



150Años

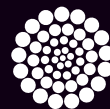
ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA / MÉXICO

COLECCIÓN DE ANIVERSARIO

ESTADO DEL ARTE DE LA MEDICINA

2013–2014: BIOLOGÍA MÉDICA

Enrique Ruelas Barajas
Alberto Lifshitz Guinzberg
Jaime Mas Oliva



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología



150Años

ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA / MÉXICO

ESTADO DEL ARTE DE LA MEDICINA

2013–2014: **BIOLOGÍA MÉDICA**



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Mesa Directiva
de la Academia Nacional de Medicina
2013-2014

Presidente

Dr. Enrique Ruelas Barajas

Vicepresidente

Dr. Enrique Graue Wiechers

Secretario General

Dr. Javier Mancilla Ramírez

Tesorero

Dr. Germán Fajardo Dolci

Secretaria Adjunta

Dra. Elsa Josefina Sarti Gutiérrez

Comité Organizador de las Actividades Conmemorativas
del CL Aniversario de la Fundación
de la Academia Nacional de Medicina de México

Presidente

Dr. Enrique Ruelas Barajas

Coordinador General

Dr. Carlos E. Varela Rueda

Coordinador del Subcomité de Actividades Científicas

Dr. Raúl Carrillo Esper

Coordinador del Subcomité de Actividades Editoriales

Dr. Alberto Lifshitz Guinzberg

Coordinador del Subcomité de Actividades Culturales

Dr. Emilio García Procel†

Dr. Julio Sotelo Morales

Coordinador del Subcomité de Actividades Sociales

Dr. Germán Fajardo Dolci



150 Años

ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA / MÉXICO

ESTADO DEL ARTE DE LA MEDICINA

2013–2014: BIOLOGÍA MÉDICA

Editores:

Enrique Ruelas Barajas
Alberto Lifshitz Guinzberg

Coeditor:

Jaime Mas Oliva



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

DERECHOS RESERVADOS © 2014, por:
Academia Nacional de Medicina (ANM)

Editado, impreso y publicado, con autorización de la Academia Nacional de Medicina, por



Intersistemas, S.A. de C.V.
Aguilar y Seijas 75
Lomas de Chapultepec
11000, México, D.F.
Tel. (5255) 5520 2073
Fax (5255) 5540 3704
intersistemas@intersistemas.com.mx
www.intersistemas.com.mx

Estado del Arte de la Medicina

2013–2014: Biología médica, primera edición

Colección: Estado del Arte

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede reproducirse, almacenarse en cualquier sistema de recuperación inventado o por inventarse, ni transmitirse en forma alguna y por ningún medio electrónico o mecánico, incluidas fotocopias, sin autorización escrita del titular de los derechos de autor.

ISBN 978-607-443-492-7

Advertencia

Debido a los rápidos avances en las ciencias médicas, el diagnóstico, el tratamiento, el tipo de fármaco, la dosis, etc., deben verificarse en forma individual. El(los) autor(es) y los editores no se responsabilizan de ningún efecto adverso derivado de la aplicación de los conceptos vertidos en esta publicación, la cual queda a criterio exclusivo del lector.



Reproducir esta obra en cualquier formato es ilegal. Infórmate en: info@cempro.org.mx

Créditos de producción

Alejandro Bravo Valdez
Dirección editorial

Dra.(c) Rocío Cabañas Chávez
Cuidado de la edición

LDG Edgar Romero Escobar
Diseño de portada

LDCV Beatriz del Olmo Mendoza
Formación

DCG Marco A. M. Nava
Coordinación de proyectos

J. Felipe Cruz Pérez
Control de calidad

Impreso en México

Printed in Mexico

Editores

Dr. Enrique Ruelas Barajas

Presidente de la Academia Nacional de Medicina de México

Dr. Alberto Lifshitz Guinzberg

Medicina Interna

Secretario de Enseñanza Clínica de la Facultad de Medicina

de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

Academia Nacional de Medicina

Academia Mexicana de Cirugía

Academia Nacional de Educación Médica

[Los números entre corchetes refieren los capítulos de los autores, escritos por ellos solos o en coautoría.]

V

Coeditor

Dr. Jaime Mas Oliva

Doctor en Bioquímica, Imperial College de la Universidad de Londres,
Gran Bretaña

Médico, Universidad Nacional Autónoma de México

Investigador titular en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Jefe de la División de Investigación de la Facultad de Medicina, UNAM

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III

[6]

Colaboradores

Dr. Estuardo Aguilar Córdova

Doctor en Genética Molecular, University of California, Davis

Licenciado en Biología, State University of California, Bakersfield

Médico, Universidad Francisco Marroquín, Guatemala

Cofundador, Presidente y CEO de Advantegene, Inc.

Ex Director Adjunto de la Iniciativa de Terapia del Gen de Harvard,
Harvard Medical School en Boston, MA

Ex miembro de la Facultad de Pediatría, Hemato-oncología,
en Baylor College of Medicine en Houston, TX

Ex presidente de la Sociedad Latinoamericana de Terapia Génica

[5]

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas

Médico especialista en Medicina Interna y Endocrinología,
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Doctor en Investigación Clínica
Estancia de investigación en la School of Medicine, Washington University,
St. Louis, Estados Unidos
Subjefe del Departamento de Endocrinología y Metabolismo
del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Investigador de los Institutos Nacionales de Salud, Nivel F
Miembro de la Academia Nacional de Medicina de México
[4]

Dr. José Antonio Arias Montaña

Médico Cirujano, UAM, y Doctor en Ciencias, Cinvestav, IPN
Ex *Research Fellow* de la Universidad de Cambridge
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias, British Pharmacological Society
y European Histamine Research Society
Ex presidente de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas
[1]

Dr. Jorge Ángel Isidro Ascacio Martínez

Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad Autónoma de Coahuila
Especialidad en Microbiología
Maestro y Doctor en Ciencias con especialidad en Biología Molecular e Ingeniería
Genética, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL)
Profesor e Investigador, responsable del Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, Facultad de Medicina (UANL)
[5]

Dr. Hugo Alberto Barrera Saldaña

Posdoctorado en el Laboratorio del Profesor Pierre Chambon de la Université
Louis Pasteur de Estrasburgo, Francia
Doctor en Ciencias, Escuela de Graduados en Ciencias Biomédicas
de UTHSC-Houston
Especialidad en Conversión de Tecnología en el Instituto de IC de Austin, Texas
Licenciado en Biología y en Bioquímica, UANL
Profesor en el Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular,
Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL)
[5]

Dra. Ingeborg Becker

Médico Cirujano y Doctora en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, UNAM
Profesora Titular “C”, Jefe del Laboratorio de Inmunoparasitología y Coordinadora de Investigación de la Unidad de Investigación en Medicina Experimental de la Facultad de Medicina, UNAM
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Miembro del Programa PRIDE “D” en la Facultad de Medicina
[2]

Dra. Norma A. Bobadilla Sandoval

Doctora en Ciencias Fisiológicas, UNAM
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Miembro numerario de la Academia Nacional de Medicina y de la Academia Mexicana de Ciencias
[1]

Dra. Martha Bucio Torres

Médico Cirujano y Maestra en Ciencias Biomédicas en Parasitología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
Candidata a Doctora en Ciencias Médicas y Biológicas, UABJO
Adscrita al Laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología
Profesora Titular “A” tiempo completo definitivo de la Facultad de Medicina, UNAM
Profesora titular de la asignatura de Microbiología y Parasitología
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I
Investigadora del Programa de Primas de Desempeño del Personal Académico, Nivel “C” (DGAPA)
[2]

M. en C. Margarita Cabrera Bravo

Maestría en Ciencias Biomédicas (Parasitología)
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I
Nivel de PRIDE C
[2]

Dra. Carmen Leticia Cruz Revilla

Licenciada en Biología, Maestra y Doctora en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México
Profesora Asociada “C” de tiempo completo en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, UNAM
[1]

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Médico Cirujano y Partero, Maestro en Ciencias Fisiológicas,

B. Universidad Autónoma de Puebla (BUAP)

Doctor en Neurociencias, Departamento de Fisiología, Biofísica

y Neurociencias del Cinvestav

Ex presidente de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas

y de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III

Profesor PROMEP y miembro del Cuerpo Académico consolidado en Neurociencias

[1]

Dra. Ana Flisser

Bióloga, UNAM y Doctora en Ciencias, IPN

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM

Coordinadora del Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM)

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III, y PRIDE D

Presidenta del XIII Congreso Internacional de Parasitología 2014

[2]

Dr.(c) Víctor García González

Pasante del Doctorado en Ciencias Bioquímicas de la Universidad Nacional

Autónoma de México

Q.F.B., Universidad Autónoma del Estado de México

[6]

Dr. Patricio Gariglio Vidal

Departamento de Genética y Biología Molecular, Cinvestav, IPN

[5]

Dra. Lorenza González Mariscal

Licenciada en Biología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

Maestra en Biología Experimental, UAM-I, y Doctora, Cinvestav

Investigadora 3E del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Cinvestav

[1]

Dr. Óscar González Pérez

Médico y Doctor en Ciencias Fisiológicas, Universidad de Colima

Posdoctorado en el *Development Stem Cell Program* de la Universidad

de California en San Francisco

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II

Académico, Academia Nacional de Medicina de México

Profesor-investigador adscrito al Laboratorio de Neurociencias

Facultad de Psicología de la Universidad de Colima

Profesor invitado del *Brain Tumor Research Program* de la Escuela de Medicina,

Johns Hopkins University

Editor huésped de *Frontiers in Cellular Neuroscience, Stem Cells International*

y del *Current Signal Transduction Therapy*

[1]

Dra. Martha Guerrero Olazarán

Profesora Titular “C”, Instituto de Biotecnología, FCB, UANL
Maestra en Ciencias en Comercialización de Ciencia y Tecnología
CGIE, Universidad de Texas en Austin y CIMAV
Doctora en Ciencias Humanas, Universidad de Heidelberg, Alemania
Maestría en Química Analítica Aplicada, Universidad Regiomontana
Licenciada en Ciencias Químicas, ITESM
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II
Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias
[5]

Dra. Rosalinda Guevara Guzmán

Médico Cirujano, Facultad de Medicina de la UNAM
Maestra en Ciencias Fisiológicas, División de Estudios de Posgrado
Doctora en Ciencias Biomédicas (en el área de Fisiología)
Profesor Titular “C” de tiempo completo, adscrita al Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina, UNAM
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Investigador del PRIDE, Nivel “D”, DGAPA
Secretaria General de la Facultad de Medicina, UNAM
[1]

M. en C.(c) Nadia Gutiérrez Quintanar

Pasante de la Maestría en Ciencias Bioquímicas, Universidad Nacional
Autónoma de México
Bióloga, Universidad Autónoma del Estado de México
[6]

Dr. Jorge Manuel Hernández Rodríguez

Médico Cirujano, Facultad de Medicina, UNAM
Maestro en Bioquímica y Enzimología Médica, Hôpital des Enfants Malades,
Lab. de Génétique Médicale, INSERM-CNRS, París, Francia
Doctor en Ciencias Biomédicas, Bioquímica y Fisiología del Desarrollo,
Universidad Karlová, Instituto de Fisiología, Academia Checoslovaca
de Ciencias, República Checa
Profesor e Investigador Titular, Nivel 3D, Laboratorio de Neurontogenia, Cinvestav
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II
[1]

Dra. Marcia Hiriart

Médico Cirujano, Facultad de Medicina, UNAM
Maestra y Doctora en Ciencias en Fisiología y Biofísica, Cinvestav, IPN
Investigadora Titular “C” en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Posdoctorado en la University of Pennsylvania, Filadelfia, Estados Unidos
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Profesora de Fisiología Humana en la Facultad de Medicina de la UNAM
[1]

Dr. Enrique Hong Chong

Médico Cirujano, UNAM

Doctor en Ciencias, Cinvestav, IPN

Estancia en Miles Labs., Inc., en Ind., Estados Unidos

Investigador Emérito del Sistema Nacional de Investigadores (SNI)

Profesor Titular del Cinvestav

Miembro del Consejo Consultivo de Ciencias de la Presidencia de la República

[4]

Dra. Kathrine Jáuregui Renaud

Investigadora Titular, Jefe de la División de Evaluación de la

Investigación, Coordinación de Investigación en Salud del IMSS

Profesora del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, UNAM

Médico, Maestra y Doctora en Ciencias Médicas, UNAM

Especialidad en Audiología y Otoneurología en el IMSS

Entrenamiento en Otoneurología en la University of Linköping

en Suecia y *fellowship* en la Human Movement and Balance Unit

del Consejo Británico de Investigación Médica

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores

[1]

M. en C. Magdalena Kuri Nivon

Maestra en Ciencias

Miembro titular de la Sociedad Mexicana de Cardiología

Especialista en Embriología y Morfología de las Cardiopatías Congénitas

Profesora de Embriología, Instituto Politécnico Nacional (IPN)

[3]

Biól. Mario N. Martínez Gordillo

Biólogo, Facultad de Ciencias, UNAM

Investigador en Ciencias Médicas “B” en el Laboratorio de Parasitología

Experimental del Instituto Nacional de Pediatría, SSA

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I

Profesor de asignatura en la Facultad de Ciencias, UNAM

Miembro activo de la Sociedad Mexicana de Parasitología

[2]

Dr. Roberto Medina Santillán

Médico Cirujano, Facultad de Medicina de la UNAM

Maestro en Ciencias con especialidad en Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN

Doctor en Ciencias con especialidad en Investigación en Medicina

Posdoctorado en Medicina Experimental en la Universidad de Tulane en Nueva Orleans

Profesor Titular “C”, Departamento de Investigación y Posgrado de la Escuela Superior de Medicina del IPN

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores

Miembro de la Academia Nacional de Medicina de México

[4]

Dr. Octavio Mercado Gómez

Biólogo, Facultad de Ciencias de la UNAM
Doctor en Ciencias, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
Técnico académico asociado “C” de tiempo completo, Departamento
de Fisiología de la Facultad de Medicina, UNAM
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I
[1]

Dr. Luis Muñoz Castellanos

Embriólogo y patólogo de las malformaciones congénitas
cardiovasculares
Jefe del Departamento de Embriología del Instituto Nacional
de Cardiología Ignacio Chávez
Miembro titular de la Academia Nacional de Medicina
Miembro Honorario de la Sociedad Mexicana de Cardiología
Profesor de Embriología, Instituto Politécnico Nacional
[3]

Dra. Rocío Ortíz López

Doctora en Ciencias con especialidad en Biología Molecular
e Ingeniería Genética, Facultad de Medicina, UANL
Posdoctorado en Genética Humana Molecular, Baylor College
of Medicine, Houston, Texas
Profesora investigadora del Departamento de Bioquímica y Medicina
Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL
Líder de la Unidad de Genómica del Centro de Investigación
y Desarrollo en Ciencias de la Salud de la UANL
Químico Fármaco Biólogo, Universidad Veracruzana
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II
[5]

Dr. Gustavo Pastelín Hernández

Médico Cirujano, UNAM
Jefe del Departamento de Farmacología, Instituto Nacional
de Cardiología Ignacio Chávez
Miembro de la Academia Nacional de Medicina de México
[4]

Dr. Antonio Alí Pérez Maya

Licenciado en Bioquímica, Universidad de la Habana, Cuba
Maestro en Ciencias y Doctor en Ciencias en Biología Molecular e Inge-
nería Genética, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).
Profesor e investigador, Departamento de Bioquímica y Medicina
Molecular, Facultad de Medicina de la UANL
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel Candidato
[5]

Dra. Martha Ponce Macotela

Médico Cirujano, FES Zaragoza, UNAM
 Doctora en Ciencias, Facultad de Medicina, UNAM
 Investigador en Ciencias Médicas “D” y Jefe del Laboratorio
 de Parasitología Experimental en el Instituto Nacional de Pediatría
 Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I
 Profesora de asignatura, Facultades de Medicina y Ciencias, UNAM
 Miembro activo de la Sociedad Mexicana de Parasitología
 [2]

M. en C. Aarón Rodríguez Caballero

Biólogo, Facultad de Ciencias, UNAM
 Maestro en Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, UNAM
 Investigador en Ciencias Médicas “A”, en el Laboratorio de Parasitología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría, SSA
 [2]

Dr. Mario Henry Rodríguez López

Médico Cirujano, Universidad de Yucatán. especialista en Medicina
 Interna, Instituto Nacional de la Nutrición y UNAM
 Maestro y Doctor en Parasitología Médica, Escuela de Higiene
 y Medicina Tropical de la Universidad de Londres
 Posdoctorado, Escuela de Salud Pública, Harvard University
 Investigador en Ciencias Médicas “F” en el CISEI
 Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
 Miembro titular de la Academia Nacional de Medicina
 [2]

Dr. Augusto Rojas Martínez

Médico Cirujano, Escuela Colombiana de Medicina, Bogotá, Colombia,
 Maestro en Genética Humana, Universidad de Guadalajara
 Doctor en Biología Molecular, Universidad Autónoma de Nuevo León
 (UANL)
 Posdoctorado en Terapia Génica y Celular, Baylor College
 of Medicine, Houston, Texas
 Profesor de la Facultad de Medicina, UANL
 Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel II
 Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias.
 Miembro y Vocal de la Academia Nacional Mexicana de Bioética,
 Capítulo Nuevo León.
 Miembro del Comité Científico de la Escuela Latinoamericana de Genética Humana (Porto Alegre, Brasil).
 Ex presidente de la Asociación Mexicana de Genética Humana
 2008-2009 y de la Red Latinoamericana de Genética Humana 2011-2013
 [5]

Dra. Adela Luisa Ruiz Hernández

Médico Cirujano, Facultad de Medicina, UNAM
Adscrita al Laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento
de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM
Profesor Asociado “B” de tiempo completo definitivo
Profesora titular de la asignatura de Microbiología y Parasitología
Investigadora del Programa de Primas de Desempeño del Personal
Académico, Nivel “C”
Secretaria de la Asociación Mexicana de Profesores de Microbiología
y Parasitología, A. C.
[2]

Dra. Paz María Salazar Schettino

Médico Cirujano con especialidad en Parasitología
Maestra y Doctora en Ciencias Biomédicas en Parasitología, UNAM
Jefe del Departamento de Microbiología y Parasitología
Profesora Titular “C” tiempo completo definitivo, Facultad de Medicina, UNAM
Profesora titular de la asignatura de Microbiología y Parasitología
y del Taller “Estudio biológico y molecular de los parásitos
de importancia médica”, en la Facultad de Ciencias
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II, y del Progra-
ma de Primas de Desempeño del Personal Académico, Nivel “D”
Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias, Academia Nacional de
Medicina, Academia Mexicana de Ciencias, Tecnología e Innovación
Reconocimiento “Sor Juana Inés de la Cruz 2013”.
[2]

Dr. Xavier Soberón Mainero

Químico, Universidad Iberoamericana
Doctor en Investigación Biomédica, UNAM
Investigador del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel III
Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias
Académico, Academia Nacional de Medicina
Director General del Instituto Nacional de Medicina Genómica
Miembro de la Junta de Gobierno de la UNAM
[5]

Pas. de Lic. Ivonne Torres Galicia

Pasante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias, UNAM
[2]

Dra. María del Carmen Villalobos Torres

Licenciada en Químico Clínico Biólogo y Maestra en Ciencias
en Biología Molecular e Ingeniería Genética, Universidad
Autónoma de Nuevo León (UANL)

Doctora en Ciencias en Biomedicina y Biotecnología Molecular, Insti-
tuto Politécnico Nacional (IPN)

Profesora e investigadora, Departamento de Bioquímica y Medicina
Molecular de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma
de Nuevo León (UANL)

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel Candidato

[5]

CONTENIDO

Presentación.....	XIX
<i>Enrique Ruelas Barajas</i>	
Prólogo.....	XXI
<i>Alberto Lifshitz Guinzberg</i>	
1. Fisiología: Neurociencias	1
<i>Introducción</i>	1
<i>Fisiología celular y molecular del receptor a histamina H3</i>	2
<i>José Antonio Arias Montaña</i>	
Modulación de la liberación de neurotransmisores.....	2
Regulación de la función del receptor H3.....	2
Conclusión	3
<i>La zona ventricular-subventricular del cerebro adulto y las enfermedades desmielinizantes</i>	3
<i>Óscar González Pérez</i>	
<i>Aspectos neurobioquímico-clínicos de la ontogenia y el estado nutricional</i>	5
<i>Jorge Manuel Hernández Rodríguez</i>	
<i>De la función a la clínica: el ejemplo del sistema vestibular</i>	7
<i>Kathrine Jáuregui Renaud</i>	
<i>El papel del sistema olfatorio en enfermedades neurodegenerativas</i>	9
<i>Rosalinda Guevara Guzmán Carmen Leticia Cruz Revilla Octavio Mercado Gómez</i>	
<i>De sueños y ensoñaciones: el cerebro vibrante</i>	10
<i>José Ramón Equibar Cuenca</i>	
<i>ZO-2, proteína inhibidora de la proliferación celular</i>	11
<i>Lorenza González Mariscal</i>	

<i>Un nuevo actor en la fisiopatología renal</i>	13
<i>Norma A. Bobadilla Sandoval</i>	
<i>Las células beta en el síndrome metabólico.....</i>	15
<i>Marcia Hiriart</i>	
2. Parasitología	21
<i>Aportaciones al conocimiento de la parasitología en México.....</i>	21
<i>Adela Luisa Ruiz Hernández</i>	
<i>Leishmaniasis en México.....</i>	23
<i>Ingeborg Becker</i>	
<i>Ivonne Torres Galicia</i>	
<i>Enfermedad de Chagas</i>	24
<i>Martha Bucio Torres</i>	
<i>Margarita Cabrera Bravo</i>	
<i>Paz María Salazar Schettino</i>	
<i>Historia del paludismo</i>	26
<i>Mario Henry Rodríguez</i>	
<i>Cisticercosis</i>	28
<i>Ana Flisser</i>	
<i>Magnitud actual de las parasitosis intestinales en México</i>	30
<i>Paz María Salazar Schettino</i>	
<i>Martha Ponce Macotela</i>	
<i>Aarón Rodríguez Caballero</i>	
<i>Mario N. Martínez Gordillo</i>	
3. Embriología	35
<i>Sistema secuencial segmentario y cardiopatías congénitas.....</i>	35
<i>Luis Muñoz Castellanos</i>	
<i>Magdalena Kuri Nivón</i>	
<i>Determinación del situs auricular</i>	37
<i>Conexiones auriculoventriculares</i>	38
<i>Conexiones ventriculoarteriales.....</i>	42
<i>Particularidades adicionales</i>	43
<i>Anomalías agregadas.....</i>	43
4. Farmacología	49
<i>Nuevos fármacos en el tratamiento del síndrome metabólico ...</i>	49
<i>Roberto Medina Santillán, Carlos A. Aguilar Salinas,</i>	
<i>Gustavo Pastelín Hernández, Enrique Hong Chong</i>	

Dislipidemia del síndrome metabólico	50
El síndrome metabólico y el sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	53
Agonistas serotoninérgicos 5-HT ₂ y síndrome metabólico	55
El sistema serotoninérgico y el metabolismo de glucosa	56
5. Biotecnología: investigaciones con genes de impacto en la salud	61
<i>Evolución de genes y genomas.....</i>	<i>61</i>
<i>Antonio Ali Pérez Maya</i> <i>Hugo Alberto Barrera Saldaña</i>	
Genómica comparativa como herramienta de estudio	61
El locus de la hormona del crecimiento y la evolución molecular del genoma de los primates	62
La historia evolutiva del locus GH en los primates.....	64
<i>Regulación de la expresión de genes.....</i>	<i>67</i>
<i>Patricio Gariglio Vidal</i>	
Regulación genética y epigenética.....	69
Los oncogenes virales E6 y E7.....	73
<i>Aprovechamiento biotecnológico de genes.....</i>	<i>78</i>
<i>Jorge Ángel Isidro Ascacio Martínez</i> <i>Martha Guerrero Olazarán</i> <i>Hugo Alberto Barrera Saldaña</i>	
Usos de la HGH recombinante.....	80
Principales miembros de la familia HGH	81
Somatomamotropina coriónica humana	83
<i>Pichia pastoris</i> como sistema de expresión	83
Plataformas biotecnológicas de laboratorio.....	85
<i>Diagnóstico con genes</i>	<i>87</i>
<i>Rocío Ortíz López</i> <i>María del Carmen Villalobos Torres</i> <i>Hugo Alberto Barrera Saldaña</i>	
Origen	88
Los primeros pasos hacia el diagnóstico clínico	88
Consolidación de la UDM y su expansión al entorno clínico	89
De la genética a la genómica	90
<i>Del genoma a la enfermedad</i>	<i>93</i>
<i>Xavier Soberón Mainero</i>	
<i>Curar con genes</i>	<i>97</i>
<i>Augusto Rojas Martínez</i> <i>Estuardo Aguilar Córdova</i> <i>Hugo Alberto Barrera Saldaña</i>	

6. Bioquímica	113
<i>El estudio de péptidos y proteínas de unión a lipopolisacáridos</i>	113
<i>Nadia Gutiérrez Quintanar</i>	
<i>Víctor García González</i>	
<i>Jaime Mas Oliva</i>	
Introducción	113
Respuesta del sistema inmune	114
Lipopolisacáridos	116
Proteínas de unión a lipopolisacáridos	118
Enfoque farmacológico.....	119
Péptidos antimicrobianos: una posibilidad terapéutica.....	121
Proteína CETP y la isoforma CETPI.....	123
Resumen	125

XVIII

PRESENTACIÓN

La Academia Nacional de Medicina de México celebra este año un hito en su historia y en el devenir de la medicina mexicana al cumplir ciento cincuenta años de fructífera y exitosa trayectoria desde su fundación. Por ello, la Mesa Directiva de nuestra Corporación ha considerado indispensable dejar testimonios fehacientes de lo que hoy constituye el estado del arte en torno a múltiples temas médicos. Esta publicación forma parte de una colección editorial de aniversario, de la que este libro, junto con otros, constituyen la subcolección de estados del arte de la Medicina que la Academia edita para conmemorar este sesquicentenario. La colección completa incluye no solamente la presentación de lo que hoy sabemos, como esta obra, sino también de lo que hemos sido, de lo que suponemos podrá ser el futuro y de lo que pensamos como científicos y humanistas en este 2014.

El propósito de estos análisis sobre el estado del arte es doble. Por supuesto, esperamos que se conviertan en un punto de referencia presente que contribuya a la actualización de los médicos en un buen número de temas de nuestro ámbito de conocimiento. Además, estamos seguros de que, con el paso de los años, los textos de la subcolección Estado del Arte deberán de convertirse también en una obra clásica que dé cuenta de lo que hoy creemos saber y que pronto se convertirá en historia, continuación de la misma que hoy celebramos con entusiasmo y agradecimiento, cuando miramos atrás y descubrimos la riqueza que sustenta nuestra sólida y entrañable tradición.

Enrique Ruelas Barajas

Presidente

PRÓLOGO

Las disciplinas que conforman a la medicina son cada día más complejas y avanzan a velocidad vertiginosa. Lo que hoy es cierto puede no serlo mañana y ciertamente no lo fue ayer, pero no se puede detener el tiempo para acechar una visión limitada del conocimiento vigente. Con el artificio que supone, definir un “estado del arte” representa un testimonio instantáneo para los lectores del presente y del futuro, como si las cosas no evolucionaran. Las llamadas “ciencias básicas” de la medicina tienen particularmente un ritmo de progreso casi inalcanzable, pero cuando se intenta rescatar lo que la ciencia del sesquicentenario de la Academia Nacional de Medicina conocía, este texto puede ser un referente. La fragmentación puede ser otro artificio pero la visión en profundidad exige un reduccionismo que, aunque sacrifica la extensión, puede penetrar en los detalles. Los miembros del Departamento de Biología Médica de la Academia Nacional de Medicina de México han hecho un esfuerzo de síntesis para ofrecer un legado sobre el estado actual de sus respectivas disciplinas, lo que representa sin duda un documento fascinante.

Sin pretender destacar alguna de las áreas, en este espacio está el futuro de la práctica médica. Muchas de las aportaciones que aquí se reseñan formarán parte de la cotidianidad, máxime que hay políticas que pretenden acortar el tiempo entre el descubrimiento y su aplicación. La idea de la llamada medicina translacional ofrece un acercamiento entre las ciencias básicas y las disciplinas clínicas; el diagnóstico ha evolucionado de tal manera que cada vez es más temprano; hoy se puede proceder con base en los factores de riesgo y no necesariamente en las enfermedades; se puede estimar la probabilidad de respuesta a un tratamiento y la de efectos colaterales mediante la medicina personalizada, en buena medida sustentada en la farmacogenómica; los fármacos se dirigen a blancos específi-

cos; la combinación de medicamentos obedece a reglas farmacológicas y no a inspiraciones. El conocimiento íntimo de los mecanismos para enfermar y sanar puede permitir intervenciones más eficaces. Todo esto forma parte del estado del arte, ilustrado en este texto.

Alberto Lifshitz

XXII

FISIOLOGÍA

1

Neurociencias

Introducción

1

La fisiología estudia las funciones de los seres vivos, según su definición más amplia. Para entender a cabalidad la descomposición de los sistemas en la patología, es necesario conocer su función. La fisiología moderna nos presenta el reto de integrar los enfoques moleculares con los sistémicos. El auge reciente del genoma de los distintos organismos nos muestra genes que se expresan o reprimen en distintas situaciones, de los que no sabemos su función.

La fisiología clásica ha experimentado en animales, que no necesariamente funcionan igual que el humano, más allá, la mayor parte de los estudios se ha realizado en machos y existe dimorfismo sexual en la mayor parte de las funciones. Es necesario atender estos retos y aumentar la investigación en esta área, así como en la correlación clínica de los fenómenos fisiopatológicos que nos llevan a la enfermedad, para poder realizar una práctica médica basada en evidencias.

Los participantes en el capítulo del Área de Fisiología, que forma parte integral del Departamento de Biología Médica de la Academia Nacional de Medicina, nos dedicamos a distintas ramas y tenemos enfoques particulares para llevar a cabo nuestra investigación. Por eso resulta difícil tratar un solo tema. En este capítulo presentaremos algunos temas selectos que se tratan en esta área, esperamos que resulten de interés para, en algún momento posterior, tratarlos con mayor detalle.

Fisiología celular y molecular del receptor a histamina H₃

José Antonio Arias Montaña

2

La histamina regula a nivel pre y postsináptico diversas funciones del sistema nervioso central, el cual expresa de manera abundante tres de los cuatro receptores (H₁, H₂ y H₃) a la amina acoplados a proteínas G descritos a la fecha. El receptor H₃ (H₃R) controla como autorreceptor la liberación y la síntesis de la histamina y como heterorreceptor regula la liberación de la acetilcolina, el glutamato, la dopamina, la noradrenalina, la 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina), el ácido γ -aminobutírico (GABA) y la sustancia P. Desde hace 15 años hemos estudiado los efectos de los H₃R en la liberación de neurotransmisores, en particular en los núcleos de los ganglios basales, involucrados de manera crítica en la regulación de la conducta motora. Más recientemente hemos abordado también los mecanismos que a nivel celular y molecular regulan la función del H₃R.

Modulación de la liberación de neurotransmisores

Nuestro trabajo ha mostrado que la activación del H₃R inhibe la transmisión glutamatérgica en el neocórtex, el globo pálido y el tálamo de la rata, y que este efecto se debe a la reducción de la entrada de Ca²⁺ por canales activados por voltaje. También hemos reportado que en la sustancia negra *pars reticulata* y el neocórtex, la activación de receptores presinápticos a dopamina D₁ potencia la liberación del GABA, y los H₃R que actúan sobre canales de Ca²⁺ tipo P/Q inhiben este efecto de manera selectiva. En el cerebro humano el H₃R de 445 aminoácidos coexiste con una isoforma de 365 aminoácidos, y nuestros datos indican que estos dos receptores regulan en forma diferencial la liberación de neurotransmisores por células transfectadas.

Regulación de la función del receptor H₃

Una mutación puntual (alanina28ovalina) en la tercera asa intracelular del H₃R se describió de manera inicial en un paciente con síndrome de Shy-Drager y es también un factor de riesgo para migraña. En un trabajo reciente mostramos que esta mutación reduce

la señalización del receptor, lo que podría ser relevante en la fisiopatología de estas alteraciones.

Existen varios mecanismos de regulación de la función de los receptores metabotrópicos, y nuestros datos indican que la exposición prolongada a un agonista induce desensibilización del H₃R humano y que este efecto implica la participación de cinasas de receptores acoplados a proteínas G y la internalización del receptor mediada por clatrina.

Conclusión

La función neuromoduladora del receptor a histamina H₃, tanto en condiciones normales como patológicas, indica su participación en alteraciones diversas como trastornos del sueño, arritmias cardíacas causadas por isquemia, migraña, obesidad, las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson y esquizofrenia, entre otras. En consecuencia, los fármacos que actúen sobre dicho receptor pueden ser de utilidad en dichas patologías.

3

La zona ventricular-subventricular del cerebro adulto y las enfermedades desmielinizantes

Óscar González Pérez

A principios del siglo XX, Santiago Ramón y Cajal pronuncia en un discurso las siguientes palabras:

"La naturaleza nos ha otorgado dotación limitada de células cerebrales. He aquí un capital, grande o pequeño, que nadie puede aumentar, ya que la neurona es incapaz de multiplicarse..."

Dada la jerarquía académica de don Santiago Ramón y Cajal, esta aseveración pronto se convirtió en un dogma arraigado con profundidad en el campo de las neurociencias. No fue sino hasta la década de los años sesenta, cuando el inglés Joseph Altman confrontó esta declaración al demostrar la presencia de células posnatales proliferativas con características morfológicas sugestivas de neuronas.¹ Sin embargo, fue hasta principios de los años noventa cuando el científico mexicano Arturo Álvarez Buylla *et al.* demostró de manera inequívoca el nacimiento de neuronas en el cerebro

del mamífero adulto *in vivo*.² Este mismo grupo evidenció también que el progenitor celular primario (la célula madre neural) de la neurogénesis adulta corresponde a una subpoblación astrocitaria localizada en forma adyacente a la pared estriatal de los ventrículos laterales (Figura 1.1 A), a la cual denominaron zona ventricular-subventricular (VZ-SVZ, del inglés *ventricular zone-subventricular zone*).^{3,4} En la VZ-SVZ se genera una gran cantidad de neuronas que predominantemente pueblan el bulbo olfatorio.

Recientemente, en el laboratorio del doctor Arturo Álvarez Buylla y mediante un marcaje con retrovirus que codificaba el gen de la proteína verde fluorescente (trazador celular) ligado al gen promotor de la proteína ácida fibrilar glial (un marcador de astrocitos), logramos establecer que estas células multipotentes de la VZ-SVZ generan también oligodendrocitos, los cuales contribuyen a mantener la población oligodendroglial de cuerpo calloso y responden en forma activa a lesiones desmielinizantes (Figura 1.1 B).⁵

No obstante lo anterior, la generación de oligodendrocitos en esta región es muy escasa respecto a la neuronal. Por ello, en la búsqueda de algún componente que favoreciera la especificación oligodendroglial, encontramos que la infusión intracerebroventricular del factor de crecimiento epidérmico (EGF, siglas de *Epidermal Growth Factor*) incrementaba de forma muy importante la producción de precursores oligodendrocitarios (NG2+, Olig2+ y PDGFR α +) y, sorprendentemente, abolía la producción de neu-

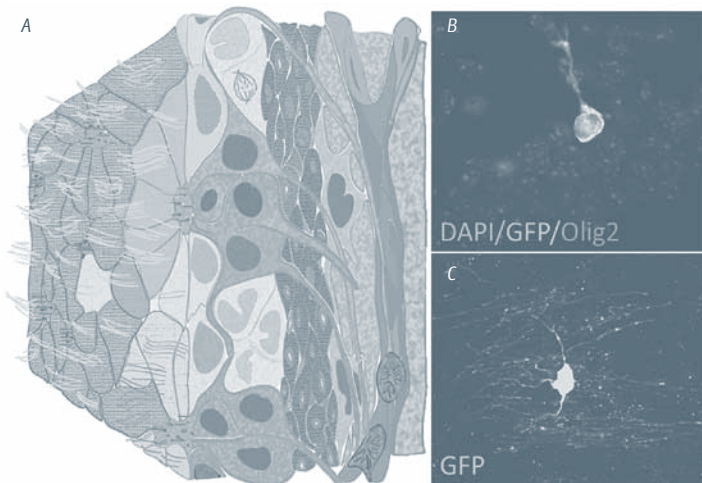


Figura 1.1. Neurogénesis adulta.

ronas.⁶ Después, encontramos que la suspensión de la infusión del EGF restituía la producción neuronal, pero los progenitores oligodendrogiales así generados se diferenciaban en oligodendrocitos maduros mielinizantes que contribuían a la reparación del daño (Figura 1.1 C).⁶ Más tarde, logramos establecer que los astrocitos subventriculares expresaban de manera considerable el receptor de EGF, por lo cual el efecto del EGF se ejercía en forma directa sobre la célula madre neural astrocitaria.

Además, determinamos que la especificación oligodendroglial dependía de la dosis, y que dicho fenómeno era independiente del microambiente de la VZ-SVZ.⁷ Todo esto en conjunto nos indicó que la VZ-SVZ podría ser una fuente eficaz de oligodendrocitos y que la célula blanco para lograr tal amplificación era el astrocito subventricular.⁸ Ahora estamos en búsqueda de agonistas farmacológicos del EGFR que amplifiquen la oligodendrogénesis subventricular y cuyos efectos resulten eficaces para contribuir a la reparación de una lesión desmielinizante.

En resumen, el EGFR es un importante inductor de la oligodendrogénesis en la VZ-SVZ, esta región germinal es una fuente rica en oligodendrocitos que podría desempeñar un papel importante en el desarrollo de terapias celulares contra las enfermedades desmielinizantes. A manera de conclusión, retomemos un segmento más del discurso de Ramón y Cajal que invita a eludir la tentación del dogmatismo científico infundado:

“Pero si se nos ha negado la posibilidad de acrecentar el caudal celular, se nos ha otorgado en cambio el inestimable privilegio de modelar, ramificar y complicar las expansiones de esos elementos [...] y no hay nada más infecundo y aun nocivo que una cabeza incapaz de aprender y corregirse”.

Aspectos neurobioquímico-clínicos de la ontogenia y el estado nutricional

Jorge Hernández Rodríguez

Nuestro grupo de investigación ha centrado sus esfuerzos de varios años de trabajo en tratar de establecer qué papel desempeñan la nutrición y los nutrimentos en los periodos tempranos del desarrollo cerebral; en particular sobre el efecto de la desnutrición proteínico-calórica. Es claro que la nutrición es importante para

el crecimiento y desarrollo de todos los organismos. Lo que no es tan obvio son los mecanismos fisiológicos que relacionan el estado nutricional real con el momento metabólico y el funcionamiento cerebral normal o alterado.

Se han reconocido los efectos deletéreos de un mal estado nutricional temprano en ciertas funciones cerebrales generales, tanto en animales experimentales como en humanos (Hernández RJ, 1973; Hernández RJ, Meneses L, Manjarrez G, 2009). Estos efectos han sido de difícil interpretación, la mayoría de ellos se relaciona con los mecanismos fisiopatológicos subyacentes. Se sabe también que una deficiente transferencia de nutrientes, agua y oxígeno provoca disfunción placentaria, tal como sucede en el cuadro clínico conocido como “insuficiencia placentaria”, que lleva a restricción del crecimiento fetal junto con importantes cambios metabólicos que implican anomalías del desarrollo morfológico y funcional del cerebro.

La malnutrición prenatal o estrés nutricional prenatal debida a una falta o disminución de la disponibilidad de algunos nutrimentos puede provocar importantes cambios en la constitución del cerebro y, también, alteraciones no tan obvias pero sutiles, que no son clínicamente evidentes.

En efecto, es importante señalar que un profundo desequilibrio de algunas vías metabólicas, no sólo puede afectar al crecimiento celular y a los procesos de desarrollo, sino también al establecimiento de circuitos y redes neuronales, que no necesariamente se manifiestan por signos clínicos evidentes, pueden durar largo tiempo y expresarse como disfunciones o como una tendencia a presentar problemas del desarrollo, como en las alteraciones del comportamiento cognitivo y psicoemocional, con una respuesta anormal a los estímulos ambientales. Este es el caso de la vía metabólica de un neurotransmisor cerebral y neuromodulador, la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), que en la etapa fetal (Mercado R, Hernández RJ, 1992; Mercado R, Florán B, Hernández RJ, 1998) tiene un papel neurotrófico importante en la diferenciación y en la correcta estructuración del cerebro y en particular de la corteza cerebral, aparte de su papel bien conocido como un clásico neurotransmisor y neuromodulador en el cerebro adulto (Hernández RJ, Chagoya G, Manjarrez GG, 1988).

El estrés nutricional, ya sea debido a una deficiente nutrición materna o por insuficiencia placentaria, puede provocar cambios metabólicos significativos en el sistema serotoninérgico cerebral que influyen negativamente en la conformación y función de la cor-

teza sensorial, lo que ha sido estudiado y confirmado por nuestro grupo en animales de experimentación y en bebés humanos que sufrieron estrés nutricional prenatal con restricción del crecimiento intrauterino (RCIU). Estos cambios neuropatológicos incluyen una respuesta anormal de la corteza visual y auditiva a estímulos específicos, también se ha descrito la presencia de alteraciones electrofisiológicas en el cerebro de ratas prenatalmente desnutridas, en particular en el hipocampo, que es la región cerebral implicada en los procesos de memoria, relacionados también con cambios metabólicos de la serotonina. Estas alteraciones metabólicas tempranas de la 5-HT pueden atribuirse a la modificación de su papel neurotrófico durante la morfogénesis cerebral, sobre todo su participación en la formación de la corteza cerebral (Medina AI, Gutiérrez OG, Hernández RJ, 2005, 2008).

En efecto, células serotoninérgicas cerebrales aparecen en forma temprana, tanto en embriones de rata como del humano, y envían mensajes tróficos a través de la liberación de 5-HT a otras células embrionarias y regular así su multiplicación y diferenciación en varias áreas del cerebro en formación, así que, es precisamente en esta función propia de la 5-HT, que una modificación en su síntesis y/o en su liberación, puede interrumpir su función trófica normal, alterando la conformación y función de la corteza cerebral (Manjarrez-Hernández RJ *et al.*, 2005; Medina AI, Gutiérrez OG, Hernández RJ, 2008). Un ejemplo es la influencia de la 5-HT en el desarrollo normal de las vías talámo-corticales, que llevarán toda la información sensorial del entorno a la corteza sensorial (Lebrand *et al.*, 1990). Estos defectos del desarrollo de 5-HT pueden alterar el desarrollo postnatal perceptivo y cognitivo individual (Manjarrez-Hernández RJ *et al.*, 2005).

7

De la función a la clínica: el ejemplo del sistema vestibular

Kathrine Jáuregui Renaud

En todas las áreas de la medicina, la comprensión de la función aunada al desarrollo acelerado de la tecnología se ha traducido en cambios importantes en la clínica. En el caso particular de la Otoneurología, durante las últimas dos décadas, la transferencia del

conocimiento se ha efectuado con latencia muy breve, incluso en aspectos que nunca habían sido asequibles.

La función vestibular del laberinto posterior se reconoció en el siglo XIX, su evaluación se fundamentó durante el siglo XX y la investigación vestibular, en la Tierra y en el espacio, optimizó la comprensión del control de la mirada y de la postura, así como de la orientación. Durante décadas, la evaluación clínica del sistema vestibular se sustentó principalmente en las respuestas oculares al estímulo del conducto semicircular horizontal y el control postural. En el comienzo del siglo XXI, el acceso del médico clínico al análisis funcional de los cinco órganos sensoriales del aparato vestibular periférico ya es factible.

El estudio tridimensional de los movimientos oculares en primates a fines del siglo XX a través de la técnica de localización magnética de señales y el análisis vectorial de las respuestas permitió comprender mejor la integración de las respuestas fisiológicas a estímulos angulares y lineales, con su traducción subsiguiente en el ser humano. Además de favorecer un mejor diagnóstico en casos con deterioro funcional, entre otros aspectos, dio sustento a la evaluación tridimensional a estímulos en los tres planos (axial, sagital y frontal), que en menos de una década se han trasladado de los laboratorios especializados a la clínica, ya sea mediante la medición de las respuestas oculares o de la evaluación perceptual.

El reconocimiento de la integración de reflejos otolíticos en respuesta a estímulos sonoros que producen modificaciones rápidas en los potenciales miogénicos en el cuello y en los músculos extraoculares dio lugar a pruebas estandarizadas para explorar clínicamente la función del sáculo y el nervio vestibular superior y la del utrículo y el nervio vestibular inferior. Por sus siglas en inglés, se denominan cVEMPS a los de respuesta cervical del músculo esternocleidomastoideo y oVEMPS a los de respuesta de los músculos extraoculares. Estos estudios complementan al examen con estímulo centrífugo. La rotación a través de un eje vertical asimétrico en posición excéntrica de tan sólo 3.5 cm produce aceleración radial modulada útil para la evaluación unilateral de cada utrículo, que cuando se mide a través de la percepción de lo que está vertical, además de identificar la función unilateral, traduce el procesamiento de la información utricular en el sistema nervioso central y tiene influencia de la compensación.

La evaluación de estos reflejos aporta elementos para mejorar la comprensión y el diagnóstico de un espectro amplio de afecciones, desde las alteraciones otolíticas sin compromiso de los conduc-

tos semicirculares, la dehiscencia del conducto semicircular superior, las lesiones infratentoriales... hasta la hipotensión postural.

El estudio de la integración sensorial ha dado sustento a la aplicación clínica de pruebas de la percepción de lo que está vertical/horizontal (estática y dinámica), así como al análisis e interpretación del control de la postura y el uso de la realidad virtual en la clínica. Mediante estas herramientas y otras más ahora se comprenden mejor las manifestaciones de desorientación y se exploran desde otra perspectiva los síntomas asociados que refieren los pacientes con afección vestibular.

En los albores del siglo XXI, se ha transformado la práctica otoneurológica, con sustento en el conocimiento de la fisiología. Las líneas de investigación se han diversificado y la interacción interdisciplinaria ha favorecido que el conocimiento se esté traduciendo rápidamente para generar productos tangibles en la atención a la salud, en múltiples aspectos.

9

El papel del sistema olfatorio en enfermedades neurodegenerativas

Rosalinda Guevara Guzmán

Carmen Leticia Cruz Revilla

Octavio Mercado Gómez

Los seres humanos captamos el entorno físico a través de los sentidos. Dentro de ellos, el olfato puede despertarnos emociones, nos ofrece sin cesar información del mundo que nos rodea, y es extraordinariamente eficaz en la evocación de los recuerdos. El vínculo entre olfato y enfermedades neurodegenerativas ha sido documentado con amplitud.¹ Se ha reportado que la sensibilidad olfatoria se encuentra reducida en pacientes con depresión mayor, pues distinguen menos los diferentes niveles de la intensidad del olor, son poco sensibles a los olores agradables e identifican mejor aquellos presentes en mezclas.² En la enfermedad de Alzheimer se observan déficits olfatorios previos a la aparición de daño cognitivo, como el deterioro en la memoria, por lo que estos trastornos olfatorios pueden ser un factor predictor de progresión hacia la enfermedad.^{3,4} La disfunción olfatoria en la epilepsia del lóbulo temporal (ELT) se exhibe de manera distinta. En

algunos pacientes pueden presentarse *auras olfatorias*, las cuales son alucinaciones olfativas donde el paciente detecta olores fétidos.⁵ Asimismo, se ha observado que el nivel de umbral e identificación de olores se encuentran dañadas con respecto a los sujetos control, además de cambios en el volumen del bulbo olfatorio.⁶

En la búsqueda de nuevas herramientas para facilitar la detección y el tratamiento de estas enfermedades, estudios recientes indican que la prueba de olores puede ser un instrumento diagnóstico temprano de enfermedades neurodegenerativas,¹ por lo que mi grupo de investigación ha estandarizado un cuestionario sobre los olores más familiares y preferidos en población mexicana con un rango de edad de 14 a 94 años.⁷ Nuestro objetivo es evaluar las posibles alteraciones olfatorias en pacientes con diferentes enfermedades neurodegenerativas por medio de la evaluación de cuatro procesos olfativos: identificación y reconocimiento, umbral, discriminación y memoria olfatoria, para posteriormente correlacionar el resultado con alteraciones en la expresión de genes en regiones de cerebro implicadas en la función olfatoria. También nos interesa observar los cambios en los niveles de neurotransmisores y en neuroesteroides. Encontramos una alta correlación entre los diferentes aminoácidos estudiados y la depresión.⁸ Diferencias significativas fueron también observadas en valores de neuroesteroides en pacientes con daño cognitivo y depresión. Además, se han encontrado genes sobreexpresados relacionados con procesos inflamatorios tanto en hipocampos como en bulbos olfatorios en pacientes con ELT (datos no publicados). Estos resultados nos permiten concluir que el sistema sensorial olfatorio desempeña un papel importante y puede ser un indicador temprano de enfermedades neurodegenerativas.

De sueños y ensoñaciones: el cerebro vibrante

José Ramón Eguibar Cuenca

El desarrollo de las neurociencias en las últimas décadas ha permitido avanzar en el conocimiento sobre cómo opera el cerebro. Los estudios de las funciones cerebrales y el avance que se ha tenido en la manera en que opera el cerebro durante la vigilia y el sueño nos han permitido establecer con certeza los mecanismos que subyacen a los estados cerebromentales. Esto implica que se ha superado el

dualismo cartesiano, y ahora podemos tener enfoques monistas de cómo funciona el cerebro. Dado que un tercio de la vida lo gastamos durmiendo, la pregunta de para qué sirve este estado del cerebro ha permanecido en el devenir del hombre.

Ahora sabemos que lo que llamamos sueño consta en realidad de dos etapas. La primera es la del denominado sueño de ondas lentas con una actividad cortical de baja frecuencia, conocidas como ondas delta (0-4 Hz), y de gran amplitud, esto es, que vibran y resuenan en una frecuencia específica. La segunda etapa es el sueño con movimientos oculares rápidos, que se caracteriza por la presencia de ondas de alta frecuencia, actividad beta y de baja amplitud (muy similares a las de la vigilia), pero se acompaña de movimientos oculares rápidos y de atonía muscular, una vibración a otra frecuencia. En esta fase se presentan las ensoñaciones, en las cuales se tienen imágenes visuales intensas y percepciones auditivas o somatosensoriales asociadas con la imaginería visual. Esta actividad cerebral con frecuencia se percibe como desorganizada e incluso francamente bizarra. Se parece mucho a los delirios que se muestran en la vigilia y que caracterizan los estados mentales alterados, como los que se presentan en los pacientes esquizofrénicos.

Lo anterior implica que el sustrato que subyace en el cerebro durante el delirio y las ensoñaciones es similar, de modo que se abre la posibilidad de que con las máquinas modernas de análisis de la actividad cerebro-mental –como la resonancia magnética funcional y las que se generen con base en el proyecto conectoma cerebral– podamos escrudiñar aún más sobre cómo opera nuestro cerebro en condiciones fisiológicas durante el sueño y también en aquellos que han perdido el juicio y la razón. Preparémonos, entonces, a ver en plena vibración el órgano que, sin duda, nos ha moldeado como somos y que nos caracteriza.

11

Z0-2, proteína inhibidora de la proliferación celular

Lorenza González Mariscal

Las células epiteliales son la frontera entre el individuo y su medio interno. Una de sus características principales es que tienen uniones estrechas (UE). Estas estructuras que se localizan en el límite entre las membranas apical y basolateral tienen como función regular el tránsito de iones y moléculas por la ruta paracelular y

actuar como una cerca que evita que los lípidos y proteínas presentes en la cara apical fluyan libremente en el plano de la membrana hacia el dominio basolateral y viceversa.

Nosotros encontramos que una proteína de la UE denominada ZO-2 se localiza también en el núcleo e inhibe la proliferación celular (González-Mariscal, Bautista *et al.*, 2012). Hallamos que la localización subcelular de ZO-2 depende del ciclo celular, ya que ZO-2 entra al núcleo en la fase tardía de G1 y sale cuando las células entran en mitosis (Tapia, Huerta *et al.*, 2009). Esto explica por qué en los cultivos confluentes, donde las células están paradas en la fase G0, no se observa la ZO-2 nuclear y, en cambio, en los cultivos subconfluentes, con células en proliferación que pasan por la fase G1, la ZO-2 se acumula en el núcleo. Encontramos que la secuencia de ZO-2 contiene varias señales de localización y exportación nuclear (SLN y SEN) (Jaramillo, Ponce *et al.*, 2004; González-Mariscal, Ponce *et al.*, 2006) que permiten que la ZO-2, con un peso de 160 kDa, atraviese el poro nuclear. Observamos que la acción de dos de sus señales (SEN-1 y SLN bipartita 2) depende de la fosforilación por la cinasa PKC (Chamorro, Alarcón *et al.*, 2009; Quiros, Alarcón *et al.*, 2013).

Encontramos que la distribución de ZO-2 en el núcleo es en forma de moteados, similar a la de los transcripto-spliceosomas, donde tiene lugar la transcripción del DNA y el procesamiento alternativo del RNA mensajero. Descubrimos mediante un análisis *in silico* que la secuencia de ZO-2 no tiene dominios de unión con el DNA, pero sí varios sitios de adhesión al RNA, así como 16 repetidos de serina/arginina (SR) que constituyen una señal para dirigir proteínas a los moteados nucleares. Demostramos que la ZO-2 se une a varios factores de transcripción (p. ej., jun, fos, C/EBP, Myc) y a la enzima desacetilasa de histonas. Vimos que la ZO-2 inhibe la transcripción de genes regulados por promotores con sitios AP-1 (Betanzos, Huerta *et al.*, 2004) y encontramos que la ZO-2 se une a través de Myc a la caja E del promotor de la ciclina D, inhibiendo así la transcripción de este gen clave para la progresión del ciclo celular (Huerta, Muñoz *et al.*, 2007).

Nuestro interés por estudiar qué hace la ZO-2 para inhibir la proliferación celular nos ha llevado al problema del cáncer. Así demostramos que la ZO-2 inhibe la ruta de transformación celular Wnt (Huerta, Muñoz *et al.*, 2007; Bautista-García, Reyes *et al.*, 2013) y ahora exploramos si la ZO-2 puede emplearse con fines terapéuticos para revertir la transformación de las células con cáncer.

Un nuevo actor en la fisiopatología renal

Norma A. Bobadilla Sandoval

La acción clásica de la aldosterona es aumentar la reabsorción de sal y la secreción de potasio, acción que ejerce a través de unirse a los receptores mineralocorticoides (RM) intracelulares del epitelio tubular de la nefrona. En la actualidad, se sabe que la aldosterona ejerce otras funciones en otros órganos que poseen los RM en células no epiteliales.

El grupo de Thomas Hostetter en 1996, mostró por primera vez que la aldosterona participa en la fisiopatología de la enfermedad renal crónica inducida por la nefrectomía 5/6 en la rata.¹ Con base en este estudio y varios más, incluidos algunos de nuestro laboratorio, se ha documentado la efectividad del antagonismo de los RM con espironolactona o eplerenona en reducir el daño glomerular y el túbulo-intersticial en varios modelos experimentales: como el de la rata hipertensa, la nefropatía por ciclosporina, el modelo de obstrucción ureteral unilateral y en la nefropatía diabética tipos 1 y 2. Además, estos hallazgos experimentales han sustentado el desarrollo de investigación traslacional y han puesto de manifiesto el efecto deletéreo que ejerce la aldosterona en pacientes con insuficiencia renal crónica (véase la revisión²).

Nuestro laboratorio ha mostrado también la participación de la aldosterona en la fisiopatología inducida por procesos isquémicos, como es el caso de la nefrotoxicidad por ciclosporina (CsA) o el daño renal inducido por isquemia/reperfusión. En un primer estudio observamos que el bloqueo de los RM redujo el porcentaje de arteriopatía y el área de fibrosis túbulo-intersticial (FTI) en el modelo de nefropatía crónica por CsA.³ Un hallazgo particularmente interesante fue que los animales que recibieron espironolactona no presentaron disfunción renal. En un estudio posterior, encontramos que el bloqueo de los RM también previno la nefrotoxicidad aguda por CsA que se caracteriza de manera exclusiva por vasoconstricción renal.⁴ Este efecto renoprotector también se observó en el modelo de nefrotoxicidad por CsA establecido con anterioridad, en donde encontramos que la espironolactona evitó la progresión de la disfunción renal y la fibrosis túbulo-intersticial.⁵

Los resultados anteriores indican que la aldosterona modula el tono de la vasculatura renal y que contribuye a la vasoconstricción

renal que se observa en este tipo de nefropatía. Por todo ello, inferimos que la aldosterona también podría desempeñar un papel importante en la lesión renal aguda (LRA) inducida por isquemia/reperfusión (I/R). La LRA se caracteriza por una disminución transitoria del flujo sanguíneo y la función renal, así como por el daño epitelial tubular. A pesar de los avances en el diagnóstico y la terapéutica, la morbilidad y la mortalidad asociadas con la LRA siguen siendo muy elevadas (de 40 a 60% en las unidades de terapia intensiva) y no han sido mejoradas en forma considerable en las últimas cuatro décadas. Interesantemente, hemos mostrado que el bloqueo de los RM antes o después del proceso isquémico o la ausencia de aldosterona, que se consigue por la adrenalectomía, previenen el daño funcional y estructural que se observa en esta patología.⁶⁻⁸ Estos hallazgos nos permitieron realizar investigación traslacional, en donde encontramos que aunque la espironolactona no mejoró la función renal, sí hubo una reducción significativa del estrés oxidante.⁹

Antes se especulaba que las personas que se recuperaban de un episodio de LRA no tenían ninguna repercusión posterior; sin embargo, evidencia reciente basada en observaciones epidemiológicas en pacientes que sufrieron LRA indican que esto no es así, ya que un gran porcentaje de estos pacientes desarrollan enfermedad renal crónica (ERC). Lo anterior lo hemos corroborado de manera experimental ya que encontramos que un episodio isquémico es suficiente para producir ERC en la rata. La ERC en estos animales se caracterizó por disfunción renal, proteinuria, hipertrofia glomerular y tubular, aumento de la proliferación celular tubular y fibrosis túbulo-intersticial. A nivel molecular encontramos que algunos de los mecanismos responsables del desarrollo de ERC fueron: la activación de la vía de TGF- β , mayor estrés oxidante y una mayor respuesta inflamatoria. De gran interés resulta nuestra demostración acerca de cómo prevenir la LRA con espironolactona evitó el desarrollo de ERC.¹⁰

Nuestros estudios en conjunto sugieren con vehemencia que: 1) la aldosterona desempeña un papel clave en mediar el daño renal por procesos isquémicos; 2) el efecto benéfico de la espironolactona se debe a su habilidad de bloquear los RM; 3) la prevención de la LRA evita de manera efectiva el desarrollo de ERC, y 4) que el antagonismo de los RM puede ser utilizado como una estrategia promisoriosa, segura y de bajo costo para proteger contra el daño renal inducido por procesos isquémicos y evitar el desarrollo de ERC.

Las células beta en el síndrome metabólico

Marcia Hiriart

En México tenemos el primer lugar mundial en sobrepeso y obesidad que, junto con la diabetes mellitus, se consideran una pandemia. Se ha calculado que en 2010 había 79 millones de personas en el mundo con diagnóstico de prediabetes. Sin embargo, entonces como hoy, muchos millones más no saben que la padecen. El problema es tan grave que ya se considera la obesidad como una enfermedad, más que como una característica fenotípica. Por todo lo anterior, resulta relevante entender cómo el síndrome metabólico agota las células beta y las lleva al estado diabético.

Las células beta pancreáticas, únicas en el organismo que secretan insulina, son fundamentales en la homeostasis de los nutrientes. Las acciones de la insulina en el organismo son anabólicas, ya que favorecen la entrada de glucosa a algunas de sus células blanco, además de promover el almacenamiento de nutrientes en estos tejidos y el hígado. La etiología de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es multifactorial, por un lado se reconoce una participación multigénica y, por otro, la influencia del medio, en concreto de la dieta, la obesidad y el síndrome metabólico (SM). Los signos principales del SM son la obesidad central, la hipertensión, la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina, lo cual da como resultado una curva de tolerancia a la glucosa alterada. Este conjunto de signos aumenta el riesgo a desarrollar no sólo DM2, sino también enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

Estamos interesados en el funcionamiento normal de las células beta y la insulina, así como en el análisis de su mal funcionamiento en la DM2, por lo que desde hace varios años estudiamos el desarrollo de las células beta en la salud y los cambios fisiopatológicos que experimentan en el síndrome metabólico.

Hemos desarrollado un modelo de SM en la rata, que consiste en administrar sacarosa a 20% en el agua de bebida a ratas Wistar, adultas de 2 meses de edad, durante distintos periodos. Después de 2 meses de tratamiento, las ratas presentan aumento de peso por obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, aumento discreto de la presión arterial, resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa.¹

15

Al caracterizar los cambios fisiológicos de las células beta en respuesta al tratamiento, encontramos que a los 2 meses de tratamiento aumenta de manera significativa la expresión de GLUT2, que es el transportador de glucosa de estas células, en la membrana de las células beta, así como un aumento discreto en la corriente de calcio tipo L (no publicado). Estos dos factores pueden tener un papel importante en el mecanismo de hiperinsulinemia. Analizamos también los efectos a largo plazo (6 meses) del tratamiento con sacarosa, cuando las ratas continuaban manifestando los datos de SM. Encontramos en registros de la actividad unitaria de los canales K_{ATP} de las células beta que no se modifica la conductancia del canal. Sin embargo, en comparación con el control, la sensibilidad de estos canales al ATP aumenta en forma significativa en las ratas tratadas respectivamente, K_d $18.3 \pm 0.01 \mu M$ y $10.1 \pm 0.9 \mu M$.² Esto implica que los canales se cierran con una concentración menor de ATP y que la célula estaría secretando mucha insulina a concentraciones menores de glucosa. De manera interesante, encontramos tres tipos de comportamiento de los canales tipo L en las células de las ratas tratadas, en 15% de las células no fue posible registrar la corriente, en 50% la corriente estaba disminuida y en 35%, aumentada casi al doble. Este comportamiento explicaría que siguiera existiendo hiperinsulinemia, aunque también que probablemente un buen porcentaje de las células está llegando al agotamiento.²

Las adipocinas que secreta el tejido graso en exceso podrían estar estimulando sin cesar la secreción de insulina, lo que crearía un ambiente de inflamación crónica, en el que aumentarían los radicales libres de oxígeno y nitrógeno, ambiente que con el tiempo resultaría deletéreo para las células beta.

Referencias

Fisiología celular y molecular del receptor a histamina H_3

Aquino-Miranda G, Arias-Montañón JA. Neuromodulación e histamina: regulación de la liberación de neurotransmisores por receptores H_3 . *Salud Mental*. 2012;35:345-54.

Aquino-Miranda G, Molina-Hernández A, Arias-Montañón JA. Regulación de la liberación de neurotransmisores por receptores H_3 a histamina en los ganglios basales: implicaciones para la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson. *Gaceta Médica de México*. 2012;148: 465-75.

La zona ventricular-subventricular del cerebro adulto y las enfermedades desmielinizantes

1. Altman J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science*. 1962;135:1127-8.
2. Lois C, Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*. 1994;264:1145-8.
3. Doetsch F, Caille I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*. 1999;97:1-20.
4. Sanai N, Tramontin AD, Quinones-Hinojosa A, Barbaro NM, Gupta N, Kunwar S, et al. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*. 2004;427:740-4.
5. Menn B, Garcia-Verdugo JM, Yaschine C, Gonzalez-Perez O, Rowitch D, Alvarez-Buylla A. Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain. *J Neurosci*. 2006;26:7907-18.
6. Gonzalez-Perez O, Romero-Rodriguez R, Soriano-Navarro M, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Epidermal growth factor induces the progeny of subventricular zone type B cells to migrate and differentiate into oligodendrocytes. *Stem Cells*. 2009;27:2032-43.
7. Gonzalez-Perez O, Quinones-Hinojosa A. Dose-dependent effect of EGF on migration and differentiation of adult subventricular zone astrocytes. *Glia*. 2010;58:975-83.
8. Gonzalez-Perez O, Alvarez-Buylla A. Oligodendrogenesis in the subventricular zone and the role of epidermal growth factor. *Brain Res Rev*. 2011;67:147-56.

17

El papel del sistema olfatorio en enfermedades neurodegenerativas

1. Doty RL. Handbook of olfaction and gustation. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker; 2003.
2. Naudin M, El-Hage W, Gomes M, Gaillard P, Belzung C, Atanasova B. State and trait olfactory markers of major depression. *Plos One*. 2012;7:1-8.
3. Hawkes C. Olfaction in neurodegenerative disorder. *Mov Disord*. 2003;18:364-72.
4. Stamps JJ, Bartoshuk LM, Heilman KM. A brief olfactory test for Alzheimer's disease. *J Neurol Sciences*. 2013.
5. Chen C, Shih YH, Yen DJ, Lirng JF, Guo YC, Yu HY, et al. Olfactory auras in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2003;44:257-60.
6. Hummel T, Henkel S, Negoias S, Galván JR, Bogdanov V, Hopp P, et al. Olfactory bulb volume in patients with temporal lobe epilepsy. *J Neurol*. 2013;260:1004-8.
7. Severiano-Pérez P, Cadena-Aguilar AA, Vargas-Chanes D, Guevara-Guzmán R. Questionnaire on Mexicans' familiarity with odor names. *Journal of Sensory Studies*. 2012;27:277-85.
8. Mayoral-Mariles A, Cruz-Revilla C, Vega-Manríquez X, Aguirre-Hernández R, Severiano-Pérez P, Aburto-Arciniega E, et al. Plasma amino acid levels discri-

minate between control subjects and mildly depressed elderly women. Arch Med Res. 2012;43:375-82.

ZO-2, proteína inhibidora de la proliferación celular

- Bautista-García P, Reyes JL, et al. Zona occludens-2 protects against podocyte dysfunction induced by ADR in mice. Am J Physiol Renal Physiol. 2013;304(1):F77-87.
- Betanzos A, Huerta M, et al. The tight junction protein ZO-2 associates with Jun, Fos and C/EBP transcription factors in epithelial cells. Exp Cell Res. 2004;292(1):51-66.
- Chamorro D, Alarcon L, et al. Phosphorylation of zona occludens-2 by protein kinase C epsilon regulates its nuclear exportation. Mol Biol Cell. 2009;20(18):4120-9.
- Gonzalez-Mariscal L, Bautista P, et al. ZO-2, a tight junction scaffold protein involved in the regulation of cell proliferation and apoptosis. Ann N Y Acad Sci. 2012;1257:133-41.
- Gonzalez-Mariscal L, Ponce A, et al. The tight junction protein ZO-2 has several functional nuclear export signals. Exp Cell Res. 2006;312(17):3323-35.
- Gottardi CJ, Arpin M, et al. The junction-associated protein, zonula occludens-1, localizes to the nucleus before the maturation and during the remodeling of cell-cell contacts. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996;93(20):10779-84.
- Gumbiner B, Lowenkopf T, et al. Identification of a 160-kDa polypeptide that binds to the tight junction protein ZO-1. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(8):3460-4.
- Huerta M, Munoz R, et al. Cyclin D1 is transcriptionally down-regulated by ZO-2 via an E box and the transcription factor c-Myc. Mol Biol Cell. 2007;18(12):4826-36.
- Jaramillo BE, Ponce A, et al. Characterization of the tight junction protein ZO-2 localized at the nucleus of epithelial cells. Exp Cell Res. 2004;297(1):247-58.
- Quiros M, Alarcon L, Ponce A, Giannakouros T, González-Mariscal L. The intracellular fate of zonula occludens 2 is regulated by the phosphorylation of SR repeats and the phosphorylation/O-GlcNAcylation of S257. Mol Biol Cell. 2013;24(16):2528-43.
- Tapia R, Huerta M, et al. Zona occludens-2 inhibits cyclin D1 expression and cell proliferation and exhibits changes in localization along the cell cycle. Mol Biol Cell. 2009;20(3):1102-17.

18

Un nuevo actor en la fisiopatología renal

1. Greene EL, Kren S, Hostetter TH. Role of aldosterone in the remnant kidney model in the rat. J Clin Invest. 1996;98:1063-8.
2. Sanchez-Pozos K, Bobadilla NA. Is aldosterone a modulator of vascular tone? Rev Invest Clin. 2012;64:546-57.
3. Feria I, Pichardo I, Juárez P, et al. Therapeutic benefit of spironolactone in experimental chronic cyclosporine A nephrotoxicity. Kidney Int. 2003;63:43-52.
4. Perez-Rojas JM, Derive S, Blanco JA, et al. Renocortical mRNA expression of vasoactive factors during spironolactone protective effect in chronic cyclosporine nephrotoxicity. Am J Physiol Renal Physiol. 2005;289:F1020-30.

5. Perez-Rojas J, Blanco JA, Cruz C, et al. Mineralocorticoid receptor blockade confers renoprotection in preexisting chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292:F131-9.
6. Mejia-Vilet JM, Ramirez V, Cruz C, Uribe N, Gamba G, Bobadilla NA. Renal ischemia-reperfusion injury is prevented by the mineralocorticoid receptor blocker spironolactone. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;293:F78-F86.
7. Sanchez-Pozos K, Barrera-Chimal J, Garzon-Muvdi J, et al. Recovery from ischemic acute kidney injury by spironolactone administration. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:3160-9.
8. Ramirez V, Trujillo J, Valdes R, et al. Adrenalectomy prevents renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;297:F932-42.
9. Ojeda-Cervantes M, Barrera-Chimal J, Alberu J, Perez-Villalva R, Morales-Buenrostro LE, Bobadilla NA. Mineralocorticoid receptor blockade reduced oxidative stress in renal transplant recipients: a double-blind, randomized pilot study. *Am J Nephrol.* 2013;37:481-90.
10. Barrera-Chimal J, Perez-Villalva R, Rodriguez-Romo R, et al. Spironolactone prevents chronic kidney disease caused by ischemic acute kidney injury. *Kidney Int.* 2013;83:93-103.

19

Las células beta en el síndrome metabólico

1. Larqué C, Velasco M, Navarro-Tableros V, Duhne M, Aguirre J, Gutiérrez-Reyes G, et al. Early endocrine and molecular changes in metabolic syndrome models. *IUBMB Life.* 2011;63:831-9.
2. Velasco M, Larque C, Gutierrez-Reyes G, Arredondo R, Sanchez-Soto C, Hiriart M. Metabolic syndrome induces changes in KATP-channels and calcium currents in pancreatic β -cells. *Islets.* 2012;4:302-11.

Aportaciones al conocimiento de la parasitología en México

Adela Luisa Ruiz Hernández¹

Las culturas prehispánicas trataron diversas enfermedades, entre éstas las parasitosis, que asociaban en los niños como la “enfermedad del susto”. Sin embargo, no fue sino hasta finales del siglo XIX que, durante el gobierno de Porfirio Díaz, se logró una estabilidad que permitió mejorar los estudios sistematizados de enfermedades; en este lapso convergieron diferentes especialidades en el estudio de entidades parasitarias. A partir de los años treinta del siglo XIX, investigadores del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, hoy Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE) e instituciones académicas dieron mayor auge a la parasitología.^{1,2}

Entre los investigadores que impulsaron la epidemiología está Manuel Toussaint (1858-1977), pionero de la anatomía patológica y quien refirió casos de cisticercosis y triquinosis. Por su parte, Galo Soberón y Parra (1896-1956), médico especializado en paludismo (malariólogo), participó en la creación de decretos relacionados con antipalúdicos, en estudios sobre las plantaciones del árbol de quina en Chiapas y Veracruz. También propuso preceptos para evitar el paludismo.³

En la década de los años treinta del siglo XX, tuvieron lugar los trabajos de Luis Mazzotti (1900-1971) sobre alacranismo y diversos helmintos, quien creó un procedimiento para el diagnóstico de oncocercosis (Reacción de Mazzotti), reportó los primeros casos de enfermedad de Chagas, estudió el transmisor y los reservorios. Fue considerado el chagólogo mexicano más destacado de la época.

Más tarde, en la década de los setenta, los estudios de helmintología en el Instituto de Enfermedades Tropicales fueron transferidos al doctor Ricardo Martínez Marañón, quien realizó aportaciones en cuanto a prevalencia de helmintiasis, sobre todo de triquinosis.⁴ En 1950, el doctor Francisco Biagi realizó investigaciones de leishmaniasis en Yucatán, amibiasis cutánea, virulencia y migración de *Entamoeba histolytica*, así como sobre paludismo y enfermedad de Chagas.

Estudioso de la parasitología fue Rodolfo Pérez Reyes (1925-1996), sus primeras publicaciones fueron sobre *Trypanosoma cruzi* y más tarde acerca de leishmaniasis, amibiasis intestinal, amibas de vida libre y paludismo. Trabajó en la Comisión Nacional para la Erradicación del Paludismo (CNEP).⁵

El doctor Manuel Martínez Baez (1894-1987) difundió aspectos de la parasitología con trabajos sobre oncocercosis y helmintiasis en el sur de México; su obra incluye manuales de parasitología médica y otros legados. Se ocupó de los aspectos sociales, económicos y culturales de las enfermedades tropicales.

Originario de España, Dionisio Peláez Fernández (1915-1998) realizó estudios entomológicos en las campañas contra el paludismo y la oncocercosis; junto con el doctor Pérez Reyes, fue pionero en señalar la presencia de *Gnathostoma* en México.⁶

La enfermedad de Chagas fue ampliamente estudiada por el doctor Jorge Tay; se ocupó de casos tanto humanos como reservorios, además de la distribución de los transmisores. Hizo investigaciones sobre fasciolosis, triquinosis, epidemiología de las parasitosis intestinales, artrópodos y animales ponzoñosos. Es considerado uno de los grandes pilares de la parasitología en México.

El doctor Jorge Zavala Velázquez, investigador emérito (Universidad Autónoma de Yucatán), ha realizado trabajos sobre enfermedad de Chagas, leishmaniasis y helmintiasis tisulares. Por otra parte, egresados de la UNAM, los doctores Adolfo Martínez Palomo y Ruy Pérez Tamayo han realizado importantes estudios sobre *Entamoeba histolytica* sobre la virulencia y ultraestructura de protozoarios y patologías causadas por éstos.⁷

El doctor Óscar Velasco Castrejón ha investigado diversas parasitosis como leishmaniasis, aracnidismo, alacranismo. Sus estudios posteriores se centraron en enfermedad de Chagas en Zacatecas, Jalisco, Oaxaca y Tabasco. Ha investigado la hidatidosis y pruebas diagnósticas para cisticercosis, así como también enterobiasis, criptosporidiosis, paludismo, oncocercosis, toxoplasmosis y triquinosis.⁸

Notables investigadoras acerca de padecimientos considerados como problema de salud pública son las doctoras Paz María Salazar Schettino y Ana Flisser Steinbruch. La primera ha hecho contribuciones importantes sobre la enfermedad de Chagas y la segunda, en teniasis y cisticercosis.

La lista de investigadores es extensa, lo que es pequeño es el espacio para referirlos a todos.

Leishmaniasis en México

Ingeborg Becker

Ivonne Torres Galicia

23

Las leishmaniasis son un grupo de enfermedades causadas por distintas especies del género *Leishmania*. Es una zoonosis transmitida por dípteros del género *Lutzomyia*; los reservorios incluyen mamíferos silvestres y domésticos. Los cuadros clínicos son diversos, dependiendo de la especie infectante y de la respuesta inmune del hospedero. Las leishmaniasis se dividen en: cutánea, mucocutánea y visceral. La cutánea es la forma más común en México (90% de los casos), el agente causal es *Leishmania mexicana*. La forma cutánea puede manifestarse como leishmaniasis cutánea localizada (LCL), donde el parásito permanece en el sitio de la infección formando una úlcera con evolución relativamente benigna, que responde bien a tratamientos específicos.

El polo opuesto lo representan pacientes con leishmaniasis cutánea difusa (LCD), que se caracteriza por la diseminación incontrolada del parásito del sitio de la inoculación a todo el tegumento del paciente y la consecuente formación de nódulos con abundantes macrófagos parasitados con intensidad por amastigotes de *Leishmania*. Estos pacientes cursan con una inhibición de la respuesta inmune celular que origina una enfermedad progresiva y mortal. Las otras formas clínicas existentes en México son la leishmaniasis visceral (LV), que afecta sobre todo bazo, hígado y médula ósea, y la leishmaniasis mucocutánea (LMC), que afecta piel y mucosas. Estas formas clínicas son causadas por *Leishmania chagasi* y *Leishmania (Viannia) braziliensis*, respectivamente. En México la leishmaniasis fue descrita por Seidelin en 1912,

quien la llamó “Úlcera del Chiclero”.¹ En 1963 Lainson logró identificar la *Leishmania mexicana* como nueva especie causante de la úlcera del chiclero.²

Durante la última década (2000-2011), se han reportado 9 618 casos de leishmaniasis, de los cuales, 98% corresponde a pacientes con leishmaniasis cutánea: LCL se ha reportado en 26 estados mientras que LCD, principalmente en Tabasco. Los casos restantes, 2%, corresponden a LV (sobre todo en Guerrero, Oaxaca y Chiapas). La incidencia promedio anual de la última década es de 0.85/100 000 habitantes, siendo Tabasco, Quintana Roo, Campeche, Veracruz, Oaxaca y Nayarit los que han informado el mayor número de casos.³

El diagnóstico de leishmaniasis debe incluir pruebas de laboratorio como la tinción de Giemsa del aspirado tisular, que permite visualizar los amastigotes intracelulares. La PCR de sangre, tejidos o improntas, es de alta sensibilidad y especificidad. El diagnóstico serológico tiene baja sensibilidad y especificidad variable.

El tratamiento consiste en antimoniales pentavalentes 20 mg/kg/día, IM o IV durante 30 días. En lesiones pequeñas (≤ 10 cm), se pueden aplicar antimoniales intralesionales: 1 a 5 mL por sesión, cada 3 a 7 días) con 1 a 5 infiltraciones.

Enfermedad de Chagas

Martha Bucio Torres

Margarita Cabrera Bravo

Paz María Salazar Schettino

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, en forma natural se transmite por triatominos. Fue descubierta en 1909 por Carlos Chagas en Brasil, en Berenice, una niña de 2 años que muere a los 82 años infectada y sin haber padecido la enfermedad.¹ En México, Mazzotti reporta, en 1940, los primeros casos humanos y de reservorios infectados,² y en las décadas de los años cincuenta, sesenta y setenta, Biagi, Tay y la SSA junto con Salazar-Schettino en la UNAM, respectivamente, estudian la enfermedad desde diversos enfoques. Se realizan encuestas epidemiológicas en varios

estados del país y el diagnóstico serológico se inicia con antígenos no regionales y, después en la UNAM, con regionales de diversos estados del país. En 1965, se reportan 2 miocarditis *post mortem* y en 1979, el tercer caso de miocardiopatía chagásica (primero en un paciente vivo).³ En 1984, el primer caso de megaesófago⁴ y, en 1986, el primero de megacolon.⁵

En Brasil, Pedreira de Freitas confirma el primer caso adquirido por vía transfusional en 1952; en México, el primer caso fue reportado por Salazar Schettino en 1989.⁶ La migración de personas provenientes de áreas endémicas a zonas urbanas, incrementa el riesgo de transmisión por la posibilidad de ser hemodonadores, por lo que se ha transformado en un riesgo urbano en el ámbito mundial. Los estudios realizados en bancos de sangre en el país continúan siendo escasos, a partir de 1998, con el Banco de Sangre del Hospital General de la SSA⁷ y después con el CNTS, se inician trabajos interinstitucionales con la Facultad de Medicina de la UNAM.

Desde 2000 a la fecha, el CNTS se ha fortalecido al mejorar la infraestructura, capacitar al personal e incrementar la cobertura en el tamizaje en donadores (91%, 2012). A la fecha, existen diversos grupos de investigadores que han reportado diferentes aspectos de la enfermedad, en especial en los estados de Yucatán, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Campeche, Jalisco y Morelos. En los últimos 6 años, nuestro grupo ha detectado casos de miocardiopatía chagásica en niños en Veracruz, Querétaro, San Luis Potosí y Chiapas. La importancia de estos trabajos es la detección precoz de esta patología en el ámbito rural en menores de 18 años, con el fin de brindar terapia eficaz, antes de que las lesiones cardiacas sean irreversibles.⁸

En México y otros países de Latinoamérica, no existen cifras confiables de la incidencia y prevalencia de la infección; esto se debe a que sólo se notifican casos que han desarrollado patologías muy aparentes; esta situación opaca a más de 70% de los casos de individuos infectados asintomáticos o con manifestaciones inespecíficas (lo que disminuye la percepción sobre el verdadero alcance de la enfermedad).⁹ En julio de 2013, se realizó en México el Taller Internacional de Prevención, Control y Atención de la Enfermedad de Chagas organizado por el CENAPRECE y la OPS en el que se establecieron lineamientos para el inicio del control sobre *Triatoma barberi* y *Triatoma dimidiata*.

Historia del paludismo

Mario Henry Rodríguez

26

México está entre los países que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera en fase de preeliminación del paludismo (malaria). Esta situación es el resultado de un conocimiento profundo de los determinantes de la transmisión de esta enfermedad y de la aplicación y adecuación de estrategias diseñadas de manera local.

Aproximadamente 39% del territorio nacional presenta características ecológicas para la presencia de los mosquitos vectores y la transmisión del paludismo. En estas áreas, localizadas en ambas costas, se reportaron epidemias de fiebres tercianas que contribuyeron a una reducción de casi 80% de la población indígena a principios de la Colonia. Aunque las zonas maláricas se localizan desde entonces en regiones de clima templado-caliente, una epidemia con más de 20 000 defunciones tuvo lugar en la ciudad de México en 1813, probablemente el desplazamiento de pacientes palúdicos durante la guerra de independencia.

A principios del siglo XX, el paludismo era la primera causa de muerte en las zonas costeras y la tierra caliente y la segunda en el interior de la República. La institucionalización de servicios para el combate de criaderos de mosquitos inició en 1903, éstos fueron interrumpidos durante la Revolución y se reiniciaron hasta 1923. Estos servicios se hicieron oficiales con la creación de la Comisión de Saneamiento Antimalárico en 1939.

El éxito obtenido con el rociado intradomiciliar de DDT, que se inició en 1947, motivó que México participara en la propuesta de erradicar el paludismo en el mundo en la Decimocuarta Asamblea de la OMS en 1955, así como la creación de la Comisión Nacional para la Erradicación del Paludismo (CNEP) de organización de tipo vertical. La meta fue eliminar la enfermedad en un plazo de cinco años.

Las actividades de la CNEP comenzaron en 1956 con una fase de planeación. La *fase de ataque* inició en 1957 y concluyó en 1960, época en que de 40 591 casos registrados en 1955, la incidencia bajó a 3 565 y 75% de las áreas palúdicas estaban libres de transmisión y en *fase de consolidación*. No obstante, la transmisión no se interrumpió y se limitó a focos aislados. Los recursos disminuyeron, las actividades de *consolidación* no fueron aplicadas de manera racional y, como en otros países, la transmisión volvió a extenderse para alcanzar 57 331 casos en 1970.

A partir de entonces, la situación epidemiológica del paludismo respondió al tipo e intensidad de la aplicación de medidas de control con éxito variable. En 1971, aún con una estrategia de erradicación, se reforzaron las actividades, lo que dio como resultado un descenso progresivo de casos (19 090 en 1978) y de localidades con transmisión, sobre todo en el Golfo de México. El deterioro de la CNEP y la disminución de sus actividades favorecieron un repunte de la transmisión, con lo que se demostró la necesidad de mantener la presión de acciones antipalúdicas en las áreas de mayor transmisión. La estrategia de erradicación fue abandonada en 1983 y se inició la horizontalización del programa. La última epidemia alcanzó un clímax en 1985, con más de 140 000 casos. Al final de la *fase de ataque*, las defunciones anuales por paludismo habían descendido a 933 y desaparecieron en los años ochenta.

En 1989, se inició la aplicación de un Plan de Acciones Intensivas Simultáneas (PAIS) y a partir de 1991 se logró una disminución progresiva de casos (26 565 en ese año y 4 792 casos en 1997). Estas acciones lograron la eliminación de la transmisión en casi todas las áreas palúdicas, pero persistieron focos de transmisión en la costa del Pacífico, que con intensidad progresivamente descendiente persisten hasta el presente. A partir de 1998, se inició una nueva estrategia de actividades integrales, basada en una estratificación ecológica, entomológica y epidemiológica de los riesgos de la transmisión, para la focalización de las actividades de control. El tratamiento focalizado está dirigido a eliminar la fuente de parásitos por medio del tratamiento de pacientes. Para el control de mosquitos, se implementó una estrategia de manejo de criaderos larvarios de *Anopheles pseudopunctipennis*, el principal vector en los focos residuales, con la participación comunitaria. El DDT se ha eliminado por completo de las actividades del programa y, en casos de brotes, se emplean insecticidas piretroides.

Hoy día, el paludismo por *Plasmodium falciparum* se ha suprimido en todo el país; persisten sólo casos por *Plasmodium vivax*. La transmisión se eliminó en 22 estados. Los focos residuales de transmisión en la costa del Pacífico incluyen un foco norte en áreas contiguas de Chihuahua, Sonora, Sinaloa y Durango, el corredor huichol en Jalisco, Nayarit y Durango y el foco sureste en áreas limitadas de Oaxaca y Chiapas, con algunos casos en Campeche y Quintana Roo. En estos focos, la transmisión ha mostrado un descenso continuo (7 390 y 833 casos en 2000 y 2012, respectivamente). Además, se ha estrechado la extensión del área palúdica a los niveles más bajos de la historia (2 676 localidades con casos en 2000 y 570 en 2011).

Cisticercosis

Ana Flisser

28

Taenia solium es un gusano plano y muy largo en su estadio adulto y una vesícula, llamada cisticerco, en su forma larvaria; pertenece al *phylum Platyhelminthes*, a la clase *Cestoda* y a la familia *Taeniidae*, que son animales invertebrados, en su mayoría parásitos. El gusano adulto habita de manera natural sólo en los seres humanos, mide entre 2 y 4 metros de largo y se desarrolla después de ingerir carne cruda o insuficientemente cocida de cerdo que contenga cisticercos. La tenia está formada por una cabeza o escólex que se adhiere a la mucosa del intestino delgado; se continúa por un conjunto largo de segmentos o proglótidos que forman el estróbilo y pueden ser inmaduros, maduros, que son hermafroditas y, al final, grávidos, que contienen alrededor de 60 000 huevos cada uno, éstos se expulsan con la materia fecal. Los huevos son microscópicos, cuando los seres humanos o los cerdos los ingieren, libres o dentro de los proglótidos, respectivamente, las oncosferas se activan, atraviesan la mucosa del intestino delgado, circulan y se transforman en cisticercos en el sistema nervioso central, el ojo, el músculo esquelético y el tejido subcutáneo. El problema de salud más importante que genera *Taenia solium* es la neurocisticercosis. Esta enfermedad se debe al desarrollo de cisticercos en el sistema nervioso central. Las crisis convulsivas son la manifestación más frecuente, aunque pueden presentarse varias otras dependiendo de la localización (parénquima, ventrículos, tejido subaracnoideo), del número y estadio de desarrollo o involución de los cisticercos, así como de la respuesta inmune del hospedero.

La neurocisticercosis se reconoció como un problema de salud pública en México al inicio de la segunda mitad del siglo pasado, ya que alrededor de 2% de los estudios patológicos en humanos reportaban la presencia de cisticercos en el cerebro. La cisticercosis es una enfermedad relacionada con el subdesarrollo, se presenta en países que no tienen buena infraestructura sanitaria ni educación para la salud. La defecación al aire libre y el acceso a las letrinas favorece que los cerdos adquieran cisticercosis al comer materia fecal humana contaminada. Un estudio reciente (Flisser A, Correa D. Neurocysticercosis may no longer be a public health problem in Mexico. PLoS Negl Trop Dis. 2010;4(12):e831. doi:10.1371) indica

que esta enfermedad se ha controlado en México, con base en la disminución continua de su prevalencia en los últimos años, así como la de la teniosis humana, reportadas por el Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica del Sector Salud.

Las razones de esta disminución son tres: los conocimientos generados por científicos y médicos mexicanos que han publicado múltiples estudios sobre aspectos clínicos, diagnósticos, evaluación de drogas cestocidas y, más recientemente, estudios epidemiológicos, de control y de biología básica. Por otro lado, en 1994 se creó un programa nacional, que se publicó en el *Diario Oficial de la Federación* como Norma Oficial Mexicana NOM-021 SSA2-1994, modificada en 2004, para la prevención y control del binomio teniosis/cisticercosis en el primer nivel de atención médica, cuyo objetivo es establecer criterios, estrategias y técnicas operativas para la aplicación de las medidas preventivas y de control de la teniosis y la cisticercosis humana y porcina a la población, que es obligatoria en todo el territorio nacional.

Esta NOM, junto con la comunicación de los hallazgos científicos y médicos, favoreció el mejor conocimiento y manejo del ciclo de vida de *Taenia solium* y de la enfermedad. Por último, la mejoría general de las condiciones de vida en México, aunada a los puntos anteriores, permiten afirmar que la neurocisticercosis ya no es una enfermedad de importancia de salud pública en nuestro país; sin embargo, se recomienda mantener la vigilancia epidemiológica para evitar que aumente, e incluso lograr una mayor disminución de este padecimiento (Flisser A. Cisticercosis: enfermedad desatendida. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2011;68:127-33).

En vista de que la cisticercosis se produce en general porque alguien en casa tiene *Taenia solium* –llamada también solitaria intestinal–, quien a su vez la contrajo por comer carne de cerdo con cisticercos insuficientemente cocinada, se recomienda aplicar las siguientes medidas para evitar esta parasitosis.

- *Medidas personales*
 - Tratar la solitaria intestinal
 - Lavarse las manos antes de comer, antes de cocinar y después de defecar
 - No consumir carne de cerdo con cisticercos
- *Medidas higiénicas*
 - Evitar fecalismo al ras del suelo o, en su defecto, cubrir la materia fecal con cal, enterrarla o quemarla
 - Cocinar de manera adecuada la carne de cerdo para que no quede semicruda, o bien, congelarla durante 5 días antes de cocinarla

- Lavar frutas y verduras lo mejor posible
- *Medidas porcícolas*
 - Evitar que los cerdos deambulen libremente
 - Mantener a los cerdos en un corral y alimentarlos con tortilla o granulado
 - Impedir el acceso de los cerdos a la materia fecal y a las letrinas
 - Evitar que los cerdos coman basura
 - No emplear las porquerizas como baño
 - No comprar ni vender cortes de canal de cerdo con cisticercos

El tema de cisticercosis se puede revisar en: Flisser A, Vargas Parada L, Laclette JP. *Taenia solium*: un parásito cosmopolita. Investigación y Ciencia. 2006, mayo 24-33.

30

Magnitud actual de las parasitosis intestinales en México

Paz María Salazar Schettino, Martha Ponce Macotela, Aarón Rodríguez Caballero, Mario N. Martínez Gordillo

En este apartado se centra la atención en la magnitud de las parasitosis intestinales en México, en la segunda década del siglo XXI. En el siglo pasado se documentó la prevalencia de parásitos en diversas partes del mundo y se tuvo la visión de su importancia.¹ Este conocimiento estableció el punto de partida para la distribución masiva de antiparasitarios. En México, se instrumentaron los días nacionales de vacunación para la distribución de albendazol en la población de escolares y preescolares, siguiendo la estrategia diseñada por la Organización Mundial de la Salud (OMS); que está orientada al control de las helmintiasis transmitidas por el suelo: *Ascaris lumbricoides*,² *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis* y uncinarias.³ Éstas impactan en forma negativa a un tercio de la humanidad⁴ y producen retraso en el desarrollo físico e intelectual de las personas que las padecen en el tercer mundo.⁵ Una revisión en PubMed arrojó resultados de estudios que se realizaron en el norte, centro y sur del país, y evidencian la persistencia de infecciones parasitarias en la población mexicana. En la mayoría de los estudios, se encontró: *Entamoeba histolytica/dispar* (70.3%),⁶ *Ascaris lumbricoides* (36.2%)⁷ y *Giardia sp.* (55.3%) en un estudio de 3 461 sueros pro-

cedentes de todo el país, independientemente del nivel económico de los diferentes estados analizados, y se concluyó que la giardiosis es endémica en nuestro país.⁸ En el análisis de residuos biosólidos obtenidos de 77 letrinas ecológicas nuevas, se detectaron: *Giardia* en 82% y *Cryptosporidium* en 70%. La mayoría de los integrantes de las casas en donde se pusieron las letrinas tuvieron infecciones crónicas asintomáticas.⁹ No obstante, la transición epidemiológica, las “parasitosis desatendidas o del rezago” siguen prevalentes en nuestro país; por tal motivo, es necesario implementar estrategias para prevenirlas y es indispensable evaluar la eficacia de albendazol para detectar el desarrollo de cepas de parásitos resistentes.¹⁰

Referencias

31

Aportaciones al conocimiento de la parasitología en México

1. Castañeda LG. Los estudios del sistema nervioso en el Instituto Patológico Nacional. Arch Neurocién (Mex). 2011;16(1):29-32.
2. Góngora R. Amputaciones históricas en referencia a la medicina tropical. Rev Biomed. 1997;8:49-52.
3. Soberón G. Salvador Zubirán: pilar de Nutrición, antes, ahora y en los tiempos por venir. Rev Invest Clin. 2006;58(4):362-71.
4. Velasco CO, Riva SB. Apuntes para la historia de la enfermedad de Chagas en México. Bol Med Hosp Infant Mex. 2008;65(1):57-79.
5. López OE. In memoriam Rodolfo Pérez Reyes (1925-1996). Rev Soc Mex Hist Nat. 1998;48:159-62.
6. Lamothe R. Óbito Dr. Dionisio Peláez Fernández (1915-1998). En: Anales del Instituto de Biología UNAM, Serie Zoología.1998;69:237-40.
7. López VR, Montfort I, Pérez-Tamayo R. Galactose-specific adhesion and cytotoxicity of Entamoeba histolytica. Parasitol Res. 2000;86:226-31.
8. Valdespino JL, Velasco O. Enfermedades tropicales en México: diagnóstico, tratamiento y distribución geográfica. Secretaría de Salud. Ago. 1994; 381 p.

Leishmaniasis en México

1. Seidelin H. Leishmaniasis and babesiasis in Yucatan. Ann Trop Med Parasitol. 1912;6:295-9.
2. Lainson R, Strangsway-Dixon J. Leishmania mexicana: the epidemiology of dermal leishmaniasis in British Honduras. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1963;57:242-65.

3. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica (CENAVECE), Anuarios de Morbilidad de 2000-2011. Secretaría de Salud. México.

Enfermedad de Chagas

1. Chagas C. Nova tripanozomíaze humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade e morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1909;1:159-218.
2. Mazzotti L. Dos casos de enfermedad de Chagas en el estado de Oaxaca. *Gaceta Médica de México*. 1940;70:417-20.
3. Salazar PM, Castejón J, Rodríguez H, Tay J. Miocarditis Chagásica crónica en México. Tercer caso comprobado por exámenes parasitológicos. Prensa Med Mex. 1979;44:115-20.
4. Salazar PM, Tay J, Bucio MI, Haro I, Anzures ME, Flores AS. Primer caso de megaesófago con serología positiva a *Trypanosoma cruzi*. Rev Inv Salud Pub Mex. 1984;26:452-5.
5. Tay J, Salazar PM, Ontiveros A, Jiménez J, De Haro I, García Y. Epidemic study of Chagas disease in a town in Oaxaca, Mexico. PAHO Bulletin. 1986;4:358-65.
6. Salazar PM, Barrera M, Bucio M. Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión sanguínea. Primer caso humano en México. Rev Mex Patol Clin. 1989;36:57-9.
7. Cabrera-Bravo M, Bucio-Torres MI, Rojo J, Bonifaz R, Guevara Y, Salazar-Schettino PM. Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in blood donors in the General Hospital of Mexico City. Rev Patol Trop (BR). 2004;33(1):71-80.
8. Salazar-Schettino PM, Perera R, Ruíz-Hernández AL, Bucio-Torres MI, Zamora-González C, Cabrera Bravo M, et al. Chagas disease as a cause of symptomatic chronic myocardopathy in Mexican children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(11):1011-3.
9. Reporte del grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas. 2005-2007 En: TDR/GTC/06 http://whqlibdoc.who.int/HQ/2007/TDR_SWG_09_spa.pdf.

Magnitud actual de las parasitosis intestinales en México

1. Stoll N. This wormy world. *J Parasitol*. 1947;33:1-18.
2. Crompton DWT. Chronic ascariasis and malnutrition. *Parasitol Today*. 1985;1:7-52.
3. Brooker S, Clemens A, Bundy A. Global epidemiology, ecology and control of soil transmitted helminth infections. *Adv Parasitol*. 2006;62:221-61.
4. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger S, Loukas A, Diemert D, et al. Soil-transmitted helminth infections ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*. 2006;367:1521-32.

5. Eppig C, Fincher CL, Thornhill R. Parasite prevalence and the worldwide distribution of cognitive ability. *Proc Biol Sci.* 2010;277(1701):3801-8.
6. Paniagua G, Monroy E, García-González O, Alonso J, Negrete E, Vaca S. Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2007;6:17.
7. Monárrez-Espino J, Pérez-Espeo C, Vázquez-Mendoza G, Balleza-Carreón A, Caballero-Hoyos R. Intervention to prevent intestinal parasitic reinfections among Tarahumara indigenous school children in northern Mexico. *Rev Panam Sal Publ.* 2011;30:96-203.
8. Cedillo-Rivera R, Yelda A, Yépez-Mulia L, Gómez-Delgado A, Ortega-Pierres G, Tapia-Conyer R, et al. Seroepidemiology of giardiasis in Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;80:6-10.
9. Redlinger T, Corella-Barud V, Graham J, Galindo A, Avitia R, Cárdenas V. Hyperendemic *Cryptosporidium* and *Giardia* in households lacking municipal sewer and water on the United States-Mexico border. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;66:794-8.
10. World Health Organization; TDR Disease Reference Group on Helminth Infections. Research priorities for helminth infections. Geneva: WHO Technical Rep Ser. 2012;(972):XV-XVII, 1-174.

Sistema secuencial segmentario y cardiopatías congénitas

*Luis Muñoz Castellanos
Magdalena Kuri Nivon*

En este apartado se centra la atención en el sistema secuencial segmentario en el diagnóstico de las cardiopatías congénitas. El primer conocimiento de éstas fue morfológico. Con base en las descripciones meticulosas de los corazones malformados, se determinaron las variantes patológicas en cada tipo de cardiopatía, lo que condujo al establecimiento de las primeras clasificaciones.¹⁻⁵

En la mayoría de las publicaciones, los autores agregaron explicaciones patogenéticas sobre los posibles mecanismos del desarrollo que se alteraron y que condujeron a la génesis de las malformaciones congénitas cardiovasculares.⁶⁻⁸ Después surgió el enfoque segmentario de Van Praagh,⁹ que considera que el corazón está constituido por tres segmentos: aurículas, ventrículos y grandes arterias; otro sistema similar fue elaborado por De la Cruz.¹⁰ Estos autores dieron mayor énfasis en las relaciones entre esos segmentos, lo que originó confusión y controversias.

Por la razón anterior, surgieron las primeras publicaciones conducentes al establecimiento de un nuevo enfoque que dio origen al sistema secuencial segmentario que privilegia las conexiones sobre las relaciones, pero que no las excluye. Se denomina segmentario porque incluyó las aportaciones de Van Praagh⁹ y de De la Cruz,¹⁰ y es secuencial porque el orden del análisis está dictado

36 Tipo de conexión ventriculoarterial

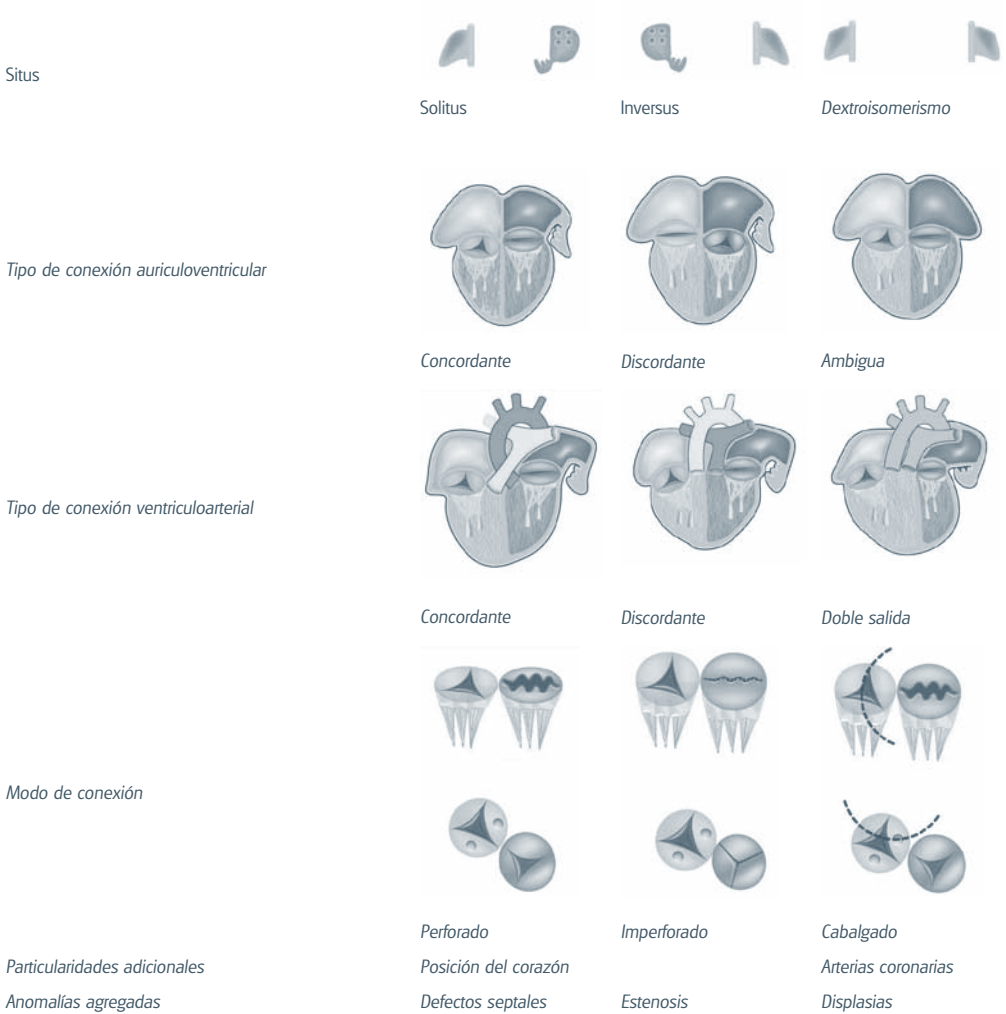


Figura 3.1. Etapas y contenido del sistema secuencial segmentario.

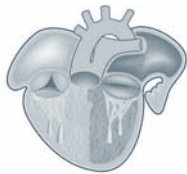
por el trayecto de la circulación sanguínea dentro del corazón, de aurículas a ventrículos y de éstos a las grandes arterias. Es un método morfológico que no necesita conocimiento de embriología y sólo requiere la descripción de los rasgos anatómicos de los corazones malformados.¹¹⁻¹³ Este método se ha aplicado a los estudios



Levoisomerismo



Doble entrada ventricular Ausente



Única vía de salida



Común

Sistema de conducción

Hipoplasias

Conexión venosa

anómala pulmonar

diagnósticos por imagen, ya sea angiografía, ecocardiografía, de resonancia magnética nuclear y tomografía computada. Cuando se sigue el orden de sus etapas es difícil que escape algún elemento diagnóstico, la estructura de este método establece las bases para explicar la fisiopatología de las cardiopatías congénitas y sus manifestaciones clínicas; además, es de ayuda conceptual para los cirujanos al establecer las estrategias quirúrgicas más adecuadas.

El sistema secuencial segmentario está constituido por cinco etapas, que se explican en seguida:

- I. *Determinación del situs auricular*
- II. *Especificación de los tipos de conexión auriculoventricular en los que se incluyen las relaciones y los modos de conexión*
- III. *Descripción de los tipos de conexión ventriculoarterial, relaciones y sus modos de conexión*
- IV. *Particularidades adicionales, en este apartado se consignan la posición del corazón en el tórax y la dirección del ápex, el origen, el trayecto y la distribución de las arterias coronarias y la disposición del sistema de conducción*
- V. *En esta sección se especifican las alteraciones agregadas que pueden ser defectos septales, alteraciones estructurales, etc. (Figura 3.1).*

Determinación del situs auricular

Se denomina *situs* a la disposición espacial de las vísceras dentro de un sistema de simetría, se han escogido las aurículas como las cámaras cardiacas idóneas para representar el *situs* del corazón debido a que no cambian de posición dentro de un *situs* determinado, además reciben los flujos sanguíneos sistémico y pulmonar. Estas cámaras

cardiacas presentan apéndices denominados orejuelas que poseen patrones de diseño morfológico diferente, así la orejuela anatómica derecha tiene forma triangular de base ancha y vértice romo, mientras que la izquierda es más pequeña de base estrecha y trayecto incurvado con digitaciones (Figuras 3.1 y 3.2).

Existen dos grupos de *situs*, los lateralizados que, a su vez, tienen dos modalidades: el *solitus* (Figura 3.3 A), que es el habitual, y el *inversus*, que es la imagen en espejo del primero (Figura 3.3 B); los *situs* simétricos también presentan dos modalidades: el dextromorfismo, cuando ambas orejuelas son morfológicamente derechas (Figura 3.3 C), y el levomorfismo, cuando son morfológicamente izquierdas¹⁴ (Figura 3.3 D).

En los *situs* lateralizados se puede presentar cualquier tipo de cardiopatía congénita, mientras que en los corazones con *situs* simétricos es común la presencia de múltiples malformaciones que son letales; además, los pacientes presentan deficiencias inmunológicas graves.

Conexiones auriculoventriculares

Los tipos de conexión auriculoventricular constituyen las formas de continuidad entre aurículas y ventrículos. Existen dos supertipos: la conexión *auriculoventricular biventricular* y la conexión *auriculoventricular univentricular*.

En la conexión auriculoventricular biventricular, los dos ventrículos reciben sus conexiones auriculoventriculares e incluye tres tipos: concordante, discordante y ambiguo.

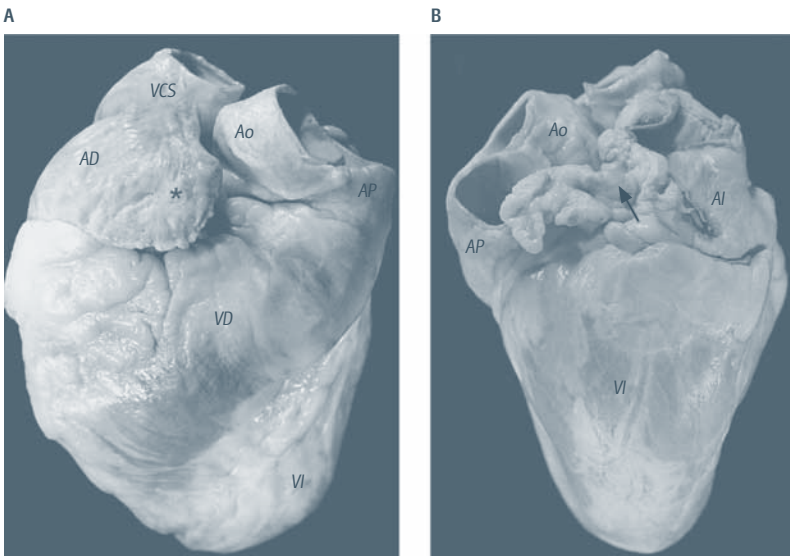


Figura 3.2. Fotografías que muestran la forma de las orejuelas. A, izquierda (asterisco); B, derecha (flecha). [AD, aurícula derecha; AI, aurícula izquierda; Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; VCS, vena cava superior; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo.]

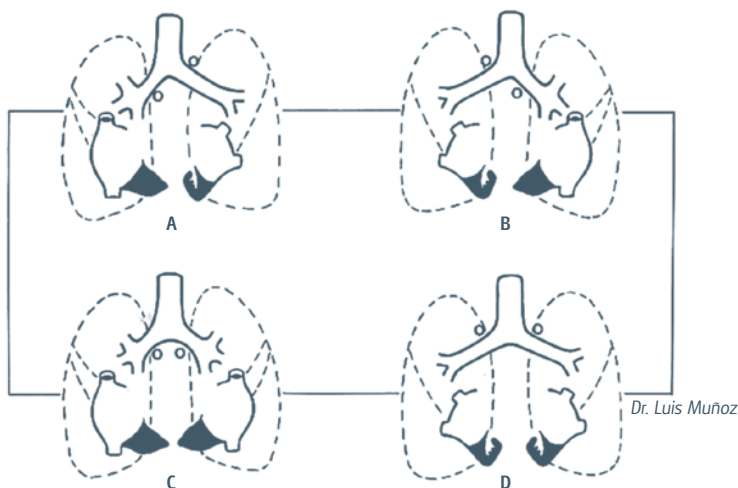
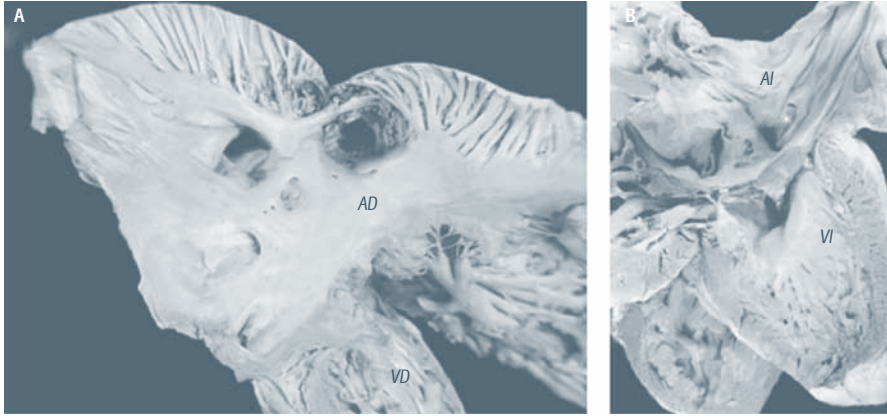


Figura 3.3. Esquemas que muestran los situs auriculares. A, solitus; B, inversus; C, dextromorfismo, y D, levomorfismo. (Elaboración: Dr. Luis Muñoz.)

- En el concordante, las aurículas están conectadas con sus respectivos ventrículos, aurícula y ventrículo derechos, y aurícula y ventrículo izquierdos (Figuras 3.1 y 3.4)
- En el discordante, las aurículas están conectadas con ventrículos inapropiados: la aurícula morfológica derecha, con el ventrículo anatómico izquierdo y la aurícula morfológica izquierda, con el ventrículo anatómico derecho (Figuras 3.1 y 3.5)
- La conexión ambigua requiere el cumplimiento de varios requisitos, como se detalla a continuación.
 - El situs debe ser isomórfico, ya sea con dextromorfismo o levomorfismo
 - El corazón debe tener dos ventrículos, cada uno con su conexión auriculoventricular
 - La ambigüedad se manifiesta porque una mitad del corazón es concordante y la otra discordante (Figuras 3.1 y 3.6)

El otro supertipo es la conexión auriculoventricular univentricular,¹⁵ en la que un solo ventrículo recibe la o las conexiones auriculoventriculares. Este supertipo incluye:

- **Doble entrada ventricular**, que se define cuando un ventrículo recibe más de 50 % de las válvulas auriculoventriculares y puede ser a ventrículo izquierdo, a ventrículo derecho o a ventrículo único (Figuras 3.1 y 3.7)



40 **Figura 3.4.** Conexión auriculoventricular concordante. A, cámaras derechas; B, cámaras izquierdas. (AD, aurícula derecha; AI, aurícula izquierda; Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; VCS, vena cava superior; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo.)

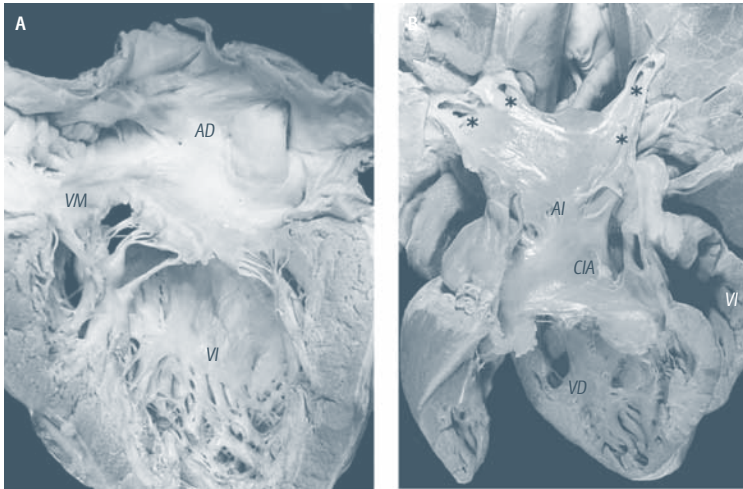


Figura 3.5. Conexión auriculoventricular discordante. A, aurícula derecha con ventrículo izquierdo; B, aurícula izquierda con ventrículo derecho. Obsérvese la desembocadura de las venas pulmonares (asteriscos).

[AI, aurícula izquierda; AD, aurícula derecha; CIA, comunicación interauricular; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo; VM, válvula mitral.]

- **Ausencia de conexión auriculoventricular**, en la que no existe continuidad entre la aurícula y el ventrículo subyacente; presenta dos variantes, derecha e izquierda, el piso de la aurícula involucrada es muscular y está ausente la válvula auriculoventricular correspondiente.

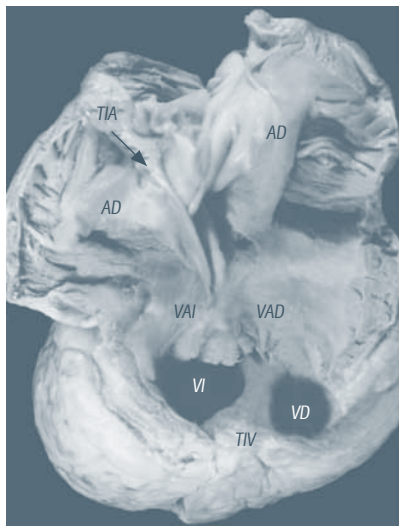


Figura 3.6. Conexión auriculoventricular ambigua. Obsérvese el dextromorfismo.

(AD, aurícula derecha; TIA, tabique interauricular; TIV, tabique interventricular; VAD, valva anterior derecha; VAI, valva anterior izquierda; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo.)

pondiente, externamente la aurícula está separada de su ventrículo por un surco profundo y carece de porción de entrada (Figuras 3.1 y 3.8), además se establecen las relaciones entre aurículas y ventrículos que pueden ser concordante, discordante y ambigua.

- **Conexiones auriculoventriculares cruzadas**, en las que el ventrículo involucrado tiene posición contralateral con respecto a la aurícula con que está conectado,¹⁶ si la conexión auriculoventricular es concordante, la aurícula morfológica derecha situada a la derecha está conectada con el ventrículo derecho posicionado a la izquierda y la aurícula anatómica izquierda bien ubicada está conectada con el ventrículo morfológico izquierdo situado a la derecha; de esta manera, las conexiones auriculoventriculares se cruzan en el espacio con la válvula tricúspide anterior y la válvula mitral posterior. En este caso, la relación auriculoventricular es discordante (Figura 3.9 A).

Cuando la conexión auriculoventricular es discordante, la aurícula morfológica izquierda se conecta con el ventrículo anatómico derecho ubicado a la derecha y la aurícula morfológica derecha se conecta con el ventrículo anatómico izquierdo ubicado a la izquierda. En este caso, las relaciones auriculoventriculares son concordantes (Figura 3.9 B), además se establecen los modos de conexión auriculo-

ventricular que se refieren a la anatomía de las válvulas auriculoventriculares y son: *perforado* cuando el orificio valvular es permeable; *imperforado* cuando está atrésico; *cabalgado* cuando la válvula tiene conexión biventricular, y *común* cuando existe una sola válvula que constituye el piso de ambas aurículas (Figuras 3.1 y 3.10).

Conexiones ventriculoarteriales

Estas conexiones establecen la continuidad entre los ventrículos y las grandes arterias, son cuatro tipos: *concordante* cuando éstas nacen de sus respectivos ventrículos, la aorta del izquierdo y la arteria pulmonar del derecho, conexión que se observa en el corazón normal (Figuras 3.1 y 3.11); *discordante* cuando las arterias emergen de ventrículos inapropiados, la aorta del derecho y la arteria pulmonar del izquierdo, conexión que corresponde al término clásico de transposición de las grandes arterias (Figuras 3.1 y 3.12); *doble salida ventricular*, que se establece cuando las grandes arterias nacen en más de 50% de un solo ventrículo que puede ser el derecho, el izquierdo o el único (Figuras 3.1 y 3.13). Las relaciones ventriculoarteriales pueden ser concordantes y discordantes, no se pueden establecer estas relaciones cuando se trata de un ventrículo único, porque para determinarlas son necesarios dos ventrículos y dos arterias; *única vía de salida* que se establece cuando una sola

42

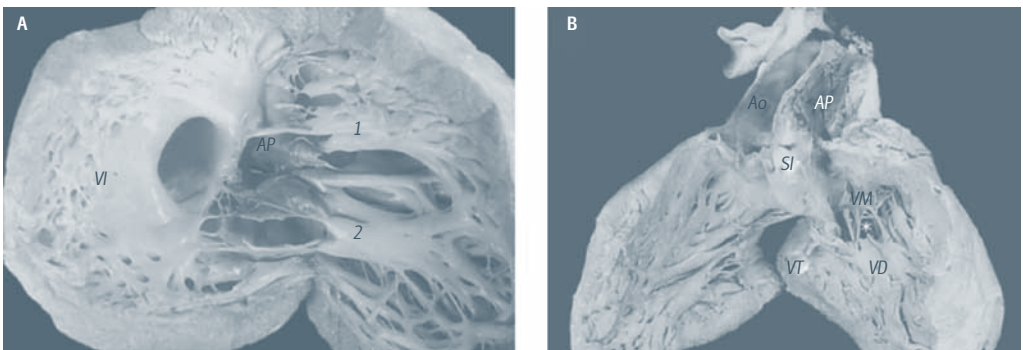


Figura 3.7. Conexión auriculoventricular doble entrada. A, a ventrículo izquierdo; B, a ventrículo derecho. (Asterisco, comunicación interventricular; 1, válvula auriculoventricular derecha; 2, válvula auriculoventricular izquierda; Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; SI, septum infundibular; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo; VM, válvula mitral; VT, válvula tricúspide.)

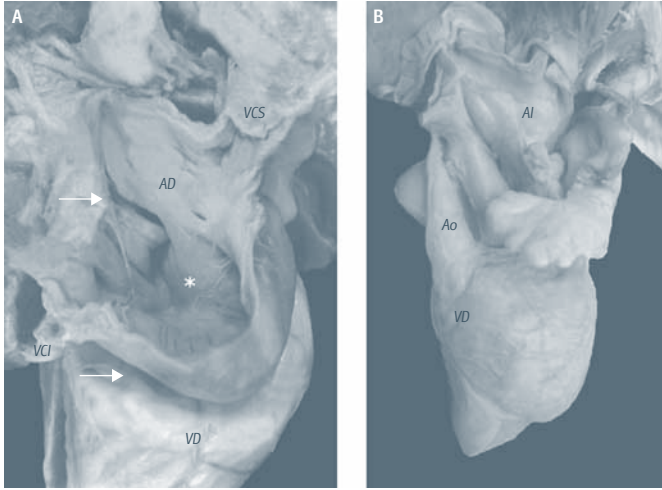


Figura 3.8. Ausencia de conexión auriculoventricular. A, derecha; B, izquierda. Flecha superior, Comunicación interauricular; Flecha inferior, surco que separa las cámaras derechas. (Asterisco, piso muscular; AD, aurícula derecha; AI, aurícula izquierda; Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; VCI, vena cava inferior; VCS, vena cava superior; VD, ventrículo derecho.)

arteria nace de la base del corazón que puede ser la persistencia de un tronco común o el tronco aórtico solitario cuando la arteria pulmonar ha desaparecido por atresia y apoptosis (Figuras 3.1 y 3.14). Los modos de conexión son: *perforado*, cuando la válvula arterial tiene permeable su orificio; *imperforado*, si éste está atrésico; *cabalgado*, si la válvula es biventricular, y *común*, cuando existe una sola válvula que es equivalente a las dos cuando están separadas y está presente en el tronco arterioso común.

Particularidades adicionales

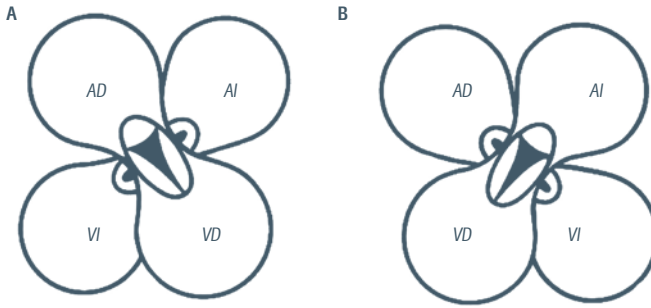
En este apartado se consignan la posición del corazón dentro del tórax y la dirección del ápex, el origen, el trayecto y la distribución de las arterias coronarias y la disposición del sistema de conducción (Figuras 3.1, 3.15 y 3.16).

Anomalías agregadas

En esta sección, se incluyen todas las malformaciones cardíacas presentes en el corazón, por ejemplo, los defectos septales, esteno-

sis, malformaciones estructurales, como la anomalía de Ebstein de la válvula tricúspide, hipoplasias ventriculares, etcétera.

El sistema secuencial segmentario ofrece una clasificación general de las cardiopatías congénitas y constituye un nuevo sistema de nomenclatura cuya piedra angular es el concepto de conexión.



44

Figura 3.9. Esquemas que muestran las conexiones auriculoventriculares cruzadas. A, concordantes con relaciones discordantes; B, discordantes con relaciones concordantes.

(AD, aurícula derecha; AI, aurícula izquierda; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo.)

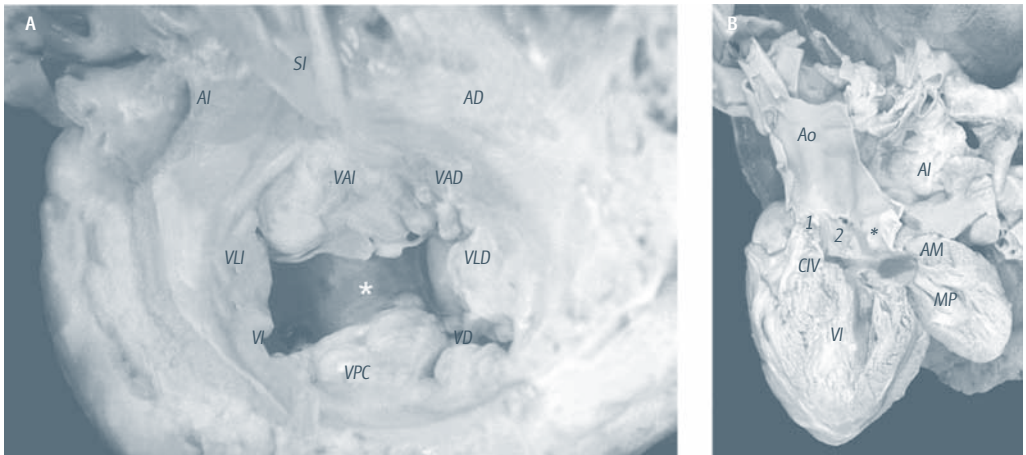


Figura 3.10. Modos de conexión auriculoventricular. A, perforado, común y cabalgado en un defecto de la tabicación auriculoventricular. B, imperforado por atresia mitral en un corazón con hipoplasia del ventrículo izquierdo.

(Asterisco blanco, tabique ventricular; asterisco negro, ausencia de una sigmoidea aórtica; 1 y 2, sigmoideas aórticas; AD, aurícula derecha; AI, aurícula izquierda; AM, atresia mitral; Ao, aorta; CIV, comunicación interventricular; MP, músculo papilar; SI, septum interauricular; VAI, valva anterior izquierda; VAD, valva anterior derecha; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo; VLD, valva lateral derecha; VLI, valva lateral izquierda; VPC, valva posterior común.)

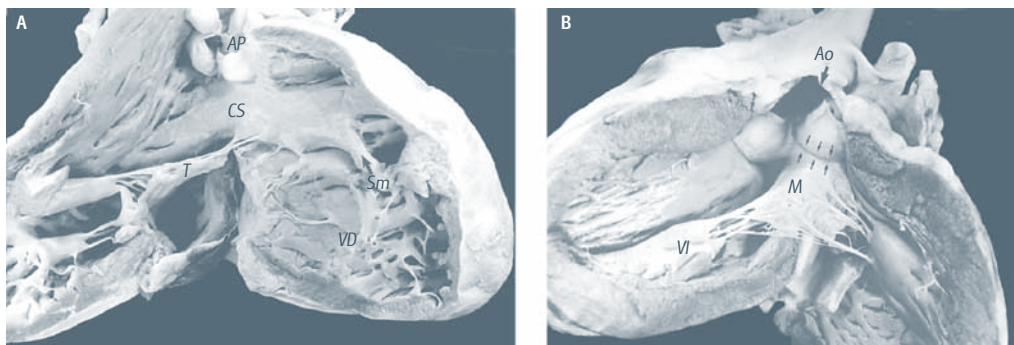


Figura 3.11. Conexión ventriculoarterial concordante. A, ventrículo derecho con arteria pulmonar. B, Ventrículo izquierdo con aorta.

(Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; CS, cresta supraventricular; T, tricúspide; Sm, Trabécula septomarginal; M, mitral; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo.)

Nota: las flechas pequeñas señalan la continuidad mitroaórtica.

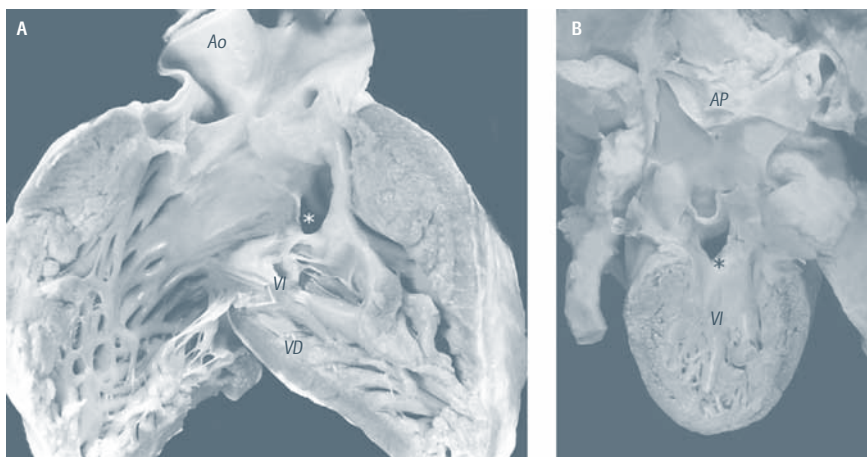
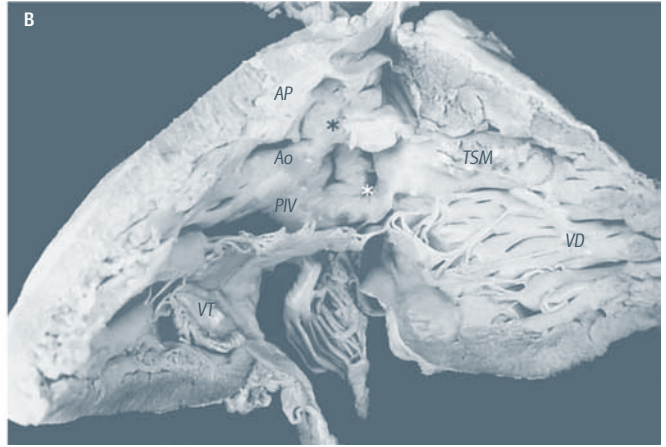


Figura 3.12. Conexión ventriculoarterial discordante. A, ventrículo derecho con aorta. B, ventrículo izquierdo con arteria pulmonar.

(Asteriscos, comunicación interventricular; Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo; VT, válvula tricúspide.)

Su conformación metodológica representó el avance doctrinario más importante de la cardiología pediátrica en la década de los setenta del siglo XX, ha resistido la prueba del tiempo y ha sido objeto de algunas modificaciones que lo han hecho más preciso.



46

Figura 3.13. Conexión ventriculoarterial doble salida de ventrículo derecho. A, vista externa del corazón; B, vista interna. Obsérvese las vías de salida de las grandes arterias a partir del ventrículo derecho. (Ao, aorta; AD, aurícula derecha; AP, arteria pulmonar; Asterisco negro, septum infundibular; asterisco blanco, comunicación interventricular; PIV, pliegue infundíbulo ventricular; TSM, trabécula septomarginal; VD, ventrículo derecho; VT, válvula tricúspide.)

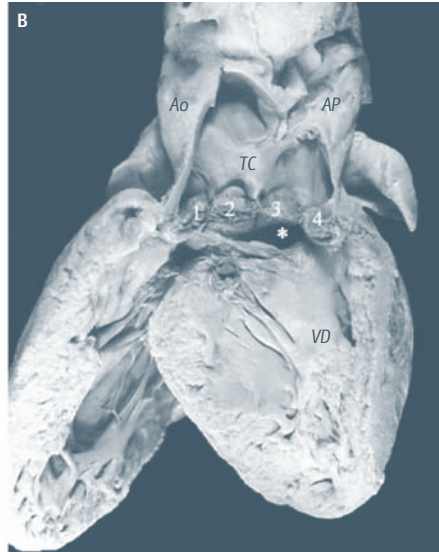


Figura 3.14. Conexión ventriculoarterial única vía de salida (tronco arterioso común). A, vista externa, obsérvese el arco aórtico hacia la derecha. B, vista interna. (Asterisco, comunicación interventricular; Ao, aorta; AP, arteria pulmonar; VD, ventrículo derecho; VI, ventrículo izquierdo; TC, tronco común; T, tráquea; 1-4, sigmoideas de la válvula troncal.)



Figura 3.15. Radiografías que muestran la posición del corazón dentro del tórax. A, dextrocardia. B, mesocardia. C, levocardia.

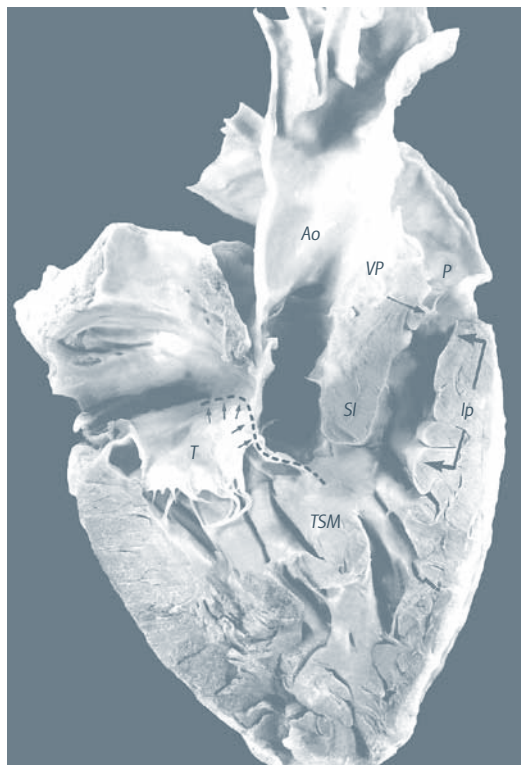


Figura 3.16. Vista interna de las cámaras derechas de un corazón con tetralogía de Fallot, que muestra la disposición del sistema de conducción (línea discontinua y flechas pequeñas). (Ao, Aorta; IP, infundíbulo pulmonar; P, arteria pulmonar; T, tricúspide; TSM, trabécula septomarginal; VP, válvula pulmonar.)

Referencias

1. Becker AE, Anderson RH. Atrioventricular septal defects. What's in a name? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1982;83:461-9.
2. Van Praagh R, Geva T, Kreutzer J. Ventricular septal defects: how shall we describe, name and classify them? *J Am Coll Cardiol.* 1989;14:1298-9.
3. Van Mierop LHS. Transposition of the great arteries. I. Classification or further confusion? *Am J Cardiol.* 1971;28:735-8.
4. Van Praagh R. Transposition of the great arteries: II. Transposition clarified. *Am J Cardiol.* 1971;28:739-42.
5. Van Praagh R. What is congenitally corrected transposition? *New Engl J Med.* 1979;282:1097-8.
6. Edwards JE, Burchell HB. Congenital tricuspid atresia: a Classification. *Med Clin North Amer.* 1949;33:1177-96.
7. Van Praagh R, Klett JA, Van Praagh S. Single ventricle. *Herz.* 1979;4:113-50.
8. Muñoz-Castellanos L, De la Cruz MV, Cieslinski A. Double inlet right ventricle: two pathological specimens with comments on embryology. *Br Heart J.* 1973;35:65-74.
9. Van Praagh R. The segmental approach to diagnosis in congenital heart disease. En: Bergsma D (ed). *Birth defects original article series. The National Foundation-March of Dimes.* Baltimore: Williams and Wilkins; 1972;VIII(5):4-23.
10. De la Cruz MV, Nadal-Ginard B. Rules for the diagnosis of visceral situs, truncocoanal morphologies and ventricular inversions. *Am Heart J.* 1972;84:19-32.
11. Anderson RH, Becker AE, Van Mierop LHS. What should we call the "crista"? *Br Heart J.* 1977;39:856-9.
12. Shinebourne EA, Macartney FJ, Anderson RH. Sequential chamber localization: the logical approach to diagnosis in congenital heart disease. *Br Heart J.* 1976;38:327-40.
13. Tynan MJ, Becker AE, Macartney FJ, Quero-Jimenez M, Shinebourne EA, Anderson RH. Nomenclature and classification of congenital heart disease. *Br Heart J.* 1979;41:544-53.
14. Muñoz-Castellanos L, Kuri-Nivón M. ¿Por qué hablar de isomorfismo y no de isomerismo y de otros términos antiguos como heterotaxia? En: *Clínicas Mexicanas de Cardiología. Cardiopatías congénitas.* Bahena-Patiño EJ (ed). México: Planeación y Desarrollo Editorial; 2013; pp 1-5.
15. Anderson RH, Becker AE, Tynan M, Macartney FJ, Righby ML, Wilkinson JL. The univentricular atrioventricular connection: getting to the root of a thorny problem. *Am J Cardiol.* 1984;54:822-8.
16. Anderson RH. Criss-cross hearts revisited. *Pediatric Cardiol.* 1982;3:305-13.

Nuevos fármacos en el tratamiento del síndrome metabólico

49

Roberto Medina Santillán, Carlos A. Aguilar Salinas, Gustavo Pastelín Hernández, Enrique Hong Chong

Nuestro propósito al escribir sobre los nuevos fármacos en el tratamiento del síndrome metabólico (SM) se sustenta en el hecho de que en él se suscita una gran confluencia de signos y alteraciones moleculares, relacionados con la obesidad, prediabetes y la enfermedad cardiovascular, asociadas inicialmente con el hiperinsulinismo y la resistencia a la insulina (RI). La doctora Corkey¹ postula que podría ser primero el hiperinsulinismo y después la RI, lo que aún no se sabe con certeza. El SM ha crecido a nivel mundial de manera alarmante, lo que lo ha convertido en un serio problema de salud, en forma paralela ha aparecido también una gran cantidad de nuevos fármacos y otros más surgirán en un futuro cercano para tratar de prevenir la alteración cardiometabólica a diferentes niveles y mecanismos de acción.

En relación con la RI en los diferentes tejidos y sus vías de señalizaciones, es sorprendente cómo la insulina mediante la unión con su receptor puede enviar mensajes tan diferentes, como en el caso del hipotálamo, el endotelio, el hepatocito, el miocito, el adipocito y la célula beta, entre otros. Aún se desconoce si es que inicia de manera preferencial por algún tejido, hay quienes piensan que pudiera comenzar en el endotelio. Debido a la frecuente coexistencia de disfunción endotelial y RI, otros consideran que su inicio podría ubicarse en el hígado graso con la llegada de macrófagos tipo 1²⁻⁴ y el principio del proceso inflamatorio; otros sostienen que da inicio

en el hipotálamo, el adipocito o el músculo. Esto nos confirma que la regulación metabólica es muchísimo más complicada y todavía tenemos mucho que aprender.

Dislipidemia del síndrome metabólico

En esta sección, la atención se centra en el tratamiento farmacológico de la dislipidemia del síndrome metabólico. La corrección de la dislipidemia es uno de los pilares de la prevención de las complicaciones cardiovasculares del síndrome metabólico.⁵ En personas con diabetes, por cada decremento de 38 mg/dL de la concentración de colesterol, disminuye 9% la mortalidad, 13% la mortalidad cardiovascular, 22% la incidencia de un evento cardiovascular mayor, 25% el número de revascularizaciones y 21% la incidencia de infarto cerebral.⁶ Los mismos beneficios se han descrito en casos con síndrome metabólico sin hiperglucemia, aunque la magnitud de los efectos es menor. El objetivo final del tratamiento es prevenir la incidencia de eventos cardiovasculares. La reducción de los lípidos séricos es sólo una meta intermedia.

Las recomendaciones vigentes proponen alcanzar un colesterol LDL < 100 mg/dL como el objetivo de tratamiento principal. Para los casos con cardiopatía isquémica (o condiciones con riesgo equivalente), el objetivo es más estricto (< 70 mg/dL). Sin embargo, la estimación del colesterol LDL es inexacta en presencia de concentraciones altas de triglicéridos y en pacientes diabéticos normolipidémicos. El colesterol no HDL resuelve algunas de las limitaciones del colesterol LDL. Los puntos de corte son los mismos que los del colesterol LDL más 30 mg/dL (100 y 130 mg/dL, respectivamente). Los objetivos secundarios son una concentración de la apolipoproteína B < 90 mg/dL (< 80 mg/dL en prevención secundaria), triglicéridos < 150 mg/dL y colesterol HDL > 40 mg/dL.⁷

Las medidas no farmacológicas son el método con la mejor relación costo-beneficio, en especial en el manejo de la hipertriglicéridemia. Incluye la suspensión del tabaquismo y de cualquier fármaco que afecte el perfil de lípidos, la restricción calórica y del consumo de carbohidratos y grasas, además del aumento de la actividad física.

El uso de los medicamentos hipolipemiantes ha crecido de manera exponencial en las últimas tres décadas. A continuación se revisa el estado del conocimiento de los hipolipemiantes usados en la dislipidemia del síndrome metabólico y se enuncian los grupos de fármacos en desarrollo.

Estatinas

Las estatinas son inhibidores competitivos de la HMGCoA reductasa, la enzima limitante en la síntesis de colesterol. Disminuyen las concentraciones del colesterol LDL, de modo que aumenta el catabolismo de las LDL y de sus precursores; de manera complementaria, disminuyen la producción de las LDL.⁸ Además, disminuye la concentración intracelular de metabolitos intermedios en la síntesis del colesterol (“efectos pleiotrópicos”), pero su contribución es menor, ya que más de 95% del beneficio de las estatinas es atribuible a la magnitud del decremento del colesterol sanguíneo.

Las estatinas se clasifican en hidrofílicas (rosuvastatina y pravastatina) y lipofílicas (simvastatina, atorvastatina, fluvastatina, pitavastatina). Difieren en su afinidad por los transportadores de membrana (OATP1B1, MDR1, BCRP, ABCG2), que determinan su concentración intracelular, y por los citocromos (3A4, 2C8, 2C19, 2C9) encargados de su depuración. Tales peculiaridades determinan la tasa de eventos adversos y en menor medida su potencia hipolipemiante. El mejor ejemplo es la variante c.521T>C del OATP1B1, la cual es responsable de 60% de los casos de miopatía asociados con la simvastatina.

En promedio, las estatinas tienen una eficacia similar, pero su potencia es distinta; 10 mg de simvastatina equivalen a 40 mg de pravastatina, 20 mg de lovastatina, 40 mg de fluvastatina, 10 mg de atorvastatina, 2 mg de pitavastatina y 5 mg de rosuvastatina. Con tales dosis, el porcentaje de reducción de los niveles de LDL es de 30% (38 mg/dL de colesterol LDL en promedio). Con dosis mayores pueden alcanzarse reducciones hasta de 70%. La dosis debe seleccionarse para lograr el objetivo terapéutico desde el inicio del tratamiento. Cuando se requieren reducciones mayores a 50%, se deben emplear dosis intermedias o altas de las estatinas de mayor potencia (simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina). Las estatinas no modifican en forma significativa la concentración de colesterol HDL (< 10%), la Lp(a) y la distribución de las subclases de LDL.

Las estatinas son una intervención costo-eficaz para la prevención de las complicaciones macrovasculares de la diabetes.⁹ Los beneficios ocurren independientemente de la concentración basal de colesterol. La American Diabetes Association (ADA)¹⁰ recomienda el uso de estatinas, independiente de la concentración de los lípidos sanguíneos, en casos con diabetes con cardiopatía isquémica o que sean mayores de 40 años y tengan al menos un factor de riesgo adicional. Para los casos menores de 40 años, el empleo se justifica si

tiene dos o más factores de riesgo o el colesterol LDL > 100 mg/dL. El cambio en la concentración de colesterol LDL resultante del tratamiento debe ser mayor a 30%.

Las estatinas aumentan la incidencia de diabetes. Este efecto adverso ocurre en sujetos que tienen obesidad, historia familiar de diabetes o una glucemia de ayuno > 100 mg/dL. El beneficio debido a la prevención cardiovascular es mayor al riesgo causado por la diabetes incidente.¹¹ La prescripción de una estatina en casos con prediabetes debe acompañarse de una intensificación de las acciones para alcanzar el peso ideal y aumentar la actividad física.

Fibratos

Los fibratos son útiles en el manejo de la hipertrigliceridemia refractaria al tratamiento dietético. En promedio disminuyen 40% los triglicéridos, 18% el colesterol total, 15% el colesterol LDL y aumentan 20% el colesterol HDL (en pacientes con hipertrigliceridemia). Modifican la concentración y la composición de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de densidad intermedia (IDL). Como resultado, disminuyen las concentraciones de triglicéridos en ayuno y posprandial. Los resultados del estudio VAHIT y de Helsinki demuestran que los fibratos reducen la mortalidad cardiovascular en personas con diabetes con hipertrigliceridemia y colesterol HDL bajo.¹² Otros reportes, como el estudio FIELD, no han encontrado reducciones en la incidencia de eventos cardiovasculares mayores debido a deficiencias metodológicas.

Un metaanálisis de 18 estudios (45 058 participantes, 3 880 muertes y 2 870 eventos cardiovasculares) demostró que los fibratos disminuyen 10% el riesgo relativo de sufrir un evento cardiovascular ($p = 0.048$) y reducen 13% la probabilidad de un evento coronario.¹³ No se encontró beneficio en la prevención de infarto cerebral, de mortalidad total, mortalidad cardiovascular o muerte súbita. Los fibratos disminuyen la progresión de la albuminuria y de la retinopatía proliferativa. Son agonistas de los receptores nucleares PPAR- α (receptor de los activadores de la proliferación de los peroxisomas alfa).

Nuevos fármacos

La complejidad de la fisiopatología del síndrome metabólico abre la posibilidad de tratar la dislipidemia por más de un meca-

nismo. Sin embargo, diversos esfuerzos han sido infructuosos. Ejemplos son los agonistas duales PPAR- α y γ , el ácido nicotínico, agonistas o antagonistas de los receptores LXR- α . Cerca de 70 fármacos dirigidos a 20 blancos de tratamiento se encuentran en desarrollo. Un alto porcentaje son anticuerpos monoclonales u oligonucleótidos antisentido. Ejemplos que están próximos a incorporarse al mercado son los inhibidores de la proproteína convertasa sutilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), los inhibidores de la proteína de transferencia microsómica (MTP) o de la transcripción del gen de la apolipoproteína B. Sin embargo, ninguno de ellos podría tener como indicación primaria el tratamiento del síndrome metabólico. Por lo tanto, el tratamiento de la dislipidemia del síndrome metabólico es un campo fértil (pero complejo) para el desarrollo de nuevos fármacos.^{14,15} En este campo existen necesidades terapéuticas no resueltas. Es deseable el desarrollo de medicamentos que puedan incrementar el número de las HDL sin alterar su función o con la capacidad de disminuir la concentración de las partículas ricas en triglicéridos sin causar efectos colaterales.

En suma, el tratamiento de las dislipidemias es uno de los elementos centrales del tratamiento del síndrome metabólico. Su manejo es complejo; requiere el empleo de más de una intervención. Aunque con el uso de estatinas, y en menor medida de los fibratos, es posible alcanzar los objetivos de tratamiento en más de la mitad de los casos, existen necesidades terapéuticas no resueltas.

El síndrome metabólico y el sistema renina-angiotensina-aldosterona

La experiencia clínica ha descrito con insistencia que la administración de fármacos inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) modifica de modo favorable algunas de las características fisiopatológicas del síndrome metabólico (SM). Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los antagonistas de los receptores para angiotensina II (ARA-II) reducen:

1. *Las cifras de hipertensión arterial sistémica (HAS)*
2. *La resistencia a la acción de la insulina*
3. *La velocidad de desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2)*
4. *La velocidad de desarrollo de daño renal*
5. *Mejoran algunas formas de dislipidemia (D). Recientemente se ha atribuido a la renina y a la activación de los receptores prorrenergicos,¹⁶ su participación en el SM.*

El conocimiento fisiopatológico del SM muestra cierta analogía con el avance del conocimiento del SRAA, lo que permite establecer algunas coincidencias y reciprocidades de interacción. Coinciden en el establecimiento de entidades nosológicas como en la génesis de HAS, la resistencia a la insulina y DM2, la obesidad (Ob) y la dislipidemia, definidas como factores de riesgo cardiovascular. Coinciden también en la presencia de alteraciones biomoleculares,^{17,18} como la disfunción endotelial, el incremento del estrés oxidativo, la actividad protrombótica, el estado inflamatorio, la fibrosis y la proliferación celular, entre éstas la del tejido adiposo visceral y la de las capas de la pared vascular, incluida la de las arterias coronarias.

La reciprocidad se hace evidente en la relación causa-consecuencia: el carácter poligénico del SM altera la función de múltiples sistemas, entre éstos el SRAA. Por su parte, el SRAA alterado, acentúa las consecuencias fisiopatológicas del SM. Estas coincidencias y reciprocidades son moduladas por factores de diversa naturaleza como la variabilidad genética, la ambiental, la metabólica y la etnológica.

La asociación entre la HAS y el SM en el ser humano, se ha atribuido en general a factores genéticos de susceptibilidad ubicados en el SRAA. Se han identificado algunas variaciones alélicas que han sugerido realizar estudios de experimentación genética para investigar cuáles indican la participación específica de los componentes del SRAA.

Estudios de orden genético llevados a cabo en nuestro país en pacientes con síndrome metabólico^{19,20} concuerdan en los hallazgos en otras poblaciones^{21,22} que indican la participación de haplotipos reguladores de la expresión de la ECA, que elevan la susceptibilidad para el desarrollo de HAS. El más reciente de estos estudios²¹ describe concentraciones séricas significativamente elevadas de ECA en pacientes con HAS, índice de masa corporal (IMC) y DM2. En estos pacientes las concentraciones elevadas de la ECA se hallaron asociadas con los haplotipos de riesgo tipo H1/H2 y H2/H2.

Algunos resultados de investigación básica indican la importancia de la regulación genética de la renina y de los receptores prorrenergicos, en la inducción de la obesidad y de la resistencia a la insulina.¹⁶

Estas coincidencias y reciprocidades van más lejos del simple bloqueo de las enzimas y receptores del SRAA. Algunos ARA-II, como el losartán, poseen otras acciones no relacionadas con su grupo, como la actividad uricosúrica o, en su caso, el telmisartán, ejerce acciones de agonista parcial de los receptores peroxisómicos de activación proliferativa del tipo gamma²³ (PPAR- γ).

El esquema tradicional del SRAA consistía inicialmente en un solo eje enzimático productor de angiotensina I (A-I) y angiotensi-

na-II (A-II), a partir de la degradación de angiotensinógeno por renina (R) y ECA. A este eje se han agregado en el ser humano, cuando menos otros tres:

1. *El de angiotensina 1-7 (Ang 1-7) producida por una segunda enzima convertidora de angiotensina conocida como ECA-2 que es ligando de un tipo de receptores especiales conocidos como MAS (del inglés mitogenic activity signaling), cuyas acciones son opuestas a las de A-II*
2. *El de angiotensina 1-12 (Ang 1-12), en el que participan otras quimasas diferentes de renina. Este eje es, por lo tanto, extrarrenal, aunque termina produciéndose Ang-II.²⁴*
3. *El eje productor del heptapéptido Alamandina, ligando de otro tipo de receptores MAS y en consecuencia independiente de Ang 1-7.²⁵*

En conclusión, en el presente tema se vislumbran nuevas rutas de investigación, en especial las que deriven de los avances recientes en el conocimiento del SRAA y que sin duda tendrán relación con el SM.

55

Agonistas serotoninérgicos 5-HT₂ y síndrome metabólico

Considerando que la resistencia a insulina es una alteración metabólica que comparten el síndrome metabólico, la diabetes tipo 2 y la hipertensión (HTA),²⁶ varios grupos de investigación han dirigido sus esfuerzos al tratamiento de este desorden metabólico, como una manera alternativa de tratar dichos padecimientos. Recientemente, se ha demostrado que la estimulación de los receptores 5-HT₂ puede incrementar la secreción y sensibilidad a insulina (SI),^{27,28} así como el metabolismo y la captación de glucosa.^{29,30} Sin embargo, la estimulación de estos receptores acoplados a una proteína G_q que moviliza calcio ocasiona vasoconstricción e incrementa la presión arterial (PA).³¹

A pesar de que se han diseñado agonistas más selectivos de los receptores 5-HT_{2C}, como la lorcaserina, que no provoca un incremento significativo de PA, la lorcaserina *se prescribe sólo como fármaco antiobesidad*, que mejora la SI y reduce el peso corporal, sobre todo por provocar saciedad.³² En este sentido, nuestro grupo de investigación también se ha dado a la tarea de encontrar un agonista serotoninérgico que sea capaz de mejorar la SI sin incrementar la PA y que, por lo tanto, pueda usarse en comorbilidad RI-HT, además de que no represente un riesgo para pacientes no obesos o con SM y que no muestre los efectos secundarios que se presentan con el tratamiento convencional contra la RI, como la metformina y las glitazonas.

El sistema serotoninérgico y el metabolismo de glucosa

De gran interés ha sido la observación de que la administración de serotonina (5-HT), precursores o agonistas y antagonistas específicos de sus receptores pueden modular los niveles de glucosa en sangre de roedores. Mientras algunos investigadores reportan que la 5-HT promueve hiperglucemia al estimular receptores 5-HT_{1A} y promover la liberación renal de catecolaminas,³³ otros han indicado que la 5-HT disminuye la concentración de glucosa en sangre, y que este efecto está mediado por receptores 5-HT₂.^{34,35} Además, se ha encontrado una asociación inversa entre los niveles de serotonina en el SNC y el síndrome metabólico, que ha sido asociado con una función serotoninérgica reducida.³⁶ De hecho, la RI que es una de sus características metabólicas, muestra una relación inversa con la actividad serotoninérgica central.³⁷ Y las variaciones genéticas en los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} con obesidad abdominal y diabetes.^{38,39}

56

Así, pues, la estrategia terapéutica actual en el tratamiento de la RI se dirige a encontrar agonistas para los receptores 5-HT_{2A/2C} que no muestren efectos adversos importantes. Se sabe que los receptores 5-HT_{2A} están expresados en musculoesquelético y tejido adiposo de roedores y humanos, y que la estimulación de estos receptores con serotonina o agonistas promueve el transporte de glucosa, por aumento en la translocación de sus transportadores (GLUT3 y GLUT4), efecto inhibido con ketanserina.^{35,40} También hay reportes que indican que la estimulación de estos receptores puede contribuir con la secreción pancreática de insulina, mejorar el metabolismo hepático de glucosa^{29,30} y disminuir la absorción de monosacáridos en el intestino delgado.⁴¹

Sin embargo, como ya se mencionó, la estimulación de receptores 5-HT_{2A} incrementa la PA,³⁴ y por esta razón se buscan agonistas más selectivos de los receptores 2C, que provocan anorexia y pérdida de peso y difícilmente pueden usarse en pacientes con RI e HT que no presenten obesidad. Por eso, nuestro grupo de investigación tiene la posibilidad de probar varios agonistas serotoninérgicos que a pesar de estimular los receptores 5-HT_{2C}, no incrementen en forma significativa la PA, y que no provoquen efectos anoréxicos importantes.

De esta forma, estamos ante un buen campo de estudio que nos permitirá ofrecer nuevas alternativas terapéuticas en el tratamiento de la RI y la HT. En la actualidad, en el laboratorio contamos con

distintos compuestos, uno de ellos ya ha mostrado tener propiedades antihipertensivas y al mismo tiempo mejorar la SI. Otros, se encuentran a prueba, para evaluar si también pueden controlar ambas variables, o al menos, mejorar la SI sin incrementar la PA.

Para probar las hipótesis anteriores, utilizamos como técnicas de evaluación, la pinza (clamp) euglucémica-hiperinsulinémica, que se considera el estándar de oro para evaluar la SI, realizamos pruebas de tolerancia a la glucosa y calculamos índices de sensibilidad a insulina (como el HOMA y el Matsuda y De Fronzo),⁴² que nos permiten evaluar si mejora la SI, en ratas Wistar sanas o modelos animales de SM, DT2, HT-RI (como las ratas SHR), los cuales son tratados con los compuestos en cuestión.

A la fecha, tenemos algunos resultados que nos motivan a seguir en la búsqueda de un compuesto que ofrezca una nueva estrategia de tratamiento contra la epidemia de la resistencia a la insulina, que se relaciona estrechamente con otras enfermedades que provocan la mayoría de las muertes no sólo en México, sino en el mundo: síndrome metabólico, diabetes mellitus 2 e hipertensión. Los medicamentos fentermina-topiramato y lorcaserina, que hace poco fueron aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento farmacológico de la obesidad, deberán demostrar su efectividad y seguridad en el manejo de esta patología metabólica en diversas poblaciones en los siguientes años.⁴³

57

Referencias

1. Corkey BE. hyperinsulinemia: cause or consequence. *Diabetes*. 2012;61:4-13.
2. Debra L. Macrophages and inflammatory mediators in chemical toxicity: a battle of forces. *Lakin Chem Res Toxicol*. 2009;22:1376-85.
3. Méndez-Sánchez N, Chávez-Tapia NC, Zamora-Valdés D, Medina-Santillán R, Uribe M. Hepatobiliary diseases and insulin resistance current medicinal chemistry. 2007;14:1988-99.
4. Medina-Santillan R, Lopez-Velazquez JA, Chavez-Tapia N, Torres-Villalobos G, Uribe M, Mendez Sanchez N. Hepatic manifestations of metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013; Published online in wiley online library (wileyonlinelibrary.com) DOI:10.1002/dmrr.2410
5. Aguilar-Salinas CA, Mehta R, Rojas R, Gómez-Pérez FJ, Olaiz G, Rull JA. Management of the metabolic syndrome as a strategy for preventing the macrovascular complications of type 2 diabetes: controversial issues. *Curr Diabetes Rev*. 2005;1(2):145-58.

6. Li R, Zhang P, Barker L, Chowdhury F, Zhang X. Cost-effectiveness of interventions to prevent and control diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Care*. 2010;33:1872-94.
7. Anderson TJ, Grégoire J, Hegele RA, Couture P, Mancini GB, McPherson R, et al. 2012 update of the Canadian Cardiovascular Society guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. *Can J Cardiol*. 2013;29(2):151-67.
8. Aguilar-Salinas CA, Barrett H, Schonfeld G. Metabolic modes of action of statins in the hyperlipoproteinemias. *Atherosclerosis*. 1998;141:203-7.
9. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomized trials. *Lancet*. 2010;376:1670-81.
10. American Diabetes Association. Standards of medical care 2013. *Diabetes Care*. 2013;36 (suppl 1):S11-S66.
11. Axsom K, Berger J, Schwartzbard AZ. Statins and diabetes: the good, the bad, and the unknown. *Curr Atheroscler Rep*. 2013;15:299-36.
12. Steiner G. The use of fibrates and of statins in preventing atherosclerosis in diabetes. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:611-7.
13. Jun M, Foote C, Lv J, Neal B, Patel A, Nicholls SJ, et al. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2010;375:1875-84
14. Hilal-Dandan R, Brunton LL. Goodman & Gilman's Manual of pharmacology and therapeutics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2013: p 253.
15. Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC (ed). Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. Chapters 25, 27, 31, and 43. New York: McGraw-Hill; 2011.
16. Chi-Hong W, Feng Li, Takahashi N. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Open Hypertens J*. 2010;3:1-13.
17. Zarzani R, Salvi F, Dessi-Fulgueri P. Renin-angiotensin system, natriuretic peptides, obesity, metabolic syndrome, and hypertension: an integrated view in humans. *J Hypertens*. 2008;26:831-43.
18. Sánchez-Mendoza MA, Pérez-Severiano F, Pastelín G, Martínez-Reding J (ed). Obesidad y su importancia en el síndrome metabólico. En: Síndrome metabólico, Cap. 8. Factores de riesgo cardiovascular. Clínicas Mexicanas de Cardiología, Sociedad Mexicana de Cardiología. México: Planeación y Desarrollo Editorial; 2010: pp. 129-44.
19. Martínez-Rodríguez N, Posadas-Romero C, Villarreal-Molina T. Single nucleotide polymorphisms of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene are associated with essential hypertension and increased ACE enzyme levels in Mexican individuals. *PLoS ONE* 8(5)2013:e65700. doi:10.1371/journal.pone.0065700
20. Alvarez-Aguilar C, Enriquez-Ramirez ML, Figueroa-Nuñez B. Association between angiotensin-1 converting enzyme gene polymorphism and the metabolic syndrome in a Mexican population. *Exp Mol Med*. 2007;30:39(3):327-34.

21. Shu X, McKenzie CA, Forrester T. Localization of a small genomic region associated with elevated ACE. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1144-53.
22. Shu X, Chang YP, Weder A. Association between hypertension and genes in the rennin-angiotensin system. *Hypertension.* 2003;41:1027-34.
23. Karajiannis A, Mikailidis DP, Athyros VG. The role of renin-angiotensin system inhibition in the treatment of hypertension in metabolic syndrome: are all the angiotensin receptor blockers equal? *Expert Opin Ther Targets.* 2007;11:191-205.
24. Dell'Italia I, Ferrario CM. The never-ending story of angiotensin peptides. Beyond angiotensin I and II. *Circ Res.* 2013;112:1086-7.
25. Lautner RQ, Villela DC, Fraga-Silva RA, Silva N, Verano-Braga T, Costa-Fraga F, et al. Discovery and characterization of alamandine: a novel component of the renin-angiotensin-system. *Circ Res.* 2013;112(8):1104-11.
26. Bikhazi AB, Azar ST, Birbari AE, El-Zein GN, Haddad GE, Haddad RE, et al. Characterization of insulin resistance: role of receptor alteration in insulin-dependent diabetes mellitus, essential hypertension and cardiac hypertrophy. *Eur J Pharm Sci.* 2000;11(4):299-306.
27. Zhou L, Sutton GM, Rochford JJ, Semple RK, Lam DD, Oksanen LJ, et al. Serotonin 2C receptor agonists improve type 2 diabetes via melanocortin-4 receptor signaling pathways. *Cell Metab.* 2007;6: 398-05.
28. Hahn M, Chinthon A, Giacca A, Xu L, Lam L, Mann S, et al. Atypical antipsychotics and effects of muscarinic, serotonergic, dopaminergic and histaminergic receptor binding on insulin -secretion in vivo: An animal model. *Schizophrenia Research.* 2011;131:90-5.
29. Coelho WS, Da Silva D, Marinho-Carvalho MM, Sola-Penna M. Serotonin modulates hepatic 6-phosphofructo-1-kinase in an insulin synergistic manner. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(1):150-7.
30. Hampson LJ, Mackin P, Agius L. Stimulation of glycogen synthesis and inactivation of phosphorylase in hepatocytes by serotonergic mechanism, and counter-regulation by atypical antipsychotic drugs. *Diabetologia.* 2007;50:1743-51.
31. Pissios P, Maratos-Flier E. More than satiety: central serotonin signaling and glucose homeostasis. *Cell Metab Prev.* 2007;6:345-7.
32. Engeli S, Jordan J. Novel metabolic drugs and blood pressure: implications for the treatment of obese hypertensive patients? *Curr Hypertens Rep.* 2013;15:470-4.
33. Sugimoto Y, Kimura I, Watanabe Y, Yamada J. The 5-HT_{1A} receptor agonist 5-hydroxy-2-di-n- (propylamino) tetralin (SOHDPAT) induces hyperglucagonemia in rats. *Japan J Pharmacol.* 2001;24(10):1191-4.
34. Sugimoto Y, Kimura I, Yamada J, Watanabe Y, Takeuchi N, Horisaka K. Effects of serotonin on blood glucose and insulin levels of glucose- and streptozotocin-treated mice. *Japan J Pharmacol.* 1990;54:93-6.
35. Hajuyduch E, Franck R, Anudharan B, Batty HI, Downes CP, Hundal SH. Serotonin (5-hydroxytryptamine), a novel regulator of glucose transport in rat skeletal muscle. *J Biologic Chem.* 1999;274:13563-8.

36. Muldoon MF, Mackey RH, Williams KV, Korytkowski MT, Flory JD, Manuck SB. Low central nervous system serotonergic responsivity is associated with the metabolic syndrome and physical inactivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:266-71.
37. Horacek J, Kuzmiakova M, Hoschl C, Andel M, Bahbonh R. The relationship between central serotonergic activity and insulin sensitivity in health volunteers. *Psychoneuroendocrinology.* 1999;24:785-97.
38. Rosmond R, Bouchard C, Bjorntorp P. Increased abdominal obesity in subjects with a mutation in the 5-HT_{2A} receptors gene promoter. *Ann NY Academ Sci.* 2002;976:571-5.
39. Yuan X, Yamada K, Ishiyama-Shigemoto S, Koyama W, Nonaka K. Identification of polymorphic loci in the promoter region of the 5-HT_{2C} receptor gene and their association with obesity and type II diabetes. *Diabetologia.* 2000;43(3):373-6.
40. Guillet-Deniau I, Burnol AF, Girard J. Identification and localization of a skeletal muscle serotonin 5-HT_{2A} receptor coupled to the Jak/STAT Pathway. *J Biol Chem.* 1997;272(23):14825-9.
41. Arruebo MP, Mesonero JE, Murillo MD, Alcalde AI. Effect of serotonin on D-galactose transport across the rabbit jejunum. *Reproduction Nutrition. Dev.* 1989;29:441-8.
42. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care.* 1999;22(9):1462-70.
43. Cabrerizo-García, Ramos-Levi A, Moreno-Lopera C, Rubio-Herrera MA. Update on pharmacology of obesity: benefits and risks. *Nutr Hosp.* 2013 Sep;28(suppl 5):121-7.

BIOTECNOLOGÍA: INVESTIGACIONES CON GENES DE IMPACTO EN LA SALUD

Evolución de genes y genomas

*Antonio A. Pérez Maya
Hugo Alberto Barrera Saldaña*

Genómica comparativa como herramienta de estudio

Aunque al obtener la secuencia de un genoma se logra el acceso a la información que éste contiene, aún falta interpretarla. Así, el análisis de un genoma se refiere a la tarea de entender qué dice su secuencia nucleotídica; básicamente qué genes contiene, dónde se encuentran y qué funciones desempeñan las proteínas que codifican.^{1,2,3} A lo largo de la evolución, la selección natural ha regido los cambios que sufren los genomas y sus genes. De las ventajas o inconvenientes que estos cambios acarreen, dependerá que se consoliden en las siguientes generaciones. La comparación de genomas, genes y proteínas de distintas especies es la aproximación más intuitiva y directa para interpretar “el manual de instrucciones” que constituye el patrimonio hereditario de cada ser vivo.^{4,5}

Las proteínas son las biomoléculas más versátiles y diversas, capaces de desempeñar funciones tan variadas como: ser componente estructural de las células, ser responsable de la catálisis enzimática de reacciones bioquímicas, participar de manera activa en el transporte de moléculas, constituir la defensa del organismo, encargarse de la transducción de señales, regular la expresión génica, entre otras. Cuando se comparan las secuencias de aminoácidos de proteínas que realizan una misma función en organismos distintos, se observa que son parecidas y que se puede establecer una correspondencia entre los residuos aminoacídicos en ciertas posiciones de unas y otras;

además de que existen algunas que son idénticas y otras entre las que hay diferencias. En el contexto de la evolución molecular, estas proteínas en diferentes especies se parecen porque tienen un origen común (se dice que son *ortólogas*) y las diferencias se deben a que a lo largo del tiempo los genes han divergido por la acumulación de cambios o mutaciones en sus secuencias.⁶ Las proteínas con secuencias suficientemente parecidas suelen tener un origen común⁷ y presentar una estructura tridimensional similar,⁸ aunque no es raro que realicen funciones distintas,⁹ también pueden traslaparse en otras.

La importancia de estos estudios comparativos de proteínas ortólogas se destacó por primera vez hace medio siglo⁷ y, desde entonces, se ha puesto de manifiesto una y otra vez en numerosos trabajos. La comparación de proteínas ortólogas proporciona mucha información acerca de cómo se ha producido la evolución de los organismos¹⁰ y está relacionado con la importancia de éstas para la sobrevivencia de los mismos. Pero no siempre es fácil obtener información comparando las secuencias, ya que muchas veces lo que observamos no está ahí por ser óptimo, sino como consecuencia de un largo proceso evolutivo. Esto se puede expresar de forma más precisa utilizando los términos de selección positiva, negativa y neutra, que se refieren a cómo resulta un cambio para un organismo.¹¹

Los investigadores hemos aprendido mucho sobre la evolución y función de los genes humanos examinando sus contrapartes en modelos animales. Ahora se suma el comparar sus genomas para determinar la similitud y diferencia de las secuencias, localización de los genes, la longitud y el número de exones en estos, las regiones genómicas altamente conservadas y la cantidad de ADN no codificante.^{12,13}

El *locus* de la hormona del crecimiento y la evolución molecular del genoma de los primates

Esta sección se enfoca en el *locus* de la hormona del crecimiento (GH) como modelo de estudio de la evolución molecular del genoma de los primates.

La GH es una hormona que se sintetiza y secreta en la glándula pituitaria de todos los mamíferos para regular el crecimiento y varios aspectos centrales del metabolismo. Está presente en los vertebrados y en la mayoría de los mamíferos, su *locus* posee un solo gen. Sin embargo, en primates pasó a ser un *locus* multigénico.^{14,15} Esta enigmática transición ha sido motivo de estudio de nuestro laboratorio.

El *locus* GH en el humano se localiza en la banda q24.2 del brazo largo del cromosoma 17, abarca una extensión aproximada de 50 000 pares de bases (pb) que contiene cinco genes muy similares con la misma orientación transcripcional.^{16,17} En su extremo 5', está flanqueado por el gen CD79b, activo en los linfocitos B,^{18,19} y en su extremo 3', por el gen TCAM, una molécula de adhesión testicular que se ha convertido en un pseudogene en el genoma humano.^{20,21}

El *locus* inicia con el gen de la GH hipofisiaria o hGH-N (referido como normal), cuya expresión es específica de los somatotrofos de la glándula pituitaria anterior. Le siguen los restantes cuatro genes, de expresión específica del sincitiotrofoblasto de la placenta. De éstos, dos codifican para una CSH madura idéntica (hCSH-A y hCSH-B)²² y uno (también del tipo CSH y referido como hCSH-L) fue considerado originalmente un pseudogen, por poseer una mutación en su segundo intrón, que evitaría el procesamiento correcto de sus transcritos;²³ aunque ello está en duda, pues se ha reportada evidencia de su expresión en placenta.²⁴⁻²⁷ El gen restante es el hGH-V, el cual codifica para una variante de la GH que se postula sustituye a la GH hipofisiaria durante el embarazo.^{17,28}

Los eventos de duplicación génica han sido clave para moldear los genomas y familias génicas. En éstas, la generación de nuevas copias del gen ancestral permite que las copias queden libres para mutar y especializarse con el fin de llevar a cabo funciones diferentes, lo que representa un cambio ventajoso para el individuo portador.²⁹ La especialización se produce de forma gradual, lo que permite que series repetidas de duplicación y divergencia durante millones de años conduzcan a que un gen origine una familia de genes dentro del mismo genoma.

Las diferencias nucleotídicas de relevancia entre los miembros de una misma familia, son aquellas que se concentran en sus regiones codificantes y regulatorias. Existen ejemplos de familias en las cuales la diferenciación aparece en ambas regiones, siendo más acentuada en genes con funciones diferenciadas, como lo son genes con especificidad tisular de expresión variada.³⁰ Tal es el caso de la familia GH, sobre todo en primates, donde también se incluyen los genes de las somatomotropinas coriónicas o CSH. Esta familia multigénica constituye un modelo ideal para estudiar los mecanismos moleculares mediante los cuales los genes que se relacionan de manera muy cercana unos a otros expresan proteínas muy similares, pero que son activos en diferentes tejidos a muy diferentes niveles –arriba de miles de veces–, sin mencionar la ambigüedad funcional de algunos de ellos.¹⁶

La duplicación génica se considera como uno de los fenómenos más relevantes en la evolución de las proteínas y de sus nuevas funciones.³¹⁻³⁴ Se ha postulado que al existir dos copias de un gen, la presión selectiva frente a cambios en residuos importantes es menor, ya que si uno de los genes pierde la función, aún queda la del otro. Esto facilita la exploración de nuevos nichos funcionales para las proteínas miembros de la familia, que empiezan a cambiar. Existen familias de proteínas en las que este fenómeno es especialmente notorio, por lo que en éstas se puede observar gran variedad de funciones entre sus miembros.⁶

La secuenciación de los genomas de primates proporciona un medio para estudiar aspectos estructurales y funcionales de la evolución del genoma humano, desde su divergencia a partir de un antepasado común.³⁵⁻³⁷ Las comparaciones de sus genomas con el nuestro pueden ayudar a revelar las bases moleculares, así como las fuerzas evolutivas que han moldeado el genoma de nuestra especie, incluidos los procesos subyacentes de mutación y restricciones selectivas, entre otras cuestiones.

La historia evolutiva del *locus* GH en los primates

La familia de GH en los primates se originó a partir de una rama evolutiva inicialmente unigénica que continuó sin grandes cambios hasta la aparición de los platirrinos. La evolución de la GH en los primates es única por su impresionante aceleración. En un principio, se privilegiaron eventos de expansión del *locus* a causa de duplicaciones que se propiciaron por la presencia de elementos repetitivos tipo Alu que rodeaban el *locus* ancestral.¹⁷

Después de la separación de los tarsieros y antropoides, pero antes de la divergencia de los platirrinos y los catarrinos, múltiples eventos de duplicaciones génicas condujeron a un aumento del número de genes GH, lo que evidencia la notable expansión que ha sufrido este *locus* en primates.^{15,38-40} Además del gen del tipo GH, cuya expresión siguió restringida a la hipófisis, aparecieron genes CSH, así como GH-V, ambos de expresión placentaria.^{13,17,41,42}

La historia comienza en los prosimios, en los cuales la GH es codificada por un solo gen, cuya secuencia es muy similar a la ancestral encontrada en los mamíferos no primates. Las evidencias moleculares sugieren que el *locus* GH sufrió una expansión en el número de genes y en el tamaño de las intergénicas. Durante estos eventos, fueron incorporadas regiones genómicas clave para la ad-

quisición de la expresión de tejido específica y se produjeron procesos de divergencia génica que condujeron a la aparición de nuevas hormonas. Ya en los antropoides, los *loci* GH están integrados por múltiples genes no alélicos relacionados y, en general, las GH en este grupo de primates están bastante conservadas.

En cuanto al surgimiento de la expresión diferencial de los genes miembros del *locus*, la actividad en la placenta de los genes relacionados con GH se ha documentado en antropoides.^{17,41,43} Sin embargo, hasta el momento no han aparecido reportes de genes GH expresados en placenta en prosimios. No está claro cómo algunos genes GH son expresados en placenta en platirrinios. A partir de los cercopitecoideos, los miembros de esta familia de genes acumularon sustituciones aminoacídicas que predicen la adquisición de nuevas características distintivas de las hormonas placentarias del *locus* humano.

Uno de los puntos clave de la regulación de la expresión de los genes es el control transcripcional. En esta categoría está incluida la presencia de secuencias regulatorias accesorias (potenciadores y represores) y la interacción entre las múltiples proteínas activadoras o inhibitoras que se unen a dichas secuencias.

En los catarrinos, los genes placentarios están sujetos a una represión transcripcional mediada por una región conservada, denominada elemento P o inhibidor hipofisiario, situada cerca de 2 kb enfrente del sitio de inicio de la transcripción,⁴⁴ a la cual se unen en la hipófisis proteínas que impiden su expresión en esta glándula.^{16,45} Aproximadamente a 2.3 kpb después de cada gen CSH, se localiza un potenciador, que incrementa la expresión de éstos en la placenta.^{16,46,47} Se ha descrito que la función de este potenciador es independiente de su orientación y posición.⁴⁷ El control de la especificidad tisular en el *locus* GH del genoma humano lo ejercen en gran medida el inhibidor hipofisiario y el potenciador placentario. A la fecha no está del todo clara la funcionalidad del elemento represor de los genes placentarios en hipófisis en los *loci* GH de los platirrinios.

Nuestro grupo ha venido investigando la ruta evolutiva que ha seguido esta familia, mediante el estudio de las secuencias de sus genes en diferentes especies de primates, referenciándolos al *locus* GH humano, cuya anatomía y expresión nuestro grupo también contribuyó a revelar hace años.⁴⁸ La determinación de la estructura de algunos *loci* de primates representativos a lo largo de la escala evolutiva y el análisis bioinformático de las secuencias de genes y de las regiones intergénicas, nos ha permitido empezar a comprender cómo se llevó a cabo la dramática evolución de este *locus*.^{13,38,40} Por

otra parte, la clonación y subclonación a partir de los genes de sus unidades transcripcionales y promotores en vectores de expresión eucariontes y su transfección transitoria en células de mamífero en cultivo nos ha permitido desarrollar un sistema de disección de su potencial de expresión, codificación y especificidad tisular eficiente.²³ Esto último abre la posibilidad de empezar a explorar el papel fisiológico de estas hormonas en la evolución.

Cuando iniciamos nuestra incursión en el campo de la genómica comparativa, sólo se conocía la organización del *locus* humano.¹⁷ De entonces a la fecha, se han agregado, por parte de otros grupos, la anatomía del *locus* GH de marmoset (*Callithrix jacchus*) y del mono capuchino (*Cebus albifrons*),^{14,15} mientras que nuestro grupo ha resuelto la organización de los *loci* de lémur (*Lemur catta*), chimpancé (*Pan troglodytes*), gorila (*Gorilla gorilla*), orangután (*Pongo abelii*), mono rhesus (*Macaca mulata*), mono verde (*Cercopithecus aethiops*) y mono de Vervet (*Chlorocebus pygerythrus*).^{13,38,40,49} La aportación de la secuencia de otros primates antropoides y estrepsirrininos nos permite ahora profundizar en las comparaciones genómicas y en un entendimiento más completo de la evolución de los genomas en primates.⁵⁰

En nuestros esfuerzos por entender la evolución del *locus* GH en primates (últimos 60 millones de años), en colaboración con el doctor Michael Wallis, experto evolucionista de la GH, hemos emprendido el reto de determinar la composición y organización génica de este *locus* en especies representativas de los diferentes grupos de primates. En un proceso laborioso de anotación de los *loci* y mediante el análisis de genómica comparativa, comenzamos a descifrar la ruta evolutiva en primates y los mecanismos por medio de los cuales se adquirieron los nuevos genes, éstos divergieron para dar origen a genes tipo CSH y GH-V, y se adquirió la especificidad tisular de expresión. Nuestro material de partida clave lo constituyen las secuencias obtenidas de una colección de BAC portadores de los *loci* GH de 11 especies de primates (Figura 5.1).

Nuestros hallazgos iniciales confirman un solo gen en lémures y más de una media docena (incluidos algunos pseudogenes) en plattirrininos. A la vez revelan seis genes GH/CSH en cercopitecoideos y entre cuatro y seis en hominoideos. La inspección de los mismos muestra que inician con el gen GH-N y que su composición varía en los diferentes grupos de primates al experimentar diferentes rutas evolutivas (no todos los genes de los *loci* resultan ortólogos).

Por último, se sabe desde hace décadas que la GH en el humano afecta numerosos órganos y sistemas, y que actúa sobre diversos

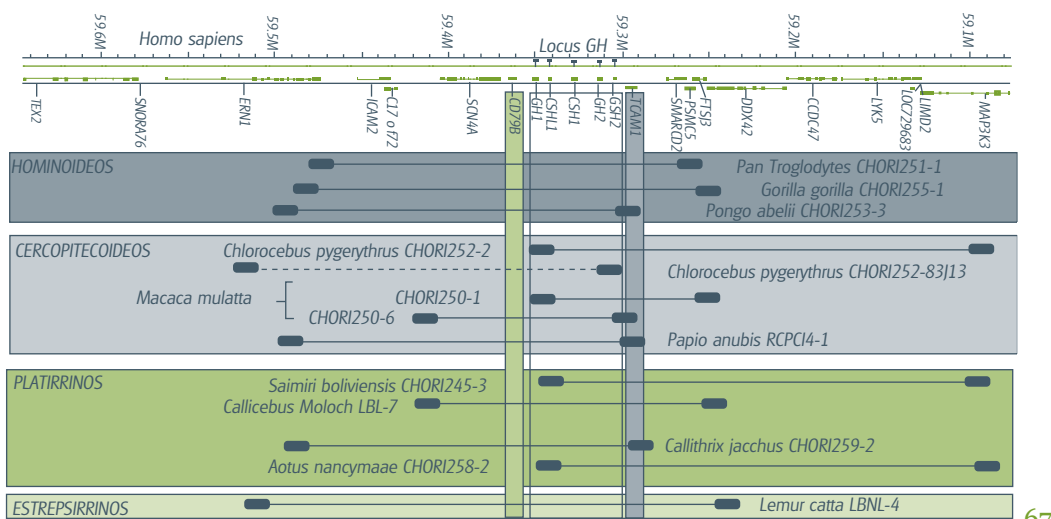


Figura 5.1. Representación de las secuencias genómicas contenidas en nuestra colección de BAC. Mapeo de los cromosomas artificiales de bacterias (BAC) de 11 especies de primates que aislamos a partir del depósito de BAC del doctor Pieter de Jong del Children’s Hospital Oakland Research Institute, de Oakland, EU.

procesos metabólicos y homeostáticos. Pero más recientemente se ha acumulado evidencia de su participación en el desarrollo cerebral, la neurogénesis, la neuroprotección, el aprendizaje y la memoria. Por su lado, los niveles maternos de CSH se han asociado con el crecimiento del feto y la producción de IGF-I durante el embarazo.⁵¹ Dado el impacto de la GH en la salud, aun desde la embriogénesis y desarrollo fetal, no dudamos en que, como fruto de este proyecto, sea muy probable que en el mediano plazo se desprendan aplicaciones en la clínica y la biotecnología sanitaria.

Agradecimientos

Los autores agradecen los apoyos invaluable de Iram Sánchez Rodríguez, Agnés Revol de Mendoza, Dolores Esquivel Escobedo, Rafael González Alvarez, Gloria Leticia Corrales Félix, Ana Ma. Sifuentes Rincón, Pieter de Jong, Yunxin Fu y Michael Wallis. Asimismo, expresan su agradecimiento por los financiamientos del PAICYT (UANL), CONACyT y el Texas Institute of Biomedical Research (San Antonio, Texas).

Regulación de la expresión de genes

Patricio Gariglio Vidal

De entre los cánceres con mayor impacto en nuestra población, el cáncer cervicouterino (CaCu) representa un grave problema de salud pública en México. Cada año se reportan aproximadamente 530 000 nuevos casos y 275 000 muertes.^{1,2} Nuestro laboratorio ha tomado el CaCu como modelo para entender cómo subyacen en la carcinogénesis averías en la estructura, función e interacción de genes entre sí con el ambiente.

En México, esta enfermedad representa además un enorme problema socioeconómico. Al inicio y durante el desarrollo del CaCu es necesaria la infección con alguno de los tipos oncogénicos del virus del papiloma humano (HPV o VPH). Los HPV se clasifican como de “bajo riesgo” y “alto riesgo”, según su potencial oncogénico. Los HPV de “alto riesgo” o HR-HPV (del inglés *high-risk human papillomaviruses*) son virus con genoma de DNA de doble cadena circular de 8 kb que codifica para 6 proteínas de expresión temprana, entre las que se encuentran las oncoproteínas E5, E6 y E7. Tanto el HPV16 como el HPV18 son clasificados como de alto riesgo oncogénico y están asociados con alrededor de 50 a 70% y 20 a 30% de los cánceres cervicales invasores diagnosticados a nivel global, respectivamente.

Los estudios moleculares relacionados con la carcinogénesis inducida por una infección persistente con HR-HPV³ han revelado mecanismos fundamentales por los cuales estos virus expresan los oncogenes virales E6 y E7, inducen inestabilidad genómica (mutaciones) y cambios epigenéticos (alteraciones que no involucran mutaciones) en la cromatina (véase más adelante).

Afortunadamente, los estudios epidemiológicos indican que la mayoría de los individuos inmunocompetentes infectados con HR-HPV son capaces de eliminar la infección viral y se mantienen asintomáticos. En una minoría de pacientes (alrededor de 1%), la infección por el HR-HPV persiste y causa lesiones clínicamente detectables que pueden progresar a cáncer invasor⁴ en un largo periodo, de años o décadas⁵ (Figura 5.2). Durante este tiempo diversos factores medioambientales (deficiencia en el consumo de vitamina A, consumo de estrógenos por periodos largos y tabaquismo, entre otros) en conjunto con la presencia de las oncoproteínas virales E6 y E7, pueden inducir tanto cambios genéticos (mutaciones) como cambios epigenéticos en la cromatina de las células infectadas.

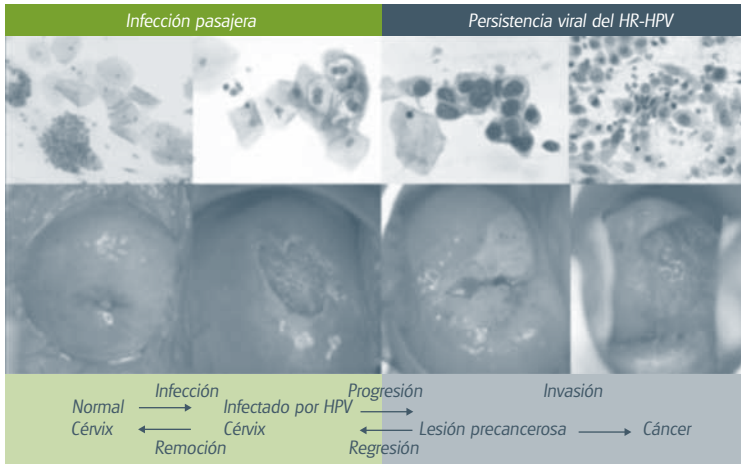


Figura 5.2. El desarrollo del cáncer cervical ocurre en etapas múltiples y en un periodo de 10 a 15 años, lo cual permite el diagnóstico histopatológico y molecular de las lesiones preneoplásicas. Afortunadamente, la mayoría de estas lesiones regresan en forma espontánea y sólo un pequeño porcentaje progresa a cáncer invasor.

(Fuente: tomado de: Schiffman M et al. *Lancet*. 2007;370:890-907.)

Dado que en la carcinogénesis cervical intervienen: a) genes celulares regulados tanto genética como epigenéticamente y b) oncogenes virales (E6 y E7) que alteran diferentes procesos celulares, como la estabilidad genómica y el paisaje epigenético de la célula infectada, es necesario dar algunos detalles sobre los factores que siguen.

Regulación genética y epigenética

En el desarrollo de un tumor maligno participan factores genéticos (mutaciones en protooncogenes celulares y en genes supresores de tumor) y factores epigenéticos que llevan a una expresión alterada de cientos de genes celulares (Figura 5.3). Estos genes normalmente controlan importantes procesos como ciclo celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo celular, respuesta inmune y uniones intercelulares, entre otros.⁶ La expresión alterada (aumentada o disminuida) de genes puede ocurrir muy temprano en el desarrollo del cáncer y constituir una base importante, tanto en el diagnóstico

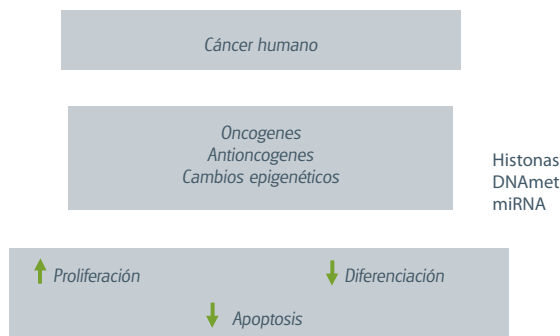


Figura 5.3. En el desarrollo de un tumor maligno participan factores genéticos (mutaciones en oncogenes celulares y en genes supresores de tumor) y factores epigenéticos (donde no hay mutaciones o cambios en la secuencia del gen) que llevan a una expresión alterada de cientos de genes celulares. Estos genes normalmente controlan importantes procesos como ciclo celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo celular, respuesta inmune y uniones intercelulares, entre otros.

(Fuente: tomado de: Gariglio P. *Oncogenes and tumor suppressor genes*. Editorial Bentham Science Publishers.)

70

como en la terapia de las neoplasias humanas.⁷⁻¹¹ Lo que es de gran relevancia en este campo es el hecho de que la activación o inhibición de la expresión de los genes regulados epigenéticamente puede ser reversible y cambiar conforme a factores ambientales.¹²⁻¹⁴

Entre las alteraciones genéticas, podemos mencionar las mutaciones que activan protooncogenes, como *myc* y *ras* (frecuentes en cáncer humano), y las que inactivan genes supresores de tumor, como retinoblastoma (*rb*) y *p53*, que es el gen que se encuentra mutado con mayor frecuencia en cáncer.¹⁵ Dado que muchas proteínas oncogénicas y supresoras de tumor funcionan directa o indirectamente como factores de transcripción cambiando la expresión de un elevado número de genes blanco, las mutaciones que alteran la función de estos genes constituyen una base importante en el desarrollo del cáncer humano.

En relación con los mecanismos de regulación epigenética en cáncer, tenemos la metilación del DNA en las islas CpG de las regiones promotoras de los genes, la cual apaga (inhibe) la expresión de genes supresores de tumor. Otro mecanismo por el que se inhibe la expresión de estos genes es la desacetilación de histonas asociadas con sus regiones promotoras,^{13,16} mediante desacetilasas de histonas o HDAC (*histone deacetylases*). La inhibición de la expresión de los genes supresores de tumor, ya sea por metilación de sus regiones promotoras o mediante desacetilación de las histonas de estas regiones, constituye un paso muy importante en carcinogénesis.¹⁷⁻¹⁹ Estos mecanismos epigenéticos son reversibles mediante metiltransfera-

sas de DNA y desmetilasas de DNA, o bien, por medio de HDAC y HAT (*histone acetyl transferases*). La inhibición de HAT o aumento en la actividad de HDAC llevaría a una baja expresión de genes supresores de tumor. La metilación de las histonas también desempeña un importante papel en la expresión de genes relacionados con cáncer.¹⁶ Así, la trimetilación de la histona H3 en la lisina ubicada en la posición 4 de la cadena polipeptídica (H3K4Me3) puede activar la expresión de oncogenes, en tanto que la trimetilación de las lisinas en las posiciones 9 y 27 de esta misma histona (H3K9Me3/H3K-27Me3) inhibe la expresión de genes supresores de tumor (Figuras 5.4 y 5.5). Estos cambios epigenéticos los introducen HMT (*histone methyl transferases*) y son totalmente reversibles mediante la actividad de las HDMT (*histone demethylases*).

Un interesante ejemplo en el diagnóstico molecular del cáncer se relaciona con la regulación epigenética de *p16* (gen supresor de tumores); este gen se encuentra poco expresado (“apagado”) en muchos cánceres humanos debido a la metilación de su región promotora. Sin embargo, está sobreexpresado en CaCu, de modo que constituye un importante biomarcador molecular para diagnóstico. A medida que avanzan las lesiones cervicales, la señal de *p16* (fácil de medir) se intensifica, ya que su región promotora se activa por mecanismos epigenéticos que involucran la desmetilación de his-

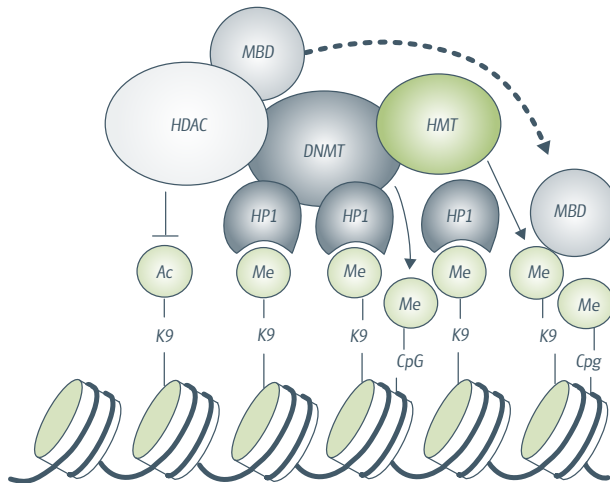


Figura 5.4. La activación o inhibición de la expresión de los genes regulados epigenéticamente puede ser reversible y conforme a mecanismos específicos, como metilación/desmetilación del DNA en regiones promotoras, acetilación/desacetilación de las histonas y metilación/desmetilación de las histonas cercanas dentro de las regiones promotoras.

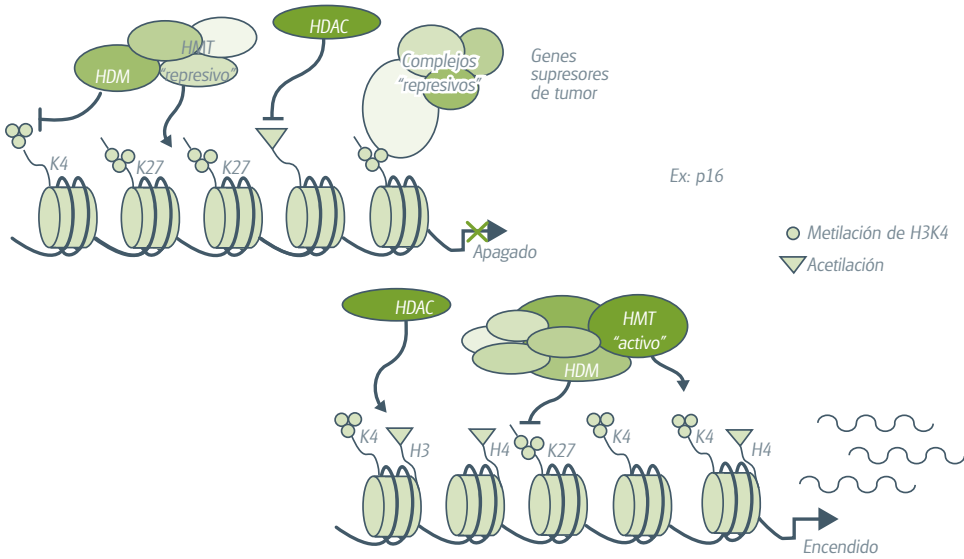


Figura 5.5. Los oncogenes se activan (se “prenden”) y los genes supresores de tumor se inactivan (se “apagan”) mediante mecanismos epigenéticos. Esto ocurre a tiempos muy tempranos en el desarrollo de lesiones precancerosas y puede ayudar a la detección de biomarcadores importantes en Diagnóstico Molecular.

tonas (véase más adelante).²⁰⁻²⁵ Lo anterior sugiere que los mecanismos moleculares relacionados con la carcinogénesis cervical son similares, pero no idénticos, a los de otros cánceres humanos.

Tomemos otro valioso ejemplo en diagnóstico molecular del cáncer y en particular del CaCu, el caso del gen supresor de tumores *p53*. Como mencionamos antes, este gen con frecuencia se encuentra mutado en todo tipo de cáncer, excepto en CaCu, donde no está mutado, pero en esta neoplasia la proteína *p53* se encuentra inactivada por una oncoproteína viral (véase más adelante). Lo que es común entonces para el desarrollo del cáncer en general es la inactivación por mutación o por degradación de la proteína supresora de tumor *p53*.²⁶⁻²⁸ Algo parecido ocurre con el gen *rb* y con la proteína supresora de tumor conocida como pRb (proteína retinoblastoma), que en células normales inhibe el ciclo celular al secuestrar ciclinas y factores de transcripción, como E2F, en la fase G1 del ciclo celular,^{29,30} pero que está inactivada en CaCu por una oncoproteína viral (véase más adelante).

En otras palabras, lo anterior reconfirma que los mecanismos moleculares son semejantes en el desarrollo de cualquier tipo de cáncer, pero que hay características específicas e interesantes en el caso del cáncer cervicouterino. Aún más, dada la etiología viral del CaCu y la relativa facilidad con la que se pueden estudiar sus etapas, el estudio

Nucleosomas del SV40 son transcritos

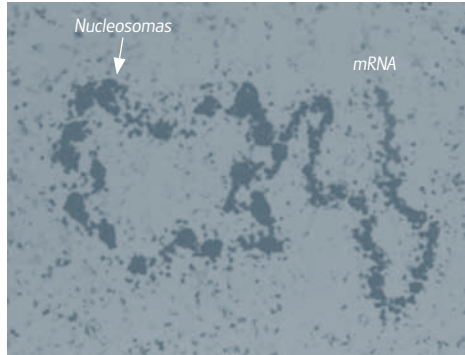


Figura 5.6. Se demuestra por primera vez que las histonas pueden estar presentes en genes activos en transcripción, lo que sugiere que estas importantes proteínas deberían de sufrir alteraciones postraduccionales para permitir el paso de la polimerasa de RNA.

73

de este cáncer está sirviendo de modelo para entender el desarrollo de otros carcinomas. El estudio de los cambios epigenéticos reversibles en las histonas presentes en las regiones promotoras de los oncogenes y de los genes supresores de tumor puede tener implicaciones importantes en la terapia del cáncer. Como podemos ver, han pasado más de 30 años desde la época en que se demostró que las histonas no siempre inhiben la síntesis del RNA mensajero y que (contrario a lo que se pensaba) pueden estar presentes en genes activos en transcripción³¹ (Figura 5.6). Dado que las histonas son potentes inhibidores de la transcripción, la observación anterior implicaba que estas moléculas debían de sufrir importantes cambios epigenéticos para permitir la actividad de la polimerasa de RNA en los genes eucarióticos.

Los oncogenes virales E6 y E7

La oncoproteína E6

Esta proteína inhibe apoptosis usando distintos mecanismos.^{32,33} E6 interactúa y degrada muchas proteínas celulares, como la proteína supresora de tumores p53 y otras proteínas involucradas en apoptosis, inmortalización, proliferación, transformación celular, adhesión y metabolismo celular.³⁴ La pérdida de la actividad de p53 debida a la proteína E6 de HR-HPV asegura que la célula epitelial cervical proliferare sin control y no se muera por apoptosis.^{33,35,36} Otra forma en la

que E6 degrada a p53 es mediante la unión e inhibición de la acetilasa de histonas (HAT) p300, lo que causa desacetilación e inestabilidad de p53. Obviamente, la inhibición de la HAT p300 por la oncoproteína E6 también causa cambios en las histonas asociadas con la cromatina, lo cual lleva a la desacetilación de histonas e inhibición de la región promotora de genes supresores de tumor.³⁷

E6 también inhibe apoptosis por mecanismos distintos de p53, por ejemplo mediante la degradación de Bak o de Bax, proteínas proapoptóticas que inducen la formación de poros y la liberación del citocromo c de la mitocondria durante el inicio de la cascada apoptótica intrínseca. E6 también causa la inactivación proteolítica de otras proteínas proapoptóticas como FADD, procaspasa 8 y c-myc. Esta oncoproteína viral puede activar survivina, una importante proteína antiapoptótica que inhibe caspasa 9. Debido a que p53 es un potente inhibidor de la región promotora (desmetilada) del gen que codifica para survivina, la degradación de p53 por E6 puede explicar en parte la activación de survivina por esta oncoproteína viral.³⁸ La proteína E6 de los HR-HPV inhibe, además, la vía extrínseca de apoptosis al unirse a los receptores de muerte TNFR-1 y al inducir CIAP-2 (del inglés *cellular inhibitor of apoptosis protein 2*).³³

Además, E6 de HR-HPV posee un motivo de unión (aproximadamente cinco aminoácidos) a proteínas que presentan dominios PDZ, el cual es crítico para la transformación celular.³⁹ La degradación de algunas proteínas con dominios PDZ por E6 de HR-HPV induce proliferación celular y rompe uniones intercelulares, lo cual es necesario en carcinogénesis.⁴⁰ Hace poco determinamos que *in vivo*, en el ratón transgénico K14E6, la oncoproteína E6 de HPV16 puede aumentar la actividad de la vía Wnt/ β -catenina; esto constituye un paso importante en carcinogénesis.⁴¹ Asimismo, empleando el mencionado ratón transgénico, demostramos que bajo ciertas condiciones la oncoproteína E6 induce la internalización de proteínas involucradas en uniones intercelulares.⁴²

Otro mecanismo importante en el CaCu es aquel que se relaciona con el aumento en la actividad de la telomerasa debido a E6 de HR-HPV,^{43,44} permitiendo a las células transformadas dividirse las veces que lo deseen, es decir, pasan a ser inmortales.^{45,46} Las anteriores son algunas de las múltiples funciones de la oncoproteína E6 que le permiten cooperar con E7 en la transformación del epitelio cervical.

La oncoproteína E7

Esta pequeña oncoproteína viral (98 aminoácidos) se une e inactiva tanto a la proteína supresora de tumor retinoblastoma (pRb) como a otras proteínas relacionadas con pRb (p107 y p130).^{47,48} La inactivación de pRb por E7 induce la liberación de ciclinas y del factor transcripcional E2F, lo que favorece la expresión de genes de proliferación y el paso de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. La unión directa de E7 a E2F activa este importante factor transcripcional y causa la activación de las ciclinas A y E;^{49,50} aún más, E7 bloquea la actividad de p21 y p27, potentes inhibidores de las CDK. Esta oncoproteína viral también aumenta la expresión de Cdc25, una fosfatasa celular oncogénica que remueve grupos fosfato inhibitorios de cdk235 y además se asocia con la forma desfosforilada de cdk2.

Otra propiedad de la oncoproteína E7 es la de inducir inestabilidad genómica con lo que el genoma celular adquiere mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumor para el desarrollo del fenotipo maligno. Lo anterior, constituye otro paso importante en el desarrollo del CaCu que complementa una serie de cambios epigenéticos inducidos por las oncoproteínas virales. Por ejemplo, recientemente se encontró que la oncoproteína E7 induce la expresión de la HDMT llamada KDM6B,⁵¹ esta es una importante desmetilasa de histonas, la cual remueve grupos metilo que se comportan como inhibidores de la transcripción cuando se encuentran unidos a la lisina 27 de la histona H3. Este tipo de regulación permite entender la activación transcripcional del gen *p16*, ya que la región promotora de tan importante gen supresor de tumores, se inhibe por metilación tanto del DNA como de la histona H3 en la lisina (H3K27Me3).^{27,51,52}

En presencia de la oncoproteína E7, la proteína p16 ya no puede bloquear el ciclo celular porque E7 destruye a pRb, que es una proteína blanco de p16.²⁰⁻²⁵ Es decir, p16 actúa “río arriba” tratando de bloquear el ciclo celular en lugares desbloqueados previamente por E7; aun en presencia de grandes cantidades de p16, el ciclo celular sigue avanzando, por lo que este potente inhibidor del ciclo celular (p16) se acumula durante el desarrollo del CaCu y es importante en el diagnóstico molecular de esta enfermedad. Además de la inducción de KDM6B, la proteína E7 interactúa y bloquea la HDAC de clase I; la oncoproteína E7 se asocia con la proteína Mi2, un componente del complejo NURD con actividad de HDAC,⁵³ con esto no solamente se inhibe HDAC, sino que se promueve el crecimiento celular.

En nuestro laboratorio, en colaboración con el doctor Paul Lambert (Madison, Wisconsin, EU) estamos estudiando cambios tempranos en la expresión de genes que pueden tener importancia en el diagnóstico molecular e incluso en terapia epigenética del CaCu.^{54,55} Empleamos un sistema modelo murino (ratones hembra transgénicas K14E7), que al aplicarle una dosis fisiológica de estrógenos (17 β -estradiol) administrada en forma crónica (liberación prolongada) durante 6 meses, desarrolla CaCu a los 7 meses de edad.^{56,57} Hemos observado que cuando los ratones K14E7 tienen 1.5 meses de edad (equivalentes a una mujer de aproximadamente 15 años, infectada por HR-HPV) se sobreexpresan 112 genes y se inhibe la expresión de 253 genes en el cérvix, respecto a la situación del correspondiente tejido control (cérvix de ratones FvB de 1.5 meses de edad).⁵⁴ Estos genes están relacionados con diferentes procesos celulares (Figura 5.7); por citar sólo un ejemplo, el gen supresor de tumor Dmbt 1 (involucrado en la respuesta inmune, en particular en inflamación) reduce su expresión entre 10.6 veces (según nuestro microarreglo) y 16.3 veces (según RT-qPCR) (Figura 5.8).

En la Figura 5.9 (inmunohistoquímica), podemos ver que este posible marcador temprano de CaCu disminuye con fuerza su expresión en ratones hembra K14E7 de 1.5 meses de edad.⁵⁴ Usando el mencionado sistema modelo murino (pero a los 4 meses de edad y a 3 meses de tratamiento con estrógenos), observamos que en el ratón hembra que va en camino de desarrollar CaCu aumenta la expresión de 148 ge-

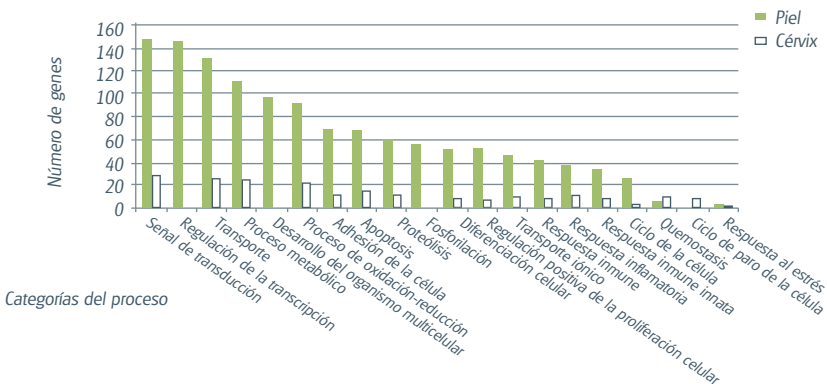
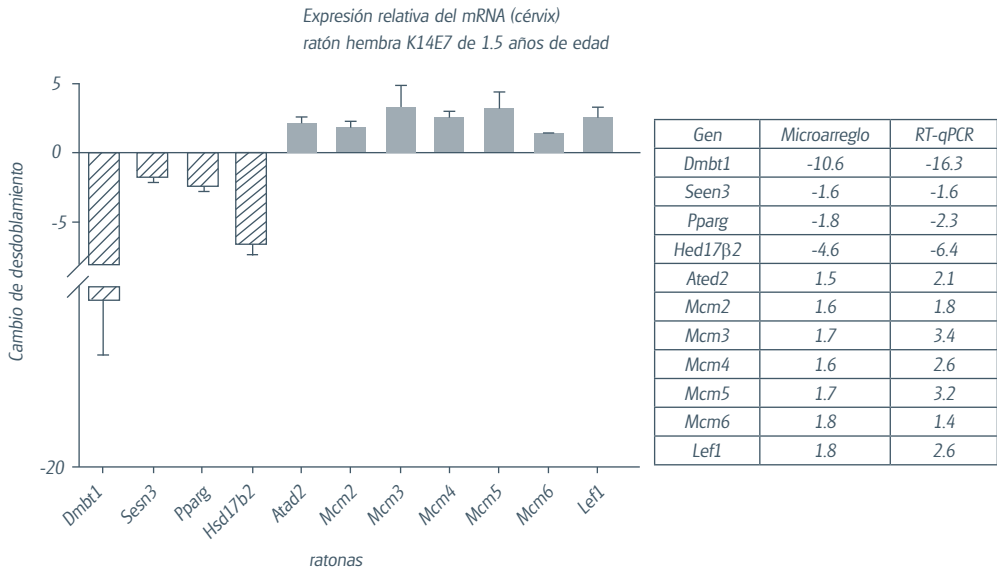


Figura 5.7. En el ratón hembra K14E7 de 1.5 meses de edad, se altera la expresión de genes que regulan importantes procesos celulares. La expresión de estos genes puede ayudar en el diagnóstico molecular del cáncer cervicouterino.

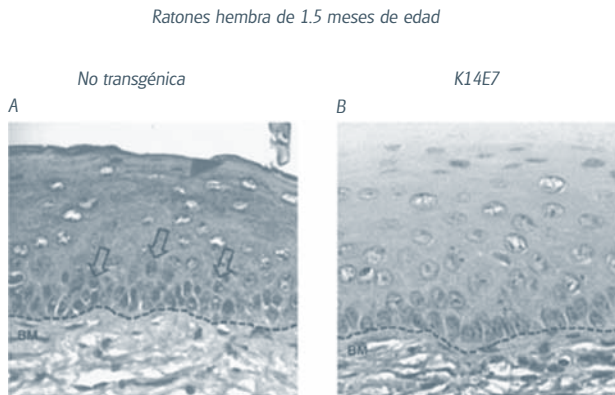
(Fuente: Ibarra-Sierra E, et al. *Virology*. 2012 433:337-45.)



Validación PCR en tiempo real de genes seleccionados expresados de manera diferencial en tejido cervical de ratones transgénicos y no transgénicos K14E7

Figura 5.8. En el cervix de los ratones hembra K14E7 de 1.5 meses de edad, la expresión diferencial de genes obtenida por medio de microarreglos de DNA se reconfirmó mediante la cuantificación de los niveles de RNA mensajero por RT-PCR en tiempo real.

(Fuente: Ibarra-Sierra E, et al. *Virología*. 2012 433:337-45.)



Análisis inmunohistoquímico de la expresión Dmbt1 en el tejido cervical

Figura 5.9. En el cervix de los ratones hembra K14E7 de 1.5 meses de edad, los niveles de proteína Dmbt1 están fuertemente disminuidos. La detección de niveles bajos de la proteína Dmbt1 puede servir como biomarcador diagnóstico en etapas muy tempranas del desarrollo del cáncer cervical.

(Fuente: Ibarra-Sierra E, et al. *Virología*. 2012 433:337-45.)

nes e inhibe la expresión de 67 genes.⁵⁵ El proceso más afectado por la hormona fue la respuesta inmune y el más afectado por E7 fue el metabolismo celular.⁵⁵ Este sistema modelo murino es excelente para estudiar las diversas variables (hormonas, tabaco, nutrición, carcinógenos, etc.) involucradas en las distintas etapas del desarrollo del CaCu. Asimismo, empleando este sistema podremos detectar nuevos biomarcadores tempranos de importancia en diagnóstico y tratamiento.

Por lo que se ha mencionado, la detección del DNA de los HR-HPV es importante en el diagnóstico molecular del CaCu, pero dado que esta detección no puede separar una infección transitoria de una persistente, es necesario desarrollar métodos de diagnóstico que identifiquen las infecciones virales que realmente lleven al desarrollo de lesiones cervicales preneoplásicas y al CaCu.

En conclusión, hemos visto que en etapas tempranas del desarrollo del CaCu la expresión de los oncogenes de los HR-HPV puede llevar a inestabilidad genómica y a cambios en la regulación epigenética de genes celulares involucrados en el CaCu, observaciones que llevarán a mejorar el diagnóstico molecular de esta neoplasia. Dado que la inhibición o la activación de los genes que se regulan epigenéticamente son reversibles, este tipo de estudios puede constituir una estrategia importante en la terapia de esta enfermedad.

Agradecimientos

El autor agradece el apoyo del proyecto ICyT 326/11, así como de Elizabeth Álvarez Ríos, Rodolfo Ocadíz Delgado, Enrique García Villa y Gabriela Mora Macías.

Aprovechamiento biotecnológico de genes

Jorge Ángel Isidro Ascacio Martínez
Martha Guerrero Olazarán
Hugo Alberto Barrera Saldaña

En su concepción moderna, la biotecnología es la manipulación genética de los microorganismos, plantas y animales para hacer productos y procesos que benefician al hombre. Las técnicas pilares de esta revolución en la biotecnología permitieron desde mediados de la década de los años setenta aislar y manipular genes (tecnología del DNA recombinante o ingeniería genética), poniendo a disposición de los investigadores herramientas para fabricar en bacterias proteínas de origen eucariótico con utilidad terapéutica, como vacunas, enzimas y hormonas.

La hormona del crecimiento humano de 22 kDa (HGH22k) es uno de los productos fabricados por ingeniería genética reconocido como pionero y de gran importancia para la industria farmacéutica, pues además de ser la cura para el enanismo hipofisiario, gracias a su fácil disponibilidad se ha empezado a usar como anabólico en el atletismo, en la prevención de síntomas de la vejez y en el tratamiento de traumatismos. Sin embargo, no sucede lo mismo con el resto de las proteínas e isoformas pertenecientes a la familia: la isoforma hipofisiaria de 20 kDa (HGH20k), la variante placentaria (HGHV), la isoforma también de 20 kDa de esta última (HGHV20k) y el lactógeno placentario (HPL), ahora nombrado como somatomotropina coriónica humana (HCS). En parte por ello, aún se desconoce mucho sobre sus funciones, mecanismos de acción y potencial farmacéutico.

En los últimos años, en nuestro laboratorio hemos clonado y expresado en forma transitoria en cultivo celular todos los genes del complejo hGH-hCS y hemos estudiado los factores que afectan sus niveles de expresión.¹ A la par, hemos buscado sobreproducirlas para practicar estudios comparativos de sus propiedades. En esto último, primero tuvimos éxito produciendo la HGH22k en bacterias.

Sin embargo, conscientes de las limitaciones del sistema bacteriano para plegar, procesar y producir en forma biológicamente activa proteínas extrañas, cambiamos de hospedero; encontramos buenos resultados al utilizar la levadura metilotrófica *Pichia pastoris*. El presente capítulo muestra los logros obtenidos al construir nuevas cepas de *P. pastoris* productoras de las hormonas HGH 22k y su isoforma HGH20k, así como la HGHV y la HCS.

Las GH pertenecen a una familia de proteínas con similitud estructural y algunas funciones comunes. Dentro de ella, se encuentran también la prolactina (Prl), la somatolactina (SL), la somatomotropina coriónica (CS) o PL, la proliferina (PLF) y proteínas relacionadas con Prl (PLP).² Esta familia representa uno de los grupos proteicos fisiológicamente más diversos que han evolucionado por duplicación génica. Los dos miembros más estudiados de la familia han sido la GH y la Prl, habiendo sido descritas desde los peces primitivos hasta los mamíferos; sin embargo, los otros miembros de la familia no están distribuidos con amplitud, así como tampoco se han estudiado mucho.

Por lo que se refiere en específico a las GH, hemos expresado en cultivo celular las isoformas HGH22k y HGH20k.³ La primera es el producto más abundante en hipófisis, mientras que la segunda constituye entre 10 y 15% de la hormona circulante.⁴ Recientemente, también hemos iniciado estudios de la expresión de la variante placentaria (HGHV).⁵

De la misma manera, y recurriendo al empleo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con oligonucleótidos consensos, hemos aislado varios nuevos genes y DNA complementarios (cDNA) de un buen número de GH, sobre todo de mamíferos.⁶

Usos de la HGH recombinante

Como ya se comentó, además de ser la cura para el enanismo hipofisiario, la HGH22k se emplea como anabólico en el atletismo y en el tratamiento de traumatismos por sus propiedades regenerativas⁷ (Cuadro 5.1). De manera interesante, en 1998 la revista *Time* dio a

80 **Cuadro 5.1.** Nuevas funciones atribuidas a la HGH22k.

<i>Inmunidad y cicatrización</i>	<i>Piel y pelo</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Resistencia a enfermedades comunes • Capacidad de cicatrización • Cicatrización de lesiones antiguas • Cicatrización de otras lesiones • Tratamiento de úlceras 	<ul style="list-style-type: none"> • Elasticidad de la piel. • Engrosamiento de la piel • Textura de la piel • Crecimiento de pelo nuevo • Desaparición de arrugas • Hidratación de la piel
<i>Factores sexuales</i>	<i>Función mental</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Duración de la erección • Aumento de la líbido • Potencia/frecuencia de la actividad sexual • Frecuencia de la micción nocturna • Regulación y control del ciclo menstrual • Bochornos y síntomas asociados • Efectos positivos en el sistema reproductivo • Incremento del volumen de la leche materna 	<ul style="list-style-type: none"> • Estabilidad emocional • Memoria • Aspecto general y actitud • Energía mental y claridad de pensamiento
<i>Fuerza y tono muscular</i>	<i>Sistema circulatorio</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la fuerza muscular • Promueve la ganancia de la masa muscular • Proporciona energía en general 	<ul style="list-style-type: none"> • Mejora la circulación • Estabiliza la presión sanguínea • Mejora el funcionamiento del corazón
<i>Grasas</i>	<i>Hueso</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Remoción de ácidos grasos • Eleva los niveles de colesterol "bueno" (HDL) • Reducción de grasa 	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la flexibilidad en la espalda y articulaciones • Tratamiento de fracturas óseas • Tratamiento de osteoporosis

conocer noticias sobre los efectos que se le están descubriendo a esta hormona para contrarrestar algunos problemas de la vejez. Todavía más, se sospecha que algunas de las variantes naturales menos abundantes de la hormona, como la HGH20k, pudieran retener las propiedades deseables de la hormona principal y carecer de las otras indeseables de ésta, como el efecto diabético que se desencadena con su uso prolongado.⁸

Principales miembros de la familia HGH

A continuación se proporciona una descripción de los principales miembros de la familia HGH.

- **HGH22k.** Esta isoforma es el producto principal del gen denominado *hGH-N* y es responsable del crecimiento posnatal, así como también un importante modulador del metabolismo de carbohidratos, lípidos, nitrógeno y minerales. Es la hormona más conocida y la única comercializada de los miembros de la familia HGH.
- **HGH20k.** Además del RNA mensajero (mRNA) de la HGH22k, una vía alternativa del procesamiento del transcrito primario del gen *hGH-N* genera un segundo mRNA responsable de la producción de HGH20k, cuyo menor tamaño se debe a la carencia de los residuos aminoácidos correspondientes a las posiciones 32-46 de esta hormona, lo que da como resultado una proteína de 176 residuos aminoácidos.

81

Esta isoforma constituye aproximadamente 10% de toda la GH de la hipófisis y aunque no se ha demostrado que sea el agente etiológico de alguna enfermedad conocida, se sabe que sus niveles son significativamente más altos en pacientes con acromegalia activa y en pacientes con anorexia nerviosa.⁹

La administración de la HGH20k exógena suprime la secreción endógena de la HGH22k en sujetos sanos, lo que sugiere que la regulación de la secreción de ambas hormonas es fisiológicamente similar.¹⁰ Hallazgos *in vitro* sugieren que ambas hormonas pueden estimular por igual la remodelación de hueso y permitir los efectos anabólicos sobre tejido esquelético, cuando son administradas *in vivo* a animales de laboratorio.¹¹

- **HGHV.** Del gen *hGH-V* también se derivan varias isoformas. El mRNA más abundante de este gen en la placenta a término codifica también para una isoforma de 22 kDa. Una isoforma menos abundante (HGHV2) retiene el cuarto intrón que codi-

ficaría para una proteína de 26 kDa que se anclaría a la membrana y podría tener una acción local.⁴ También de la isoforma de 22 kDa se derivaría una de 25 kDa por glucosilación en el residuo 140 de asparagina.^{12,13} Finalmente, dos nuevos transcritos de este gen se han identificado hace poco: uno de ellos produciría una proteína de 20 kDa y el otro, conocido como hGH-V3, una de 24 kDa¹⁴ (Cuadro 5.2).

Durante el embarazo, mientras que la HGH22k de la pituitaria desaparece de manera progresiva de la circulación materna hasta alcanzar valores indetectables a las 24 o 25 semanas, los de la HGHV se incrementan en forma sostenida hasta el momento del parto, lo que sugiere que lleva a cabo un papel clave durante la gestación humana.^{15,16} Además, se ha encontrado que en casos de retardo en el crecimiento intrauterino (IUGR), los niveles circulantes de HGHV medidos entre la semana 31 y la fecha del parto son menores que los reportados para embarazos normales.¹⁷⁻¹⁹

Aunque la función de la HGHV no está definida con claridad, su actividad biológica ya ha comenzado a ser estudiada, y se le ha clasificado en dos categorías generales, las cuales se explican a continuación.

- a. **Actividades somatogénicas:** implican el crecimiento lineal de hueso y alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos; efectos que en parte son mediados por la generación local y hepática del factor de crecimiento semejante a insulina-I (IGF-I). La actividad somatogénica de la HGHV ha sido estudiada por estimulación de la ganancia de peso corporal en ratas hipofisectomizadas, reportándose un incremento lineal comparable al inducido por la proteína HGH22k.²⁰
- b. **Actividades lactogénicas:** incluyen la estimulación de la lactación y las funciones reproductivas.²¹ La actividad lactogénica de esta

Cuadro 5.2. Isoformas de HGH-V generadas por *splicing* alternativo

Isoforma	Tamaño	Longitud	Característica
HGHV22k	22 kDa	191 aa	Isoforma principal
HGHV25k	25 kDa	191 aa	Versión glucosilada de la HGH22k
HGHV2	26 kDa	230 aa	Retiene el cuarto intrón
HGHV20k	20 kDa ^a	176 aa	Deleción de los residuos aa 32 a 46
HGHV3	24 kDa ^a	219 aa	Procesamiento alternativo a nivel del exón 4

^aSólo se han identificado los mRNA que las codifican.

*misma hormona ha sido estudiada empleando un modelo celular (mediante la respuesta mitogénica de células Nb2) y se reporta una respuesta paralela a la generada por HGH22k, pero significativamente menor.*²⁰

Por último, aunque niveles bajos de esta hormona se han asociado con retardo del crecimiento intrauterino, también se han reportado casos de embarazos con delección del gen hGH-V, pero sin patología alguna aparente.²²

Somatomamotropina coriónica humana

Aparte de los dos genes hGH (normal y variante), tres hCS complementan la familia multigénica hGH-hCS del genoma humano y se acomodan en el siguiente orden: hGH-N, hCS-1, hCS-2, hGH-V y hCS-3.^{23,24} (Ver sección de Pérez-Maya *et al.*). Mientras que el hCS-1 es un seudogen, el hCS-2 y el hCS-3 son muy activos en placenta e interesantemente las versiones maduras de las hormonas que codifican son idénticas.²⁵

La HCS se detecta en suero materno a partir de la cuarta semana de gestación, y se incrementa a lo largo del embarazo de manera lineal, hasta alcanzar niveles de producción de hasta un par de gramos diarios al final de la gestación. Interviene en el metabolismo materno en favor del feto, pues aumenta la secreción de insulina, disminuye la tolerancia a la glucosa, retiene el nitrógeno de la madre durante el embarazo. Estas acciones dan como resultado una elevación de la glucosa y los aminoácidos en la circulación materna, mismos que utiliza el feto para su desarrollo; además, genera ácidos grasos libres por su efecto lipolítico, que son usados como fuente de energía por la madre, y de esta manera el feto puede disponer de glucosa durante el ayuno materno; finalmente, carece de actividad promotora del crecimiento y de la adipogénica.

***Pichia pastoris* como sistema de expresión**

Las levaduras ofrecen lo mejor de los dos mundos, pues además de realizar algunas de las modificaciones postraduccionales comunes a los organismos superiores, son casi tan fáciles de crecer en matraces y biorreactores como las bacterias, empleando medios de cultivo simples y baratos.²⁶

Pichia pastoris es una levadura metilotrófica (capaz de crecer en metanol como única fuente de carbono) que lleva a cabo modificaciones postraduccionales, produce niveles de proteínas recombinantes de uno a dos órdenes de magnitud por encima de *Saccharomyces cerevisiae*,^{27,28} es capaz de secretar proteínas heterólogas al medio de cultivo (donde los niveles de proteínas nativas son muy bajos) y, en contraste con *S. cerevisiae*, puede cultivarse a densidades celulares de más de 100 g/L de peso seco.²⁹

El promotor del gen de la enzima alcohol oxidasa 1 (aox1) de *P. pastoris* es uno de los que más se emplean para dirigir la síntesis de proteínas recombinantes. Es tan fina su regulación que, en presencia de otra fuente de carbono que no sea metanol (p. ej., glicerol o glucosa), el sistema está apagado por completo,³⁰ bastando reemplazar dicha fuente por metanol para encenderlo. Además, se cuenta ya con protocolos para transformar con facilidad a la levadura con el plásmido que porta el promotor y el gen de la proteína de interés. Tal transformación se efectúa con una versión linearizada de dicho plásmido en regiones génicas que comparte con el genoma de la levadura, lo que estimula su integración por recombinación homóloga en el mismo, donde se mantiene y propaga de manera estable (www.invitrogen.com).

Como continuación de este esfuerzo innovador, y buscando desarrollar tanto la infraestructura como la experiencia para producir y purificar las GH obtenidas en nuestro laboratorio, identificamos como una necesidad científica y una ventaja tecnológica el construir y evaluar nuevas cepas de *P. pastoris* productoras de todas las proteínas de la familia de la HGH.

Se obtuvieron los DNAC en calidad y cantidad adecuadas con los que se integraron los *cassetes* de expresión para cada GH y el HCS en los plásmidos correspondientes. Especialmente útiles resultaron los oligonucleótidos diseñados para la reacción en cadena de la polimerasa de cada DNAC, y dejaron a cada uno de los amplicones listo para su integración en dichos *cassetes* en la fase de lectura correcta. Se seleccionaron las transformantes candidato para cada caso y se verificaron por PCR. El producto de la reacción se visualizó en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio. Después de haber inducido al promotor aox-1 con metanol para que produjera la hormona para cada caso, se analizó el medio de cultivo para resolver y visualizar las proteínas por SDS-PAGE y cuantificarlas por la técnica de Bradford. Los resultados fueron alentadores, pues se logró producir la HGH2k en abundancia con la masa, procesamiento, estructura y actividad biológica esperadas (Figura 5.10).

Las cepas que mejor produjeron fueron la HGH22k y la HCS, mientras que las menos productoras resultaron ser HGH20k y HGHV. Al ensayar la actividad biológica de las cepas, la de HGH22k mostró actividad adipogénica y las HGHV y HGH22k, actividad mitogénica. En el ensayo de un esquema de purificación, se trabajó con el HCS y HGH22k mediante cromatografía de intercambio aniónico. Y para la HGH22k, además, se efectuaron ensayos de purificación mediante cromatografía de filtración en gel resultando en una semipurificación superior a 85%.

Plataformas biotecnológicas de laboratorio

Nuestro innovador sistema de producción de estas hormonas basado en *P. pastoris* ofrece sin duda ventajas considerables, entre las que destacan las siguientes:

- a) *Se secretan sin residuos extra y en las formas maduras idénticas a las naturales*

85

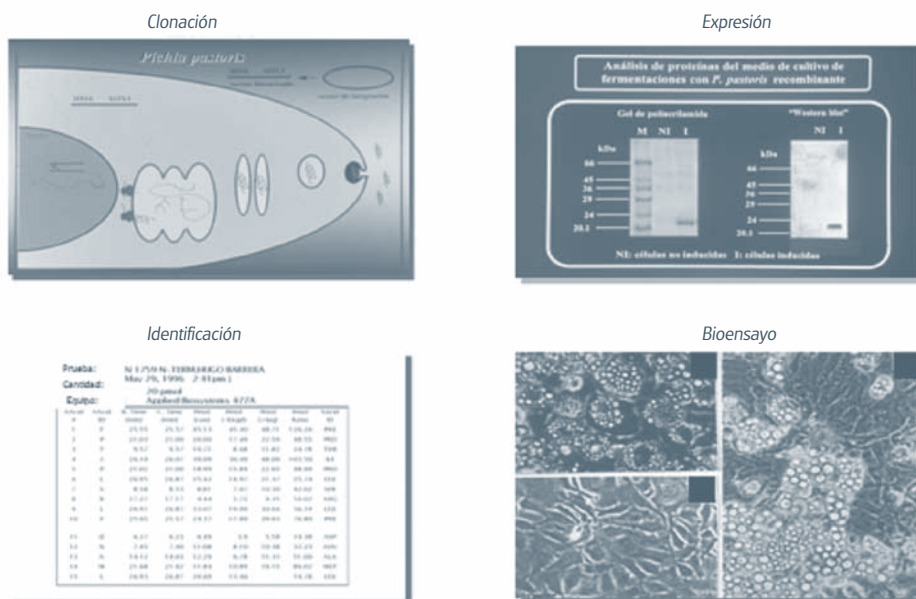


Figura 5.10. Nuevo proceso para producir hormona de crecimiento humana. Se ilustra la construcción del casete de expresión y su inserción en el genoma de la levadura (clonación); la inducción de su expresión y la detección inmunológica de la hormona en el medio de cultivo (expresión); la secuenciación de su extremo aminoterminal (identificación) y la demostración de su actividad biológica (bioensayo).

- b) Se encuentran en forma abundante en el medio de cultivo
- c) Retienen su actividad biológica
- d) Aun sin purificarlas, son susceptibles a ensayos de sus actividades

A pesar de que los *cassetes* de expresión de las cepas productoras de GH y HCS son muy similares en secuencia, los resultados arrojaron diferencias claramente apreciables en cuanto a cantidad de hormona producida. Aunque no se descarta que esto se deba a variaciones en el número de *cassetes* de expresión insertados en el genoma de la levadura o a requerimientos diversos de los parámetros de optimización de las condiciones de producción de cada clona, es probable que se deba también a las diferencias nucleotídicas que manifieste cada cepa recombinante en particular. Por ello, que será interesante asociar éstas con los rendimientos y aprender más de esta correlación.

86

En general, en el ensayo adipogénico y mitogénico puede verse que el estándar resultó más activo que las HGH22k y HGHV producidas en nuestro laboratorio, debido probablemente a que éstas no están puras y pudieran contener aún sustancias del medio de cultivo que interfieren en los bioensayos. Por eso fue necesario desarrollar un esquema de purificación para HGH22k y el HCS con resultados aceptables. Además, para el caso del efecto mitogénico, las diferencias entre HGH22k y HGHV reportadas con anterioridad se han atribuido a la distinta afinidad de ambas hormonas por el receptor de la prolactina.²⁰

Por todo lo anterior, el presente esfuerzo representa un paso importante e indispensable para impulsar las investigaciones tendientes a evaluar los posibles usos de estas nuevas hormonas en la industria farmacéutica. De antemano, el disponer de ellas con tales características permitirá, por ejemplo, elaborar anticuerpos y desarrollar estuches para su detección por técnicas inmunocuantitativas, entre otras. Por último, el hecho de poder fabricarlas todas juntas y en el mismo sistema de producción representa una oportunidad invaluable para realizar estudios comparativos de sus propiedades biológicas.

Los resultados encontrados avalan que el sistema de *Pichia pastoris* constituye una buena alternativa al sistema tradicional de *Escherichia coli*. El reto que en la actualidad perseguimos en nuestro laboratorio es llevarlo a planta piloto y complementarlo con un esquema de purificación y caracterización acordes.

Se desarrollaron plataformas biotecnológicas que van desde la construcción de las cepas productoras de las hormonas de interés, su recuperación y purificación, hasta el ensayo de su actividad

biológica. Con tales plataformas, fue posible elaborar todas las hormonas recombinantes biológicamente activas. Con la tecnología desarrollada, hemos adquirido capacidad para avanzar hasta el escalamiento de la producción de las GH de interés médico; prerrequisito éste para poder ensayar las actividades biológicas en animales de laboratorio. Estos logros nos dan la capacidad de generar tecnología propia nacional por lo pronto e internacional en un futuro.

Agradecimientos

Los autores agradecen las valiosas contribuciones de Eddy Luz Cabb Barrera, Luis Lauro Escamilla Treviño, Celia Nohemí Sánchez Domínguez, Jorge Mauricio Reyes Ruiz, José Prisco Palma Nicolás, Ma. del Refugio Rocha Pizaña, Hugo Leonid Gallardo Blanco, Juan Francisco Villarreal Chiu, Humberto Antonio Salazar Sesatty, Alan Roberto Márquez Ipiña y Artemisa Luévano de la Cruz. Asimismo, expresan su agradecimiento al PAICyT (UANL), al CONACyT y a PROBIOMED.

87

Diagnóstico con genes

Rocío Ortíz López

María del Carmen Villalobos Torres

Hugo Alberto Barrera Saldaña

El conocimiento generado durante la ejecución del proyecto del genoma humano (1998-2001) y las herramientas tecnológicas que se han desarrollado a la par de éste han contribuido a que el desarrollo de pruebas diagnósticas de enfermedades utilizando material genético (DNA y RNA) se haya acelerado enormemente. Los laboratorios de investigación fueron los que en un inicio impulsaron la integración de los métodos moleculares a la práctica clínica, pero en la actualidad éstas han impactado también a los laboratorios de patología y bioquímica clínica.

En nuestros días, el Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) cuenta con una Unidad de Diagnóstico Molecular (UDM) que dedica sus servicios de detección de mutaciones génicas a médicos e instituciones de salud y otras instancias que le refieren pacientes. Así como con una Unidad de Biotecnología Médica (UBM), cuyos servicios están dirigidos a atender necesidades en mate-

ria de servicios analíticos, procesamiento y preservación de muestras (biobanco) y proyectos de desarrollo tecnológicos por demanda de los sectores productivos públicos y privados. Ambas son emprendimientos universitarios gestados por el programa de investigación de la Unidad de Laboratorios de Ingeniería y Expresión Genéticas (ULIEG).

Origen

La ULIEG del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, gestada a partir de 1984, comenzó su programa de investigación con estudios de la expresión y regulación de los genes de la familia de la hormona del crecimiento (conocida como HGH, *human growth hormone*).¹ Muy tempranamente, buscó a la par aplicar el conocimiento y la tecnología adquiridos en sus laboratorios de investigación a la clínica. Las primeras incursiones en esta última fueron en los errores innatos del metabolismo, seguidos de la implementación por vez primera en México y Latinoamérica del diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias mendelianas.

Los primeros pasos hacia el diagnóstico clínico

Fue alrededor de 1986 cuando se realizaron los primeros desarrollos tecnológicos con fines de diagnóstico clínico, estandarizando la técnica del *southern blot* para detectar el virus del papiloma humano (en esa época se analizaban sólo los HPV de tipos 16 y 18) en tumores de pacientes con cáncer cervicouterino de las ciudades de México, D. F., y Monterrey, N. L. Mediante el empleo de rastreadores moleculares (genes clonados de HPV-16 y HPV-18), se encontró el HPV-16 en casi 30% de los casos, mientras que la incidencia encontrada para el tipo 18 resultó de alrededor de 15%.²

Hacia finales de la década de los ochenta, se extendieron estos esfuerzos hacia el diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias, implementando el diagnóstico molecular con base en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*), de fibrosis quística,³ hemofilia A⁴ y distrofia muscular Duchenne-Becker.⁵ Luego se abarcó a las enfermedades multifactoriales, como la osteoporosis y el asma,⁶ así como varios tipos de cánceres.^{7,8}

Gracias a estos esfuerzos se consolidaron colaboraciones con múltiples hospitales, centros de investigación y universidades, prin-

principalmente del país, aunque también del extranjero (en particular Venezuela, Colombia y Perú), a los que apoyamos en la implementación en sus laboratorios del diagnóstico genético molecular y/o en proyectos de investigación en esta área.⁹

De 1991 a 1993 se incorporó nuevo personal para formar el Servicio de Errores Innatos del Metabolismo (EIM), que hacía años ya había ofrecido el departamento. Por la aparente rareza de estos padecimientos y la condición económica frecuentemente precaria de los pacientes referidos para estudio, el servicio de EIM se quedó como proyecto de investigación, aunque apoyó a médicos y pacientes con estos casos, para lo que recibió subsidio por parte del mismo departamento.

Con estos esfuerzos anteriores, pioneros en el país e incluso en Latinoamérica, se había logrado una primera experiencia exitosa intentando trasladar los descubrimientos e inventos generados en laboratorios de investigación, hasta el mercado. Aunque aún incipiente, este servicio de la UDM logró generar recursos económicos propios que permitieron tanto estimular a sus investigadores, personal no docente y administrativo, como adquirir material y reactivos para apoyar proyectos de investigación aplicada para expandir el catálogo de pruebas diagnósticas de la Unidad.

89

Consolidación de la UDM y su expansión al entorno clínico

La UDM se consolidó pronto como un referente en la región y país, capaz de brindar servicios y asesorías en la detección y diagnóstico de aquellas enfermedades que requerían un estudio molecular basado en el análisis del material genético. Conforme se fueron incluyendo cada vez más análisis genético moleculares (basados en el análisis del DNA/RNA) de un número creciente de enfermedades, la UDM trasladó la tecnología para expandir sus servicios para ayudar a: clínicas, laboratorios clínicos, hospitales, médicos especialistas, fundaciones, asociaciones, centros de investigación y a la comunidad en general. Al reflejar las líneas de investigación de los laboratorios de la ULIEG, los cuales contaban para ese entonces con infraestructura sofisticada y moderna, la citada Unidad se dividió en cinco áreas de servicio, las cuales ofrecían estudios de laboratorio, asesorías, cursos de capacitación y entrenamientos, de alcances incluso internacionales. Tales áreas de servicio fueron:

1. *Enfermedades oncológicas*
2. *Enfermedades hereditarias*
3. *Enfermedades infecciosas*
4. *Identificación de individuos*
5. *Apoyos a protocolos de investigación clínica*

En 2004 se estableció una fructífera colaboración con el Laboratorio de Medicina Molecular del Servicio de Hematología del Hospital Universitario para impulsar una Unidad de Servicio Diagnóstico en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, con la finalidad de ofrecer dentro del entorno hospitalario dicho servicio respaldado por un sistema de calidad. En 2005 se buscó expandir el número de pruebas diagnósticas que se ofrecían (Cuadro 5.3), sobre todo hacia aquellas pruebas útiles en el diagnóstico de enfermedades infecciosas^{10,11} y para el seguimiento y evolución de pacientes con cáncer.¹²⁻¹⁵ Para entonces, se obtuvo también la acreditación por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA).

De la genética a la genómica

Hoy el área de la medicina molecular y la genética están en una era muy productiva, y se cuenta con herramientas tecnológicas mucho más sensibles y de alto rendimiento. Estas metodologías permiten rastrear un número masivo de biomarcadores en un solo ensayo e incluso el análisis del genoma completo de cada individuo. En los últimos cinco años, las plataformas de PCR en tiempo real, de microarreglos genómicos y secuenciación de nueva generación se están incorporando como metodologías de diagnóstico clínico rutinario. Estos avances han cambiado el concepto de diagnóstico molecular (un solo gen o marcador a la vez) a diagnóstico genómico (paneles de genes o biomarcadores en un solo ensayo), cuya incorporación al servicio representa un reto, considerando que estas pruebas llegan a tener aplicación y demanda cuando el clínico y el paciente consideran su beneficio.

Otro de los elementos indispensables que se han integrado al diagnóstico clínico molecular, además del nuevo conocimiento y de las herramientas metodológicas, ha sido la implementación de *pipelines* y *softwares* bioinformáticos que facilitan el análisis, integración e interpretación de los datos que se obtienen con las plataformas genómicas. En 2013, muchas empresas biotecnológicas y o de bioinformática identificaron como área de oportunidad

Cuadro 5.3. Pruebas de diagnóstico molecular que ofrece la UDM

Especialidad	Prueba de laboratorio
Identificación de individuos	<ul style="list-style-type: none"> • Pruebas de paternidad con base en la huella de DNA • Pruebas forenses con base en la huella de DNA • Quimerismos • HLA baja y alta resolución • Cromosoma X
Enfermedades hereditarias y cáncer	<ul style="list-style-type: none"> • Distrofia muscular (rastreo de deleciones) • Distrofia muscular (diagnóstico de portadores) • Fibrosis quística (sólo $\Delta F508$) • Fibrosis quística (panel de 26 mutaciones) • Hemofilia (diagnóstico de portadores) • Hemocromatosis • Infertilidad (deleciones en el cromosoma Y) • Mutaciones en: <ul style="list-style-type: none"> » BRAF » CEBPA » FLT3 » IDH1 y 2 » JAK2 » KRAS » NPM1 • Polimorfismos en el gen de la enzima MTHFR • Rearreglo génico ABL/BCR en leucemias • Rearreglo génico PML/RAR en leucemias
Enfermedades infecciosas	<ul style="list-style-type: none"> • Brucelosis • Citomegalovirus • Herpes 1 y 2 • Carga viral VIH • Carga viral VHC • Detección y genotipificación del HPV • Genotipificación del VHC • PCR de citomegalovirus • PCR cualitativa para HIV-1 • Panel de EST (<i>Chlamydia</i>, <i>Neisseria</i> y <i>Ureaplasma</i>) • Panel enfermedades respiratorias (13 patógenos)
Otras	<ul style="list-style-type: none"> • Deleciones en el <i>locus</i> de la hormona del crecimiento

el ofrecer productos facilitadores de interpretación de resultados genómicos a los laboratorios de diagnóstico clínico. Lo que hacen estos *softwares* o *pipelines* es filtrar y normalizar en forma más o menos automatizada la gran cantidad de datos que se obtienen en estudios genómicos, para después compararlos con las bases de datos de genes y biomarcadores públicas o privadas disponibles en

la red. De este modo, se consigue una sustracción de aquellos datos de interés clínico relevante. Con esto, se pueden generar reportes inmediatos con los resultados obtenidos de estudios genómicos. Sin embargo, estos procesos aún se están evaluando. Uno de los requisitos indispensables para que los laboratorios de diagnóstico clínico ofrezcan estudios genómicos es también la acreditación y certificación de sus procedimientos, por entidades acreditadoras para estudios genómicos.

Desde 2011, la UDM se ha enfocado en la implementación en forma rutinaria de diagnósticos basados en microarreglos genómicos para enfermedades genéticas y cánceres,¹⁶⁻¹⁹ lo cual culminará hasta la obtención de la acreditación para ofrecer estos estudios.

Al incorporarse las herramientas genómicas como métodos de rutina en los laboratorios de diagnóstico clínico, una de las grandes limitantes para que éstos tengan una gran demanda y aplicación, es sin duda el costo que estos estudios tienen. Y en algunos casos, una alternativa a los estudios de microarreglos o de genomas completos, que se visualiza muy promisoria es la implementación del análisis del exoma en el diagnóstico clínico junto con la interpretación clínica y clasificación de las variantes obtenidas. Existe ya una serie de servicios aprobados según la Ley de Mejoras del Laboratorio Clínico (conocida como CLIA, siglas de *Clinical Laboratory Improvements Amendments*) que permitirán que los médicos diagnostiquen a los pacientes con enfermedades complejas o raras que han escapado a los métodos diagnósticos tradicionales. El diagnóstico clínico del exoma proporciona la secuencia de las regiones codificantes o funcionales más importantes del genoma que albergan la mayoría de las mutaciones causantes de enfermedades. Para los pacientes con enfermedades no diagnosticadas o difíciles de diagnosticar, este estudio es capaz de suministrar respuestas clínicas relevantes.

La secuenciación y la interpretación de más de 50 millones de nucleótidos (50 Mb) de datos por paciente es un reto enorme que se basa sobre todo en las capacidades de secuenciación y de bioinformática, por lo que uno de los máximos retos de la UDM para 2014 es la incorporación de análisis de exomas con aplicación diagnóstica. En la actualidad, la UDM en colaboración con el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la UANL ha implementado plataformas de PCR en Tiempo Real, Microarreglos Genómicos y Secuenciación de Nueva Generación (NGS), con la finalidad de utilizar estas metodologías en el área del diagnóstico clínico y la biotecnología.^{20,21}

Agradecimientos

Los autores agradecen las valiosas contribuciones de Augusto Rojas Martínez, Jaime A. Rivera Pérez y Manuel L. González Garay, Víctor Ortiz Gálvez, Geovana Calvo Anguiano, Celia N. Sánchez Domínguez, Carlos Cancela Murrieta, David Gómez Almaguer, Rosario Salazar Riojas, María de Lourdes Garza Rodríguez, Alma Rosa Cruz Cabrera y Herminia Guadalupe Martínez Rodríguez. Asimismo, expresan su agradecimiento al PAICyT (UANL) y al CONACyT.

Del genoma a la enfermedad

Xavier Soberón Mainero

El avance de las tecnologías genómicas hace que hoy podamos interrogar miles o millones de datos sobre la constitución y la expresión genéticas del patrimonio hereditario de los individuos, de manera simultánea. Se utilizan las tecnologías de secuenciación, así como las *chips de ácidos nucleicos*, cuya capacidad ha aumentado de manera drástica, con la consecuente caída en los costos por dato. Esto, aunado a la tecnología de espectrometría de masas aplicada a las proteínas, establece una plataforma sin precedentes para la adquisición de datos moleculares de los estados de salud y enfermedad. El avance tecnológico hace indudable que antes de que acabe la segunda década del siglo, el costo de obtener la secuencia cruda de un genoma humano sea poco significativo en comparación con la mayoría de las intervenciones de salud. Existen varias consecuencias con muy profundas implicaciones a partir del uso de los enfoques genómicos y que redundarán en una mayor eficacia de prevención de la enfermedad.

Para comprender el ámbito de intervención a partir de la genómica, debemos recordar que, aunque muy similar uno de otro, el genoma de cada individuo contiene millones de variaciones de un solo nucleótido (referidos como SNP, por las siglas de *single nucleotide polymorphisms*), además de una gran diversidad en el número de copias de secciones diversas del mismo. La mayoría de estas variaciones no tiene consecuencias patológicas y sólo son responsables de las diferencias fenotípicas que nos caracterizan y definen. Sin embargo, algunas de ellas causan enfermedades, predisponen a éstas o determinan la respuesta individual al ambiente. En este último tipo también se incluye la respuesta a medicamentos, intervenciones terapéuticas y, en general, al estrés o enfermedad.

Estamos aún lejos de tener catalogadas todas las variaciones individuales y su relación con la enfermedad. Sin embargo, algunas de estas variaciones ya se han podido relacionar de manera contundente con la enfermedad. Podemos dividir las, desde una perspectiva conceptual, en dos tipos: 1) Las causantes directas de un fenotipo particular o enfermedad, y 2) Las que predisponen a una enfermedad compleja. Esta división es históricamente importante y sigue teniendo utilidad práctica en el análisis, pero hay que reconocer una continuidad entre la penetrancia absoluta (enfermedades mendelianas) y los patrones de heredabilidad complejos y parciales (en los que las variantes dan como resultado un pequeño aumento de probabilidad de aparición de la enfermedad).

Una primera medida del impacto de las tecnologías genómicas se puede apreciar al comparar el número de enfermedades mendelianas para las que se conoce la identidad del gen responsable. Antes del primer borrador del megaproyecto para descifrar el genoma humano (2001), este número ascendía a 70; a la conclusión oficial del proyecto, en 2013, el número alcanza más de 3 000. Otra elocuente comparación se refiere al descubrimiento de los genes implicados en las enfermedades multifactoriales (las no mendelianas o complejas, que son la mayoría), en especial a partir del enfoque de Estudios de Asociación con Genoma Completo (GWAS, por las siglas de *Genome-Wide Association Studies*). En menos de 10 años, desde que esta técnica se hizo posible, se han identificado varios miles de relaciones gen-enfermedad.

Toda esta información se está integrando y, de manera paulatina, se está traduciendo en guías prácticas, productos y servicios que impactan a los servicios de salud. La expectativa es alcanzar la transformación de la medicina hacia un concepto que se ha denominado Medicina de 4 P: *personalizada*, pues se basará en el genoma de cada individuo y en el análisis de sus marcadores personales (transcriptoma, proteoma, metaboloma) en caso de estar enfermo; *predictiva*, en tanto que la información genómica puede anticipar predisposición a enfermedades y la medición masiva de las moléculas informacionales permitirá detectar muy tempranamente la aparición de trastornos; *preventiva*, ya que la información referida posibilita intervenciones que evitan la progresión de la enfermedad o mitigan sus efectos; y *participativa*, pues una consecuencia de los cambios anteriores será que los individuos se apropien de su condición de salud/enfermedad de una manera mucho más directa y consciente que antes.

Es así que, hoy día, tenemos ya las primeras muestras de lo que será una verdadera avalancha de aplicaciones con potencial preventivo en salud. Empezamos por las enfermedades monogénicas o mendelianas. Actualmente se conocen y catalogan más de 5 000 padecimientos genéticos con patrón de herencia mendeliana. La prevalencia de todas ellas juntas es de 11.5 a 23 en 1 000 individuos, dependiendo de la población estudiada, y por ello también se les conoce como enfermedades raras. Hoy en día, dependiendo del sistema de salud de que se trate, el tamiz neonatal puede involucrar pruebas bioquímicas para unas cuantas o, máximo, algunas decenas de estas condiciones; pero se puede vislumbrar en el futuro inmediato el análisis paralelo y amplio de información genómica relacionada con enfermedades mendelianas. Esto implicaría la posibilidad de detectar, de manera simultánea y a bajo costo, todas las condiciones para las cuales existe alguna medida que mejore la calidad de vida de quienes nacieron con estos padecimientos. Además se puede interrogar, en una sola prueba de secuencia de genes selectos, la característica de portador para miles de enfermedades de este tipo y, con base en esta información, será factible definir compatibilidad genética o no para estas enfermedades, cuando las parejas decidan averiguarlo. Se nos presenta, entonces, un mecanismo con el potencial de disminuir en forma gradual la presencia de estas mutaciones en las poblaciones que eligieran modificar su conducta reproductiva usando esta información.

El caso de las enfermedades complejas, como puede comprenderse por la propia característica de ellas, está menos maduro para conseguir intervenciones efectivas. Pero debemos recordar que existen cifras de heredabilidad asociadas con la mayoría de las enfermedades comunes más estudiadas. Éstas varían dependiendo del entorno y el grupo poblacional en cuestión, pero arrojan estimados útiles respecto a la utilidad y potencial ámbito de intervención derivado de estudios genéticos. Pocas enfermedades complejas tienen heredabilidades menores a 20%, y no es raro que alcancen 80% o más.

Debido a lo anterior, la expectativa es que se conseguirá descifrar las complejas relaciones gen-gen y gen-ambiente para conseguir información útil sobre predisposición a estas enfermedades en una medicina personalizada. Desde luego, esto es ya posible cuando se tienen genes de alta penetrancia. Tal es el caso para ciertos cánceres familiares, como los debidos a defectos en los genes BRCA, recientemente célebres por el anuncio de la actriz Angelina Jolie, quien heredó estos defectos. Otro caso excepcional es la degeneración macular de edad adulta, para los que los genes involucrados explican

más de 50% de la heredabilidad, por lo que ya pueden tener un buen valor pronóstico. En este contexto, hoy día ya existen empresas que ofrecen paneles genómicos que van de algunas decenas de genes (como el caso de CardioDx con 23 genes asociados con enfermedad coronaria) a paneles con miles de genes. Estas compañías siguen proliferando y, aunque algunas tienen un nicho bien fundamentado, muchas de ellas presentan problemas importantes, como el estar enfocadas de manera directa al público en general (obviando un consejo genético profesional) y ofrecer expectativas poco claras, si no francamente engañosas.

La evolución de la aplicación preventiva de las tecnologías genómicas revela los obstáculos que deberán superarse para lograr más y más guías, productos y servicios útiles. En primer lugar, es menester aceptar que se requieren varios años de investigación para lograr la validación analítica (es decir, reproducibilidad y confiabilidad de la detección molecular) y la clínica (esto es, la demostración de que el análisis puede ser empleado para mejorar de manera efectiva la previsión o tratamiento) de los protocolos. Esto es relevante sobre todo cuando se trata de aprovechar descubrimientos hechos en poblaciones diferentes, pues los contextos genéticos distintos pueden limitar seriamente su utilidad.

Otro reto a superar es la velocidad de aceptación y adopción de los nuevos recursos analíticos por parte de los profesionales que están en el ámbito clínico. Es natural esperar cierta reticencia por su parte, hasta convencerse de la utilidad real que tienen estos enfoques. Es evidente también que hará falta un intenso trabajo de difusión, capacitación y entrenamiento del personal, en todos los niveles, para alcanzar un pleno aprovechamiento de las nuevas tecnologías.

Pero tal vez un elemento aún más revolucionario puede surgir de la convergencia entre las tecnologías analíticas descritas y las modernas tecnologías de la información, incluyendo la internet y la telefonía celular inteligente. Imaginemos la utilización de estos sistemas de comunicación para el envío, en tiempo real y sin interferir con las actividades de los sujetos analizados, de datos relativos a actividad física, ritmo cardiaco, modalidades de alimentación e, incluso, química corporal a través de sensores implantados. Todo esto estaría siendo alimentado a la base de datos del expediente clínico del individuo. El potencial de utilizar esta información para un diagnóstico preciso y oportuno es enorme y por completo novedoso. Lo que también es muy claro es que los análisis requerirán sistemas computacionales y, sobre todo, especialistas, muy sofisticados.

El reto es desarrollar la capacidad de analizar las correlaciones entre múltiples variables, obtenidas en distintas plataformas e intervalos de tiempo, e integrarlas en modelos y algoritmos que permitan extraer relaciones causales. Una vez hecho esto, comunicarlo al médico tratante y al paciente en términos inteligibles y útiles. Hay razones para anticipar que esto será posible y transformará a profundidad los servicios de salud de las generaciones del futuro inmediato.

Curar con genes

Augusto Rojas Martínez

Estuardo Aguilar Córdova

Hugo Alberto Barrera Saldaña

97

La terapia génica se puede definir como la introducción de DNA exógeno dentro del núcleo de la célula con el objeto de modificar la expresión génica. Se recurre a ella primordialmente para corregir la función de un gen mutado o dotarle a la célula de un nuevo gen que contribuya alguna proteína foránea con propiedades terapéuticas. La idea básica es que el gen exógeno que codifica para una proteína o incluso un RNA terapéutico (en particular, RNA de interferencia) sea depositado en el núcleo de células blanco, es decir, aquellas células donde se origina la enfermedad que se busca curar. Para realizar esta tarea, en la que una molécula electronegativa y polar debe atravesar las membranas celular y nuclear, se requiere un vehículo o vector que la transporte hasta su destino final.¹

Desde el surgimiento de la terapia génica, gran parte de la investigación y desarrollo se ha centrado en el combate contra el cáncer. Los investigadores han planteado diversas estrategias antineoplásicas experimentales usando diversos genes y vectores, como la terapia suicida, que se discutirá más adelante, la inmunoterapia mediada por transducción génica, la reversión fenotípica, la antineoangiogénesis, la terapia viral oncolítica (que también será referida más adelante) y las terapias combinatorias, en las que los tratamientos terapéuticos estándares son combinados con métodos de terapia génica.¹ Nuestros Laboratorios de Ingeniería y Expresión Génica y de Terapia Génica han colaborado desde finales de la década de los noventa del siglo pasado en el desarrollo de herramientas, investigación preclínica (líneas celulares y modelos animales) y en llevar los descubrimientos e inventos hasta

los ensayos clínicos. Nuestros primeros logros los hemos ya alcanzado para enfermedades neoplásicas de alta prevalencia en nuestra comunidad, como los tumores del cuello uterino y de próstata.

En el campo preclínico, nuestro grupo ha trabajado en estudios de inmunoterapia génica para el cáncer de próstata con adenovirus portando el antígeno pE7 del papilomavirus humano 16 (PVH-16) en un modelo murino implantado con las células TC-1, transformadas con HPV, y en estudios con vectores adenovirales de replicación selectiva (VARS) para tumores cervicales e hipofisarios.^{2,3}

En el campo clínico, iniciamos en México un ensayo clínico fases I-II multiinstitucional diseñado por la Compañía Transgene (Estrasburgo, Francia) para tumores de cuello uterino en etapas II-III utilizando el vector TG 4001, con base en el virus *Vaccinia ankara* modificado que portaba los genes E6 y E7 (modificados para que las proteínas E6 y E7 del HPV resultantes se exhibieran en la membrana celular a manera de superantígenos) e interleucina 2 (IL-2) para estimular el sistema inmune de la pacientes tratadas. Éstas fueron reclutadas en el Centro Universitario Contra el Cáncer de nuestra universidad; todas eran pacientes de este centro y en ellas las otras opciones terapéuticas estándares habían fracasado. En virtud de tratarse de un proyecto vinculado y patrocinado por la referida empresa líder internacional en aquel entonces en esta área de la terapia génica, los resultados valorados por los investigadores básicos y clínicos responsables del equipo mexicano para buscarles el mayor beneficio posible a las pacientes, no fueron divulgados a la comunidad científica.

También en esos años inició nuestra incursión muy activa en el desarrollo y evaluación de la estrategia de la terapia viral oncolítica, en la cual se crean vectores virales capaces de replicarse de manera condicionada en células tumorales, pero con restricciones genéticas para replicarse en células normales, de tal manera que el vector se replica y se propaga en las células cancerosas lisándolas, sin afectar las células sanas presentes en el microambiente tumoral.⁴ En esta línea de investigación desarrollamos un vector oncolítico muy potente (AdUD24) para el tratamiento de neoplasias asociadas con el HPV (VPH) que fue patentado ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial en junio de 2011.^{5,6} Este vector contiene la región reguladora “río arriba” (URR) del HPV tipo 16 activable selectivamente en tejidos epiteliales infectados por HPV y una delección en la región CR2 del gen E1A adenoviral (mutación D24). Mientras que la primera (URR) limita la replicación del vector a las células neoplásicas en las que la oncoproteína E7 del HPV ha abrogado la actividad

de pRb, la segunda (D24) impide la interacción de dicha proteína E1A con la proteína celular Rb, impidiéndole así a la maquinaria del virus alterar el control del ciclo celular en células sanas.

Este efecto se demostró en cultivo celular en los que se observó un potente efecto citolítico restringido a líneas HeLa y SiHa (HPV+) y en modelos murinos xenotrasplantados con las mismas líneas celulares, en los que se demostró un efectivo control del crecimiento tumoral y un incremento significativo de la supervivencia de los ratones hembra tratados con AdUD24. En años recientes, hemos venido trabajando en la construcción de nuevos vectores basados en AdUD24 que tengan un tropismo o una actividad oncolítica más específica y potente para tumores malignos asociados con el HPV. También creamos un sistema de vector retroviral y línea empaquetadora basada en el virus murino xenotrópico humano (XMRV),⁷ el cual seguimos mejorando como un vector para el tratamiento del cáncer de próstata.

En el campo clínico, nuestro grupo implementó un ensayo de terapia génica fases I-II en el Hospital Universitario de la Universidad de Nuevo León, en colaboración con investigadores del Baylor College of Medicine (Houston, Texas), empleando la estrategia de la terapia génica suicida, en la que el tejido tumoral es transducido con el gen de una enzima que convierte a un metabolito inocuo (prodroga) en una sustancia tóxica, induciendo la muerte celular. Este ensayo se realizó en nueve pacientes con diagnóstico de cáncer de próstata de localización pélvica, la mayoría de los cuales mostraron riesgo intermedio o alto de recurrencia, según el estadio tumoral, el grado histológico Gleason del tumor y los niveles de antígeno prostático específico al momento del diagnóstico. Para este ensayo, se utilizó el sistema cinasa de timidina (gen terapéutico)/ganciclovir (prodroga) previo a la prostatectomía radical.

El esquema de terapia génica consistió en la inyección vía transrectal y guiada por ultrasonido en los cuatro cuadrantes de la próstata, de la preparación del vector adenoviral buscando conseguir la transducción del tumor con el gen cinasa de timidina obtenido del virus *Herpes simplex*, el cual es inexistente en células de mamíferos. Al codificar éste para una enzima nueva para las células tumorales que precisamente transforma el ganciclovir (o sus equivalentes), en monofosfato de ganciclovir, permite que las cinasas celulares lo lleven hasta su forma trifosfatada.⁸ Aunque se ha demostrado que este tratamiento amplifica la actividad antitumoral por la exportación del trifosfato de gan-

ciclovir a las células tumorales vecinas, también hay suficiente evidencia preclínica y clínica de que el sistema despierta una fuerte respuesta antitumoral mediada por linfocitos citotóxicos, probablemente asociada con la liberación masiva de antígenos asociados con el tumor, y que esta respuesta tiene una actividad antineoplásica prolongada.

En este estudio se hicieron análisis de seguridad y eficacia y se realizó un seguimiento de los pacientes durante 10 años, observándose que el tratamiento fue seguro, que ninguno de los pacientes

100

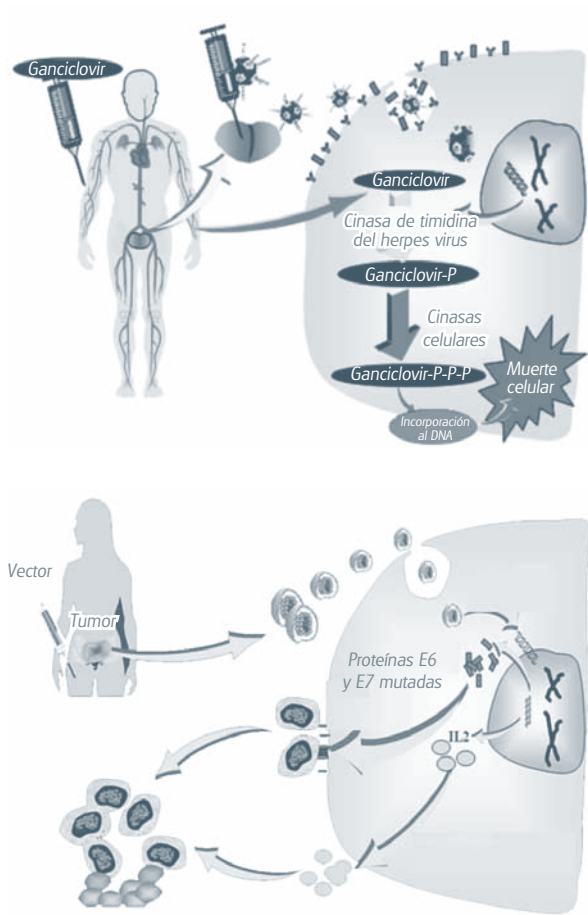


Figura 5.11. Primeros protocolos de terapia génica en México y Latinoamérica. Se esquematizan los protocolos clínicos de terapia génica suicida (izquierda) e inmunoterapia génica (derecha) para cánceres de próstata y cáncer cervicouterino realizados en la institución mexicana de adscripción de los autores.

tuvo recurrencia tumoral y que no requirieron tratamiento de ablación androgénica farmacológica o quirúrgica, con excepción de un solo paciente, cuyos niveles de APE persistieron altos después de la prostatectomía.¹⁰ Este estudio, junto con evidencias encontradas en otros ensayos realizados en Estados Unidos con este vector, sugiere que el tratamiento con terapia génica sería una excelente alternativa a la ablación androgénica y a todos los efectos adversos asociados con esta terapia antihormonal que afectan severamente la calidad de vida del paciente (Figura 5.11).

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento por sus valiosas contribuciones a Rocío Ortiz López, Iván Delgado Enciso, Daniel Cervantes García, Irma A. Martínez Dávila, Ángeles E. Espino Saldaña, Isis Ricaño Ponce, Jaincto Esteban, Guillermo Elizondo, Andrés Hernández y Juan F. González. Asimismo, expresan su agradecimiento al PAICyT (UANL) y al CONACyT.

101

Referencias

Evolución de genes y genomas

1. Rouze P, Pavy N, Rombauts S. Genome annotation: which tools do we have for it? *Curr Opin Plant Biol.* 1999;2:90-5.
2. Stein L. Genome annotation: from sequence to biology. *Nat Rev Genet.* 2001;2:493-503.
3. Rust AG, Mongin E, Birney E. Genome annotation techniques: new approaches and challenges. *Drug Discov Today.* 2002;7(11):S70-6.
4. Koonin EV. Computational genomics. *Curr Biol.* 2001;11:R155-8.
5. Salzberg SL. Genomics: yeast rises again. *Nature.* 2003;423:233-4.
6. Alberts B. How genes and genomes evolve. En: *Essential cell biology.* 3rd ed. New York: Garland Science; 2009:297-326.
7. Zuckerkandl E, Linus Pauling. The molecular evolutionary clock. *Journal of the History of Biology.* Springer Netherlands; 1998;31(2):155-78.
8. Chothia C, Lesk AM. The relation between the divergence of sequence and structure in proteins. *EMBO J.* 1986;5(4):823-6.
9. Henikoff S, Greene EA, Pietrokovski S, Bork P, Attwood TK, Hood L. Gene families: the taxonomy of protein paralogs and chimeras. *Science.* 1997;278(5338):609-14.
10. Miller W, Makova KD, Nekrutenko A, Hardison RC. Comparative genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2004;5:15-56.

11. Abascal F. Análisis de genomas. Métodos para la predicción y anotación de la función de las proteínas. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid; 2003.
12. Birney E, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*. 2007;447(7146):799-816.
13. Perez-Maya AA, et al. The chimpanzee GH locus: composition, organization, and evolution. *Mamm Genome*. 2012;23(5-6):387-98.
14. Wallis OC, Wallis M. Characterization of the GH gene cluster in a new-world monkey, the marmoset (*Callithrix jacchus*). *J Mol Endocrinol*. 2002;29(1):89-97.
15. Wallis OC, Wallis M. Evolution of growth hormone in primates: the GH gene clusters of the New World monkeys marmoset (*Callithrix jacchus*) and white-fronted capuchin (*Cebus albifrons*). *J Mol Evol*. 2006;63(5):591-601.
16. Barrera-Saldana HA. Growth hormone and placental lactogen: biology, medicine and biotechnology. *Gene*. 1998;211(1):11-8.
17. Chen EY, et al. The human growth hormone locus: Nucleotide sequence, biology, and evolution. *Genomics*. 1989;4(4):479-97.
18. Cajiao I, Zhang A, et al. Bystander gene activation by a locus control region. *EMBO J*. 2004;23(19):3854-63.
19. Yoo EJ, Cajiao I, et al. Tissue-specific chromatin modifications at a multi-gene locus generate asymmetric transcriptional interactions. *Mol Cell Biol*. 2006;26(15):5569-79.
20. Sakatani S, et al. Structure, expression, and conserved physical linkage of mouse testicular cell adhesion molecule-1 (TCAM-1) gene. *Genome*. 2000;43(6):957-62.
21. Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*. 1968;217(5129):624-6.
22. Barrera Saldaña HA, Seeburg PH, Saunders GF. Two structurally different genes produce the same secreted human placental lactogen hormone. *J Biol Chem*. 1983 Mar 25;258(6):3787-93.
23. Reséndez-Pérez D, Ramírez-Solis R, Varela-Echavarría A, Martínez-Rodríguez HG, Barrera-Saldaña HA. Coding potential of transfected human placental genes. *Nucleic Acids Res*. 1990;18:4665-70.
24. Misra-Press A, Cooke NE, Liebhaber SA. Complex alternative splicing partially inactivates the human chorionic somatomammotropin-like (hCS-L) gene. *J Biol Chem*. 1994;269:23220-9.
25. MacLeod JN, Lee AK, Liebhaber SA, Cooke NE. Developmental control and alternative splicing of the placentally expressed transcripts from the human growth hormone gene cluster. *J Biol Chem*. 1992;267:14219-26.
26. Hu L, Lytras A, Bock ME, Yuen CK, Dodd JG, Cattini PA. Detection of placental growth hormone variant and chorionic somatomammotropin-L RNA expression in normal and diabetic pregnancy by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Mol Cell Endocrinol*. 1999;157:131-42.
27. Männik J, Vaas P, Rull K, Teesalu P, Rebane T, Laan M. Differential expression profile of growth hormone/chorionic somatomammotropin genes in placenta of small- and large-for-gestational-age newborns. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(5):2433-42.

28. Alsat E, Guibourdenche J, et al. Human placental growth hormone. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177(6):1526-34.
29. Khaitovich P, Enard W, Lachmann M, Pääbo S. Evolution of primate gene expression. *Nat Rev Genet.* 2006;7(9):693-702.
30. Barsh GS, Seeburg PH, Gelinas RE. The human growth hormone gene family: structure and evolution of the chromosomal locus. *Nucleic Acids Res.* 1983;11(12):3939-58.
31. Ohno S, Wolf U, Atkin NB. Evolution from fish to mammals by gene duplication. *Hereditas.* 1968;59(1):169-87.
32. Watts RL, Watts DC. Gene duplication and the evolution of enzymes. *Nature.* 1968;217:1125-30.
33. Ohta T. Role of gene duplication in evolution. *Genome.* 1989;31:304-10.
34. Lang D, Thoma R, Henn-Sax M, Sterner R, Wilmanns M. Structural evidence for evolution of the beta/alphabarrel scaffold by gene duplication and fusion. *Science.* 2000;289:1546-50.
35. Leakey MG, Feibel CS, et al. New specimens and confirmation of an early age for *Australopithecus anamensis*. *Nature.* 1998;393(6680):62-6.
36. Glazko GV, Nei M. Estimation of divergence times for major lineages of primate species. *Mol Biol Evol.* 2003;20(3):424-34.
37. Kumar S, Filipski A, et al. Placing confidence limits on the molecular age of the human-chimpanzee divergence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(52):18842-7.
38. Revol de Mendoza A, et al. Expansion and divergence of the GH locus between spider monkey and chimpanzee. *Gene.* 2004;336(2):185-93.
39. Li Y, et al. Independent origin of the growth hormone gene family in New World monkeys and Old World monkeys/hominoids. *Endocrinology J.* 2005;35:399-409.
40. Gonzalez Alvarez R, et al. Growth hormone locus expands and diverges after the separation of New and Old World monkeys. *Gene.* 2006;380(1):38-45.
41. Golos TG, Durning M, Fisher JM, Fowler PD. Cloning of four growth hormone/chorionic somatomammotropin-related complementary deoxyribonucleic acids differentially expressed during pregnancy in the rhesus monkey placenta. *Endocrinology.* 1993;133(4):1744-52.
42. Ye Chun EA. Molecular evolution of growth hormone gene family in old world monkeys and hominoids. *Gene.* 2005;350:183-92.
43. Papper Z, et al. Ancient origin of placental expression in the growth hormone genes of anthropoid primates. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106(40):17083-8.
44. Norquay LD, et al. A member of the nuclear factor-1 family is involved in the pituitary repression of the human placental growth hormone genes. *Biochem J.* 2001;354(Pt 2):387-95.
45. Nachtigal MW, Nickel BE, Cattini PA. Pituitary-specific repression of placental members of the human growth hormone gene family. A possible mechanism for locus regulation. *J Biol Chem.* 1993;268(12):8473-9.
46. Jacquemin P, et al. Characterization of a single strong tissue-specific enhancer downstream from the three human genes encoding placental lactogen. *Mol Cell Biol.* 1994;14(1):93-103.

47. Rogers B, Sobnosky M, Saunders G. Transcriptional enhancer within the human placental lactogen and growth hormone multigene cluster. *Nucleic Acids Res.* 1986;14(19):7647.
48. Kidd VJ, Barrera Saldaña HA, Saunders GF. The human growth and placental lactogen gene complex. En: Robberson DL, Saunders GF (ed). *Perspective on genes and the molecular biology of cancer.* New York: Raven Press; 1983:143-6.
49. Perez-Maya A. Diseccción bioinformática y experimental de la fase de expansión del locus GH en primates. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León; 2012.
50. Horvath JE, Willard HF. Primate comparative genomics: lemur biology and evolution. *Trends Genet.* 2007;23(4):173-82.
51. Sonntag WE, Ramsey M, Carter CS. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and their influence on cognitive aging. *Ageing Res Rev.* 2005;4(2):195-212.

104

Regulación de la expresión de genes

1. Arbyn M, Castellsagué X, de Sanjosé S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, et al. World-wide burden of cervical cancer in 2008. *Ann Oncol.* 2011;12:2675-86.
2. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine.* 2012;30(suppl 5):F12-F23.
3. Bodily J. Persistence of HPV infection: keys to malignant progression. *Trends Microbiol.* 2011;1:33-9.
4. Stadler SC, Allis CD. Linking epithelial-to-mesenchymal-transition and epigenetic modifications. *Semin Cancer Biol.* 2012;22(5-6):404-10.
5. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(9):690-8.
6. Peltomäki P. Mutations and epimutations in the origin of cancer. *Exp Cell Res.* 2012;318(4):299-310.
7. Oliveira AI, Jerónimo C, Henrique R. Moving forward in bladder cancer detection and diagnosis: the role of epigenetic biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012;12(8):871-8.
8. Cuzick J, Bergeron C, von Knebel Doeberitz M, Gravitt P, Jeronimo J, Lorincz AT, et al. New technologies and procedures for cervical cancer screening. *Vaccine.* 2012;30(suppl 5):F107-16.
9. Kontos CK. Kallikrein-related peptidases (KLKs): a gene family of novel cancer biomarkers. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(11):1877-91.
10. Kaur S, Baine MJ, Jain M, Sasson AR, Batra SK. Early diagnosis of pancreatic cancer: challenges and new developments. *Biomark Med.* 2012;6(5):597-612.
11. D'Urso V, Doneddu V, Marchesi I, Collodoro A, Pirina P, Giordano A, et al. Sputum analysis: non-invasive early lung cancer detection. *J Cell Physiol.* 2013;228(5):945-51.

12. Eglen RM, Reisine T. Screening for compounds that modulate epigenetic regulation of the transcriptome: an overview. *J Biomol Screen.* 2011;16(10):1137-52.
13. Hagelkruys A, Sawicka A, Rennmayr M, Seiser C. The biology of HDAC in cancer: the nuclear and epigenetic components. *Handb Exp Pharmacol.* 2011;206:13-37.
14. Dell'Aversana C, Lepore I, Altucci L. HDAC modulation and cell death in the clinic. *Exp Cell Res.* 2012;318(11):1229-44.
15. Gariglio P. 2009. <http://www.benthamscience.com/ebooks/9781608050161/index.htm>
16. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol.* 2010;28(10):1057-68.
17. Ballester E, Esteller M. Epigenetic breakdown of cancer cells: from DNA methylation to histone modifications. *Prog Mol Subcell Biol.* 2005;38:169-81.
18. Ballestar E, Esteller M. Epigenetic gene regulation in cancer. *Adv Genet.* 2008;61:247-67.
19. Rodríguez-Paredes M, Esteller M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med.* 2011;17(3):330-9.
20. O'Neill CJ. p16 expression in the female genital tract and its value in diagnosis. *Adv Anat Pathol.* 2006;13(1):8-15.
21. Mulvany NJ, Allen DG, Wilson SM. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies. *Pathology.* 2008;40(4):335-44.
22. Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, Wentzensen N, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(3):210-20.
23. Samarawardana P, Dehn DL, Singh M, Franquemont D, Thompson C, Gaido L, et al. p16(INK4a) is superior to high-risk human papillomavirus testing in cervical cytology for the prediction of underlying high-grade dysplasia. *Cancer Cytopathol.* 2010;118(3):146-56.
24. von Knebel Doeberitz M, Reuschenback M, Schmidt D, Bergeron C. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16(INK4a) to highlight transforming HPV infections. *Expert Rev Proteomics.* 2012;9(2):149-63.
25. von Keyserling H. p16INK4a and p14ARF mRNA expression in Pap smears is age-related. *Mod Pathol.* 2012;25(3):465-70.
26. Ozaki T, Nakagawara A. p53: the attractive tumor suppressor in the cancer research field. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:603925.
27. Suzuki K, Matsubara H. Recent advances in p53 research and cancer treatment. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:978312.
28. Essmann F. Translational approaches targeting the p53 pathway for anti-cancer therapy. *Br J Pharmacol.* 2012;165(2). 328-44.
29. Sanseverino F. Role of the retinoblastoma family in gynecological cancer. *Cancer Biol Ther.* 2003;2(6):636-41.
30. Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene.* 2006;25(38): 5220-7.

31. Gariglio P, Llopis R, Oudet P, Chambon P. The template of the isolated native SV40 transcriptional complexes is a minichromosome. *J Mol Biol.* 1979;131(1): 75-105.
32. Garnett TO, Duerksen-Hughes PJ. Modulation of apoptosis by human papillomavirus (HPV) oncoproteins. *Arch Virol.* 2006;151(12):2321-35.
33. Lagunas-Martínez A, Madrid-Marina V, Gariglio P. Modulation of apoptosis by early human papillomavirus proteins in cervical cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1805(1):6-16.
34. Tungteakkhun SS, Duerksen-Hughes PJ. Cellular binding partners of the human papillomavirus E6 protein. *Arch Virol.* 2008;153(3):397-408.
35. Kim YT. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma. *Yonsei Med J.* 2005;46(5):597-613.
36. Garner E, Raj K. Protective mechanisms of p53-p21-pRb proteins against DNA damage-induced cell death. *Cell Cycle.* 2008;7(3):277-82.
37. Patel D, Huang SM, Baglia LA, McCance DJ. The E6 protein of human papillomavirus type 16 binds to and inhibits co-activation by CBP and p300. *EMBO J.* 1999;18(18):5061-72.
38. Kanwar JR, Kamalapuram SK, Kanwar RK. Targeting surviving in cancer: the cell-signalling perspective. *Drug Discov Today.* 2011;16(11-12):485-94.
39. Javier RT. Cell polarity proteins: common targets for tumorigenic human viruses. *Oncogene.* 2008;27(55):7031-46.
40. Latorre IJ, Roh MH, Frese KK, Weiss RS, Margolis B, Javier RT. Viral oncoprotein-induced mislocalization of select PDZ proteins disrupts tight junctions and causes polarity defects in epithelial cells. *J Cell Sci.* 2005;118(Pt 18):4283-93.
41. Bonilla-Delgado J, Bulut G, Liu X, Cortés-Malagón EM, Schlegel R, Flores-Maldonado C, et al. The E6 oncoprotein from HPV16 enhances the canonical Wnt/ β -catenin pathway in skin epidermis in vivo. *Mol Cancer Res.* 2012;10(2):250-8.
42. Hernández-Monge J, Garay E, Raya-Sandino A, Vargas-Sierra O, Díaz-Chávez J, Popoca-Cuaya M, et al. Papillomavirus E6 oncoprotein up-regulates occludin and ZO-2 expression in ovariectomized mice epidermis. *Exp Cell Res.* 2013;319(17):2588-603.
43. Jarboe EA, Liaw KL, Thompson LC, Heinz DE, Baker PL, McGregor JA, et al. Analysis of telomerase as a diagnostic biomarker of cervical dysplasia and carcinoma. *Oncogene.* 2002;21(4):664-73.
44. Rosa MI, Medeiros LR, Bozzetti MC, Fachel J, Wendland E, Zanini RR, et al. Accuracy of telomerase in cervical lesions: a systematic review. *Int J Gynecol Cancer.* 2007 Nov-Dec;17(6):1205-14.
45. Tsezou A, Oikonomou P, Kollia P, Mademtzis I, Kostopoulou E, Messinis I, et al. The role of human telomerase catalytic subunit mRNA expression in cervical dysplasias. *Exp Biol Med (Maywood).* 2005;230(4):263-70.
46. Dehn D. HPV testing and molecular markers of cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer.* 2007;111(1):1-14.
47. Ganguly N, Parihar SP. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. *J Biosci.* 2009;34(1):113-23.

48. McLaughlin-Drubin ME, Münger K. The human papillomavirus E7 oncoprotein. *Virology*. 2009;384(2):335-44.
49. Teissier S, Pang CL, Thierry F. The E2F5 repressor is an activator of E6/E7 transcription and of the S-phase entry in HPV18-associated cells. *Oncogene*. 2010;29(36):5061-70.
50. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(8):550-60.
51. McLaughlin-Drubin ME, Crum CP, Münger K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(5):2130-5.
52. McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Biochemical and functional interactions of human papillomavirus proteins with polycomb group proteins. *Viruses*. 2013;5(5):1231-49.
53. Brehm A, Nielsen SJ, Miska EA, McCance DJ, Reid JL, Bannister AJ, et al. The E7 oncoprotein associates with Mi2 and histone deacetylase activity to promote cell growth. *EMBO J*. 1999;18(9):2449-58.
54. Ibarra-Sierra E, Díaz Chávez J, Cortés-Malagón EM, Uribe-Figueroa L, Hidalgo-Miranda A, Lambert PF, et al. Differential gene expression between skin and cervix induced by the E7 oncoprotein in transgenic mouse model. *Virology*. 2012;433(2):337-45.
55. Cortés-Malagón EM, Bonilla-Delgado J, Díaz-Chávez J, Hidalgo-Miranda A, Romero-Cordoba S, Uren A, et al. Gene expression profile regulated by the HPV16 E7 oncoprotein and estradiol in cervical tissue. *Virology*. 2013;447(1-2):155-65.
56. Riley RR, Duensing S, Brake T, Münger K, Lambert PF, Arbeit JM. Dissection of human papillomavirus E6 and E7 function in transgenic mouse models of cervical carcinogenesis. *Cancer Res*. 2003;63(16):4862-71.
57. Chung SH, Wiedmeyer K, Shai A, Korach KS, Lambert PF. Requirement for estrogen receptor alpha in a mouse model for human papillomavirus-associated cervical cancer. *Cancer Res*. 2008;68(23):9928-34.

Aprovechamiento biotecnológico de genes

1. Canizales-Espinoza M, Martínez-Rodríguez HG, Villa V, Revol A, Jiménez-Mateo O, Egly JM, et al. Differential strength of transfected human growth hormone and placental lactogen genes promoters. *J Endocr Genet*. 2005;4:25-35.
2. Niall HD, Hogan ML, Sayer R, Rosenblum IY, Greenwood FC. Sequences of pituitary and placental lactogenic and growth hormones: evolution from a primordial peptide by gene duplication. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971;68:866-9.
3. Rincon-Limas DE, Resendez-Perez D, Ortiz-Lopez R, Alvidrez-Quihui LE, Castro-Muñoz-Ledo F, Kuri-Harcuch W, et al. hGH isoforms: cDNA expression, adipogenic activity and production in cell culture. *Biochim Biophys Acta*. 1993;1172(1-2):49-54.

4. Cooke NE, Ray J, Emery JG, Liebhaber SA. Two distinct species of human growth hormone-variant mRNA in the human placenta predict the expression of novel growth hormone proteins. *J Biol Chem.* 1988;263:9001-6. 5. Palma-Nicolás JP. Clonación molecular del DNAc de la hormona variante del crecimiento humano y su expresión en *Pichia pastoris*. Tesis de Maestría. México: Facultad de Medicina, UANL; 2002.
6. Ascacio-Martínez JA. Producción en biorreactor, purificación y bioensayo de hormonas recombinantes del crecimiento. Tesis de doctorado. México: Facultad de Medicina, UANL; 2004.
7. Elian GJJ, Gross S. Staying young: growth hormone and other natural strategies to reverse the aging process. Age Reversal Press. 1999: pp. 120.
8. Daughaday WH. The anterior pituitary. *Williams textbook of endocrinology.* Philadelphia: WB Saunders; 1985:568-613.
9. Tsushima T, Katoh Y, Miyachi Y, Chihara K, Teramoto A, Irie M, et al. Serum concentrations of 20K human growth hormone in normal adults and patients with various endocrine disorders. Study Group of 20K hGH. *Endocr J.* 2000;47(suppl: S)17-21.
10. Hashimoto Y, Kamioka T, Hosaka M, Mabuchi K, Mizuchi A, Shimazaki Y, et al. Exogenous 20 K growth hormone (GH) suppresses endogenous 22K GH secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(2):601-6.
11. Wang DS, Sato K, Demura H, Kato Y, Maruo N, Miyachi Y. Osteo-anabolic effects of human growth hormone with 22K- and 20K Daltons on human osteoblast-like cells. *Endocr J.* 1999;46(1):125-32.
12. Ray J, Jones B, Liebhaber SA, Cooke NE. Glycosylated human growth hormone variant. *Endocrinol.* 1989;125:566-8.
13. Frankenne F, Scippo M, Van Beeumen J, Igout A, Hennen G. Identification of placental human growth hormone as the growth hormone-V gene expression product. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71:15-8.
14. Boguszewski CL, Svensson PA, Jansson T, Clark R, Carlsson MS, Carlsson B. Cloning of two novel growth hormone transcripts expressed in human placenta. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;83(8):2878-85.
15. Frankenne F, Closset J, Gomez F, Scippo ML, Smal J, Hennen G. The physiology of growth hormones (GHs) in pregnant women and partial characterization of the placental GH variant. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66(6):1171-80.
16. Evain Brion D, Alsat E, Igout A, Frankenne F, Hennen G. Placental growth hormone variant assay and clinical aspects. *Acta Pediatr.* 1994;(suppl 399): 49-51.
17. Mirlesse V, Frankenne F, Alsat E, Poncelet M, Hennen G, Evain-Brion D. Placental growth hormone levels in normal pregnancy and in pregnancies with intrauterine growth retardation. *Pediatr Res.* 1993;34:439-42.
18. Chowen JA, Evain Brion D, Pozo J, Alsat E, García Segura LM, Argente J. Decreased expression of placental growth hormone in intrauterine growth retardation. *Pediatr Res.* 1996;39(4 Pt 1):736-9.

19. Pardi G, Marcini AM, Cetin I. Pathophysiology of intrauterine growth retardation: role of the placenta. *Acta Pediatr Suppl.* 1997;423:170-2.
20. MacLeod JM, Worsley I, Ray J, Friesen HG, Liebhaber SA, Cooke NE. Human growth hormone-variant is a biologically active somatogen and lactogen. *Endocrinol.* 1991;128(3):1298-302.
21. Cooke NE. Prolactin: normal synthesis and regulation. En: DeGroot LJ (ed). *Endocrinology.* Philadelphia: WB Saunders. 1989;1:384-407.
22. Rygaard K, Revol A, Esquivel-Escobedo D, Beck BL, Barrera-Saldana HA. Absence of human placental lactogen and placental growth hormone (HGH-V) during pregnancy: PCR analysis of the deletion. *Hum Genet.* 1998 Jan;102(1):87-92.
23. Chen EY, Liao YC, Smith DH, Barrera-Saldaña HA, Gelinas RE, Seeburg PH. The human growth hormone locus: nucleotide sequence, biology, and evolution. *Genomics.* 1989;4(4):479-97.
24. Barrera-Saldaña HA. Growth hormone and placental lactogen: biology, medicine and biotechnology. *Gene.* 1998;211:11-8.
25. Barrera-Saldaña HA, Seeburg PH, Saunders GF. Two structurally different genes produce the secreted human placental lactogen hormone. *J Biol Chem.* 1983;258:3787-93.
26. Romanos MA, Scorer CA, Clare JJ. Foreign gene expression in yeast: a review. *Yeast.* 1992;8(6):423-88.
27. Faber KN, Harder W, Veenhuis M. Review: methylotrophic yeasts as factories for the production of foreign proteins. *Yeast.* 1995;11(14):1331-44.
28. Ascacio-Martínez JA, Barrera-Saldaña HA. Production and secretion of biologically active recombinant canine growth hormone by *Pichia pastoris*. *Gene.* 2004;340(2):261-6.
29. Siegel RS, Brierley RA. Methylotrophic yeast *Pichia pastoris* produced in high-cell-density fermentation with high cell yields as vehicle for recombinant protein production. *Biotechnol. Bioeng.* 1989;34:403-4.
30. Ellis SB, Brust PF, Koutz PJ, Waters AF, Harpold MM, Gingeras TR. Isolation of alcohol oxidase and two other methanol regulatable genes from the yeast *Pichia pastoris*. *Mol Cell Biol.* 1985;5:1111-21.

Diagnóstico con genes

1. Cab-Barrera EL, Barrera-Saldaña HA. Versatile plasmid vectors for use in studies of eukaryotic gene expression. *Gene.* 1988;70(2):411-3.
2. González-Garay ML, Barrera-Saldaña HA, Avilés LB, Alvarez-Salas LM, Garioglio P. Prevalence in two mexican cities of human papillomavirus DNA sequences in cervical cancer. *Rev Invest Clin.* 1992;44(4):491-9.
3. Rojas-Martínez A, Vázquez-Alemán RM, Gustincich S, Cantú JM, Barrera-Saldaña HA. The molecular genetics of cystic fibrosis: the delta F508 allele in Mexican families. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 1992;49(6):335-41.

4. Rivera-Pérez JA, Rojas-Martínez A, Charles-García F, Barrera-Saldaña HA. Molecular analysis of hemophilia A in families of Northeastern Mexico. *Rev Invest Clin.* 1993 Jan-Feb;45(1):23-8.
5. Cerda-Flores RM, Rivera-Prieto RA, Pereyra-Alfárez B, Calderón-Garcidueñas AL, Barrera-Saldaña HA, Gallardo-Blanco HL, et al. Genetic structure of Mexican Mestizos with type 2 diabetes mellitus based on three STR loci. *Gene.* 2013 Aug 1;525(1):41-6. doi: 10.1016/j.gene.2013.04.063. Epub 2013 May 8.
6. Rojas-Martínez A, Santillán AA, Delgado-Enciso I, Barrera-Saldaña HA. Genetic aspects of asthma. *Rev Invest Clin.* 2000;52(4):441-50. Review.
7. Calderón-Garcidueñas AL, Parás-Barrientos FU, Cárdenas-Ibarra L, González-Guerrero JF, Villarreal-Ríos E, Staines-Boone T, et al. Risk factors of breast cancer in Mexican women. *Salud Pub Mex.* 2000;42(1):26-33.64.
8. Martínez-Garza SG, Núñez-Salazar A, Calderon-Garcidueñas AL, Bosques-Padilla FJ, Niderhauser-García A, Barrera-Saldaña HA. Frequency and clinicopathology associations of K-ras mutations in colorectal cancer in a northeast Mexican population. *Dig Dis.* 1999;17(4):225-9.
9. Restrepo CM, Pineda L, Rojas-Martínez A, Gutiérrez CA, Morales A, Gómez Y, et al. CFTR mutations in three Latin American countries. *Am J Med Genet.* 2000 Apr 10;91(4):277-9.
10. Palacios-Saucedo GC, Rivera-Morales LG, Vázquez-Guillén JM, Sánchez LM, Ramírez TJ, Briones E, et al. Drug resistance mutations during structured interruptions of HAART in two HIV-1-infected children. *Curr HIV Res.* 2011;9(3):154-9.
11. Martínez-Fierro ML, Leach RJ, Gomez-Guerra LS, Garza-Guajardo R, Johnson-Pais T, Beuten J, et al. Identification of viral infections in the prostate and evaluation of their association with cancer. *BMC Cancer.* 2010;10:326
12. Luévano-González A, Guzmán AQ, Ancer-Rodríguez J, Ortiz-López R, Rojas-Martínez A, González-Guerrero JF, et al. Analysis of DNA mismatch repair proteins expression and BRAF V600E mutation in a subset of early- and late-onset colorectal carcinoma patients in Mexico. *Arch Med Res.* 2011 Aug;42(6):457-62.
13. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Ortiz-López R, Rivas-Llamas R, Gómez-Almaguer D, Ruiz-Delgado GJ. Molecular characterization of chronic myeloproliferative neoplasias in México. *Hematology.* 2009 Oct;14(5):261-5.
14. Martínez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Rojas-Martínez A, Ortiz-Lopez R, Castruita-de la Rosa C, Ortiz-Castro Y, et al. Positive association between vascular endothelial growth factor (VEGF) -2578 C/A variant and prostate cancer. *Cancer Biomark.* 2013;13(4):235-41.
15. Gutierrez-Aguirre CH, Garcia-Rodriguez F, Ortiz-Galvez VM, Cantu-Rodriguez OG, Salazar-Riojas R, Martinez-Gonzalez OL, et al. Lower than expected cytogenetic and molecular response to imatinib in Mexican patients with chronic myelogenous leukemia. *Hematology.* 2013 Jul;18(4):224-9.
16. Neira VA, Córdova-Fletes C, Grondin Y, Ramirez-Velazco A, Figuera LE, Ortiz-López R, et al. Complex 9p rearrangement in an XY patient with ambiguous

- genitalia and features of both 9p duplication and deletion. *Am J Med Genet A*. 2012 Jun;158A(6):1498-502.
17. Córdova-Fletes C, Domínguez MG, Vázquez-Cárdenas A, Figuera LE, Neira VA, Rojas-Martínez A, Ortiz-López R. A de novo sSMC(22) characterized by high-resolution arrays in a girl with cat-eye syndrome without coloboma. *Mol Syndromol*. 2012 Sep;3(3):131-5.
 18. Neira VA, Romero-Espinoza P, Rojas-Martínez A, Ortiz-López R, Córdova-Fletes C, Plaja A, et al. De novo MECP2 disomy in a Mexican male carrying a supernumerary marker chromosome and no typical Lubs syndrome features. *Gene*. 2013 Jul 25;524(2):381-5.
 19. Martínez-Jacobo L, Córdova-Fletes C, Ortiz-López R, Rivas F, Saucedo-Carrasco C, Rojas-Martínez A. Delineation of a de novo 7q21.3q31.1 deletion by CGH-SNP arrays in a girl with multiple congenital anomalies including severe glaucoma. *Mol Syndromol*. 2013;4(6):285-91.
 20. Vera-Cabrera L, Ortiz-Lopez R, Elizondo-Gonzalez R, Ocampo-Candiani J. Complete genome sequence analysis of *Nocardia brasiliensis* HUIJEG-1 reveals a saprobic life style and the genes needed for human pathogenesis. *PLoS One*. 2013 Jun 3;8(6):e65425.
 21. Vera-Cabrera L, Ortiz-Lopez R, Elizondo-Gonzalez R, Perez-Maya AA, Ocampo-Candiani J. Complete genome sequence of *Nocardia brasiliensis* HUIJEG-1. *J Bacteriol*. 2012 May;194(10):2761-2.

111

Curar con genes

1. Rojas-Martínez A, Martínez-Dávila IA, Hernández-García A, Aguilar-Córdova E, Barrera-Saldaña HA. Terapia génica del cáncer. *Rev Invest Clin*. 2002;54:57-67.
2. Martínez-Dávila I. Terapia génica para el cáncer cervicouterio en un modelo murino. Tesis Doctorado en Ciencias. UANL; 2004.
3. Ricaño-Ponce I. Organización del *locus* de la hormona del crecimiento del gorila (*gorilla gorilla*). Tesis Licenciatura, UANL; 2009.
4. Cervantes-García D, Ortiz-López R, Mayek-Pérez N, Rojas-Martínez A. Oncolytic virotherapy. *Ann Hepatol*. 2008;7:34-45.
5. Delgado-Enciso I, Cervantes-García D, Martínez-Dávila IA, Ortiz-López R, Alemany-Bonastre R, Silva-Platas CI. A potent replicative Delta-24 adenoviral vector driven by the promoter of HPV-16 that is highly selective for HPV-associated neoplasias. *J Gene Med* 2007;9(10):852-61.
6. CRAd driven by the URR promoter from the human papilloma virus and deficient in E1a functions. Mexican Institute for the Industrial Property (IMPI), patent title 287339. June 1st, 2011.
7. Cervantes-García D, Rojas-Martínez A, Camerini D. An XMRV derived retroviral vector as a tool for gene transfer. *Virology*. 2011;8:284.

8. Barrera-Saldaña H, Santillán AA, Hernández-García A, Aguilar-Córdova E, Rojas-Martínez A. Terapia génica y su aplicación en cáncer de próstata. *Gaceta Médica de México*. 2000;136:465-8.
9. Agard C, Ligeza C, Dupas B, Izembart A, El Kouri C, Moullier P, et al. Immunedependent distant bystander effect after adenovirus-mediated suicide gene transfer in a rat model of liver colorectal metastasis. *Cancer Gene Ther*. 2001;8:128-36.
10. Rojas-Martínez A, Manzanera AG, Sukin SW, Esteban-María J, González-Guerrero JF, Gomez-Guerra L, et al. Intraprostatic distribution and long term follow-up after AdV-tk+ prodrug as neoadjuvant to surgery in patients with prostate cancer. *Cancer Gene Ther*. 2013;20:642-9.

El estudio de péptidos y proteínas de unión a lipopolisacáridos

113

Nadia Gutiérrez Quintanar^a

Víctor García González^a

Jaime Mas Oliva

Introducción

En este apartado, se revisa el estado del arte en el estudio de péptidos y proteínas de unión a lipopolisacáridos y se enfoca la atención en los agentes terapéuticos potenciales en el choque séptico.

El tratado *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis* o Códice De la Cruz-Badiano, escrito en 1552 por el médico náhuatl Martín de la Cruz y traducido al latín por el xochimilca Juan Badiano, es un herbario con texto explicativo que recopila un amplio conocimiento sobre las plantas medicinales y su uso en el tratamiento de enfermedades de la época (Figura 6.1).¹ Herencia cultural, con un alto significado y valor científico, el *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis* ha resultado ser uno de los documentos más útiles en el estudio del pensamiento médico prehispánico, apenas traducido al castellano en 1969.²

El *Códice De la Cruz-Badiano* es un reflejo de la búsqueda constante del ser humano para encontrar la cura contra enfermedades y malestares comunes. Martín de la Cruz hace referencia a la fiebre de la siguiente manera:

^a Por invitación. Ambos autores contribuyeron de igual forma en este trabajo.

La cara del febricitante tiene varias manifestaciones de aspectos. Alguna vez se pone roja, a veces se pone negra y a veces se pone pálida. También escupe sangre, vomita, el cuerpo se agita y se vuelve acá y allá. Ve poco. En la boca siente a veces, en especial en el paladar amargor, ardor y, alguna vez, dulzor[...] Este generalmente tiene muy corrompido el estómago. Y cuando la orina está blanca, si no se ataja el peligro, ya se preparará tarde la medicina.1

En la actualidad, la fiebre y su asociación con el choque séptico, tanto a nivel mundial como en México, representan en su conjunto una de las principales causas de morbilidad y mortalidad.³ La sepsis, en su expresión más simple, puede ser considerada como la respuesta sistémica generada en forma secundaria a una infección microbiana, mediante la liberación en el torrente sanguíneo de un número importante de toxinas. Estas últimas, al producir una inflamación sistémica, alteran la temperatura corporal, así como el ritmo cardíaco y la respiración, pudiendo llevar al paciente a eventos hipotensivos importantes.⁴ Por lo anterior, hoy en día, el objetivo de una amplia serie de investigaciones está relacionado con la comprensión de los mecanismos moleculares que promueven el choque séptico, así como con la búsqueda de estrategias bioquímicas y/o farmacológicas efectivas para su tratamiento.

Respuesta del sistema inmune

Los sistemas inmune y neuroendocrino suelen controlar en forma sutil diversos procesos de respuesta secundarios a la presencia de pató-

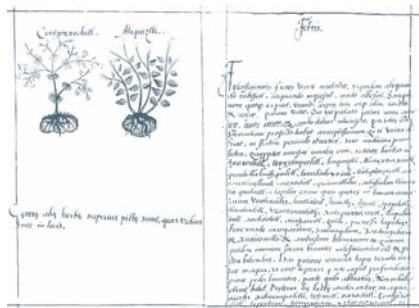


Figura 6.1. Imagen obtenida del *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, en donde se hace referencia al tratamiento recomendado para la fiebre.^{1,2}

genos invasores en circulación. En general, cuando estos mecanismos de respuesta fallan, se genera la sobreproducción de moléculas de señalización, como lo son las citocinas, la liberación de componentes celulares bacterianos e inicia la aparición de inflamación sistémica, de modo que la infección se convierte en sepsis.^{5,6} Se ha reportado que cerca de una tercera parte de los casos de choque séptico son originados por infecciones de bacterias gramnegativas.⁵

Una serie de eventos son los responsables de la transición de un cuadro de sepsis, a choque séptico. La reacción inicial está dada por la activación celular de monocitos, macrófagos y neutrófilos que interactúan con las células endoteliales a través de numerosos receptores de reconocimiento. En seguida, se lleva a cabo la movilización de moléculas plasmáticas como resultado de la activación celular y el daño endotelial. Estas moléculas plasmáticas incluyen diversas citocinas como el factor de necrosis tumoral, las interleucinas, las caspasas, proteasas, leucotrienos, especies reactivas de oxígeno, óxido nítrico, ácido araquidónico, eicosanoides y el factor activador de plaquetas. Adicionalmente, la activación del complemento y las cascadas de coagulación pueden amplificar la cadena de eventos.

Se ha descrito que el endotelio vascular es el sitio predominante de estas interacciones; como resultado de estas condiciones, puede presentarse un daño microvascular, trombosis y pérdida de integridad endotelial, lo que desencadena isquemia tisular. Esta ruptura endotelial difusa es la responsable en la mayoría de los casos de la pérdida de la función de órganos y de la presencia de hipoxia tisular, conocido como un estado característico de pacientes en choque séptico.⁷

El sistema reticuloendotelial está conformado por macrófagos de tejido específicos, un componente importante de la respuesta primaria ante microorganismos.⁸ En este contexto, los receptores tipo-*toll* (TLR) reconocen y responden a diversos componentes patogénicos de microorganismos, y proporcionan la primera línea de defensa contra infecciones microbianas. Entre los componentes microbianos, los lipopolisacáridos (LPS) de la membrana externa de las bacterias gramnegativas actúan como un factor primario en el choque séptico al generar la potente respuesta inmune innata a través del complejo que se forma entre el receptor TLR tipo-4 y el correceptor MD-2.^{9,10} Para que se produzca esta respuesta, se requiere la participación de proteínas accesorias como LBP y CD14.

A través de la unión de los LPS a los receptores TLR-4, se inicia una cadena de reacciones de fosforilación y ubiquitinación que termina por conducir a la activación del factor de transcripción NF- B, así

como a la activación de una serie de cinasas de proteína por mitógenos (MAPK) y factores de respuesta a interferón (IRF). La endocitosis del TLR4 termina con la fase inicial de la señalización dependiente de MyD88, proceso que funciona como señal de inicio de la segunda fase dependiente de la molécula TRIF para la transducción de moléculas de TLR4 localizadas en endosomas.¹¹ En consecuencia, los macrófagos, principalmente en presencia de LPS, o de otros componentes bacterianos como el ácido lipoteicoico (LTA) inducen la liberación de una serie de mediadores de proinflamatorios, tales como el TNF- α , IL-1, IL-6, eicosanoides, PAF, NO y especies reactivas de oxígeno⁸ (Figura 6.2).

Los TLR son miembros de una familia de receptores dedicados a la detección de microorganismos patógenos.¹² TLR4 es una proteína transmembranal tipo I, compuesta de 22 segmentos extracelulares ricos en leucinas (LRR), un dominio transmembranal y el dominio del receptor *toll*/IL-1 (dominio TIR).¹³ De forma interesante, también se ha descrito que el serotipo LPS O111:B4 activa una respuesta alterna en macrófagos diferente a la vía canónica a través del TLR-4, esta respuesta es intracelular y lleva a la activación de la caspasa inflamatoria-11.^{14,15}

Lipopolisacáridos

Como ya se ha mencionado, uno de los factores primarios que induce la respuesta asociada con el choque séptico son los LPS, glucolípidos fosforilados que forman parte estructural de la membrana externa de las bacterias gramnegativas. La descripción de los LPS se puede realizar identificando cuatro componentes: el lípido A, un núcleo interno, un núcleo externo y el antígeno O. El lípido A puede considerarse el componente más importante, integrado por un esqueleto de diglucosamina 1,4-bifosforilada a la cual están unidas cadenas acilo. Cabe señalar que la mayoría de las especies de bacterias gramnegativas presenta LPS únicos, en donde generalmente las variantes residen en el lípido A por medio de las siguientes características:

- *El patrón de acilación*
- *La longitud de los ácidos grasos*
- *La presencia de los grupos 4-amino-desoxi-L-arabinosa y/o fosfoetanolamina unidos a los grupos fosfato de las glucosaminas*
- *El número de ácidos grasos⁸*

Es importante considerar que en todas las variantes de LPS, los grupos fosfato son importantes para la actividad agonista, ya que en experimentos que conducen a su modificación, la actividad

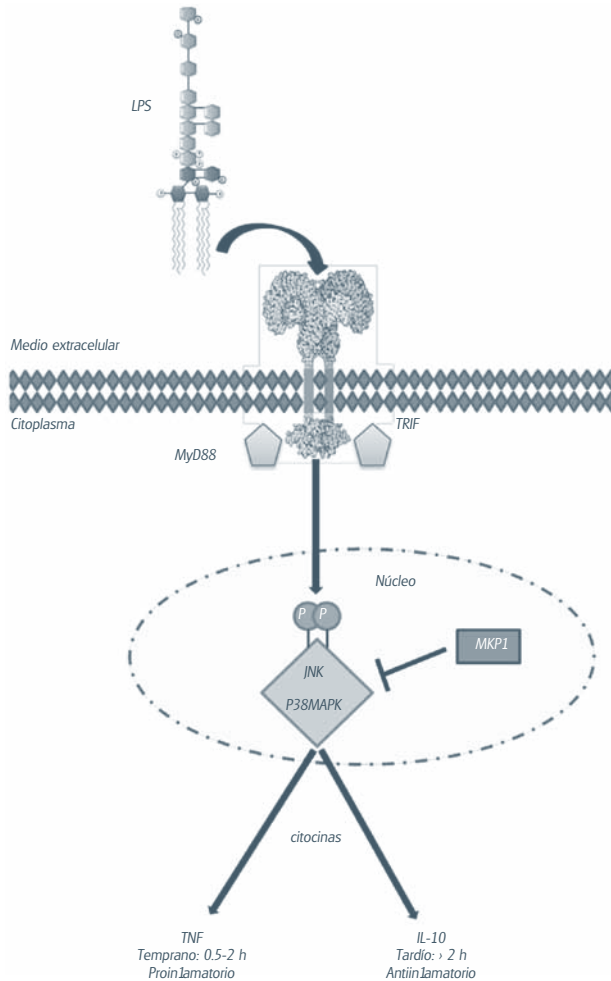


Figura 6.2. Los LPS generan una cascada de señalización a través del receptor tipo toll (TLR), el cual recluta las proteínas adaptadoras MyD88 y TRIF. Lo anterior conlleva a una respuesta temprana, en la cual las proteínas p38MAPK y JNK se activan y participan en la expresión del TNF, después se lleva a cabo la inducción de la expresión de MKP-1, que funciona para la regulación "río abajo" de la actividad de p38/JNK y la producción de TNF. Conforme disminuye la expresión de MKP1, los niveles de actividad de p38MAPK y JNK permanecen más altos que en células que no recibieron el estímulo y promueven la expresión de IL-10. (Adaptado de la referencia 16)

endotóxica se encuentra disminuida.^{8,17} Dentro de la misma molécula de LPS, el núcleo interno está conformado por dos o más carbohidratos del tipo 2-ceto-3-ácido desoxioctónico (KDO) que se unen a las glucosaminas del lípido A, así como dos o tres heptosas (L-glicero-D-mano-heptosa) unidas al KDO, siendo ambos carbohidratos únicos de estas bacterias. No obstante, el núcleo externo

tiene una composición más variable y está integrado por carbohidratos comunes. El antígeno O se mantiene unido al carbohidrato terminal del núcleo externo, sobresale de la pared bacteriana y es altamente inmunogénico. Aunque el antígeno O está compuesto por unidades repetidas de oligosacáridos comunes, pueden existir diversas variantes entre especies y entre cepas bacterianas en relación con el tipo de carbohidratos que lo conforman.

Cuando los LPS se encuentran incorporados a la bacteria no son tóxicos, pero una vez que son liberados de la pared bacteriana en el torrente sanguíneo, se les considera como endotoxinas debido a la exacerbada respuesta inflamatoria que desencadenan.

Proteínas de unión a lipopolisacáridos

Con base en estudios filogenéticos, hace más de una década se caracterizó una familia de proteínas denominada PLUNC (clon proteico palatino pulmonar y del epitelio nasal) que incluye proteínas asociadas con funciones inmunológicas, así como proteínas relacionadas con la unión y transporte de lípidos. En esta familia se encuentran las proteínas LBP (proteína de unión a lipopolisacáridos), BPI (proteína bactericida/incrementadora de permeabilidad), PLTP (proteína transferidora de fosfolípidos) y CETP (proteína transferidora de ésteres de colesterol). Tanto LBP como BPI desempeñan un papel importante en los mecanismos regulatorios directamente asociados con la unión a LPS.¹⁸ Por otra parte, CETP y PLTP son dos proteínas clave en el transporte de lípidos entre lipoproteínas en el plasma.^{19,20}

Uno de los mecanismos de acción que se han propuesto para la función de proteínas que interactúan con LPS, como BPI o LBP, es desplazando de la membrana bacteriana cationes bivalentes como el calcio y el magnesio.²¹ Asimismo, estudios realizados con BPI sugieren que esta proteína en presencia de LPS en el torrente sanguíneo favorece su agregación, e impide que se lleve a cabo la cascada de señalización proinflamatoria dependiente de la vía de los TLR4.²²

BPI es una proteína citoplasmática de 55 kDa constituyente de los gránulos primarios (azurófilos) de neutrófilos, con actividad antimicrobiana selectiva hacia bacterias gramnegativas.²³ La selectividad de BPI se atribuye a su alta afinidad por los LPS, de manera que a través de la unión a bacterias blanco, la proteína BPI primordialmente puede favorecer tres efectos:

- *Actividad bactericida a través de la disrupción secuencial de la membrana bacteriana externa e interna*

- *Actividad neutralizadora de endotoxinas, con la formación de complejos con los LPS, y bloqueando la interacción con los receptores del huésped*
- *Opsonización de las bacterias, de manera que se mantiene incrementada la fagocitosis*²³

La expresión de BPI también se ha descrito en células epiteliales del tracto gastrointestinal, la cavidad oral y el tracto genitourinario.²⁴ La BPI presenta una actividad contra un amplio rango de bacterias gramnegativas en concentraciones nanomolares; refleja una alta afinidad por el lípido A de los LPS y, en consecuencia, una potente actividad neutralizadora. De hecho, la BPI ha sido blanco de una serie de estudios clínicos que se comentan en un siguiente apartado.

Enfoque farmacológico

119

Tomando en cuenta que la respuesta inflamatoria que se genera durante el choque séptico conduce al desarrollo de daños en los tejidos y que la respuesta antiinflamatoria provoca la reprogramación de leucocitos y cambios en el estatus inmunológico, el periodo para la intervención en este padecimiento es corto, por lo que el tratamiento debe controlar con rapidez la fuente de infección y restaurar la homeostasis hemodinámica. De manera que ha sido particularmente difícil encontrar moléculas que sean efectivas para el manejo del choque séptico. En este sentido, se ha abordado un concepto clave para el tratamiento de la sepsis grave y del choque séptico dependiente del tiempo, lo que sugiere una hora de oro y la perspectiva de un día de plata para el manejo de estos trastornos, en donde el tratamiento adecuado llevado a cabo en los servicios de urgencia es clave en la supervivencia de los pacientes.⁷

Los procedimientos rutinarios se enfocan en el control de la infección y en el mantenimiento del estatus hemodinámico, así como en mecanismos para mantener el soporte en órganos que han sido dañados. También es importante el uso de fármacos no selectivos para combatir la inflamación, por ejemplo altas dosis de corticosteroides²⁵ y fármacos antiinflamatorios no esteroides.²⁶ Después del periodo crítico, se requiere una rehabilitación apropiada y un seguimiento a largo plazo, periodo en el que la remoción de tejidos infectados y el tratamiento con antibióticos son claves para asegurar la supervivencia.²⁷

Entre las intervenciones generales que pueden prevenir el choque séptico, se encuentran el uso de antibióticos profilácticos,^{28,29}

acciones para mantener las concentraciones de glucosa en sangre,³⁰ la descontaminación selectiva del tracto digestivo, el desarrollo de estrategias para la prevención de infecciones iatrogénicas, el empleo de terapias de inmunidad, como vacunas, y la administración intravenosa de inmunoglobulinas.^{31,32}

Dentro de los tratamientos inmunológicos que se han estudiado, la experimentación con anticuerpos monoclonales (HA-1A, E5), cuyo blanco son los LPS, no ha proporcionado resultados efectivos, debido a que presentan una baja actividad biológica.³³⁻³⁵ Por el contrario, la proteína recombinante BPI mejoró de manera significativa el resultado funcional en niños con septicemia por meningococo severa, 77% de 190 niños recuperó la salud, en comparación con 66% de 203 controles que recibieron tratamiento placebo, $p = 0.019$. De igual forma, otros fármacos cuyo blanco son los LPS están siendo estudiados, tales como la proteína catiónica antimicrobial 18 (que es bactericida)³⁶ y análogos sintéticos del lípido A (E5564).³⁷ Asimismo, se ha empleado un enfoque a través del uso de lipoproteínas humanas que ejercen efectos antiinflamatorios independiente de la unión a LPS³⁸ y anticuerpos monoclonales recombinantes contra CD14 (Cuadro 6.1).³⁹ No obstante, el desarrollo de vacunas contra los LPS ha fallado al enfrentarse este tipo de procedimiento a diversos problemas, incluida la identificación de la población blanco y los epítomos diana, así como la generación de anticuerpos en cantidades suficientes para la protección.

Por otra parte, se ha observado que fármacos de segunda generación contra el choque séptico pueden bloquear diversos factores de la cascada inflamatoria de forma inespecífica y masiva, por ejemplo el TNF- α , la interleucina 1, el factor activador de plaquetas, moléculas de adhesión, metabolitos del ácido araquidónico, radicales libres de oxígeno, bradicinina, la fosfodiesterasa, la esterasa C1 y la sintasa de óxido nítrico. Sin embargo, estos enfoques farmacológicos no han sido completamente efectivos, aunque una intensa investigación se continúa realizando alrededor de ellos.⁶

Considerando que la BPI puede interactuar con los LPS y neutralizar la actividad endotóxica, la proteína BPI recombinante (rBPI) se ha utilizado como un agente inmunoterapéutico en un amplio número de lesiones y estados patológicos, incluidas las extremidades por isquemia-reperusión, meningococcemia grave, ligadura del conducto biliar, endotoxemia, y la resección hepática. Asimismo, la administración intravenosa de rBPI en ratas adultas ha demostrado ofrecer una protección significativa contra la disfunción sistólica y diastólica del miocardio que ocurre 24 h después de un evento de quemadura.⁴⁰

Cuadro 6.1. Investigación farmacológica experimental enfocada en el tratamiento del choque séptico

Blanco farmacológico	Moléculas	Fase de desarrollo
Lipopolisacáridos	Proteína catiónica antimicrobial 18	Experimental
	Análogos sintéticos del lípido A, E5564	Fase clínica II
	Lipoproteínas recombinantes humanas	Experimental
	Anticuerpos monoclonales contra CD14	Fase clínica I
Mediadores proinflamatorios tardíos	Anticuerpo contra el grupo de la caja 1 de alta movilidad	Experimental
	Caja A de unión a DNA, etilpiruvato	Experimental
	Factor inhibidor de la migración antimacrófagos	Experimental
Sistema de cascada de complemento	Bloqueadores tanto de C5a como del receptor C5a	Experimental
Apoptosis	Anticaspasas	Experimental
	Bloqueadores de Fas/ligando Fas con proteínas de fusión al receptor Fas	Experimental
	Metoclopramida	Experimental
	Sobrexpresión de células B linfoides/leucemia-2	Experimental
Pol-ADP-ribosa sintasa	Inhibidores de la Pol-ADP-ribosa sintasa	Experimental
NO (óxido nítrico) sintasa inducible	2-aminoprenoides, ONO-1714, antioxidantes polifenólicos flavonoides, aminoguanidina, L-N6-(1-iminoetil)-lisina	Experimental
Sistema nervioso autónomo	Estimulación del nervio vago	Experimental
Otras	Inhibidores de la reductasa del grupo CoA de alta movilidad	Experimental
	Bloqueadores del receptor de endotelina	Experimental
	Inhibidores de calpaina	Experimental
	Agonistas de receptores de adenosina A2A	Experimental

121

Tomado de: Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet*. 2005;365:63-78.

Con un enfoque terapéutico dirigido contra el TLR-4, en estudios clínicos empleando eritoran, una molécula inhibidora del TLR-4 altamente específica, se ha encontrado que su uso como tratamiento farmacológico no reduce la muerte por sepsis en pruebas clínicas en humanos.⁴¹

Péptidos antimicrobianos: una posibilidad terapéutica

En los últimos 30 años, un número cada vez más amplio de proteínas y péptidos antimicrobianos (PAM) con actividad microbicida directa *in vitro* han sido aislados y caracterizados. Los PAM son

proteínas endógenas que pueden presentar actividad antimicrobiana frente a una amplia variedad de microorganismos. La distribución de estas moléculas en los reinos vegetal y animal refleja una necesidad común de los organismos multicelulares de contar con este tipo de mecanismo de defensa contra infecciones microbianas.⁴² Asimismo, varios PAM que se encuentran expresados en el humano muestran un efecto muy potente sobre microorganismos patógenos, incluidas bacterias resistentes a antibióticos.

Los PAM han recibido una creciente atención debido a la búsqueda de tratamientos antibióticos que sean efectivos contra un número importante de bacterias multirresistentes, y han sido aislados de diversas fuentes, como la piel de rana (magaininas), el veneno de las avispas (mastoparinas), el veneno de abejas (melitina), y de las polillas de la seda (cecropinas). En particular, estos péptidos cortos se pueden clasificar en varios grupos según su estructura secundaria: 1) de tipo extendido y α -helicoidales; 2) cíclicos, y 3) péptidos que forman estructuras en hoja- β . Todos comparten las características comunes de ser catiónicos y tener momentos hidrofóbicos altos. Estos péptidos están compuestos de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos que facilitan su distribución entre las fases acuosa y lipídica, de manera que cuando se lleva a cabo la interacción con membranas de lípidos les permite adoptar una conformación anfipática común.⁴³ Considerando que esta distribución está favorecida hacia las membranas de lípidos con carga negativa, se sugiere que las interacciones electrostáticas son el componente clave en la selectividad de los PAM por las membranas de células bacterianas.⁴⁴

En las membranas de células eucariotas, los fosfolípidos con carga negativa están principalmente localizados en la capa interna de la membrana de lípidos, mientras que la capa externa se compone principalmente de lípidos zwitteriónicos y lípidos neutros, de forma que la carga neta es neutra. En contraste, en las membranas celulares bacterianas, además de los LPS, una gran proporción de fosfolípidos ácidos, tales como fosfatidilglicerol y cardiolipina presentes en ambas membranas, proporcionan una carga negativa a la superficie.⁴⁵

Para ayudar a contrarrestar el problema de la resistencia que han desarrollado las bacterias contra fármacos antimicrobianos, se ha considerado el uso de los PAM catiónicos como una alternativa a los antibióticos. Por lo general, el mecanismo de acción de estas moléculas implica la interrupción de la integridad de la membrana bacteriana; sin embargo, también se han caracterizado otros mecanismos antimicrobianos dirigidos contra procesos celulares clave,

incluidos la síntesis de DNA y de proteínas, el plegamiento de proteínas, la actividad enzimática y la síntesis de la pared celular.⁴⁶

Ubicuos en la naturaleza, los PAM constituyen un componente clave del sistema inmune innato de diversos organismos, que no sólo generan un amplio espectro de actividad contra bacterias y hongos patógenos, sino que incluso, la actividad tóxica se extiende a virus, parásitos y algunas veces a células cancerosas.⁴⁶ Muchos péptidos actúan sobre las membranas bacterianas u otros blancos, en contraste, la mayoría de los antibióticos normalmente se dirigen contra proteínas específicas. Estas propiedades pueden representar una ventaja característica de los PAM que favorezca el combate contra especies microbianas que se han vuelto resistentes por mutaciones génicas. En este sentido, la búsqueda de nuevas moléculas de carácter proteico implica la identificación de los péptidos activos presentes en la naturaleza, seguidos por el diseño de péptidos sintéticos análogos para estudios de estructura-función y su posterior abordaje utilizando experimentación en modelos *in vivo*.

123

En particular, la actividad antimicrobiana presente en el tejido hemático del humano está relacionada con la movilización de proteínas y péptidos citotóxicos a los sitios de infección. Estos agentes celulares se transportan en los gránulos citosólicos de leucocitos y plaquetas, mientras que los agentes extracelulares son producto de la degranulación celular o de la secreción desde el hígado de proteínas de fase aguda. Además de la actividad microbicida directa, muchos de los agentes plasmáticos también son capaces de neutralizar los efectos proinflamatorios ocasionados por los componentes de la superficie microbiana. Adicionalmente, varios de estos agentes presentan actividades relacionadas con la modulación de la respuesta inmune y mecanismos de reparación tisular.⁴²

Proteína CETP y la isoforma CETPI

La CETP es una proteína plasmática que es secretada sobre todo por el hígado que cataliza la transferencia de ésteres de colesterol y triglicéridos entre lipoproteínas. Estudios de delección y mutagénesis sitioespecífica han mostrado que el dominio C-terminal (E465-S476) estructurado como una hélice- α anfipática, corresponde a una región clave para la función de transferencia de lípidos.^{47,48} En este sentido, resultados experimentales de nuestro laboratorio sugieren que el mecanismo de transferencia puede estar directamente relacionado con la formación de un sistema micelar de lípidos, en

donde la conservación de la estructura hélice- α en el C-terminal es crítica para llevar a cabo este proceso de transferencia de lípidos.⁴⁹

Sin embargo, en nuestro laboratorio se ha descubierto una nueva isoforma de CETP sintetizada de manera exclusiva en el intestino delgado, a la que se denominó CETPI. Esta isoforma se diferencia de CETP en que no contiene el exón 16, y 54 bases contenidas en el intrón 15 forman parte del nuevo mRNA característico de CETPI, que en consecuencia sustituye los 24 aminoácidos del carboxilo terminal presentes en CETP por una secuencia de 18 aminoácidos con un alto contenido en prolinas y residuos con carga positiva, los cuales son críticos para la nueva función de CETPI.⁵⁰

Como se ha comentado, CETP pertenece a la familia de proteínas PLUNC, entre las que se encuentra la proteína BPI. En particular, la CETP y la BPI comparten los más importantes elementos estructurales, incluido el plegamiento global en forma de boomerang, así como la simetría y arquitectura de los dominios amino y carboxilo,⁵¹ a pesar de que tienen una homología muy baja en las secuencias de aminoácidos (16%). En la superficie cóncava tanto BPI como la nueva isoforma CETPI no tienen el dominio clave hélice- α situado en el carboxilo terminal, y en su lugar ambas proteínas presentan un alto contenido de aminoácidos con carga positiva, característica que es importante para la función asociada con la unión a LPS.

Cuando la proteína CETPI fue descubierta en nuestro laboratorio, se encontró que su expresión se restringe al intestino delgado y se encontró en cantidades importantes en plasma. De esta forma, en modelos celulares de intestino delgado, se ha estudiado la sobreexpresión de CETPI generada por el tratamiento con LPS desde concentraciones muy bajas, característica que puede estar relacionada con una función de unión a LPS.⁵²

A pesar de que de manera natural los organismos presentan mecanismos finamente diseñados para la síntesis de anticuerpos, que son en general efectivos para contrarrestar infecciones por bacterias gramnegativas, éstos no tienen la capacidad de neutralizar los efectos fisiopatológicos asociados con los LPS. Hemos demostrado que a través de la unión de CETPI a LPS se lleva a cabo su bloqueo y, en consecuencia, se evita la presencia de citotoxicidad. Específicamente por medio de la disección estructural de la función de péptidos derivados del C-terminal, los resultados experimentales demuestran que un péptido derivado del carboxilo terminal de CTPI de 18 residuos es una molécula inocua que presenta la capacidad de unión a LPS y genera condiciones de protección de los efectos citotóxicos causados por los LPS (Figura 6.3).⁵³

Actualmente efectuamos estudios utilizando un panel amplio de péptidos de diversas longitudes derivados del segmento carboxilo-terminal de CETPI como moléculas inactivadoras de los efectos negativos producidos por los LPS, extendiendo nuestro estudio a la realización de pruebas experimentales de funcionalidad en el mamífero.

Tomando como base la secuencia del segmento carboxilo-terminal de CETPI, ahora estudiamos las condiciones óptimas de protección de estas moléculas en la acción de los LPS y, de esta manera, evitar las cascadas de señalización deletéreas que se desencadenan por la unión de los LPS a sus receptores blanco, tanto en las células del torrente sanguíneo como en las presentes en la pared vascular.^{52,53}

Resumen

El sistema inmune innato provee un rápido y efectivo sistema de defensa altamente regulado contra infecciones microbianas, por lo que en ciertas condiciones puede llevar a cabo una respuesta exacerbada, la cual, a su vez, puede representar un riesgo para la homeostasis del organismo. En la actualidad, es bien sabido que a través de una serie de eventos responsables de la transición de sepsis a choque séptico, tanto la activación celular de monocitos, macrófagos y neutrófilos, así como la aparición de una gran cantidad de moléculas provenientes de

125

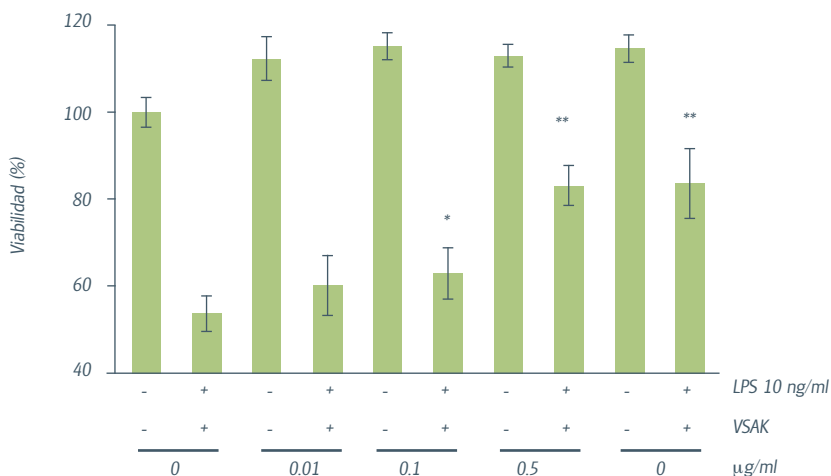


Figura 6.3. El tratamiento con un péptido derivado del carboxilo terminal de CETPI previene del desarrollo de citotoxicidad en macrófagos (RAW). Gráfico de viabilidad celular en células bajo un tratamiento previo de 45 min con dosis crecientes del péptido de 18 aminoácidos, previo al estímulo por 24 h con 10 ng/mL de LPS. Gráfica representativa de seis repeticiones (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.001$.

las células bacterianas en circulación son importantes en esta transición. En particular, uno de los factores primarios que desencadenan las condiciones adversas en el choque séptico son los lipopolisacáridos (LPS), lípidos que forman parte de la membrana externa de las bacterias gramnegativas. En este sentido, la literatura especializada muestra un grupo de proteínas y péptidos con características catiónicas que presentan afinidad por la superficie microbiana cargada negativamente y, por lo tanto, por los LPS, que a su vez se han utilizado como moléculas amortiguadoras o bloqueadoras de la acción negativa de estos lípidos sobre la membrana plasmática de diversos tipos celulares del torrente circulatorio al igual que de la pared vascular.

En nuestro laboratorio, desde hace ya algunos años, se descubrió una nueva isoforma de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETPI), la cual no presenta la capacidad de transferir lípidos entre lipoproteínas. Estudios experimentales recientes sugieren que esta proteína en busca de función puede estar relacionada con la unión a los LPS. A través del diseño y uso de péptidos derivados de un nuevo dominio clave situado en el extremo C-terminal de CETPI, hemos documentado la presencia de una función bloqueadora del efecto citotóxico inducido por los LPS. Independientemente de los estudios que han realizado grupos de trabajo internacionales con diversos péptidos y proteínas en el bloqueo de los LPS, estos tratamientos no han sido por completo efectivos. Con el descubrimiento de esta nueva potencial función fisiológica para CETPI, se abre una nueva posibilidad para extender nuestros estudios básicos al diseño específico de péptidos derivados de su dominio C-terminal y la extensión a experimentación *in vivo*.

En el presente capítulo se hizo una revisión del estado del arte en el uso de proteínas y péptidos que presentan la capacidad de interactuar con LPS y su potencial uso en el control del llamado choque séptico.

Referencias

1. De la Cruz M, Badiano J. *Libellus de medicinalibus indorum herbis*, Códice de la Cruz-Badiano, Códice Badiano o Códice Barberini; 1552.
2. De la Cruz M. *Libellus de medicinalibus indorum herbis*. Versión española con comentarios de diversos autores. Instituto Mexicano del Seguro Social; 1964.
3. Villagómez-Ortiz A, Medellín R, Trujillo N, Méndez R, Guzmán R, Rosas V, et al. Uso de proteína C activada en el tratamiento de sepsis grave o choque séptico. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int*. 2013;27:153-71.

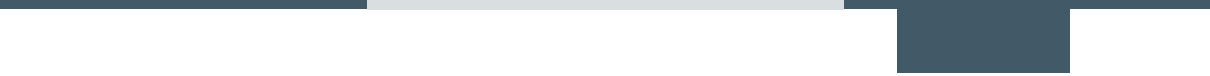
4. American College of Chest Physicians; Society of Critical Care Medicine. Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20:864-74.
5. Rathinam VA, Fitzgerald KA. Immunology: lipopolysaccharide sensing on the inside. *Nature.* 2013;501:173-5.
6. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet.* 2005;365:63-78.
7. Nguyen HB, et al; Emergency Department Sepsis Education Program and Strategies to Improve Survival (ED-SEPSIS) Working Group. Severe sepsis and septic shock: review of the literature and emergency department management guidelines. *Ann Emerg Med.* 2006;48:28-54.
8. Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:379-414.
9. Ohto U, Fukase K, Miyake K, Shimizu T. Structural basis of species-specific endotoxin sensing by innate immune receptor TLR4/MD-2. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109:7421-6.
10. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29:1303-10.
11. Watts C. Location, location, location: identifying the neighborhoods of LPS signaling. *Nat Immunol.* 2008;9:343-5.
12. Meng J, Gong M, Björkbacka H, Golenbock DT. Genome-wide expression profiling and mutagenesis studies reveal that lipopolysaccharide responsiveness appears to be absolutely dependent on TLR4 and MD-2 expression and is dependent upon intermolecular ionic interactions. *J Immunol.* 2011;187:3683-93.
13. Ohto U, Fukase K, Miyake K, Shimizu T. Structural basis of species-specific endotoxin sensing by innate immune receptor TLR4/MD-2. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109:7421-6.
14. Hagar JA, Powell DA, Aachoui Y, Ernst RK, Miao EA. Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock. *Science.* 2013;341:1250-3.
15. Kayagaki N, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4. *Science.* 2013;341:1246-69.
16. Dickinson RJ, Keyse SM. Diverse physiological functions for dual-specificity MAP kinase phosphatases. *J Cell Sci.* 2006;119:4607-15.
17. Park BS, Song DH, Kim HM, Choi BS, Lee H, Lee JO. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature.* 2009;458:1191-5.
18. Beamer LJ, Carroll SF, Eisenberg D. The BPI/LBP family of proteins: a structural analysis of conserved regions. *Protein Sci.* 1998;7:906-14.
19. Chiang SC, Veldhuizen EJ, Barnes FA, Craven CJ, Haagsman HP, Bingle CD. Identification and characterization of the BPI/LBP/PLUNC-like gene re-

- pertoire in chickens reveals the absence of a LBP gene. *Dev Comp Immunol.* 2011;35:285-95.
20. Bingle CD, Craven CJ. PLUNC: a novel family of candidate host defense proteins expressed in the upper airways and nasopharynx. *Hum Mol Genet.* 2002;11:937-43.
 21. Levy O. A neutrophil-derived anti-infective molecule: bactericidal/permeability-increasing protein. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:2925-31.
 22. Balakrishnan A, Marathe SA, Joglekar M, Chakravorty D. Bactericidal/permeability increasing protein: a multifaceted protein with functions beyond LPS neutralization. *Innate Immun.* 2013;19:339-47.
 23. Levy O, Elsbach P. Bactericidal/Permeability-increasing protein in host defense and its efficacy in the treatment of bacterial sepsis. *Curr Infect Dis Rep.* 2001;3:407-12.
 24. Canny G, Levy O, Furuta GT, Narravula-Alipati S, Sisson RB, Serhan CN, et al. Lipid mediator-induced expression of bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in human mucosal epithelia. *Proc Natl Acad Sci.* 2002;99:3902-7.
 25. Annane D, Bellissant E, Bollaert P, Briegel J, Keh D, Kupfer Y. Corticosteroids for severe sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2004;329:480.
 26. Bernard GR, et al. The Ibuprofen in Sepsis Study Group. The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. *N Engl J Med.* 1997;336:912-8.
 27. Rivers E, et al. Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001;345:1368-77.
 28. Bernard B, Grange JD, Khac EN, Amiot X, Opolon P, Poynard T. Antibiotic prophylaxis for the prevention of bacterial infections in cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding: a meta-analysis. *Hepatology.* 1999;29:1655-61.
 29. Sharma VK, Howden CW. Prophylactic antibiotic administration reduces sepsis and mortality in acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis. *Pancreas.* 2001;22:28-31.
 30. Van den Berghe G, et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. *N Engl J Med* 2001;345:1359-67.
 31. Cafiero F, Gipponi M, Bonalumi U, Piccardo A, Sguotti C, Corbetta G. Prophylaxis of infection with intravenous immunoglobulin plus antibiotic for patients at risk for sepsis undergoing surgery for colorectal cancer: results of a randomized, multicenter clinical trial. *Surgery.* 1992;112:24-31.
 32. Douzinas EE, et al. Prevention of infection in multiple trauma patients by high-dose intravenous immunoglobulins. *Critical Care Med.* 2000;28:254-5.
 33. Ziegler EJ, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. *N Engl J Med.* 1991;324:429-36.

34. Greenberg RN, Wilson KM, Kunz AY, Wedel NI, Gorelick KJ. Randomized, double-blind phase II study of anti-endotoxin antibody (E5) as adjuvant therapy in humans with serious gramnegative infections. *Prog Clin Biol Res.* 1991;367:179-86.
35. Warren HS, et al. Assessment of ability of murine and human anti-lipid A monoclonal antibodies to bind and neutralize lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1993;177:89-97.
36. Warren HS, et al. Protective efficacy of CAP18106-138-immunoglobulin G in sepsis. *J Infect Dis.* 2003;188:1382-93.
37. Lynn M, et al. Blocking of responses to endotoxin by E5564 in healthy volunteers with experimental endotoxemia. *J Infect Dis.* 2003;187:631-9.
38. Wu A, Hinds CJ, Thiemeermann C. High-density lipoproteins in sepsis and septic shock: metabolism, actions, and therapeutic applications. *Shock.* 2004;21:210-21.
39. Reinhart K, et al. CD14 receptor occupancy in severe sepsis: results of a phase I clinical trial with a recombinant chimeric CD14 monoclonal antibody IC14. *Crit Care Med.* 2004;32:1100-9.
40. Horton JW, Maass DL, White DJ, Minei JP. Bactericidal/permeability increasing protein attenuates the myocardial inflammation/dysfunction that occurs with burn complicated by subsequent infection. *J Appl Physiol.* 2007;103:948-58.
41. Opal SM, et al; ACCESS Study Group. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA.* 2013;309:1154-62.
42. Levy O. Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. *Blood.* 2000;96:2664-72.
43. Henriksen JR, Andresen TL. Thermodynamic profiling of peptide membrane interactions by isothermal titration calorimetry: a search for pores and micelles. *Biophys J.* 2011;101:100-9.
44. Oren Z, Shai Y. Mode of action of linear amphipathic alpha-helical antimicrobial peptides. *Biopolymers.* 1998;47:451-63.
45. Matsuzaki K. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1462:1-10.
46. Nguyen LT, Haney EF, Vogel HJ. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends Biotechnol.* 2011;29:464-72.
47. Wang S, Wang X, Deng L, Rassart E, Milne RW, Tall AR. Point mutagenesis of carboxyl-terminal amino acids of cholesteryl ester transfer protein. Opposite faces of an amphipathic helix important for cholesteryl ester transfer or for binding neutralizing antibody. *J Biol Chem.* 1993;268:1955-9.
48. Wang S, Kussie P, Deng L, Tall A. Defective binding of neutral lipids by a carboxyl-terminal deletion mutant of cholesteryl ester transfer protein. Evidence for a carboxyl-terminal cholesteryl ester binding site essential for neutral lipid transfer activity. *J Biol Chem.* 1995;270:612-8.

49. García-González V, Gutiérrez-Quintanar N, Mendoza-Espinosa P, Brocos P, Piñeiro A, Montalvan-Sorroza D, et al. Key structural arrangements at the C-terminus domain of CETP promote a mechanism for lipid-transfer activity. *J Struct Biol.* 2014;186(1):19-27.
50. Alonso AL, Zentella-Dehesa A, Mas-Oliva J. Characterization of a naturally occurring new version of the cholesterol ester transfer protein (CETP) from small intestine. *Mol Cell Biochem.* 2003;245:173-82.
51. Qiu X, et al. Crystal structure of cholesteryl ester transfer protein reveals a long tunnel and four bound lipid molecules. *Nat Struct Mol Biol.* 2007;14:106-13.
52. García-González V, Gutiérrez-Quintanar N, Mas-Oliva J. Lipopolisaccharide-binding function at the C-terminus domain of CETPI. *Manuscrito en preparación; 2013.*
53. García-González V, Gutiérrez-Quintanar N, Mas-Oliva J. Sistema para la cuantificación de la isoforma I de la proteína transferidora de ésteres de colesterol y uso de péptidos derivados de su dominio C-terminal como moléculas bloqueadoras del efecto citotóxico inducido por lipopolisacáridos. *Solicitud de patente en preparación; 2013.*

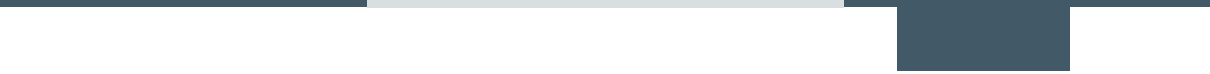
NOTAS



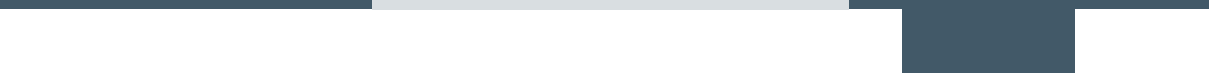
NOTAS



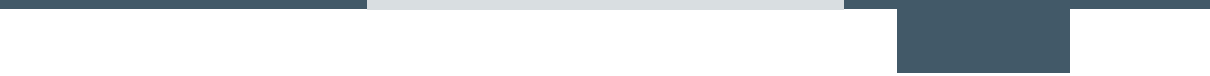
NOTAS



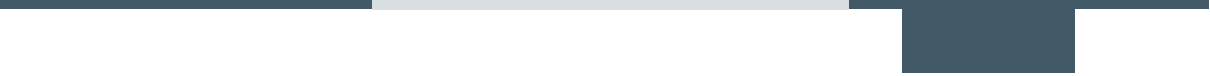
NOTAS



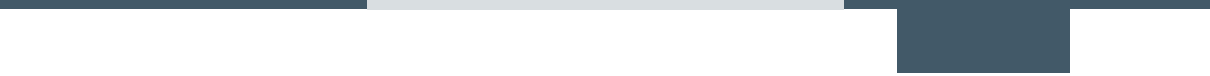
NOTAS



NOTAS



NOTAS



Esta edición terminó de imprimirse en noviembre de 2014
en Surtidora Gráfica, Calle Oriente 233 No. 297, Col. Agrícola Oriental,
México, D. F. Hecho en México.

La Academia Nacional de Medicina se congratula de festejar su sesquicentenario publicando, con el apoyo de CONACYT, una colección de libros de contenidos variados sobre temas trascendentes analizados desde diferentes perspectivas, que seguramente será lectura muy interesante para la comunidad médica no sólo de México sino también de otras latitudes en esta era global.

En los temas se entrelazan vivencias, pensamientos, ideas, inquietudes, sentimientos, todos escritos con erudición y amplio sentido humano y humanístico que se convierten en una aportación cultural y científica que exhibe la riqueza de experiencias de sus autores, quienes viven (o vivieron) en entornos fascinantes, enfrentando realidades y avances científicos y tecnológicos que los obligaron a desmitificar el halo con que habían sido cubiertos en el pasado para afrontar con objetividad los retos del nuevo milenio.

Con esta docta amalgama temática, la Academia Nacional de Medicina, fundada en 1864, honra la memoria de sus fundadores, notables pioneros del surgimiento de la medicina mexicana moderna.



150Años

ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA / MÉXICO

