.uk

Throughout evolution organisms have developed intricate mechanisms to cope with environmental stresses and to prevent cellular death.

To gain deeper insight into stress-related survival, we characterized the function of a stress-related gene in *Caenorhabditis elegans*. While we did observe protein localization changes upon stress, we surprisingly discovered a more general role in apoptosis suppression in the germline. Thus, we report a new regulator of apoptosis in *C. elegans*.

Versión en español

A lo largo de la evolución cada organismo ha desarrollado mecanismos complejos que le permiten contrarrestar el estrés ambiental y prevenir la muerte celular.

Para profundizar en el conocimiento sobre la supervivencia relacionada con el estrés, hemos caracterizado la función de un gen vinculado con el estrés en *Caenorhabditis elegans*. Sorprendentemente, además de haber observado que la localización de la proteína cambia con el estrés, también hemos descubierto un papel más general para este gen: el de supresor de apoptosis en la línea germinal. Así, este trabajo reporta un nuevo regulador de apoptosis en *C. elegans*.

El factor HIF-2 α juega un papel crucial en la promoción de supervivencia y generación de resistencia a tratamiento en células de cáncer de colon.

María Cristina Castañeda Patlán, Abril Saint Martin y Martha Robles Flores. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. C.P. 07510. Tel. (55) 56232258. email: rmartha@unam.mx

La hipoxia es un componente característico del microambiente tumoral. Los factores transcripcionales inducidos por hipoxia (HIFs) son mediadores esenciales de las rutas de señalización sensibles a oxígeno que regulan múltiples fases de la tumorigénesis como la reprogramación metabólica tumoral, promoción de eritropoyesis, angiogénesis, resistencia a apoptosis, invasión y metástasis. En los últimos años se ha demostrado que tanto HIF-1 α como HIF-2 α están involucrados en la promoción de resistencia a radioterapia y quimioterapia en varios tipos de cáncer, sugiriendo que la interferencia en la función de los HIFs podría ser importante para revertir la resistencia a muerte de las células malignas.

En este trabajo nos enfocamos en analizar los efectos del bloqueo de la expresión de HIF-1 α o de HIF-2 α en la inducción de autofagia y en la resistencia a muerte inducida por diferentes tipos de estrés, utilizando como modelo líneas celulares de cáncer de colon y cultivos primarios derivados de biopsias de pacientes con cáncer de colon.

Encontramos que las células malignas del colon exhiben niveles elevados de autofagia y de expresión de HIFs en condiciones de normoxia, en comparación con células no malignas. El bloqueo de expresión de HIF-1 α o de HIF-2 α *per se* incrementan tanto la autofagia como la muerte por apoptosis de las células, indicando que la supervivencia de células cancerosas es dependiente de HIFs. Importantemente, demostramos que HIF-2 α , pero no HIF-1 α , solo o en combinación con inhibidor de autofagia, promueve además resistencia de las células cancerosas a estrés nutricional y a estrés citotóxico inducido por diferentes fármacos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Pero nuestro hallazgo más sobresaliente fue el demostrar en cultivos primarios derivados de biopsias de pacientes con estadios clínicos avanzados de cáncer de colon, que el bloqueo específico de HIF-2 α , ya sea con inhibidor específico o con el silenciamiento de su expresión, revierte su resistencia a agentes citotóxicos, mostrando que efectivamente, el bloqueo de HIF-2 α , solo o combinado con quimioterapia, es una promesa efectiva en el tratamiento del cáncer de colon.

Posible participación de Siah en la expresión de genes blanco de HIF-2a a través de la regulación de los niveles de FIH en un modelo de carcinogénesis renal *in vivo*

Patricia Curiel-Muñiz, José Solano, Francisco Aguilar-Alonso, Telma Pariente-Pérez, María Elena Ibarra-Rubio*.

Departamento de Biología, Edificio F, Laboratorio 225, Facultad de Química, UNAM, México, CDMX, 04510. Tel. (55)56223869, qfbpatriciacuriel@hotmail.com, meir@unam.mx*

El carcinoma de células renales (CCR) tiene una alta mortalidad ya que, entre otros problemas, es asintomático y no hay marcadores tempranos específicos, por lo que el diagnóstico inicial ocurre con frecuencia en etapas avanzadas, lo que hace que el estudio de sus primeras fases prácticamente sea imposible. El modelo de CCR inducido por nitrilotriacetato de hierro (FeNTA) es una herramienta útil para analizar eventos biológicos en diferentes puntos del proceso de carcinogénesis. Previamente hemos reportado que se generan diferentes etapas tempranas de carcinogénesis después de uno y dos meses de tratamiento y que los tumores experimentales y de humanos son histológicamente idénticos.

La alteración más común que se presenta en éste CCR es la pérdida de la función de la proteína VHL (70-80%) (debido a mutaciones o silenciamiento epigenético), que es una ubiquitin ligasa y es la principal reguladora de la degradación de HIF en condiciones de normoxia. Sin embargo, en el resto de los casos no se encuentran alteraciones en esta proteína, pero aún así están aumentados los niveles proteicos y de RNAm de HIF. Interesantemente, en los tumores inducidos por exposición a FeNTA se ha reportado que el gen de VHL no está mutado, y resultados de nuestro laboratorio indican que no se alteran los niveles de la proteína en etapas tempranas ni en los tumores, lo que sugiere la participación de otro(s) mecanismo(s) que regulan los niveles de HIF.

En nuestro laboratorio no se encontraron cambios en los niveles renales de HIF-2a en el primer mes, mientras que, a los dos meses y en tejido neoplásico incrementaron en extractos totales y en la fracción nuclear. Lo anterior coincide con el aumento de los niveles de RNAm de VEGF a los tres tiempos estudiados, por lo tanto, posiblemente HIF-2a se une al promotor de VEGF e induce su expresión. Además, los niveles de proteína FIH disminuyeron; sin embargo, su RNAm no cambió en ninguna etapa de nuestro modelo experimental. Por lo tanto, la regulación FIH parece ocurrir a un nivel postraduccional.

Se ha descrito que Siah-1 es una ubiquin-ligasa que se encarga de marcar a FIH para su degradación y no se encontraron cambios en sus niveles después de un mes de tratamiento, sin embargo a los dos meses y en los tumores aumentan, lo que correlaciona con la disminución en los niveles de FIH.

Por lo anterior, se consideró de gran interés analizar la posible asociación de Siah-1/FIH en diferentes etapas del modelo de carcinogénesis renal inducida con FeNTA.

Se observó que Siah-1 co-inmunoprecipita con FIH en los grupos tratados con el carcinógeno a los tres tiempos estudiados. Esta asociación sugiere que Siah-1 podría estar ubiquitinando a FIH, inactivándola, y esta sea la razón al menos en parte, del aumento de los niveles de HIF y de la expresión de sus genes blanco.

En conclusión, nuestros resultados apuntan a Siah-1 como responsable, al menos en parte, de la disminución de los niveles de FIH y una causa probable del incremento de HIF-2a desde las primeras etapas de la carcinogénesis renal experimental hasta el mantenimiento del tumor.

Mecanismos intracelulares en la antinocicepción conductual inducida por la administración espinal de oxitocina en ratas

Espinosa de los Monteros-Zúñiga Antonio, Martínez-Lorenzana Guadalupe, Condés-Lara Miguel, González-Hernández Abimael

Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología, Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Querétaro, México

Boulevard Juriquilla 3001, Jurica Acueducto, Instituto de Neurobiología UNAM Campus Juriquilla, Laboratorio B16, Querétaro, Querétaro, México. Cp. 76230; Tel. 5536629249, Correo electrónico: antonioespinosaq@gmail.com

La inyección intratecal (i.t.) de oxitocina (OXT) inhibe la nocicepción. En humanos, la administración epidural de OXT tiene efectos analgésicos. Estos hallazgos enfatizan el papel de la OXT como un potencial agente analgésico, sin embargo, los mecanismos intracelulares a través de los cuales ejerce su efecto se desconocen. El presente estudio de nocicepción conductual en ratas Wistar macho pretendió dilucidar a través de experimentos farmacológicos las principales vías intracelulares que se reclutan cuando se administra OXT a nivel espinal.

Usando la prueba de la formalina (inyección s.c. de 50 μ l de 1% de formalina en el dorso de la pata posterior) se evaluaron los mecanismos involucrados en el efecto antinociceptivo de la OXT (10 nmol, i.t.). Esta prueba induce una respuesta inmediata (0-1 h; sacudidas de pata) y una respuesta tardía (3-30 días; hipersensibilidad mecánica).

La administración de OXT disminuyó el comportamiento nociceptivo inmediato y tardío inducido por la formalina, ambos efectos bloqueados por el L-368,899 (antagonista del OTR). El efecto antinociceptivo inmediato de la OXT fue también revertido por el U-73122 (inhibidor de la fosfolipasa C, PLC), L-NAME (inhibidor de la enzima óxido nítrico sintasa, NOS), ODQ (inhibidor de la enzima guanilato ciclasa, GC) y glibenclamida (bloqueador de los canales de K_{ATP}), pero no por la toxina *pertussis* (inhibidor de proteínas $G\alpha_i$) o galeina (inhibidor de las subunidades $G\beta/\gamma$). Por otra parte, el efecto antinociceptivo tardío de la OXT fue revertido por *pertussis* o galeina mas no por el U-73122 o el L-NAME.

Estos datos sugieren que la antinocicepción inmediata y tardía de la OXT se lleva a cabo por dos cascadas intracelulares distintas, mediadas por la activación del OTR. El efecto antinociceptivo inmediato a través de la vía PLC-NO-GMPc- K^+_{ATP} mientras el efecto tardío a través del reclutamiento de proteínas $G\alpha_i$ así como de las subunidades $G\beta\gamma$.

Proteínas de *Symbiodinium* que son fosforiladas en treonina en respuesta a la luz.

Tania Islas-Flores, Raúl E. Castillo-Medina, Rubén F. Baeza-Gómar, Marco A. Villanueva.

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, Universidad Nacional Autónoma de México-UNAM.

Prol. Avenida Niños Héroes S/N, C.P. 77580 Puerto Morelos, Q. Roo, México.

Email: marco@cmarl.unam.mx

Los organismos fotosintéticos poseen mecanismos de regulación muy variados para adaptarse a distintas condiciones ambientales, tales como su exposición a la luz, a la cual responden incluso a cambios sutiles. *Symbiodinium* sp., un dinoflagelado fotosintético que establece relaciones simbióticas con diversos invertebrados marinos tales como los cnidarios, posee un sistema sofisticado de regulación en respuesta a diversos estímulos de luz. Dentro de los mecanismos de respuesta en *Symbiodinium* a dichos estímulos de luz, se llevan a cabo fosforilaciones/desfosforilaciones de proteínas para mediar las respuestas específicas, tales como la fotosíntesis, la reorganización del cloroplasto, la regulación de la expresión de genes, etc. Con el objetivo de identificar las proteínas que se fosforilan en respuesta a la luz en *Symbiodinium*, se llevó a cabo un análisis por western blot con anticuerpos anti-fosfotreonina de extractos de proteínas de *Symbiodinium microadriaticum* en las primeras horas de exposición a la luz del ciclo de luz y oscuridad. De esta manera se detectó un patrón de proteínas fosforiladas en treonina a las 2 h de iniciado el ciclo de luz, del cual destacaron dos proteínas por su nivel de fosforilación, una de 29 kDa y otra de 41 kDa. La proteína de 29 kDa se encontró en la fracción soluble de 20,000 x g y la de 41 kDa fuertemente asociada a la fracción insoluble correspondiente. Por medio de una cromatografía de intercambio aniónico y subsecuente separación por isoelectroenfoque y SDS-PAGE, se aisló la proteína de 29 kDa para secuenciarla y determinar su identidad. La respuesta a la fosforilación de estas fosfoproteínas es muy probable que tenga consecuencias fisiológicas derivadas del estímulo de luz en *Symbiodinium*. Por lo tanto, su identificación y caracterización son de suma importancia para entender los mecanismos de señalización que utiliza este dinoflagelado fotosintético para su respuesta fisiológica a los cambios lumínicos en su entorno.

Apoyado por los proyectos IN-203718 de PAPIIT DGAPA-UNAM y 285802 de CONACyT.

IMMUNEPOTENT-CRP: Extracto dializable induce apoptosis selectiva en células de leucemia linfocítica aguda de células T

Helen Yarimet Lorenzo-Anota^{1,2}, Daniel Scott-Algara², Cristina Rodríguez-Padilla¹, Ana C. Martínez-Torres^{1*}.

¹Laboratorio de Inmunología y Virología Facultad de Ciencias Biológicas; Universidad Autónoma de Nuevo León; México. Av. Pedro de Alba S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. CP 66455. Tel. +52 (81) 83 29 40 00 Ext. 6424.

²Laboratorio de Biología celular en linfocitos; Instituto Pasteur; París, Francia.

ana.martinezto@uanl.edu.mx

La leucemia linfocítica aguda (LLA) es la causa de mortalidad más común de cáncer hematológico en infantes, la progresión maligna se debe a la evasión del sistema inmunológico (SI). Las inmunoterapias son tratamientos que usan al SI del paciente para combatir múltiples enfermedades, y recientemente se ha utilizado como terapia adyuvante para distintos tipos de cáncer. El IMMUNEPOTENT-CRP (I-CRP) una inmunoterapia desarrollada en el Laboratorio de Inmunología y Virología ha mostrado actividad antitumoral en distintos tipos de células cancerosas y capacidad quimio protectora e inmunomoduladora en distintas poblaciones celulares del SI. Por ello, en este proyecto se analizó la capacidad citotóxica y el mecanismo de muerte celular del I-CRP en células tumorales derivadas del SI (Molt-4, LLA-T). Esta investigación demostró de forma *in vitro* que el I-CRP no comprometen la viabilidad de las células sanas, induciendo muerte celular regulada (MCR) selectiva en células leucémicas Molt-4. Al analizar el mecanismo de citotoxicidad se observó que el I-CRP induce un aumento masivo en la producción de ROS, los cuales orquestan señales intracelulares que dirigen a la célula a MCR. La cual involucra daño mitocondrial incluyendo; la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y la modulación de proteínas pro y anti apoptóticas; también alteraciones nucleares; daño y degradación del ADN, expresión de p53 y arresto del ciclo celular. Este mecanismo, induce la activación de caspasa-3 y la formación de autofagosomas pro-supervivencia. En conclusión, el mecanismo de MCR en células Molt-4 es apoptosis, siendo dependiente de ROS y caspasas. Con esta investigación, se abre la puerta para evaluar detalladamente la función del I-CRP en el mecanismo de muerte celular en células tumorales en conjunto con otras terapias, y entender el funcionamiento inmunoregulador en linfocitos sanos para potenciar su aplicación en distintas patologías asociadas al SI.

Papel de IL-10 en la vía de señalización no canónica de IRS y su efecto sobre proliferación y migración en células de cáncer cervicouterino

Anabel Martínez Baez¹, David Martínez Pastor², Diana Lashidua Fernández Coto¹, Julieta Ivonne Castro Romero³, Guadalupe Ayala Aguilar¹

Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos¹, Instituto de Fisiología Celular, UNAM, CDMX², Secretaría de Salud de la Ciudad de México, CDMX³

Tel. 7773293000 Ext. 2231. Correo electrónico: gayala@insp.mx

Introducción: Los sustratos del receptor de insulina (IRS) 1 y 2 están alterados en diversos tipos de cáncer. IRS-1 se ha relacionado con proliferación, crecimiento e inhibición de la apoptosis; mientras que IRS-2 con metástasis, motilidad e invasión¹. Las IRS participan en vías no canónicas, donde su fosforilación puede ser estimulada por algunos receptores de citocinas. En pacientes con cáncer de diversos tipos, entre ellos cáncer cervicouterino (CaCU) se han encontrado niveles séricos elevados de citocinas inmunosupresoras como IL-4 e IL-10. IL-10 ejerce su función a través de su receptor (IL-10R) activando la vía de señalización IL-10R/Jak1/Tyk2/STAT3². En células SiHa se ha demostrado una sobreexpresión del ARN mensajero de IL-10R, el cual mantiene su capacidad para responder al estímulo con la propia citocina. Por otra parte, se ha demostrado que IL-10 en bajas concentraciones inhibe la apoptosis de células promieloides. Esta actividad anti-apoptótica se lleva a cabo por la activación de la vías Tyk2/STAT-3 y JAK1/IRS-2/PI3K/AKT, las cuales se sabe desencadenan una serie de señales de supervivencia y de protección contra la apoptosis. Además, Jak1 tiene la capacidad de fosforilar a IRS³. **Objetivo:** Analizar el papel de IRS1 e IRS2 en la proliferación y migración celular, así como identificar las proteínas involucradas en la vía de señalización “no canónica” de IRS en respuesta a IL-10 en la línea celular HeLa (VPH positivas) derivada de CaCU. **Metodología:** La expresión basal de los genes IL-10R, IRS-1 e IRS-2 se realizó por RT-PCR en células HeLa y MCF7 (control positivo). El efecto de IL-10 sobre la proliferación celular se midió con MTS; la migración celular se evaluó por ensayos cierre de herida en células HeLa. Los cambios en la activación de las proteínas IL10R, IRS-1, IRS-2, Jak1, Tyk2, STAT3, PI3K, Akt, y ERK1/2 en respuesta a IL-10 se hizo mediante Western Blot, usando anticuerpos específicos. **Resultados:** En condiciones basales, se amplificaron los fragmentos correspondientes a IL-10R, IRS1 e IRS2 en células HeLa y MCF7. Resultados preliminares muestran que estimulando células HeLa con IL-10 (50 ng/ml) se induce la activación de IL-10R, IRS2, STAT3, PI3K y Akt1. La migración de células HeLa incrementó después de las 48 horas del estímulo, pero en la proliferación no se observaron cambios. **Conclusión:** Los datos preliminares obtenidos muestran que IL-10 está activando proteínas que participan en la vía de señalización no canónica de IRS, así como también incrementa la migración, sin embargo es necesario realizar algunos experimentos confirmatorios que fortalezcan los resultados obtenidos.

Bibliografía

- 1.-Gorgisen G., Gulacar I.M., Ozes O.N. *Cell Mol Biol.* 2017;63(1): 1-6.
- 2.-Whicher, J. T., and Evans, S. W. *Clinical Chemistry.* 1990; 36(7): 1269-81.
- 3.- Zhou JH, Broussard SR, Strle K, Freund GG, Johnson RW, Dantzer R, Kelley KW. *J Immunol.* 2001 Oct 15; 167(8):4436-42.

Identificación de nuevas interacciones de regulación transcripcional en la diferenciación de monocitos a células dendríticas *in vitro* en humano.

Karen J. Nuñez-Reza¹, Aurélien Naldi², Mónica Padilla-Galvez¹, Arantza Sánchez-Jimenez¹, Ana Victoria Leon-Apodaca¹, Andrea Zaragoza-Montaño¹, Salvatore Spicuglia³, M. Angélica Santana⁴, Morgane Thomas-Chollier², Denis Thieffry², Alejandra Medina-Rivera^{1*}.

¹ Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano, Universidad Nacional Autónoma de México, Querétaro, México.

² Computational Systems Biology team, Institut de Biologie de l'Ecole normale supérieure – PSL Université, Paris, France. ³ INSERM, TAGC, Marseille, France.

⁴ Centro de Investigación en Dinámica Celular (IICBA), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, México.

* Blvd. 3001, CP 76230, Campus UNAM 3001, Manzanares, Juriquilla, Querétaro. +52 55 5623 4331 ext. 255 amedina@liigh.unam.mx

Las células dendríticas son presentadoras de antígenos, son la conexión entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa por lo cual han sido usadas en inmunoterapias. La obtención de células dendríticas para inmunoterapias se realiza *in vitro* a partir de monocitos, usando factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (CSF2, por sus siglas en inglés) e interleucina 4 (IL4, por sus siglas en inglés) se activan cuatro vías de señalización (MAPK, JAK/STAT, NFκB y PI3K). Sin embargo, la regulación transcripcional responsable de la diferenciación de monocitos a células dendríticas (moDCs) permanece desconocida. Tras una revisión exhaustiva de la literatura científica disponible, establecimos un modelo lógico de la diferenciación de monocitos a moDC con el cual identificamos que los factores de transcripción clave en el proceso carecen de blancos transcripcionales conocidos. Analizamos datos de ChIP-seq y RNA-seq del consorcio Blueprint para identificar promotores activos e inactivos, así como genes diferencialmente expresados en monocitos y moDCs. Integramos esta información al modelo lógico y pudimos completar la red de regulación de la diferenciación de monocitos a células dendríticas, por ejemplo, identificamos por primera vez la regulación transcripcional de los Receptores Tipo Toll (TLRs, por sus siglas en inglés) en moDCs, en donde el factor transcripcional IRF4 activa a los genes de TLR3 y TLR8 y CEBPa activa a TLR4 y TLR6, TLRs importantes en el reconocimiento de antígenos. El conocimiento de nuevas interacciones de regulación puede ayudar a mejorar el desarrollo de inmunoterapias basadas en moDCs.

Dinámica Intracelular de Calcio En La Progresión Del Carcinoma Mamario Triple Negativo

Rodríguez Verduzco Mary Cruz (estudiante de posgrado), Dr. Navarro Polanco Ricardo Antonio.

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Colima

RESUMEN. El carcinoma mamario triple negativo (CMTN) es considerado el más agresivo, dentro de los subtipos de esta patología. El calcio (Ca^{2+}) es un ion plurifuncional que requiere de una estricta regulación y se ha mostrado que en varios tipos de cáncer sus células muestran alteraciones en la dinámica del Ca^{2+} intracelular. Esto implica una remodelación de las moléculas involucradas en la señalización de este catión y como consecuencia la estimulación de vías oncogénicas. Consecuentemente, es interesante evaluar en que momento y cuáles son las alegaciones que ocurren en la señalización de Ca^{2+} durante la progresión del CMTN. Para esto se realizaron registros de Ca^{2+} intracelular utilizando microscopia de fluorescencia (Fluo-4 AM).

Nuestros resultados muestran que las líneas celulares no cancerosas y cancerosas presentan oscilaciones espontáneas (OECa) de Ca^{2+} . Sin embargo, las OECa en las células cancerosas de los estadios I y II (HCC1395 y HCC1143) mostraron oscilaciones de mayor amplitud y frecuencia respecto a las registradas en células no cancerosas. Adicionalmente, se encontró que en todas las líneas celulares estudiadas, la remoción del Ca^{2+} extracelular redujo significativamente la frecuencia de las OECa sin alterar la amplitud de las mismas. Estos resultados sugieren el involucramiento de elementos de la membrana plasmática en la modulación de la génesis de las OECa. Uno de los elementos de la membrana plasmática aparentemente involucrado en este fenómeno es el receptor sensor a Ca^{2+} (CaSR). Por otro lado la insensibilidad de la amplitud de las OECa al Ca^{2+} externo, implica que estas son generadas principalmente por la liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares. La incapacidad de cafeína para liberar de Ca^{2+} o de rianodina para suprimir las oscilaciones sugiere que las OECas son resultado de la apertura de receptores a IP3.

Efecto de IL-2 sobre la regulación de los genes STAT3, PDK1, HIF1 α y GLUT1 en células de cáncer de cérvix

Rodrigo Rojas-Mercado, Arturo Valle-Mendiola, Adriana Gutiérrez-Hoya**, Isabel Soto-Cruz

Laboratorio de Oncología Molecular, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, Batalla 5 de mayo s/n Col. Ejército de Oriente, CP 09230, Ciudad de México, México. **Investigador CONACYT. Tel: 56230796. rodrigo.rm521@hotmail.com; sotocruz@unam.mx

En México, el cáncer de cuello uterino es la tercera causa de muerte por cáncer en la mujer. El cáncer cervicouterino, se asocia a la infección por el virus de papiloma humano, que modifica a las células para adquirir características transformadas como proliferación descontrolada, protección contra apoptosis y la reprogramación de su metabolismo energético para mantener un crecimiento rápido y descontrolado. Adicionalmente, la mayoría de las células cancerosas presentan cambios fundamentales en el metabolismo de nutrientes y dependen de la glucólisis aeróbica, llamado efecto Warburg. Esta característica de las células tumorales de mostrar un elevado radio de glucólisis mientras continúan creciendo aún bajo condiciones de normoxia se correlaciona con el incremento de la expresión de enzimas glucolíticas y de transportadores de glucosa, estos cambios pueden deberse a la activación del factor inducido por hipoxia 1 α (HIF-1 α). Por tanto, en este trabajo se evaluará el efecto de IL-2 sobre la expresión de enzimas clave en el switch metabólico que presentan las células tumorales. Se sembraron 100,000 células, de la línea de cáncer de cérvix SiHa, en una placa de 96 pozos con estímulo de 10 o 100 UI/ml de IL-2 por diferentes periodos de tiempo, para evaluar su proliferación mediante la técnica de Cristal Violeta. Por otra parte, 2x10⁶ células se estimularon con IL-2 para analizar la expresión de STAT3, PDK-1, HIF1 α y GLUT1. Se extrajo RNA con TRIzol y se realizó una RT-PCR seguida de una PCR para observar el efecto de la citocina sobre la expresión de estos genes. Se observó que el tratamiento con 10 UI/ml de IL-2 sobre las células SiHa aumenta la proliferación, mientras que con 100 UI/ml de IL-2 disminuye la proliferación. Además, se observó un aumento en la expresión de los genes STAT3, HIF1 α , PDK1 y GLUT1 con el tratamiento con 10 UI/ml de IL-2. Nuestros resultados sugieren la activación de la vía Jak-STAT3 después del estímulo dosis dependiente de IL-2, además de que el aumento en la expresión de STAT3 se correlaciona con la expresión de estos genes involucrados en el switch metabólico que presentan estas células de cáncer de cérvix.

Proyecto apoyado por CONACYT (CB253262).

Análisis de la vía WNT canónica en cultivos derivados de las líneas celulares HeLa y SiHa

Miguel Angel Sarabia Sánchez, Alejandro García Carrancá, Elizabeth Ortiz Sánchez
Instituto Nacional de Cancerología
Av. San Fernando 22, 14080 CDMX Tel: 56280400 Ext. 32095
Correo: mike_sarabia@hotmail.com

El cáncer se caracteriza por una heterogeneidad celular inter-tumoral e intra-tumoral. Esta heterogeneidad representa un reto en el campo clínico, por lo que se han propuesto modelos que permitan explicarlo. Dentro de estos, el Modelo de Plasticidad ha sido propuesto recientemente y parece aproximarse más a lo descrito en el cáncer. En este modelo se propone a las Células Troncales Cancerosas (CTC) como claves para iniciar y mantener el crecimiento de un tumor. Sin embargo un gran esfuerzo se ha enfocado en afirmar la existencia de las CTC en diferentes tipos de cáncer así como sus características biológicas, ya que suelen hallarse en porcentajes muy bajos en comparación al total de un tumor. Una de las características de la mayoría de CTC es la alta actividad de la enzima ALDH (ALDH^{ALTO}) por lo que ha sido empleado como marcador celular.

Por otro lado, el cáncer cérvico-uterino (Cacu) es uno de los tipos de cáncer más comunes y una de las principales causas de muerte entre las mujeres a nivel global. En el Cacu se presenta una desregulación en la señalización celular, dentro de las cuales está la vía WNT canónica. De manera interesante la vía WNT canónica también es relevante en las CTC, pero aún se desconoce si la vía WNT pudiera ser importante para las CTC en el Cacu.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la vía WNT canónica en HeLa y SiHa, dos líneas celulares provenientes de Cacu, tanto en el cultivo prototipo en monocapa como en cultivo de esferas, el cual es un tipo de cultivo donde los porcentajes de CTC incrementa, permitiendo así su estudio.

Los resultados mostraron que HeLa y SiHa tienen componentes de la vía WNT canónica, además de tener una activación mínima en cultivos en monocapa. De manera interesante la vía WNT canónica incrementó en HeLa y disminuyó en SiHa en los cultivos de esferas, es decir tras el enriquecimiento de CTC. Esto señala que la relación entre la vía WNT canónica y las CTC depende de la línea celular. Bajo la misma tendencia, al activar la vía WNT canónica y medir los porcentajes de células ALDH^{ALTO} se observó que HeLa y SiHa responden de manera diferente, lo que resalta que a pesar de que HeLa y SiHa provienen del mismo tipo de cáncer, tienen características biológicas diferentes.

Análisis de la vía Akt/GSK-3 β / β -catenina y su relación con el factor de transcripción TCF-4 en etapas tempranas de la carcinogénesis renal in vivo.

Axel Trinidad-López, Patricia Curiel-Muñiz, José Solano, María Elena Ibarra-Rubio*.
Departamento de Biología, Edificio F, Laboratorio 225, Facultad de Química, UNAM, México, CDMX. 04510. Tel. (55)56223869, axeltrinidad789@gmail.com, meir@unam.mx*

Uno de los tipos de cáncer urológico más común es el carcinoma de células renales (CCR). El CCR se origina en las estructuras tubulares del riñón y hasta el momento se han establecido 14 subtipos histológicos, siendo el más frecuente el de células claras (CCRcc) representando el 70% aproximadamente. Esta es una neoplasia generalmente asintomática en etapas tempranas lo cual dificulta su detección oportuna y tratamiento, lo que lleva, entre otras razones, a una alta tasa de mortalidad, además es prácticamente imposible estudiar las etapas tempranas de su desarrollo, razón por la cual, es necesario la implementación de modelos animales bien caracterizados que reproduzcan el desarrollo de la enfermedad con la finalidad de estudiar distintas etapas de la carcinogénesis. Un modelo murino utilizado para la generación de CCR, consiste en la administración sostenida de Nitrilotriacetato de hierro (FeNTA). En nuestro laboratorio se implementó este modelo para la obtención de CCR, con base en los diferentes resultados obtenidos, se ha considerado que exposiciones durante 1 y 2 meses con FeNTA son etapas tempranas del desarrollo de la neoplasia.

Por otro lado en nuestro laboratorio se han reportado alteraciones en los niveles de las proteínas Akt, GSK-3 β y β -catenina en etapas tempranas. Sin embargo, los datos obtenidos solo representan las variaciones en los niveles de proteínas sin establecer relación entre ellas. Por lo que decidimos estudiar a detalle si estas proteínas en etapas tempranas están interaccionando entre sí para modular procesos celulares como proliferación, supervivencia, crecimiento celular, etc.

Como se ha reportado en la literatura p-Akt, fosforila a GSK-3 β en su residuo de S9 ocasionando su inhibición, para comprobar si esto estaba sucediendo en nuestro modelo, se realizaron ensayos de inmunoprecipitación de Akt para la posterior detección de GSK-3 β . Los resultados obtenidos nos demuestran que Akt es al menos una de las cinasas responsables de fosforilar a GSK-3 β en etapas tempranas de la carcinogénesis. Con la inhibición de GSK-3 β , río abajo de la señalización está no puede regular los niveles de β -catenina en el citoplasma, ocasionando un aumento de β -catenina en el citoplasma y su posible translocación al núcleo donde actuaría como coactivador de factores de transcripción. Se realizaron ensayos de inmunohistoquímicas (IHQ) de corteza renal para determinar la distribución celular de β -catenina. Sorprendentemente en muestras tratadas con FeNTA a uno y dos meses se obtuvo tinción positiva en citoplasma y en núcleo a diferencia de las muestras del grupo control las cuales presentaron tinción basal en el citoplasma y ausencia de tinción en el núcleo. Adicional a esto, y con la finalidad de reforzar los datos obtenidos por IHQ se realizaron western blot (WB) de fraccionamientos celulares de tejido renal en donde se obtuvo un aumento de β -catenina en las fracciones nucleares en comparación con las fracciones citoplasmáticas. Esto sugiere que la inhibición de GSK-3 β por p-Akt genera un aumento en los niveles de β -catenina citoplasmática favoreciendo su translocación al núcleo en donde se podrá estar asociando con factores de transcripción como TCF-4 para promover la transcripción de genes blanco como c-myc y algunas metaloproteasas de matriz.

En conclusión estos resultados sugieren que en etapas tempranas de la carcinogénesis la vía de señalización Akt/GSK-3 β / β -catenina está participando en el desarrollo de la patología, sin embargo resultaría interesante estudiar cual es el rol de β -catenina al interior del núcleo.

Una proteína tipo BiP de *Symbiodinium* es fosforilada diferencialmente en treonina en respuesta a la luz.

Marco A. Villanueva, Raúl E. Castillo-Medina, Tania Islas-Flores.

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, Universidad Nacional Autónoma de México-UNAM.

Prol. Avenida Niños Héroes S/N, C.P. 77580 Puerto Morelos, Q. Roo, México.

Email: marco@cmarl.unam.mx

Los organismos dinoflagelados fotosintéticos del género *Symbiodinium* poseen mecanismos de regulación exquisitos para responder y adaptarse a distintas condiciones de luz del medio ambiente; más aún, en condiciones endosimbióticas donde tienen que optimizar la captación de fotones para la fotosíntesis. Esto resulta en un sofisticado sistema de regulación que actúa en respuesta a dichos estímulos de luz del medio ambiente. Numerosas cascadas de señalización son reguladas a través de mecanismos de fosforilación/desfosforilación y la respuesta a estímulos de luz no debe ser la excepción en *Symbiodinium*. Para probar esta hipótesis, se llevó a cabo un tamizado por western blot con anticuerpos anti-fosfo treonina, de proteínas que se fosforilan o desfosforilan en respuesta a estímulos de luz en extractos de tres especies de *Symbiodinium*: *S. microadriaticum*, *Fugacium kawagutii*, y *Breviolum psygmophilum*. Se detectaron varias proteínas fosforiladas diferencialmente en treonina pero una en particular de 75 kDa estuvo presente en las tres especies y respondió bajando su nivel de fosforilación en respuesta a la luz indicando que no fue una respuesta específica de una especie. Se encontró que dicha desfosforilación no fue dependiente de la intensidad de luz pues varias intensidades ensayadas no cambiaron la respuesta, ya que se obtuvo una respuesta de desfosforilación con tan poco como $1 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Por otro lado, tampoco se observó una respuesta a un espectro de luz en particular cuando se ensayaron espectros de luz azul, amarilla y roja para el estímulo. La proteína fue separada en geles de doble dimensión y aislada para su secuenciación parcial de péptidos. La secuencia arrojó identidad a una proteína tipo BiP de *S. microadriaticum* y perteneciente a la familia de las HSP por lo que fue denominada SmichHSP75. Esta identidad sugiere que la proteína es parte de un mecanismo en el que un sensor de intensidad de luz dispara una cascada de señalización que activa chaperonas para contender con el estrés de radiación intensa cuando se da el cambio de fotoperíodo de oscuridad a condición de luz. Será interesante determinar la identidad de las cinasas y fosfatasa asociadas a dicha respuesta, e identificar al sensor que inicia el disparo de la cascada de señalización en *Symbiodinium*.

Apoyado por los proyectos IN-203718 de PAPIIT DGAPA-UNAM y 285802 de CONACyT.