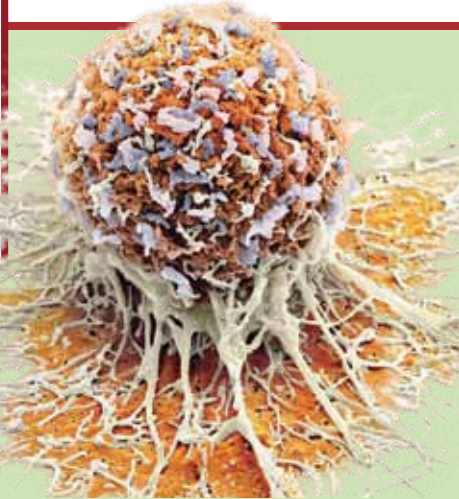
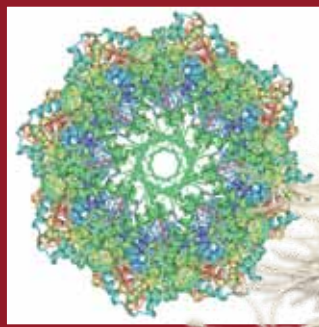
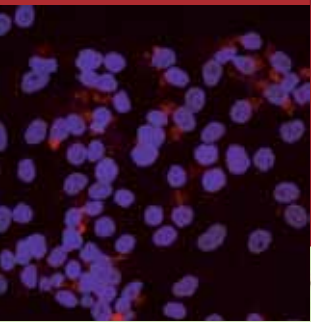


Genómicas

Boletín cuatrimestral del Posgrado en Ciencias Genómicas *hoy* UACM



Células TumORAles Circulantes: Entre el Tumor Primario y la Metástasis.

pág. 4

Splicing alternativo aberrante en cáncer:
causa o consecuencia

pág. 8

Suponiendo que el azar exista
(segunda parte)

pág. 28

PLANTA ACADÉMICA

Dra. Esther Orozco O.
Rectora de la UACM
y Fundadora del Posgrado

Dra. Elizabeth Álvarez
Dra. Elisa Azuara
Dra. Minerva Camacho
Dr. César López Camarillo
Dr. Jesús Fandiño
Dra. Sara Frías
Dra. Mavil López Casamichana
Dr. Humberto Nicolini
Dr. José de Jesús Olivares
Dra. Martha Yocupicio
Dr. Mauricio Castañón
Dra. Selene Zárate

RESPONSABLE DE LA EDICIÓN DE ESTE NÚMERO

Dr. César López Camarillo

RESPONSABLE DE GENÓMICAS HOY

Dr. César López Camarillo



Posgrado en Ciencias Genómicas
Universidad Autónoma de la Ciudad de México
PLANTEL DEL VALLE

Avenida San Lorenzo 290, Colonia Del Valle
Delegación Benito Juárez, C.P. 03100, Ciudad de México
5488 6661 ext. 15313
<http://www.uacm.edu.mx/genomicas>
genomicas_ucm@yahoo.com.mx

Publicación cuatrimestral, 2500 ejemplares.

Contenido

Nuestros Investigadores **pág. 1**

Publicaciones científicas recientes del PCG-UACM **pág. 3**

De nuestros colaboradores **pág. 4**

Splicing alternativo aberrante en cáncer: causa o consecuencia **pág. 8**

Nuevos recursos para la terapia del cáncer: Nanomedicina **pág. 12**

Minigenes: Elementos novedosos en la regulación de la síntesis de proteínas **pág. 17**

Proyectos del PCG-UACM en desarrollo **pág. 20**

Noticias del Mundo de la Ciencia **pág. 22**

Anuncios **pág. 26**

CienciArte: Suponiendo que el azar exista (segunda parte) **pág. 28**

Desde el portaobjetos **pág. 32**

NUESTROS INVESTIGADORES

Dr. Jesús Eduardo Fandiño Armas

PROFESOR INVESTIGADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS GENÓMICAS



Foto: Alfredo Padilla

El profesor Jesús Fandiño realizó sus estudios de licenciatura y maestría en ciencias físicas en la Universidad de La Habana y de doctorado en el Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM, donde se graduó en el 2005 con mención honorífica.

Ha desarrollado su trabajo de investigación mayoritariamente en física del estado sólido y Nanociencia de lo cual se derivan más de 20 publicaciones en revistas internacionales arbitradas.

Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde 2006 con nivel I.

Ha desarrollado diversos proyectos de diseño y/o automatización de experimentos que se encuentran funcionando actualmente en la UNAM y el IPN.

Recibió la medalla Alfonso Caso (2005) que otorga anualmente la UNAM a los mejores graduados de estudios de posgrado.

Es profesor-investigador del Posgrado en Ciencias Genómicas desde el segundo semestre de 2010, en donde se encuentra a cargo del sistema de Espectrometría de Masas.



Foto: Alfredo Padilla



Foto: Alfredo Padilla

MARIE SOLLANGE ARCHER SUAREZ

(1969-2011)

Sollange, profesora en el área de Genómicas del Plantel del Valle de la UACM, nos ha dicho hasta la vista, definitivamente. Ante tan infausto desenlace, emana nuestra infinita consternación por su injusta retirada. Ya no existe Sol que brille tanto...

Recorriste un arduo camino emanando más júbilo que congoja, centelleaste tu luz cálida y límpida tal astro reina, y nos dejaste más de lo que te llevas. Hemos aprendido de tí que:

*Si hay algo por lo que, ciertamente, merece la pena guerrear es por nuestra existencia,
No se puede diseñar una vida, pero se puede disfrutar una vida diseñando,
Dar fuera de las conveniencias, cosecha más que si se canjea algo,
La naturaleza es vida, amémosla como la propia,
Es factible alcanzar el ideal de ser, a la vez, inmensamente bello por fuera y por dentro.*

¡Gracias por tan invaluable legado, Sol!

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS recientes del PCG

Imagen: Paul & Lindamante Ambrose



LA PUBLICACIÓN DE RESULTADOS DE LOS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN REVISTAS CIENTÍFICAS INTERNACIONALES CON ARBITRAJE ESTRICTO, CONSTITUYE UN IMPORTANTE INDICADOR DE LA CALIDAD E IMPACTO DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN EL PCG-UACM.



Laura Isabel Vazquez Carrillo, Laura Itzel Quintas-Granados, Rossana Arroyo, Guillermo Mendoza Hernández, Arturo González-Robles, **Bertha Isabel Carvajal-Gamez, M. Elizabeth Álvarez-Sánchez.** The effect of Zn²⁺ on prostatic cell cytotoxicity caused by *Trichomonas vaginalis*. *OMICS Journal of Integrated Genomics*. 15 february 2011.



Diaz-Badillo A, Bolling BG, Perez-Ramirez G, Moore CG, Martinez-Munoz JP, Padilla-Viveros AA, **Camacho-Nuez M,** Diaz-Perez A, Beaty BJ, de Lourdes Munoz M. The distribution of potential West Nile virus vectors, *Culex pipiens pipiens* and *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), in Mexico City. *Parasit Vectors*. 2011 May 9;4:70



Laurence A. Marchat, **Mavil López-Casamichana, César López-Camarillo.** DNA repair in pathogenic eukaryotic cells: Insights from comparative genomics of parasitic protozoan. In *DNA repair* book 2. ISBN 978-953-307-1334-2. In Tech Publishers. 2011.



DE NUESTROS COLABORADORES:

Células Tumorales Circulantes: Entre el Tumor Primario y la Metástasis.

Los tumores epiteliales (carcinomas) surgen inicialmente como una lesión confinada a un órgano, sin embargo, en algún momento de la evolución de la enfermedad, la lesión tumoral se extiende a órganos distantes (pulmón, hígado, hueso, cerebro) a través del torrente sanguíneo generando metástasis, que es la principal causa de su letalidad.

El proceso de metástasis se compone de una serie de pasos secuenciales [1] que incluyen la difusión de las células cancerosas del tumor primario en el torrente sanguíneo (intravasación), la supervivencia de la célula en la circulación, la detención y la extravasación en el sitio secundario, y la iniciación y el mantenimiento del crecimiento para formar metástasis clínicamente detectables (Figura 1). Las células cancerosas deben completar con éxito cada paso con el fin de dar lugar a un tumor metastásico.

La presencia de células tumorales circulantes (CTCs), al parecer, es uno de los eventos que acompaña a la invasión tumoral. Se ha estimado que 1/10⁶ células tumorales por gramo de tejido tumoral se pueden introducir diariamente en el torrente sanguíneo [2]. Incluso, en pacientes con cáncer con enfermedad metastásica o aparentemente localizada, la presencia de CTCs en la sangre puede ser un indicador importante de mal pronóstico y del potencial para la enfermedad metastásica (revisado en [3]). En los pacientes con cáncer metastásico, se estima que la frecuencia de CTCs en la sangre periférica es de aproximadamente 1CTC por 10⁵-10⁷ células mononucleares de sangre periférica, y esta frecuencia puede ser aún más baja (aproximadamente 1 en 10⁸) en pacientes con cáncer localizado [4]. Las CTCs pueden llegar a la sangre periférica de los depósitos tumorales latentes persistentes cada pocas horas y pueden permanecer allí hasta por 22 años [5].

La idea de investigar el proceso de metástasis en la sangre periférica se originó en el siglo 19 cuando Ashworth describió por primera vez el fenómeno de la CTCs, y de la hipótesis de Paget acerca de un patrón no aleatorio de metastatización [la teoría de "seed and soil" (la semi-

Dra. Elena Aréchaga Ocampo
Investigadora en Ciencias Médicas
Instituto Nacional de Cancerología
arechaga_ocampo@yahoo.com.mx

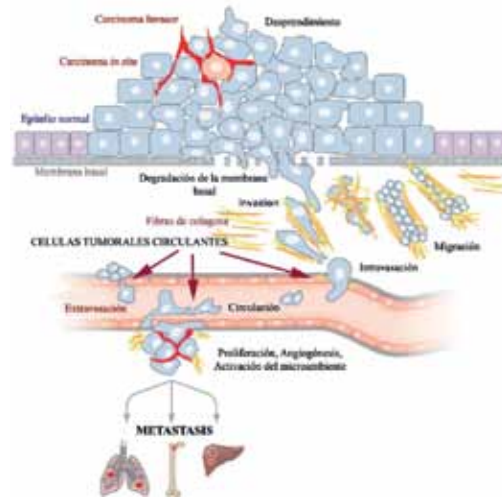


Figura 1. Los principales pasos en el evento metastásico. La transformación de las células epiteliales normales conduce a un carcinoma *in situ*, que, como resultado de la pérdida de las uniones adherentes, evoluciona hacia el escenario de carcinoma invasor. A raíz de la degradación de la membrana basal, las células tumorales invaden el estroma circundante, migran y pasan a los vasos sanguíneos o linfáticos, y se transporta (CTCs) hasta la detención en los capilares de un órgano distante (Modificado de 1).

lla y el suelo) [6]. Posteriormente, la naturaleza maligna de las CTCs se confirmó al demostrar que poseen aberraciones cromosómicas específicas del tumor y, *ex vivo*, que pueden crecer como líneas de células con fenotipo maligno [7]. Actualmente está en debate si la progresión metastásica se vincula a la selección clonal y las células expandidas albergan cambios específicos. Los estudios han demostrado que las células tumorales "evolucionan" durante la progresión de la enfermedad primaria hasta la enfermedad metastásica, mostrando características moleculares diferentes entre ellas [8]. En un proceso llamado transición epitelial-mesénquimal (EMT), las células tumorales cambian el fenotipo para escapar de las limitaciones estructurales en la arquitectura del tejido y transformarse en células móviles e invasivas (Figura 1). A través de cambios transcripcionales y modificaciones en las proteínas, las células epiteliales pierden su adhesión intercelular y la polaridad para obtener una nueva forma que promueve el movimiento. La pérdida o disminución de la expresión de E-cadherina y otros marcadores epiteliales es un paso importante en el proceso. Este potencial invasor se ve reforzado por la expresión de integrinas y la activación de las metaloproteasas, y mediante la interacción constante con la superficie endotelial. Las citocinas y los factores de crecimiento derivados del tumor pueden estimular la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales que facilitan la intravasación. Las características mesenquimales adquiridas permiten que estas células tumorales penetren y sobrevivan en un nuevo ambiente tisular a través de la extravasación [9]. Debido a que se propone que las CTCs pueden ser intermediarios entre la enfermedad primaria y metastásica, o bien ser sustitutos de un tumor metastásico [9], la caracterización molecular de las CTCs puede ofrecer una oportunidad para evaluar biopsias invasivas en "tiempo real" durante la progresión de la enfermedad con el fin de detectar estos cambios moleculares, y potencialmente incorporarlos en la toma de decisiones clínicas. La capacidad de cuantificar sistemáticamente, rastrear y caracterizar las CTCs en pacientes con cáncer es prometedora en términos de identificar el potencial de la enfermedad metastásica en etapas muy tempranas, establecer el riesgo de enfermedad en el entorno sistémico, predecir y monitorear la respuesta a los tratamientos oncológicos, en el seguimiento y la recurrencia de la enfermedad, y para desarrollar terapias específicas basadas en sus características moleculares.

Varios estudios han mostrado la identificación de determinadas moléculas en las CTCs, ya sea directamente a través de RT-PCR o indirectamente través del fenotipo y

genotipo de las CTCs después de la selección inmunomagnética. Ejemplos de tales características moleculares son la expresión y/o mutación en el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), uPAR, HER-2, IGF1R, y marcadores de apoptosis como M30 (útil para evaluar la respuesta al tratamiento) [9,10]. Algunos estudios también han obtenido un número suficiente de CTCs para realizar perfiles de expresión genética [11]. También se han hecho análisis por hibridación de fluorescencia *in situ* (FISH) que permite la evaluación de los cambios citogenéticos (como translocación o ampliación de genes) en CTCs en un paciente durante la evolución hacia un fenotipo metastásico [12,13]. Recientemente, algunos grupos han publicado la biocaracterización de CTCs en pacientes con cáncer de mama avanzado, los cuales se concentran principalmente en la evaluación de HER-2/neu [14,15]. Por ejemplo, Meng *et al* en el 2004 utilizaron FISH para demostrar que ~38% de las pacientes con cáncer de mama metastásico que fueron inicialmente HER-2 - (en función de su tumor primario) adquirió la amplificación de HER-2 en sus CTCs. Cuando las pacientes fueron tratadas con herceptina basado en la amplificación de HER-2 en las CTCs, algunas de ellas mostraron una respuesta al tratamiento parcial o completa [15]. Pestrin y sus colaboradores evaluaron el estado de HER-2 por inmunofluorescencia y FISH en CTCs de pacientes con cáncer de mama metastásico [16] y mostraron que 29% de pacientes con tumores primarios con HER-2 - tenían CTCs con HER-2⁺. Más aún, el 42% de los pacientes con tumores primarios HER-2⁺ tenían CTCs con HER-2⁻. Recientemente Leversha *et al* en el 2009 determinaron perfiles moleculares de las CTCs de pacientes con cáncer de próstata metastásico. Este estudio encontró una alta proporción de CTCs con inestabilidad cromosómica y amplificación genómica del receptor de andrógenos [17]. Estas alteraciones moleculares se pueden aplicar a futuros estudios longitudinales para el pronóstico y respuesta al tratamiento. Aunque faltan datos clínicos a gran escala en lo que respecta a la caracterización molecular de las CTCs, este tipo celular tumoral se podría utilizar como una herramienta de toma de decisiones clínicas, lo cual tiene una gran promesa para lograr una mejor comprensión biológica del proceso metastásico, una mejor estratificación de pacientes y/o el futuro desarrollo de las terapias personalizadas.

El trabajo de Meng *et al* en el que mostraron respuesta a la terapia dirigida contra HER-2⁺ en pacientes con CTCs/HER-2⁺ a pesar de un tumor primario HER-2⁻, es importante para estudiar el impacto clínico de CTCs HER-2⁺ en

la respuesta a las terapias dirigidas. Este trabajo apoya la idea de que las CTCs son una población pura de células tumorales y puede ser utilizado para determinar las características genéticas del tumor. Los análisis genéticos en "tiempo real" de las CTCs, antes, durante y después del tratamiento, es un tema que se ha vuelto crítico en la nueva era de las terapias contra el cáncer seleccionado genéticamente, lo cual permitirá determinar la sensibilidad a los fármacos y la adquisición de resistencia a los medicamentos. Un poderoso ejemplo de esto son los trabajos en un subgrupo de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) que es sensible a los inhibidores selectivos del dominio de cinasa (TKI) del EGFR. Alrededor del 10% del CPCNP tienen mutaciones somáticas activadoras en el EGFR, pero estas mutaciones les confieren una respuesta favorable a los inhibidores selectivos de la cinasa del EGFR [18]. La determinación de mutaciones en el EGFR en las CTCs se identificó en 12 de 13 pacientes con CPCNP con tumores primarios mutantes para EGFR. Lo más significativo de este trabajo fue la adquisición de la mutación de resistencia a TKI T790M en el EGFR de las CTCs durante el curso del tratamiento, coincidiendo con el desarrollo de enfermedad clínicamente resistente al tratamiento. En este sentido, Gazzaniga *et al* [19] en el 2009 obtuvo las CTCs del torrente sanguíneo de pacientes con varios tipos de carcinomas en las cuales describen la expresión de un grupo de genes implicados en la resistencia a drogas. Este perfil pudo predecir la respuesta a la quimioterapia en los pacientes, independientemente del tipo de tumor y estadio de la enfermedad y por lo tanto podría ser utilizado para la selección de pacientes que sean positivos para CTCs. Gazzaniga y col proponen que: (i) los pacientes con neoplasias epiteliales y CTCs detectables tienen una mayor probabilidad de un pronóstico adverso, (ii) en este subgrupo de pacientes con el perfil de quimio-resistencia en CTCs puede identificar a quien pudieran predecir recurrencia de la enfermedad.

Hasta hace poco, la biología de las CTCs se ha descuidado porque la mayoría de la investigación del cáncer se ha centrado en las características microambientales de los tumores primarios y las metástasis. Recientemente, han sido detectados blancos moleculares que están relacionados con la supervivencia o apoptosis en las CTCs (telomerasa y el EGFR) y potencial metastásico (el antígeno prostático de células madre, c-Met y cadherina-6) [3]. La caracterización molecular de CTCs podría permitir a los investigadores a definir el perfil molecular específico de CTCs que pueden hacer metástasis. Recientes desarro-

llos biotecnológicos (amplificación de RNA, microarreglos de genes, hibridación genómica comparativa (CGH) y la proteómica) [7, 20] han permitido obtener perfiles de expresión de genes y proteínas no sólo a partir de muestras hipocelulares (por ejemplo, muestras de CTCs totales en sangre periférica), sino también a partir de una células individual. Esto podría ser de particular importancia para determinar las diferencias en el potencial metastásico de las CTCs. Algunos investigadores han determinado firmas moleculares que diferencia a las CTCs de los leucocitos de sangre periférica en los que se identifican genes de función desconocida, lo que subraya el hecho de que los marcadores que se utilizan actualmente para la detección de CTCs no son los más adecuados para identificar a las células tumorales de manera eficiente. Otros investigadores, utilizando CGH de una sola célula, han demostrado que las CTCs (en sangre, en médula ósea o en los ganglios linfáticos) son genómicamente inestables. Por CGH y por perfiles de expresión en los tumores primarios de pulmón, Wraga *et al* [21] identificaron cinco regiones cromosómicas que diferencian pacientes con CPCNP con y sin presencia de CTCs. Estos resultados indican que la difusión de las células del tumor parece ser un proceso específico impulsado por un conjunto definido de cambios moleculares en lugar de una diseminación aleatoria de una muestra de las células en la circulación. La identificación de una firma genómica que podría predecir el riesgo de diseminación tumoral precoz podría ser de gran utilidad en la decisión de tratamiento y diagnóstico del CPCNP.

En consecuencia, la caracterización genómica de CTCs está siendo recomendada como un enfoque prometedor para el diseño de las terapias específicas contra el cáncer. Sin embargo, un porcentaje significativo de las CTCs están en apoptosis, y por lo tanto podrían ser incapaces de llegar e invadir órganos secundarios. Según lo declarado por la teoría "seed and soil", los tumores contienen subpoblaciones de células genéticamente heterogéneas, con diferente potencial metastásico que depende de la expresión genética diferencial. Las células metastásicas del cáncer (seed) preferentemente crecen en los sitios secundarios con un microambiente permisivo (soil). Duda *et al* [22] en el 2010, usando un modelo murino, muestran que las células metastásicas pueden traer sus propios componentes estromales, incluyendo fibroblastos activados, desde el sitio primario hacia el sitio secundario. Mediante el análisis de la sangre eferente de los tumores, se encontró que la viabilidad de las CTCs metastásicas es mayor cuando se encuentran en fragmentos hetero-

típicos compuestos de células del estroma tumoral, las cuales le proporcionan una ventaja temprana de crecimiento a las CTCs cuando viajan al sitio secundario. De acuerdo con esta hipótesis, Duda *et al* demuestran que la eliminación experimental de los fibroblastos asociados a carcinomas, que espontáneamente se extienden a los tejidos secundarios junto con las CTCs, disminuye significativamente el número de metástasis y se asocia con mayor supervivencia después de la resección del tumor primario. Por último, este grupo muestra que en pacientes, las metástasis cerebrales de carcinomas contienen fibroblastos, a diferencia del tejido cerebral normal y de los tumores primarios cerebrales. La demostración de la participación directa de estroma del tumor primario en la metástasis tiene importantes implicaciones biológicas para la etapa de colonización en la progresión tumoral. Estos resultados, que apoyan la teoría de "seed and soil", destacan la necesidad de la identificación del subconjunto de CTCs que son capaces de generar un depósito metastásico. Todos estos muestran la necesidad de encontrar un marcador (s) tumoral que no se pierda en las CTCs por regulación negativa o por la expresión heterogénea dentro de los tumores. Identificar el perfil genético de las CTCs y la comparación de este perfil con el del tumor primario puede ayudar a comprender los cambios que se producen en el desarrollo de la enfermedad metastásica. Es poco probable que exista un único marcador molecular para CTCs por lo que debe determinarse un grupo de marcadores específicos, diferentes a los ya usados marcadores epiteliales, los cuales han sido de ayuda para la diferenciación entre una CTCs y una célula sanguínea, pero no entre las células del tumor primario, las CTCs y las metástasis. La incógnita de si los tumores primarios sirven como sustitutos en la genética de las CTCs y la metástasis, es discutida en dos conceptos fundamentales: El primero es el de progresión lineal, el cual se refiere al desarrollo genético de las células fundadoras de la metástasis dentro del contexto celular del tumor primario con la subsecuente diseminación de las células totalmente malignas con potencial metastásico. Se cree que las células tumorales diseminadas se expanden y crecen en el sitio de la metástasis después de un tiempo de adaptación al microambiente ectópico. Aquí, la adaptación se considera "inductiva" o "educacional", en donde la célula tumoral aprende a interpretar las señales del microambiente, por lo que no se requiere una "evolución" genética. En contraste, el segundo modelo, progresión paralela, sugiere la diseminación temprana de células tumorales genéticamente menos "avanzadas" y su posterior progresión somática en el sitio ectópico. Por lo tanto en este modelo la

adaptación en un sitio distante es básicamente un proceso de mutación, selección y herencia. Aunque ambos mecanismos de adaptación pueden jugar un papel en la progresión sistémica, ellos resultan en predicciones opuestas en las células metastásicas. El modelo lineal predice que el genotipo de las células encontradas en las metástasis es altamente parecido al tumor primario. Mientras que la progresión paralela enfatiza la disparidad genética entre el tumor primario, las células diseminadas y las metástasis, incluyendo la organización genómica estructural, cambios epigenéticos y mutaciones puntuales [23]. Por lo tanto la progresión lineal podría ser inaceptable y se debería enfocar en las divergencias genéticas entre poblaciones de células tumorales primarias, diseminadas y metastásicas, lo cual es compatible con los cursos de la enfermedad, las tasas de crecimiento de los cánceres humanos y la dificultad de controlar el proceso neoplásico maligno con fármacos y terapias moleculares novedosas. Pero aún nos seguimos preguntando: Que pasa entre el tumor primario y la metástasis? Qué papel juegan las CTCs en el evento metastásico? Las CTCs pueden ser un tercer tipo celular tumoral o es una etapa intermedia de la enfermedad?

Referencias

- [1] Bacac M. and Stamenkovic I. Metastatic cancer cell. *Annu Rev Pathol* 2008;3:221-247.
- [2] Chang YS. *et al*. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sc. USA* 2000;97:14608-14613.
- [3] Pantel K. Brakenhoff RH. and Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. *Nature Reviews Cancer* 2008;8:329-340.
- [4] Tibbe AGJ. Miller MC. and Terstappen LW. Statistical considerations for enumeration of circulating tumor cells. *Cytometry A* 2007;71:154-162.
- [5] Meng, S. Tripathy D. Shete S. *et al*. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res* 2004;10:8152-8162.
- [6] Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003;3:453-458.
- [7] Dotan E. Cohen SJ. Alpaugh KR. and Meropol NJ. Circulating Tumor Cells: Evolving Evidence and Future Challenges. *The Oncologist* 2009;14:1070-1082.
- [8] Pantel K. and Brakenhoff RH. Dissecting the metastatic cascade. *Nat Rev Cancer* 2004;4:448-456.
- [9] Mocellin S. Keilholz U. Rossi CR. and Nitti D. Circulating tumor cells: the 'leukemic phase' of solid cancers. *TRENDS Mol Medicine* 2006;12:132-139.
- [10] De la Haba-Rodriguez JR. Ruiz Borrego M. Gómez Espana A. *et al*. Comparative study of the immunohistochemical phenotype in breast cancer and its lymph node metastatic location. *Cancer Investigation* 2004;22:219-224.
- [11] Gangnus R. Langer S. E Breit. *et al*. Genomic profiling of viable and proliferative micrometastatic cells from early-stage breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004;10:3457-3464.
- [12] Klein CA. Blankenstein TJ. Schmidt-Kittler O. *et al*. Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer.

The Lancet 2002;360:683-689.

[13] Paterlini-Brechot P. Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: Clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007;253:180-204.

[14] Cristofanilli M. and Mendelsohn J. Circulating tumor cells in breast cancer: advanced tools for "tailored" therapy? *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:7073-17074.

[15] Meng S. Tripathy D. Shete S. et al. HER-2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:9393-9398.

[16] Pestrin M, Bessi S, Galardi F. et al. Correlation of HER2 status between primary tumors and corresponding circulating tumor cells in advanced breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2009;118:3523-3530.

[17] Leversha MA, Han J, Asgari Z. et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of circulating tumor cells in metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:2091-2097.

[18] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S. et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *New Eng J Med* 2008;359:366-

377.

[19] Gazzaniga P, Naso G, Gradilone A. et al. Chemosensitivity profile assay of circulating cancer cells: prognostic and predictive value in epithelial tumors. *Int J Cancer* 2010;126:2437-2447.

[20] Smirnov DA, Zweitzig DR, Foulk BW. et al. Global gene expression profiling of circulating tumor cells. *Cancer Res* 2005;65:4993-4997.

[21] Wrage M, Ruosaari S, Eijk PP. et al. Genomic profiles associated with early micrometastasis in lung cancer: relevance of 4q deletion. *Clin Cancer Res* 2009;15:1566-1574.

[22] Duda DG, Duyverman AM, Kohno M. et al. Malignant cells facilitate lung metastasis by bringing their own soil. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:21677-21682

[23] Klein CA. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nat Rev Cancer* 2009;9:302-312.



SPLICING ALTERNATIVO ABERRANTE EN CÁNCER: CAUSA O CONSECUENCIA

Dr. Oscar Del Moral Hernández
Posición posdoctoral, Laboratorio de Virología
Facultad de Medicina UNAM
odelmoral@cinvestav.mx

Las regiones codificantes (exones) de la mayoría de los genes en las células eucariotas se encuentran interrumpidas por secuencias no codificantes denominadas intrones. Los cuales tienen que ser eliminados del RNA mensajero inmaduro (pre-mRNA) mediante un proceso conocido como *splicing* (se puede traducir como corte y empalme de RNA mensajeros) El *splicing* es esencial en el procesamiento natural de los pre-mRNAs y consiste en la escisión precisa del, o los intrones y la correcta ligación de los exones para producir un RNA maduro (mRNA) que pueda ser exportado al citoplasma y finalmente ser traducido a proteína. Son cuatro los elementos críticos que deben estar presentes en la secuencia del mRNA para que pueda ser procesado: 1) el sitio de *splicing* 5' o sitio donador (5'ss) que en eucariotes superiores tiene la secuencia consenso AG/GURAGU, 2) el sitio de *splicing* 3' o sitio aceptor (3'ss) el cual se caracteriza por la secuencia YAG/N, 3) el "branch point" que usualmente está localizado a una distancia de 18 a 40 nucleótidos río arriba del 3'ss, con la secuencia consenso YNCURAY y 4) el tracto de polipirimidinas que antecede al 3'ss. Estas secuencias conforman los elementos en *cis*

esenciales para que se lleve a cabo el *splicing* constitutivo en los sistemas eucariotes superiores. La maquinaria que lleva a cabo este proceso es conocida como *spliceosoma* y se compone básicamente de cinco ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (snRNPs) conocidas como U1, U2, U4, U5 y U6. Se conocen más de 150 proteínas que forman parte del *spliceosoma*, algunas de ellas son responsables del reconocimiento de los elementos en *cis* que se encuentran en la secuencia del pre-mRNA (1,2).

En los organismos eucariontes superiores el *splicing* alternativo es el mecanismo de regulación postranscripcional más importante para la expresión de los genes. Dicha regulación es mucho más versátil que la ejercida a nivel transcripcional (a través de la actividad del promotor), ya que mientras éste solo regula la cantidad de mRNA presente en la célula, la regulación a través del *splicing* alternativo cambia la estructura de los mRNA y consecuentemente de las proteínas que codifican. Dichos cambios en la secuencia pueden influenciar casi todos los aspectos de las funciones de las proteínas, tales como sus propiedades

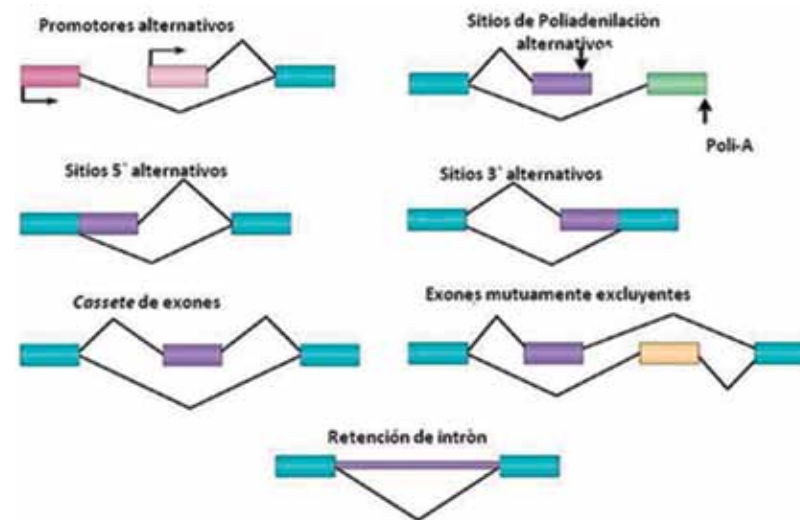


Figura 1. Diferentes patrones de *splicing* alternativo. Los RNAs mensajeros pueden ser procesados de diferentes formas dependiendo de su complejidad, sin embargo la variedad de isoformas proteicas que se pueden generar a partir del procesamiento erróneo de los mRNAs es inmensa (modificado de 19).

de unión, actividad enzimática, localización intracelular, estabilidad, patrones de fosforilación y glicosilación, etc; además también se pueden introducir codones de paro prematuros y cambios en la regiones no traducidas (UTR) 5' y 3'. Estos efectos causados por el *splicing* alternativo comprenden un rango que va desde la pérdida total de la función de la proteína original, hasta cambios muy sutiles que son difíciles de detectar. Los eventos de *splicing* alternativo pueden ser clasificados en cinco tipos básicos: 1) exones alternativos, 2) Sitios donadores 5' alternativos, 3) Sitios aceptores 3' alternativos, 4) exones mutuamente excluyentes y 5) retención de intrón, siendo el evento más frecuente el uso de exones alternativos (Fig.1 ref.1,3).

Además de todos los componentes de la maquinaria basal de *splicing* que hemos mencionado, existe una familia de proteínas muy importantes y necesarias para su correcto funcionamiento. Estas proteínas son llamadas proteínas SR debido a que son ricas en arginina/serina y conforman todo un sistema regulador de los procesos de *splicing* al interactuar con el pre-mRNA y la maquinaria basal del *spliceosoma* (4).

SPLICING ALTERNATIVO

Los mecanismos de *splicing* constitutivo se conocen con gran detalle, sin embargo, en muchos genes se encuentra más de un sitio 5' o 3' de *splicing* en los exones de un pre-mRNA, lo que obliga a la maquinaria de *splicing* a utilizar preferencialmente uno de ellos, basándose en su secuencia consenso y su posición con respecto a los otros sitios. Una de las razones por las que se produce este evento es debido a la degeneración de los elementos en *cis* del intron, ya que los genes que sufren *splicing* alternativo generalmente tienen un 5'ss o un 3'ss sub-óptimo, además se caracterizan por un "branch point" y/o un tracto de polipirimidinas débil. Como los sitios de *splicing* son degenerados muchas veces se necesitan elementos de secuencia adicionales que se encuentran localizados en el exon o adyacentes a elementos intrónicos, para que puedan ser reconocidos por el *spliceosoma* (3). Estas secuencias exónicas o intrónicas generalmente ricas en purinas son conocidas como *enhancers* de *splicing* exónicos (ESEs) y secuencias supresoras de *splicing* exónico (ESS). Hasta el momento se conoce un gran número de estos elementos en *cis* que afectan la eficiencia del *splicing* de genes tanto celulares como virales y que promueven o reprimen la utilización de sitios alternativos (5).

De manera general, durante el *splicing* alternativo la selección de los sitios 5' y 3' ocurre mediante la unión de dos tipos de proteínas: las proteínas SR y las ribonucleoproteínas heterogeneo nucleares (hnRNPs), las cuales se unen débilmente al RNA por sí solas, pero su especificidad se ve incrementada por la unión de varias proteínas debido a las interacciones proteína-proteína. La fracción de los genes humanos que son procesados por *splicing* alternativo es de alrededor del 75%. Hay ejemplos de genes que generan una gran cantidad de mensajeros por *splicing* alternativo y que son muy importantes en el correcto mantenimiento de la homeostasis celular. Cuando se producen isoformas aberrantes se afecta la función (puede ser en un sentido positivo o negativo) al añadir o eliminar dominios funcionales, cambiar afinidades y alterar la estabilidad de los mRNAs (2,3,5).

SPlicing Y CÁNCER

El cáncer es un proceso gradual y multifactorial que involucra infinidad de alteraciones moleculares en actividades celulares básicas como la proliferación y la apoptosis. Probablemente las alteraciones más comunes en todos los tipos de cáncer que se han estudiado hasta el momento son las que se dan en las vías de señalización, ya que involucran proteínas que van desde la matriz extracelular hasta el núcleo y viceversa. Debido a su importancia no es sorprendente que en cáncer se conozcan varias alteraciones a nivel de *splicing* alternativo en la mayoría de las proteínas involucradas en las principales vías de señalización. Se han encontrado alteraciones específicas en los patrones de *splicing* de factores de transcripción, receptores de membrana, proteínas solubles, proto-oncogenes y anti-oncogenes. Muchos de los cuales desempeñan funciones vitales en la transformación, la inmortalización, motilidad y la metástasis del tumor. El *splicing* alternativo afecta aspectos fundamentales de los tumores, como alteración hormonal, vías de señalización, apoptosis, proliferación, interacciones célula-célula y célula-matriz, etc. Las modificaciones a la funcionalidad se pueden generar, a través de la supresión de un dominio importante en una proteína, una mayor afinidad por los ligandos o receptores, cambio de actividad o de afinidad hacia los componentes extracelulares entre otros. Estos cambios a menudo se traducen en el aumento de la migración celular y la invasión a nuevos órganos (7,8,9).

Se ha reportado ampliamente que defectos en el *splicing* del mRNA están asociados con varias enfermedades como

por ejemplo: deficiencia de la hormona del crecimiento, enfermedad de Parkinson, síndrome de Frasier, fibrosis quística, retinitis pigmentosa, atrofia muscular espinal y distrofia miotónica (8,9). Sin embargo, el estudio de tumores malignos también ha contribuido a descubrir alteraciones en el procesamiento de los mensajeros que son específicos de ciertos tipos de cáncer.

La forma más común de ocasionar defectos en el *splicing* es a través de mutaciones puntuales en los diferentes sitios de *splicing* y secuencias adyacentes, las cuales son importantes para el correcto reconocimiento y procesamiento del RNA mensajero. Un ejemplo representativo de este mecanismo de alteración del *splicing* alternativo es el de la proteína supresora de tumores p53, en la cual se han detectado 29 diferentes mutaciones en los sitios de *splicing* en más de 12 diferentes tipos de cáncer (10). Debido a la función tan importante de esta proteína se pueden inferir las consecuencias de un *splicing* aberrante y por lo tanto de isoformas proteicas no funcionales. Como se mencionó anteriormente en los extremos de los exones se encuentran secuencias conservadas que sirven para el reconocimiento por parte de las proteínas del *spliceosoma* (que se encargan de procesar el RNA), por lo tanto si alguna de estas secuencias esta mutada no puede ser reconocida apropiadamente y no se usará ese sitio de *splicing* ocasionando que se produzca un mensajero maduro distinto al que normalmente se produciría en la secuencia silvestre. Se conocen muchos otros ejemplos de mutaciones puntuales en los sitios de *splicing* tanto aceptores (3') como donadores (5') por ejemplo una de las mutaciones más frecuentes en el gen ATM (el cual está relacionado con el cáncer de mama) es una mutación en la posición seis del intrón que causa una exclusión de un exón alterando el marco de lectura y generando una proteína truncada (11).

Otra forma en que las mutaciones puntuales pueden causar *splicing* aberrante es creando nuevos sitios aceptores o donadores (que se denominan sitios crípticos). En el gen BCRA1 se ha detectado que un cambio de AA a AG crea un sitio críptico 3' que adiciona 11 nucleótidos al mensajero el cual codifica para una proteína truncada en cáncer de mama. Otra mutación asociada con este tipo de cáncer es un cambio de AT por GT en el gen del receptor para estrógenos el cual crea un sitio críptico 5' en un intrón. Esto conduce a la inserción de un fragmento de 69 nucleótidos en el marco de lectura (12,13).

Una forma menos frecuente en que las mutaciones causan alteración en los patrones de *splicing* es alterando las

secuencias consenso llamadas "*enhancers*" que aunque son degeneradas, son reconocidas por la familia de proteínas SR que ayudan a reclutar a los demás componentes del *spliceosoma* en los sitios aceptores débiles o crípticos. Estas secuencias normalmente se encuentran cercanas a los sitios donadores o aceptores y pueden reforzar el uso de cierto sitio o impedirlo, por esa razón cualquier alteración en estas secuencias reguladoras produce un reconocimiento aberrante de cierto sitio y genera una proteína disfuncional. Se conocen algunos ejemplos de este tipo de mutaciones en los genes MLH1 y APC en tumores de cáncer colorrectal y poliposis adenomatosa familiar respectivamente (14,15).

SPlicing ALTERNATIVO SEÑALIZACIÓN Y CÁNCER

Los receptores transmembranales son esenciales para transmitir señales de crecimiento desde la matriz extracelular y la mayoría experimenta *splicing* alternativo. En tumores pancreáticos se han reportado varias isoformas específicas de receptores acoplados a proteína G. También se conoce una variante de *splicing* del gen SVH involucrada en el desarrollo del hepatocarcinoma, así como diversas isoformas alternativas del receptor para el factor de crecimiento de fibroblastos FGFR1 asociadas a cáncer de mama. Este mismo tipo de alteraciones se encuentran en diversas moléculas de adhesión como C-CAM1 y MUC1 en cáncer de pulmón de células no pequeñas. Pero quizá el gen más estudiado en cuanto a este tipo de alteraciones es CD44. Esta proteína tiene más de 20 isoformas conocidas, debido a que el gen contiene 10 exones alternativos en su dominio extracelular. La forma silvestre carece de todos los exones alternativos y es la predominante en las células normales mientras que dos isoformas con exones extra (exones 4, 7, 8 y 10) han sido asociadas con cáncer (16,17,18). Todos estos descubrimientos sobre alteraciones en el *splicing* que conducen a la expresión de proteínas defectuosas son muy importantes porque se podrían usar como posibles blancos terapéuticos debido a su especificidad en ciertos tumores.

Algunos de estas isoformas producidas por *splicing* alternativo pueden tener utilidad terapéutica como marcadores de la progresión de la enfermedad o como blancos farmacológicos, pero no hay suficientes datos que apoyen su relevancia clínica en poblaciones grandes. Diferencias individuales entre pacientes, la complejidad del tejido y la falta de herramientas para el análisis exhaustivo de la variación del *splicing* han hecho difícil la tarea. En conclusión, podemos decir que hay una amplia evidencia de que el

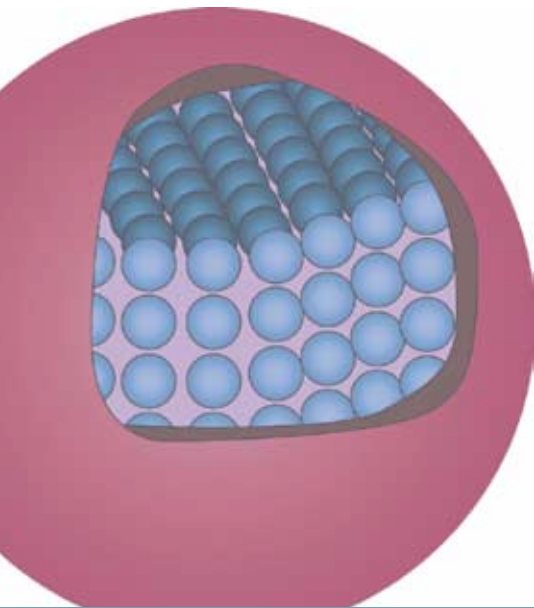
splicing alternativo aberrante es importante en el cáncer y que es un evento molecular que puede ser aprovechado debido a su especificidad en muchos casos, sin embargo aun se necesitan más estudios para explotar su potencial terapéutico y diagnóstico. Actualmente se trabaja para lograr estos objetivos.

Referencias:

1. Black DL. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing. *Annu Rev Biochem* 2003;72:291–336.
2. Maniatis T, Tasic B. Alternative pre-mRNA splicing and proteome expansion in metazoans. *Nature* 2002;418:236–43.
3. Wahl MC, Will CL, Luhrmann R. 2009. The spliceosome: Design principles of a dynamic RNP machine. *Cell* 136: 701–718.
4. Shepard PJ, Hertel KJ. 2009. The SR protein family. *Genome Biol* 10: 242. doi: 10.1186/gb-2009-10-10-242. *Cell*. 2011 Jan 7;144(1):16-26. Review.
5. Luco RF, Allo M, Schor IE, Kornblihtt AR, Misteli T. Epigenetics in alternative pre-mRNA splicing. *Cell*. 2011 Jan 7; 144(1):16-26. Review.
6. Venables JP, Klinck R, Koh C, Gervais-Bird J, Bramard A, Inkel L, Durand M, Couture S, Froehlich U, Lapointe E, et al. 2009. Cancer-associated regulation of alternative splicing. *Nat Struct Mol Biol* 16: 670–676.
7. Pagani F, Baralle FE. Genomic variants in exons and introns: identifying the splicing spoilers. *Nat Rev Genet* 2004;5:389–96.
8. Faustino NA, Cooper TA. Pre-mRNA splicing and human disease. *Genes Dev* 2003;17:419–37.
9. Garcia-Blanco MA, Baraniak AP, Lasda EL. Alternative splicing in disease and therapy. *Nat Biotechnol* 2004; 22:535–46.
10. Holmila R, Fouquet C, Cadranet J, Zalzman G, Soussi T. Splice mutations in the p53 gene: case report and review of the literature. *Hum Mutat* 2003; 21:101–2.
11. Broeks A, Urbanus JH, de Knijff P, et al. J IVS10–6T G, an ancient ATM germline mutation linked with breast cancer *Hum Mutat* 2003; 21:521–8.
12. Hoffman JD, Hallam SE, Venne VL, Lyon E, Ward K. Implications of a novel cryptic splice site in the BRCA1 gene. *Am J Med Genet* 1998;80:140–4.
13. Wang M, Dotzlaw H, Fuqua SA, Murphy LC. A point mutation in the human estrogen receptor gene is associated with the expression of an abnormal estrogen receptor mRNA containing a 69 novel nucleotide insertion. *Breast Cancer Res. Treat* 1997; 44:145–51.
14. Colapietro P, Gervasini C, Natacci F, Rossi L, Riva P, Larizza L. NF1 exon 7 skipping and sequence alterations in exonic splice enhancers (ESEs) in a neurofibromatosis 1 patient. *Hum Genet* 2003;113:551–4.
15. Montera M, Piaggio F, Marchese C, et al. A silent mutation in exon 14 of the APC gene is associated with exon skipping in a FAP family. *J Med Genet* 2001;38:863–7.
16. Huang R, Xing Z, Luan Z, Wu T, Wu X, Hu G. A specific splicing variant of SVH, a novel human armadillo repeat protein, is up-regulated in hepatocellular carcinomas. *Cancer Res* 2003;63:3775–82.
17. Wang L, Lin SH, Wu WG, et al. C-CAM1, a candidate tumor suppressor gene, is abnormally expressed in primary lung cancers. *Clin Cancer Res* 2000;6:2988–93.
18. Naor D, Nedvetzki S, Golan I, Melnik L, Faitelson Y. CD44 in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2002;39:527–79.
19. Qin Li1, Ji-Ann Lee2 & Douglas L. Black Neuronal regulation of alternative pre-mRNA splicing. *Nature Reviews Neuroscience* 8, 819-831 (November 2007).



Nuevos recursos para la terapia del cáncer: Nanomedicina



La combinación de los conocimientos de nanotecnología con los de medicina y farmacología dan lugar al nacimiento de lo que hoy se conoce como nanomedicina. Esta disciplina está generando promisorios resultados en campos tan diversos como el de imágenes por resonancia magnética, la transfección de material genético, las terapias contra la diabetes, VIH, el cáncer, entre otros. En este artículo el énfasis se hace en este último tema, en donde se reseñan las características que hacen única a la nanomedicina en el combate de los tumores y los principales nano-vehículos utilizados para la liberación controlada de fármacos anti-cáncer. También se mencionan brevemente los principales nano-fármacos contra el cáncer que se encuentran actualmente en el mercado, así como los riesgos que puede entrañar el uso de estas tecnologías en medicina.

Cuando la materia se encuentra en cantidades tales que alguna de sus tres dimensiones cae en el rango entre 1 y 100 nm (1 nanómetro es la mil millonésima parte de un metro, esto es $1\text{ nm} = 10^{-9}\text{ m}$) suelen aparecer nuevas e interesantes propiedades físico-químicas que no se observan ni en átomos ó moléculas aislados ni en grandes acumulaciones del mismo material. Por ejemplo, el oro es visualmente reconocido por su color amarillo, (el cual no cambia si introducimos una moneda de oro en un vaso con agua), sin embargo, este metal precioso puede producirse en tamaños tan pequeños que un número muy

grande de partículas de oro pueden quedar suspendidas en agua u otro líquido (suspensión coloidal) e impartirle una gama de colores al sistema coloidal en función sus geometrías y tamaños promedio. El grafito es una forma alotrópica del carbono que es insoluble en agua, sin embargo, este comportamiento se revierte cuando una hoja de grafito con tan solo una capa atómica de espesor (grafeno) se introduce en el disolvente universal. Al conocimiento, manipulación y control de estas y otras propiedades de la materia se le conoce como nanotecnología. Este término engloba a la ciencia, ingeniería y tecnología a escalas nanométricas. La conjugación de los conocimientos de nanotecnología con el saber médico y farmacológico establecido ó en progreso, da paso a un nuevo enfoque, multidisciplinario, de las ciencias médicas que se conoce como *nanomedicina*. Esta disciplina promete escalar los límites del diagnóstico y tratamiento de las enfermedades más desafiantes a un nuevo nivel. La liberación controlada de fármacos es una de las vertientes más desarrolladas de la nanomedicina, y consiste en hacer uso de vehículos inteligentes de dimensiones nanométricas para llevar una cierta cantidad de medicamento hasta un tejido u órgano determinado en donde el fármaco es liberado. Considerando el gran número de reacciones secundarias que presenta el uso de los quimioterapéuticos tradicionales en el tratamiento del cáncer, la liberación controlada de fármacos constituye una alternativa esperanzadora para aumentar la efectividad de los tratamientos disminuyendo drásticamente los riesgos para la vida del paciente. Para ejemplificar lo anterior baste mencionar que un número importante de los medicamentos empleados en quimioterapia son insolubles en agua, por lo que tradicionalmente se solubilizan utilizando cremóforos, los cuales suelen producir reacciones de hipersensibilidad y neurotoxicidad. Con vehículos nanométricos solubles en agua e inoocuos para el organismo se pueden encapsular estos medicamentos haciendo innecesaria la utilización de cremóforos.

Nanomedicinas inteligentes

Usualmente, los agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer son administrados por vía oral ó intravenosa lo cual requiere que penetren secuencialmente múltiples barreras antes de llegar a la masa tumoral en una concentración capaz de infligir una toxicidad letal. Los obstáculos a vencer incluyen barreras físicas (absorción a través del tracto gastrointestinal), fisiológicas (sistema reticuloendotelial, membranas endoteliales) y biofísicas

(arquitectura vascular del tumor, gradientes de presiones intersticiales). Todo lo anterior unido al bajo peso molecular de los fármacos anti-cáncer, que facilitan su pronta eliminación del sistema circulatorio, hacen necesario por lo general su empleo en altas dosis, que conlleva al aumento en número y gravedad de los efectos secundarios para el organismo. Una hipótesis de la nanomedicina para la terapia anti-cáncer reside en suponer que al dotar a estos medicamentos con la "inteligencia" necesaria para sortear todos los obstáculos anteriormente mencionados, llegar en concentraciones adecuadas a los tumores y solo allí actuar, se reflejará en un aumento dramático en su efectividad. La "inteligencia" de estos nano-fármacos reside en la conjunción de una serie de propiedades, entre las que se encuentran:

Selectividad

Existen esencialmente tres maneras de hacer llegar los nano-vehículos hasta los tumores, la primera es inyectarlos directamente en la zona afectada (lo cual no siempre es posible ó seguro), la segunda consiste en aprovechar las características fisiopatológicas de los tumores sólidos, en particular la naturaleza altamente permeable de su vasculatura, que permite que los vehículos de dimensiones nanométricas salgan del sistema circulatorio y se acumulen preferencialmente en los tejidos tumorales, este fenómeno se conoce como efecto de permeabilidad y retención aumentadas (EPR, por sus siglas en inglés) y los sistemas que se basan en este principio se conocen como de orientación pasiva. La tercera vía consiste en funcionalizar la superficie de los vehículos con ligandos direccionados contra tumores como pueden ser vitaminas, residuos de carbohidratos, péptidos y anticuerpos, los cuales se pegan selectivamente a receptores específicos sobrexpresados en las superficies de las células cancerosas. Este es el principio de orientación activa. Los sistemas actuales de liberación controlada de fármacos suelen hacer uso tanto de la orientación pasiva como de la activa.

Invisibilidad

El sistema reticuloendotelial (RES), también conocido como sistema fagocítico mononuclear (MPS) es el principal responsable de la eliminación de los vehículos portadores de fármacos del sistema circulatorio. Los macrófagos del mencionado sistema tienen la habilidad de remover nanopartículas desnudas del sistema circulatorio.

rio en cuestión de segundos luego de su administración intravenosa, lo cual suele ser indeseable pues impide la acumulación de las mismas en los blancos elegidos. Las células de Kupffer y otros macrófagos no identifican propiamente a los nano-vehículos, sino a opsoninas (proteínas que ayudan en la fagocitosis) específicas que se enlazan a la superficie de los vehículos cuando estos entran en el cuerpo. Al modificar convenientemente las superficies de las nanopartículas, puede interferirse en el enlace de las opsoninas a los vehículos y de esta manera anular (al menos temporalmente) el modo de detección del MPS, dotando a los vehículos del sigilo necesario para aumentar de manera sensible el tiempo medio de circulación de los nanofármacos en la sangre [1]. Existen varios polímeros que pueden ser empleados con este propósito, pero entre todos el más ampliamente utilizado es el polietilenglicol (PEG) en distintos pesos moleculares, debido a que además de invisibilidad otorga a los vehículos biocompatibilidad, impide la precipitación por aglomeración, aumenta el radio hidrodinámico, entre otras [2].

Liberación controlada

Una gran cantidad de fármacos anti-cáncer, como la doxorubicina, paclitaxel, entre otros, basan su funcionamiento en inhibir la biosíntesis macromolecular, inhibir la funcionalidad de los microtúbulos ó inducir daño en el DNA, de tal manera que para ser efectivos necesitan interactuar con los componentes al interior de la célula. Los vehículos nanométricos portadores de medicamentos suelen penetrar al interior de las células tumorales vía endocitosis. Parte de este mecanismo consiste en crear unas pequeñas vesículas denominadas endosomas en cuyo interior viajan los vehículos hasta el lisosoma. El pH al interior de estos endosomas es ligeramente ácido (5-6), a diferencia del pH fisiológico que es casi neutro (7.4), lo anterior puede ser aprovechado para descargar los fármacos de los vehículos, usando materiales sensibles a variaciones del pH. Otra manera es usar vehículos contruidos con materiales termoresponsivos, como por ejemplo N-isopropilacrilamida (PNIPA).

Tipos de vehículos

Existe una gama de vehículos que en dependencia de su arquitectura y composición pueden ser clasificados de diferente manera. En esta ocasión nos referiremos brevemente a tres de los más utilizados: liposomas, dendrímeros y nanopartículas.

Liposomas

Los liposomas son vesículas esféricas con una membrana compuesta de un fosfolípido y un colesterol bicapa que contienen un núcleo con la misma solución en la que se encuentran y en donde quedan atrapadas las moléculas del fármaco que se requiera. Exhiben una distribución de tamaños de partícula bastante uniforme en el rango desde 20 nm hasta 10 μ m. Debido a su carácter anfílico, los liposomas constituyen agentes solubilizantes poderosos para una serie grande de compuestos. Pueden fabricarse enteramente con sustancias que ocurren naturalmente y por ende son no-tóxicos, biodegradables y no inmunogénicos. Es posible fabricar liposomas que respondan a las variaciones del pH, entre ellos los más comunes son lo que se forman con fosfatidiletanolamina (PE) como componente principal de la bicapa, combinado con compuestos que son estables a pH neutro, pero inestables en condiciones ácidas. Algunas de las moléculas más efectivas que pueden incluirse en la bicapa para proporcionar sensibilidad al pH consisten en combinaciones de una especie de glicerofosfolípidos que se encuentra en los eritrocitos denominados DOPE, por sus siglas en inglés y ésteres ácidos de colesterol (CHEMs) [3]. También es posible producir liposomas termoresponsivos.



Figura 1. Esquema de distintos tipos de nano-vehículos.

Dendrímeros

Los dendrímeros son polímeros altamente ramificados con unos pocos nanómetros de dimensión, globulares, con periferia multivalente, en la cual todas sus cadenas emergen radialmente desde un punto focal central o núcleo, con un patrón regular de ramificación. Son sintetizados por transformación orgánica repetitiva, y como resultado, la mayoría son monodispersos (tamaño molecular bien definido y único para todas sus cadenas). La

estructura dendrímica está caracterizada por capas llamadas generaciones. El número de generación se refiere al número de uniones (puntos focales) entre dendrones (parte de un dendrímero sin núcleo) que van desde el centro hasta la periferia. Un dendrímero de generación 4 presenta por tanto igual número de puntos focales entre el núcleo y la superficie.

Dos de los dendrímeros más estudiados son los poliamidoamina (PAMAM) y los polipropileno-imina (PPI). En los dendrímeros tipo PPI, el núcleo es 1,4-diaminobutano; para los dendrímeros PAMAM, el núcleo puede ser amonio o bien 1,2 etilendiamina. Su estructura ramificada permite que se agreguen moléculas de fármacos a la superficie. La abundancia de sitios reactivos provee numerosas posibilidades de modificación superficial para incrementar la selectividad.

Nanopartículas inorgánicas

Reciben la denominación de nanopartículas los conglomerados cristalinos de átomos, por lo general metales puros, aleaciones y óxidos (Ag, CoPt, Fe₃O₄, etc.). Es común que las superficies de estas nanopartículas sean hidrofóbicas, lo cual hace necesario funcionalizarlas con diferentes compuestos orgánicos (PEG, PVA, etc.) que en soluciones acuosas impidan su aglomeración y consecuente precipitación.

Los sistemas basados en nanopartículas han recibido mucha atención por parte de la comunidad científica, debido a que pueden ser producidos en tamaños lo suficientemente pequeños como para evitar cualquier tipo de oclusión circulatoria, aún en los capilares más delgados. Una característica distintiva de estos sistemas es que usando ciertos materiales como Au, Fe, Fe₂O₃, Co, entre otros, es posible a través de un estímulo externo, inducir localmente el aumento de la temperatura en sus alrededores. Cuando las temperaturas inducidas son relativamente bajas (41- 48° C) este fenómeno se conoce como hipertermia, mientras que cuando las temperaturas suben localmente entre 48° C y 56° C se denomina termoablación. Se sabe que las células cancerígenas son más sensibles al aumento de la temperatura que las células sanas y un tratamiento de hipertermia en zonas tumorales ayuda a mejorar la eficacia de la quimioterapia. Recientemente se ha encontrado que al combinar los tratamientos de hipertermia con radioterapia se obtienen resultados esperanzadores en ciertos casos [4].

Pruebas clínicas e investigación

Existe una infinidad de reportes de investigación aplicada así como de ensayos clínicos en los que se utilizan nanofármacos en diversas versiones con resultados alentadores en el combate contra el cáncer, a continuación se detallan algunos ejemplos:

Celsion Corporation en conjunción con Duke University (Estados Unidos) han desarrollado un nuevo medicamento denominado ThermoDox® basado en liposomas sensibles a la temperatura con una carga útil de doxorubicina en su interior. Al calentar la zona tumoral a 42° C ocurre la liberación del fármaco. Este medicamento en conjunción con tratamientos de hipertermia está siendo sometido a estudios clínicos de fase I para pacientes con cáncer de mama recurrente en la pared torácica (tipo de cáncer muy agresivo con pobres pronósticos para el paciente y limitadas opciones de tratamiento).

El factor de necrosis tumoral (TNF), descartado en los 80's por tener efectos secundarios que ponían en serio peligro la vida de los pacientes, ha retornado gracias a los avances en nanotecnología. Estudios clínicos de fase I realizados en el Montefiore-Einstein Center for Cancer Care (Nueva York) han mostrado que altas dosis de TNF ligado a nanopartículas de oro pueden ser administradas en humanos sin peligro para la vida. Lo anterior se comprobó con 30 pacientes que padecían varios tipos de tumores sólidos en fase avanzada. De hecho, los estudios no arrojaron ningún límite en cuanto a la dosis, aún cuando se trataron dosis que en el caso del TNF por sí solo, hubieran resultado letales.

En el Instituto Tecnológico de Georgia (EEUU), se han obtenido resultados promisorios en la lucha contra el cáncer de ovario. Utilizando nanopartículas de CoFe₂O₄ funcionalizadas con polímeros biocompatibles y ligandos específicos para receptores EphA2 expresados en células de cáncer de ovario, es posible con ayuda de un campo magnético, capturar y extraer células cancerosas de la cavidad peritoneal en ratones "in-vivo", de manera análoga a como se realiza una diálisis. Esto hace pensar que es posible extender esta idea al combate de otros tipos de cáncer como la leucemia.

Actualmente en el mercado

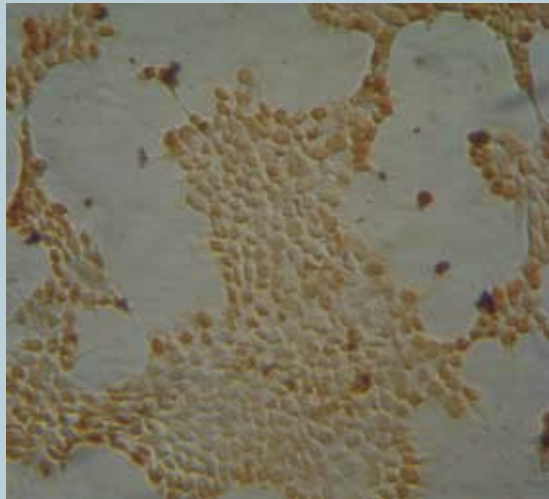
Podría pensarse que estos fármacos tienen un gran potencial a corto o mediano plazo, pero lo cierto es que algunos de ellos ya se comercializan con éxito a nivel mundial:

Una suspensión inyectable consistente en nanopartícula-albúmina-paclitaxel (Abraxane), libre de cremóforos, se comercializa para el tratamiento del cáncer de mama. (<http://www.abraxane.com/>).

Existen algunas variantes de fármacos antitumorales basados en liposomas actualmente en el mercado como Daunoxome y Doxil, (<http://www.drugs.com/pro/daunoxome.html> <http://www.doxil.com/>).

MagForce es una compañía alemana que se encuentra llevando a cabo un tratamiento denominado NanoTherm® therapy que hace uso de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro recubiertas de aminosilano (con diámetros de 15 nm) que son inyectadas en el tejido tumoral (<http://www.magforce.de/english/products/nanotherm1.html>) y que, combinado con radioterapia, está teniendo resultados alentadores en el tratamiento del glioblastoma multiforme recurrente (tumor maligno en el cerebro).

El potencial existente para la nanomedicina es enorme, el mercado de estos productos solo en EEUU ha sobrepasado los 5000 millones de dólares y se estima que a nivel mundial alcanzará la cifra de 220 000 millones para 2015 [5].



Unas pocas palabras sobre riesgos.

No todo es perfecto en materia de nanomedicina. Al hacer partículas lo suficientemente pequeñas como para burlar al sistema reticuloendotelial, estas pueden también penetrar la barrera hematoencefálica sin ningún control. La relación material-dosis-toxicidad también es materia de preocupación actual, por lo que estos constituyen dos de los retos fundamentales que deben vencerse para el establecimiento y amplia aceptación de la nanomedicina.

Referencias

1. D. E. Owens III, N. A. Peppas, *Int. J. Pharm.*, **307** (2006) 93-102
2. G. Prencipe, S. M. Tabakman, K. Welsher, Z. Liu, A. P. Goodwin, L. Zhang, J. Henry and H. Dai, *J. Am. Chem. Soc.*, **131** (13) (2009), 4783-4787
3. C. J. Chu, J. Dijkstra, M. Z. Lai, K. Hong and F. C. Szoka, *Pharmaceutical Research*, **7** (8) (1990) 824-834.
4. R. L. Atkinson, M. Zhang, P. Diagaradjane et al., *Sci. Transl. Med.* **2** (55) (2010) 55-79.
5. T. Watson "Nano-medicine's fantastic voyage", *Canadian Business magazine*, April 12, 2010.



MINIGENES:

Elementos novedosos en la regulación de la síntesis de proteínas

uORFs y su importancia en el control de la traducción en eucariotas

Recientemente ha cobrado importancia la regulación de la síntesis de proteínas por marcos de lectura pequeños los cuales reciben el nombre de uORFs en eucariotas y minigenes en procariontes. Se define uAUG como cualquier codón usado por los ribosomas para iniciar la síntesis de proteína y que esta presente río arriba del codón de inicio reconocido por los ribosomas para producir la proteína principal. El marco de lectura río debajo de un uAUG se conoce como su uORF asociado (1). Se ha visto que los uORFs tienen un papel en la reducción de la eficiencia traduccional de los ORFs primarios y que la severidad de la inhibición producida por ellos depende en parte de la fuerza de la señal Kozak que flanquea al codón de inicio traduccional. Esta observación es de gran relevancia pues un gran número de genes involucrados en la regulación del crecimiento celular expresan mRNAs con uORFs (2). En este momento se sabe que los uORFs están presentes en 10% de los mRNAs de mamíferos y que son particularmente comunes en transcritos de oncogenes, factores de crecimiento y receptores celulares. El análisis de genes humanos ha revelado que aproximadamente el 30% de estos contiene uno o más uORFs (2). Este mecanismo de regulación traduccional mediante uORFs podría ser usado en un futuro próximo para el diseño de nuevas terapias contra el cáncer.

Minigenes

Los minigenes son segmentos de DNA cuyos transcritos contienen una secuencia Shine-Dalgarno, una región espaciadora y ORFs cortos (de 2 a 6 codones). Algunos mini-ORFs pueden ser traducidos en péptidos cortos funcionalmente activos. Por ejemplo, la traducción de un minigene pentapéptido presente en el rRNA de 23S de *Escherichia coli* confiere a la célula resistencia contra el antibiótico eritromicina el cual tiene como blanco el ribosoma y esta resistencia es aparentemente producida por la interacción del péptido corto con el ribosoma de la bacteria (3). La expresión de algunos minigenes puede ser tóxica para bacterias deficientes en Pth pues secuestran tRNA en forma de peptidil-tRNA reduciendo la poza de tRNAs libres necesarios para la síntesis de proteínas (4).

Dr. Javier Hernández Sánchez

Profesor Investigador
Departamento de Genética y
Biología Molecular
Centro de Investigación y de
Estudios Avanzados del IPN

Manuel Alberto Castillo Méndez

Estudiante de Doctorado
Departamento de Genética y
Biología Molecular
Centro de Investigación y de
Estudios Avanzados del IPN

El bacteriofago λ y los minigenes *bar*

El estudio de los minigenes cobró importancia a partir del análisis de la relación del fago λ con *E. coli*. Para comprender este modelo es necesario entender algunos conceptos que a continuación se describen brevemente. Durante la síntesis de proteínas puede ocurrir que la elongación de la cadena polipeptídica se detenga y que el peptidil-tRNA (pep-tRNA) se disocie del ribosoma (drop off). El pep-tRNA entonces es cortado por la enzima peptidil-tRNA-hidrolasa (Pth) para regenerar el tRNA aminoacilable para nuevas rondas de elongación. De esta manera, la actividad de Pth es esencial para la síntesis de proteínas y para la viabilidad de la bacteria. La acumulación de peptidil-tRNA es tóxica para la célula porque agota la poza de tRNAs libres necesarios para la síntesis de proteínas (5). Así, se ha observado que el bacteriofago λ es incapaz de replicarse vegetativamente en bacterias mutantes deficientes en el gen *pth*. Este fenotipo fue primeramente descrito en una cepa bacteriana mutante llamada rap que consiste en la sustitución de una base localizada dentro del gen *pth* lo cual provoca una actividad defectuosa de la enzima. Sin embargo, una mutación le permite al fago superar el defecto de la bacteria, dicha mutación está localizada en regiones del DNA de λ llamadas bar. Las construcciones plasmídicas que expresan solo la región bar resultan tóxicas y causan un arresto general de la síntesis de proteínas en células defectuosas en Pth (5). Estas observaciones condujeron a analizar con más detalle las regiones bar. Ontiveros y Cols. (1997) notaron que las regiones *bar I* y *bar II*, las cuales son casi idénticas, pueden ser consideradas como minigenes pues cuentan con una secuencia semejante a la secuencia Shine-Dalgarno seguida por una región espaciadora y un ORF de solo dos codones. El ORF incluye el codón de inicio AUG usado con mayor frecuencia en *E. coli* y AUA que codifica para Ile el cual precede al codón de paro UAA para bar I y UGA para bar II. Asimismo, se observó que el RNA que contiene las secuencias bar se asocia a la fracción ribosomal en extractos celulares deficientes en *pth* y que forma un complejo con la subunidad ribosomal 30S y con el tRNA iniciador. El mecanismo de inhibición de la síntesis de proteínas por los minigenes bar se entendió parcialmente gracias al uso de un sistema de transcripción-traducción *in vitro* utilizando extractos celulares derivados de cepas deficientes en Pth así como plásmidos que

contienen los minigenes y el gen β -lactamasa como reportero. En este sistema la región bar I silvestre que expresa normalmente el minigen inhibe la síntesis de β -lactamasa a diferencia de un minigen mutante inocuo. Dicha inhibición es abolida al adicionar una preparación purificada de Pth o tRNA lo cual indica que *bar I* puede causar inhibición de la síntesis de proteína a través de la acumulación de peptidil-tRNA. Trabajos posteriores respaldaron estos resultados, demostrando que la toxicidad mediada por minigenes en células con actividad Pth deficiente es resultado del secuestro de tRNAs específicos como pep-tRNA durante la expresión de los minigenes, y que dicha inhibición es contrarrestada al suplementar a las células con tRNA específico o Pth.

Factores que participan en la toxicidad de minigenes

Diversos trabajos sugieren que existen varios factores que participan en la toxicidad asociada a minigenes. Entre dichos factores podemos mencionar el tamaño del minigen, el último codón con sentido del minigen y la fuerza de la secuencia Shine-Dalgarno (5). La toxicidad de los minigenes esta preferencialmente asociada con ORFs muy cortos. Esta observación está respaldada por el trabajo realizado por Heurgué-Hamard y Cols. (2000) en el cual se analiza el efecto del tamaño del minigene en la acumulación de peptidil-tRNA y por lo tanto en la inhibición de la síntesis de proteína. En este trabajo se demuestra que la tasa de formación de peptidil-tRNA se incrementa significativamente para especies menores a 7 aminoácidos de longitud debido a una mayor estimulación de drop-off por los factores RF3, RRF y EF-G. Entre los minigenes estudiados el más tóxico es el que codifica fMet-Lys. Aquellos minigenes que exceden los cuatro codones de longitud no afectan el crecimiento de células *pth* silvestre, y aquellos que exceden los 6 codones de longitud no afectan a células deficientes en *pth* (rap). La alta toxicidad debida a la síntesis de fMet-Lys es causada esencialmente por una combinación de tres parámetros: una ineficiente actividad Pth, una alta tasa de disociación de dipeptidil-tRNA del ribosoma y una alta eficiencia de traducción del minigene. Asimismo, la tasa de terminación de la traducción catalizada por RF2 se incrementa a medida que el número de codones crece en el rango de 2 a 8 codones. Además, la probabilidad de que los ribo-

somas se reciclen sin dejar el mini-mRNA es mayor mientras mas corto es el minigen. En conjunto estos resultados proporcionan una explicación al hecho de que los minigenes más tóxicos preferencialmente codifican péptidos muy cortos (8).

Ultimo codon del minigen. La inhibición de la síntesis de proteínas es inicialmente dirigida a aquellos genes que albergan codones específicos, similares al último codón con sentido del minigen por la acumulación del peptidil-tRNA el cual secuestra el tRNA específico para dicho codón. Esta inhibición depende del numero de codones hambrientos (aquellos que tienen una poza limitada de tRNA) presentes en el gen blanco. Así, la expresión de minigenes en células deficientes en Pth causa acumulación del peptidil-tRNA específico para al último codon con sentido del minigen y el agotamiento resultante de tRNA afecta a su vez la traducción de los mensajeros celulares. Esta inhibición puede ser superada por la sobre expresión del tRNA correspondiente a este codón (9).

Contenido de adeninas y toxicidad

Entre los diversos factores que contribuyen a la toxicidad de los minigenes, la presencia de codones que contengan adeninas cerca del codon de inicio de la traducción es uno de los más relevantes (9 y 10). Aunque ya se había relacionado el contenido de adeninas con la toxicidad de los minigenes, recientemente se ha visto que este afecta directamente la fuerza de unión del mRNA con el ribosoma (manuscrito en preparación, Domínguez-Vivanco y Cols.). La afinidad del mini-mensajero por el ribosoma aunada al reciclamiento del mismo, es decir, el número de veces que el ribosoma reinicia la traducción sin disociarse del mRNA, hace que la toxicidad del minigen se incremente de manera significativa. Con los resultados obtenidos en dicho trabajo, los autores proponen un modelo para explicar el papel de las adeninas y guaninas en el incremento o reducción de la toxicidad de los minigenes. De acuerdo con este modelo los mini-mensajeros con alto contenido de adeninas se unen y compiten mas eficientemente por las subunidades 30S durante el inicio de la traducción confiriéndoles ventaja sobre otros mRNA. Estos se traducirán eficientemente a menos que la poza de tRNA no se agote. Sin embargo, si las adeninas son parte de codones raros (AUA o AGA por ejemplo) y/o

los minigenes son expresados en un fondo deficiente en Pth, la poza de tRNA se agota, el ribosoma pausa y hay formación de peptidil-tRNA el cual secuestra el tRNA disponible y eventualmente se reduce la síntesis de proteínas. En contraste, los mensajeros ricos en guaninas presentan una baja fuerza de unión al ribosoma lo cual se refleja en una baja toxicidad.

Los minigenes como un modelo de estudio de la regulación traduccional

Aunque los minigenes se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, su función biológica no ha sido analizada. Esto se explica en parte por la dificultad que implica la detección de péptidos pequeños traducidos a partir de mini-ORFs. Así, la comprensión de las peculiaridades de la expresión de los minigenes nos brindara un mejor entendimiento de los mecanismos de la síntesis de proteínas y de la regulación génica y potencialmente representan una estrategia molecular para regular de manera específica la expresión de otros genes de importancia medica y/o industrial.

Referencias:

1. Sanchs, M. and Geballe, A.P. 2006. Downstream control of upstream open reading frames. *Genes & Development*. 20: 915-921.
2. Ivanov, P; Loughran, G and Atkins J. 2008. uORFs with translational start codons autoregulate expression of eukaryotic ornithine decarboxylase homologs. *PNAS*. 29: 10079-10084
3. Tenson, T; DeBlasio A and Mankin, A. (1996). A functional peptide encoded in the *E. coli* 23S rRNA. *Proc.Natl.Acad.Sci*. 93: 5641-5646.
4. Hernández-Sánchez, J; Valadez, J; Ontiveros, C; Vega-Herrera, J and Guarneros, G. 1998. λ bar minigene-mediated inhibition of protein síntesis involves accumulation of peptidyl-tRNA and starvation for tRNA. *EMBO*. 17: 3758-3765.
5. Hernández-Sánchez, J; Valadez, J; Ontiveros, C; RH Buckingham and Guarneros, G. 1997. Regulation of protein synthesis by minigene expression. *Biochimie*. 79: 527-531.
6. Ontiveros, C; Valdez, G, Hernandez-Sanchez, J and Guarneros, G. 1997. Inhibition of *Escherichia coli* Protein Synthesis by abortive translation of phage λ minigenes. *JMB*. 269: 167-175.
7. Tenson, T; Vega-Herrera, J; Kloss, P; Guarneros, G and Mankin, A.S. 1999. Inhibition of translation and cell growth by minigene expression. *J. Bacteriol*. 181: 1617-1622.
8. Heurgue-Hamard, V.;Dinc, Bas V.;Bukingham, R.H. and Ehrenberg, M. 2000. Origins of minigene-dependent growth inhibition in bacterial cells. *EMBO J.*, 19: 2701-2709.
9. Cruz-Vera R.L.; Hernández-Ramón, E.; Pérez-Zamorano, B. and Guarneros, G. 2003. The rate of prptidyl-tRNA dissociation from the ribosome during minigen expression depends on the nature of the last decoding interaction. *J. Biol. Chem.*, 278: 26065-26070.
10. Brock, J.E.; Paz, R.L.; Cottle, P.;Jansen, G.R. 2007. Naturally occurring adenines within mRNA coding sequences affect ribosome binding and expression in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol*. 189: 501-510.



PROYECTOS DEL PCG en desarrollo

EN ESTA SECCIÓN SE RESUMEN ALGUNOS DE LOS TRABAJOS DE TESIS EXPERIMENTAL QUE DESARROLLAN ACTUALMENTE LOS ESTUDIANTES DEL PCG.



Imagen: Alfredo Pacilla

Mecanismo de adquisición de hierro a partir de hemoglobina en *Entamoeba histolytica*

M. en C. Areli Cruz Castañeda
Estudiante de Doctorado en Ciencias Genómicas

Entamoeba histolytica es un parásito protozoario intestinal que infecta humanos y causa enfermedades asociadas con significantes niveles de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Stanley, 2003) como por ejemplo, colitis amibiana y abscesos hepáticos. La Organización Mundial de la Salud estima que la amibiasis es la tercera causa de muerte por enfermedades parasitarias después de la malaria y la schistosomiasis en América Central, América del Sur, África y la India y es responsable de más de 100,000 muertes anualmente (WHO, 1997).

El absceso hepático, tiene una incidencia de aproximadamente el 2% de los adultos infectados con *E. histolytica* en áreas endémicas y de 4% en las epidémicas. Es 13 veces más frecuente en hombres que en mujeres y 10 veces más frecuente en adultos que en niños (Martínez-Palomo, 1987). En México el 11% de la población entre 5 y 9 años de edad ha sido infectada alguna vez con prevalencia de infección más alta en mujeres (9.34%) (Caballero y col., 1994).

En muchos casos los trofozoitos permanecen confinados en la luz intestinal, pero en algunos individuos invaden la mucosa intestinal, el hígado, pulmones y cerebro. Cuando *E. histolytica* entra en contacto con eritrocitos, los trofozoitos llevan a cabo el evento de eritrofagocitosis, el cual consiste primero en el reconocimiento y la interacción de ligandos y receptores de superficie, posteriormente hay rearrreglos del citoesqueleto de actina para la formación de pseudópodos que envuelven el eritrocito internalizándolo al citoplasma de la amiba, sitio en el cual comenzará a ser degradado por acción enzimática de proteasas como hemolisinas liberando diferentes proteínas incluyendo la hemoglobina (Hb), proteína de la cual puede adquirir hierro.

El hierro es un elemento esencial para los organismos ya que forma parte de proteínas como catalasas, peroxidases y oxidasas. Participa como cofactor para proteínas de la síntesis de pirimidinas y aminoácidos en el ciclo de los ácidos carboxílicos y en la cadena de transporte de electrones. A pesar de la importancia del hierro para los organismos, no se puede encontrar de forma libre, ya que promueve la generación de especies reactivas de oxígeno que pueden dañar el ADN, las membranas lipídicas y las proteínas.

En el humano, la mayor parte de hierro es captada por ferriproteínas y hemoproteínas, las cuales son fuentes de hierro disponibles en el hospedero. Una hemoproteína es la Hb, proteína encargada del transporte de oxígeno en los glóbulos rojos. La estructura cuaternaria de la Hb consta de 4 subunidades: 2 monómeros de globina α y 2 β . Cada globina contiene un grupo hemo que es una molécula plana que consta de un anillo tetrapirrólico con un átomo de hierro en su centro (Howard, 1970).

El hecho de que el hierro se encuentre unido a proteínas, representa para los patógenos un obstáculo para obtener suficiente de este elemento esencial para su crecimiento y establecimiento de la infección. Las bacterias, hongos y protozoarios patógenos han desarrollado diferentes sistemas de asimilación de hierro altamente sofisticados.

Los sistemas de los patógenos para assimilar el hierro se pueden clasificar en dos grupos: el primer grupo corresponde a los sideróforos y hemóforos que implican la síntesis y liberación de moléculas con gran afinidad por el hierro o por proteínas que poseen el grupo hemo (Ratledge y Doyert, 2000), el segundo grupo es el de los receptores que son los sistemas que implican la interacción directa con las proteínas del hospedero que transportan el hierro. Además de estos mecanismos algunos patógenos producen enzimas como hemolisinas y hemoglobinasas que incrementan la eficiencia de estos sistemas. Así, ciertos microorganismos sintetizan proteasas que son secretadas al medio y degradan a las proteínas transportadoras de hierro en el hospedero (Genco y Dixon, 2001).

Los sideróforos son moléculas solubles, de bajo peso molecular. Tienen una alta capacidad de remover el Fe^{+3} de ferriproteínas ya que poseen una alta afinidad por este elemento pero no por el hemo.

Los hemóforos son moléculas que unen el grupo hemo de las hemoproteínas y lo dirigen a receptores de superficie para ser posteriormente internalizado. Los hemóforos son sintetizados en bacterias y hongos en respuesta a condiciones de carencia de hierro.

En el equipo de investigación encabezado por el Dr. José Olivares del PCG, estamos interesados

en conocer en mecanismo mediante el cual *E. histolytica* adquiere el hierro de la Hb. Actualmente sabemos que el genoma de *E. histolytica* posee tres genes que codifican para tres proteínas con el motivo FRAP/NPFL, este motivo es indispensable para la unión y la adquisición de Hb en bacterias G-. Las proteínas se llaman Ehhmbp26, Ehhmbp45 y Ehhmbp75 (*Entamoeba histolytica* hemoglobine binding protein 26 kDa, 45 kDa y 75 kDa). Los genes *ehhmbp26* y *ehhhmbp45* fueron clonados y se demostró que las proteínas purificadas Ehhmbp26 y Ehhmbp45 son capaces de unir Hb (Cruz Castañeda y col. 2008, Cruz-Castañeda y Olivares-Trejo 2008 y Cruz-Castañeda y col. 2009). Se ha reportado que *E. histolytica* es capaz de crecer utilizando como fuente de hierro la Hb. La Hb posee 4 átomos de hierro unidos al hemo. Para analizar si *E. histolytica* es capaz de utilizar el hemo libre como fuente de hierro, se realizó una curva de crecimiento utilizando como fuentes de hierro el hemo libre, Hb y citrato férrico. Se observó que *E. histolytica* es capaz de crecer utilizando como fuente de hierro la Hb. Y el crecimiento es aun mejor que al utilizar hemo libre. Este resultado puede ser debido a que el hierro en el hemo esta mas accesible que cuando se encuentra unido a la molécula completa de Hb.

La capacidad de *E. histolytica* de crecer en presencia de hemo sugiere que debe tener un mecanismo para poder utilizarlo como fuente de hierro. Para analizar si Ehhmbp26 y Ehhmbp45 interaccionan directamente con el hemo que esta unido a la Hb, se realizaron ensayos de unión a hemo mediante interacción en condiciones nativas. Observamos que tanto Ehhmbp26 como Ehhmbp45 son capaces de unir hemo libre. Finalmente realizamos un análisis de la afinidad de

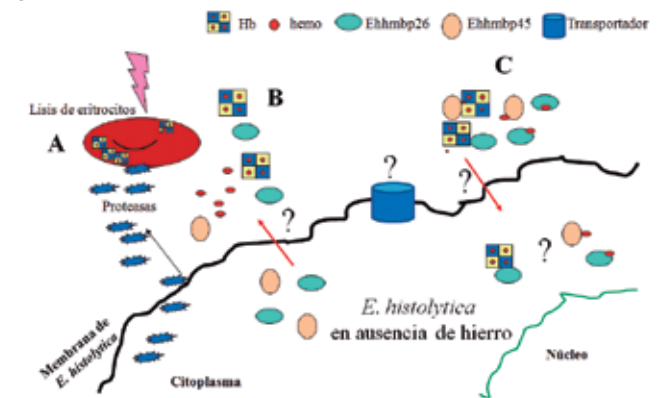


Figura 1. Modelo hipotético de la adquisición de hierro utilizando como fuente la Hb. *Entamoeba histolytica* crecida en ausencia de hierro libera proteasas que lisan los eritrocitos liberando Hb y hemo (A), a su vez, las proteínas Ehhmbp26 y Ehhmbp45 son secretadas al medio extracelular y capaces de unir el hemo y la Hb (B), finalmente, los complejos formados son internalizados al parásito (C). El transportador y la vía utilizada tanto para la secreción como para la internalización aun no han sido descritos.

Ehhmbp26 y Ehhmbp45 a hemo y a Hb, interesantemente observamos que ambas proteínas unen con mayor afinidad el hemo libre.

Todos los resultados mencionados sugieren que Ehhmbp26 y Ehhmbp45 podrían categorizarse como hemóforos y en base a estos datos estamos proponiendo un modelo hipotético de adquisición de hierro a partir de Hb (Figura 1)

Proponemos que cuando la amiba se encuentra en carencia de hierro, es capaz de sintetizar y secretar las proteínas Ehhmbp26 y Ehhmbp45, las cuales son capaces de unir el hemo que se libera de la Hb cuando los eritrocitos son degradados, sin embargo; aun quedan preguntas por responder como por ejemplo; ¿Las proteínas Ehhmbp26 y Ehhmbp45 son internalizadas a la amiba para liberar el hemo?, ¿únicamente se internaliza el hemo?, al igual que todos los hemóforos, ¿las proteínas Ehhmbp26 y Ehhmbp45 requieren de un receptor de membrana?, todas estas preguntas son interesantes y es indispensable responderlas para

comprender el mecanismo completo de adquisición de hierro a partir de Hb en *E. histolytica*.

Referencias

- Cruz-Castañeda, A, Olivares-Trejo, JJ. 2008. Ehhmbp45 is a novel hemoglobin-binding protein identified in *Entamoeba histolytica*. *FEBS Lett.* 582:2806-2810.
- Cruz-Castañeda, A, Hernández-Sánchez, J, y Olivares-Trejo JJ. 2009. Cloning and identification of a gene coding for a 26-kDa hemoglobin-binding protein from *Entamoeba histolytica*. *Biochimie.* 91:283-289.
- Cruz-Castañeda, A., Hernández-Sánchez, J., Zárate-Guerra, S, and Olivares-Trejo, JJ. (2008) *In silico* identification of genes coding for putative Hb-binding proteins in *Entamoeba histolytica* genome. Proceedings of the X European Multicolloquium of Paratitology. Monduzzi Editore International Proceedings Division. 87-91.
- Caballero, A., Viveros, B., Salvatierra, R., Tapia., Sepulveda, G., Gutierrez, G. y Ortiz, L. 1994. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50:412-419.
- Genco, C. y Dixon, D. 2001. Emerging strategies in microbial haem capture. *Mol. Microbiol.* 39:1-11
- Howard, GA. 1970. Studies on cessation of protein synthesis in a reticulocyte lysate-free system. *Biochim. Biophys. Acta.* 213:237-240.
- Stanley S. 2003. Amoebiasis. *Lancet.* 361:1021-1034.
- WHO. 1969. Amoebiasis. Geneva report of a W.H.O. Expert Committee. W.H.O. *Tech. Rep.Ser.*, No. 421
- WHO. 1997. A consultation with experts on amoebiasis. *Epidemiological bulletin.* 18(1).



NOTICIAS

del mundo de la ciencia

PARA ALGUNAS CÉLULAS CANCERÍGENAS METASTÁSICAS, NO HAY MEJOR LUGAR QUE EL HOGAR

El evento más riesgoso del cáncer es la metástasis, que se da cuando las células se separan de un tumor localizado y viajan a través del sistema circulatorio esparciendo la enfermedad a órganos vitales. Científicos han descubierto, contrariamente a las nociones que se han mantenido por mucho tiempo, que la metástasis también puede funcionar de forma inversa: es decir, una fracción pequeña pero agresiva de células cancerígenas renegadas puede viajar a través de la circulación sanguínea de forma inversa para reinfiltar el tumor original, aumentando su potencial maligno.

“AHORA HEMOS ENCONTRADO QUE LOS TUMORES PUEDEN RECOBRAR A ALGUNOS DE SUS NIÑOS MÁS DELINCUENTES, ENRIQUECIÉNDOSE CON LAS CÉLULAS METASTÁSICAS MÁS AGRESIVAS, LO QUE LES PERMITE CRECER MÁS RÁPIDAMENTE Y DE FORMA MÁS ROBUSTA.”

JOAN MASSAGUÉ

Este fenómeno nuevamente revelado es llamado tumor que se “autosiembra” por Joan Massagué, quien es investigador del Instituto Médico Howard Hughes en el Centro del Cáncer Memorial Sloan-Kettering (MSKCC, por sus siglas en inglés) y Larry Norton, oncólogo en el MSKCC que condujo la investigación que fue publicada el 25 de diciembre de 2009, en la revista *Cell*. Mi-Young Kim, becaria de investigación en el laboratorio de Massagué, fue la primera autora del trabajo.

“Se ha creído fervientemente que la metástasis era análoga a una calle unidireccional”, dice Massagué, cuya investigación revela cómo las células tumorales metastásicas desarrollan características específicas que son necesarias para viajar y prosperar en un nuevo ambiente.

“Hemos encontrado que los tumores pueden recobrar a algunos de sus niños más delinquentes, enriqueciéndose con las células metastásicas más agresivas, lo que les permite crecer más rápidamente y de forma más robusta”, dice. “Ésta parece ser una característica muy general”.

En términos clínicos, la autosiembra podría explicar la muy frecuente recurrencia de tumores que parecen haber sido eliminados completamente por cirugía o radioterapia. Aún cuando el tumor no es más perceptible, el tejido remanente del cual fue eliminado o irradiado “podría proporcionar un ambiente atrayente para que células metastásicas se resiembrén”, sugiere Massagué. Si esto es así, dice que los médicos algún día podrían prevenir las recurrencias posteriores al tratamiento interfiriendo con la estrategia de autosiembra del tumor luego de la terapia anticancerígena. Los nuevos descubrimientos fueron alentados por discusiones entre Massagué y Norton sobre las llama-

tivas capacidades que tienen las células metastásicas de moverse dentro y fuera de la circulación del cuerpo, de sobrevivir largos viajes y de adaptarse a los ambientes extraños de órganos distantes. De los millones de células que se escapan de un tumor primario, una pequeña fracción pasará nuevamente por el tumor en su viaje alrededor del cuerpo. Algunas de estas células —las más astutas y merodeadoras agresivas, dice Massagué— son capaces de deslizarse a través de las paredes de los vasos y retornar a su hogar.

“Pensábamos, que esto debía pasar frecuentemente —y nos preguntábamos si habían consecuencias— dice Massagué. “¿Podría ser que el cáncer sea una enfermedad de autosiembra?” Él y Norton publicaron un ensayo en *Nature* en 2006 resumiendo este concepto.

En una serie de experimentos descritos en el artículo de *Cell*, los investigadores implantaron en ratones células metastásicas humanas de mama, colon y melanomas. Con técnicas de marcado e imágenes demostraron que estos tumores primarios podrían atraer y recobrar algunos de sus merodeadores descendientes. Las células metastásicas que vuelven no se encuentran simplemente con su lugar de nacimiento, según revelaron los estudios. En cambio, señales de atracción del tumor atraen las células merodeadoras, que a su vez están preparadas para responder a las señales, escapándose de la circulación y uniéndose nuevamente al tumor. Los investigadores determinaron que el atrayente canto de sirena es proporcionado por citoquinas, llamadas interleuquinas IL6 e IL8. Las citoquinas son producidas por el tumor y su microambiente, y también por las células inflamatorias reclutadas por el tumor. Previamente se había descubierto que las IL6 e IL8 son imanes para las células cancerígenas, y han sido involucradas en la progresión tumoral. Massagué explica que en concordancia con el “tirón” de las citoquinas, existe un “empuje” que poseen las células tumorales —“algo que las hace muy buenas para invadir tejidos e infiltrar el tumor al cual han sido atraídas—”.

Una búsqueda de genes candidatos que fueran activos en las células tumorales reveló tres a los que les cabía esa descripción de funciones. Dos de los genes, colagenasa 1, también conocido como *matriz metaloproteinas 1 (MMP1)*, y *CXCL1*, producen proteínas que están involucradas en la digestión de la matriz

celular y realzan las capacidades invasivas de las células. El tercero, *FASCIN 1 (FSCN1)*, hace una proteína que ayuda a que el citoesqueleto de la célula se adapte para el movimiento de "arrastre" mediado por pequeñas extensiones de tipo pie. En otra serie de experimentos, los investigadores demostraron en ratones que el enriquecimiento de tumores de mama con células metastásicas hizo que los tumores crecieran más rápidamente y expandieran sus redes de vasos sanguíneos pequeños (angiogénesis) para mantener su mayor tamaño.

Ésa no es la única implicación clínica de los resultados. Massagué dice que la autosiembra "puede aumentar las posibilidades de que el tumor se reproduzca a sí mismo justo en el sitio primario" incluso después de radiación extensa y del retiro quirúrgico de la masa tumoral. Se ha culpado a una pequeña cantidad de células resistentes que quedan después del tratamiento por las recurrencias locales del cáncer.

"Ahora estamos pensando que en algunos casos, quizá el tratamiento deje tejido inflamado que habría sido el hogar de esas células que se escaparon y que estaban residiendo temporalmente en alguna parte, quizás en la médula ósea", sugiere. "Puede que hayan vuelto a entrar en la circulación durante las semanas y los meses posteriores a la cirugía, y que ahora, a través del proceso de autosiembra, se hayan asentado en este tejido y reproducido el tumor". Massagué dice que si este escenario es una causa importante de la recurrencia del cáncer, entonces posiblemente se podría disminuir el riesgo dando a los pacientes drogas para bloquear las señales de atracción de IL6 e IL8. "Tendría sentido dar estas drogas por algunas semanas o meses para disminuir la probabilidad de resembrado".

Fuente de la información
Noticias en español del Instituto Howard-Hughes.
Reproducido con autorización del HHMI.
<http://www.hhmi.org/news/massague20091225-esp.html>

PERSPECTIVA DE UN VIRÓLOGO SOBRE LA GRIPE A (H1N1)

Poco después de que los científicos aislaron el virus de la gripe tipo A de cerdos en 1931 y de seres humanos en 1933, lo vieron romper barreras evolutivas con una facilidad alarmante —infectando no sólo a seres humanos, sino también a pájaros acuáticos, aves de corral, cerdos, caballos, perros y otras especies—. Ahora que hay un brote creciente debido a la aparición de una nueva cepa de la gripe A (H1N1), los científicos tienen de nuevo una oportunidad única para estudiar la evolución viral en acción. El investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Robert Lamb, virólogo y experto en gripe en la Universidad Northwestern, ha seguido de cerca el brote actual. Desde su oficina en las afueras de Chicago, Lamb ha estado conferenciando con colegas científicos de todo el mundo y analizando los datos disponibles en los sitios de Internet de los Centros para Control de Enfermedades y Prevención (CDC, por sus siglas en inglés) y de la Organización Mundial de la Salud.

Le da crédito al CDC y a otras organizaciones de salud pública oficiales por haberse puesto rápidamente a compilar —y hacer pública— una extensa cantidad de infor-

mación sobre las muestras del virus que fue obtenida de México, de los Estados Unidos y de otras partes. Dice que tal información puede decirle a los investigadores mucho sobre el maquillaje genético y estructural del virus.

A Lamb le preocupa lo que hasta ahora ha aprendido sobre la gripe A (H1N1), pero reconoce que las cosas se están moviendo rápidamente, y hay muchas preguntas abiertas. "Es demasiado pronto para saber lo que pasará", dijo. Desde un punto de vista genético, Lamb describe al virus como un "complicado virus de genoma reordenado, que contiene una mezcla de genes de virus

"Los cerdos a menudo han sido considerados un potencial lugar de transición para estos virus porque tienen receptores para la gripe aviaria y para la humana."
Robert A. Lamb

de la gripe que infecta a porcinos eurasiáticos, porcinos americanos, pájaros y seres humanos".

Las cepas del virus de la gripe difieren unas de otras en gran parte en los genes que codifican para moléculas superficiales llamadas glicoproteínas, que son las dianas primarias del sistema inmune del cuerpo en la defensa contra virus de la gripe. H1N1 pertenece a la familia del virus A de la gripe H1, que es sólo uno de 16 subtipos. Cada uno de los subtipos, que van del H1 al H16, recibe el nombre por la distintiva estructura biológica de una de las proteínas claves de la superficie de la gripe, la hemaglutinina (HA). Todos los virus H1, por ejemplo, comparten una proteína de forma semejantemente a la HA. Los virus de la gripe se distinguen más a fondo por las formas de sus proteínas neuraminidasas (NA), de las cuales hay nueve subtipos.

Al igual que la cubierta protectora de una armadura, las proteínas superficiales HA y NA se incrustan en la pequeña partícula del virus de la gripe. Cuando el virus muta, esencialmente "cambia de armadura", alterando la forma de su superficie exterior y llegando a ser irreconocible para el sistema inmune humano (o animal). Ésta es la esencia de la evasión inmune, un sello de la gripe.

El virus puede experimentar dos tipos de cambios estructurales que le ayudan a esquivar el sistema inmune. Cambios pequeños en las proteínas de la cubierta del virus suceden continuamente y dan lugar a nuevas cepas. Esta es una razón principal por la que las personas pueden contagiarse de gripe más de una vez y porqué se necesita conseguir a una vacuna nueva contra la gripe cada año. La cubierta del virus también puede cambiar abruptamente para convertirse en un nuevo subtipo que tenga una proteína HA o una combinación proteica HA-NA que no se haya visto en seres humanos, por lo menos no por muchos años. La mayoría de las personas tendría poco o nada de protección contra este virus nuevo. Y si el virus puede diseminarse fácilmente de persona a persona, puede ocurrir una pandemia.

Si los virus de la gripe cambiaran raramente de forma, la evasión inmune no mantendría despiertos durante la noche a los investigadores. Pero los virus de la gripe evolucionan constantemente, y su estructura física es la razón. Dentro de su cubierta esférica, la partícula viral tiene ocho segmentos de ARN separados —que codifican para 11 proteínas— y este tipo de genoma segmentado está listo para la recombinación. Si dos virus de la gripe

distintos infectan la misma célula, por ejemplo, pueden intercambiar fácilmente segmentos de genéticos —generando teóricamente hasta 256 descendientes distintos—. Los científicos llaman este fenómeno un "reordenamiento" genético y los virus híbridos son "virus de genomas reordenados".

Las pandemias de la gripe de 1918, 1957 y 1968 causaron millones de muertes. Se cree que la cepa H2N2 (la causa de la pandemia de 1957) y la cepa H3N2 (el patógeno de 1968) surgieron por el intercambio de genes entre virus de la gripe aviarios y humanos, siguiendo posiblemente la infección dual en seres humanos. La pandemia más mortal de 1918 fue diferente. Fue el resultado de la cepa H1N1, que se piensa deriva completamente de un antepasado que originalmente infectó a pájaros. La gripe porcina, que es el centro del brote de 2009, es una enfermedad respiratoria de los cerdos causada por la gripe tipo A, que causa brotes regulares en cerdos. Las personas no se contagian normalmente con la gripe porcina, pero las infecciones humanas son posibles y suceden. Se sabe que el virus de gripe porcina se propaga de persona a persona, pero en el pasado, esta transmisión era limitada y no se mantenía más allá de tres personas.

Lamb y otros están muy interesados en los mecanismos moleculares que permiten que los virus, tales como la gripe A (H1N1), salten entre especies. La causa específica del salto de una especie a otra continúa siendo un poco misteriosa, pero muchos investigadores creen que tiene que ver con los cambios en la proteína HA, que es la responsable de reconocer los receptores de las células que infecta el virus.

Lamb observa las actuales circunstancias teniendo en cuenta los brotes históricos de la gripe, tales como el de 1918 y el brote más reciente de gripe porcina en los Estados Unidos en 1976. Hace notar que había una preocupación especial por la cepa de 1976 porque los científicos pensaban en ese entonces que el devastador virus de 1918 también era de origen porcino. Más adelante se demostró que eso era incorrecto, pero Lamb dice que la semejanza percibida entre los dos virus llevó a la decisión de vacunar a aproximadamente 40 millones de personas en los Estados Unidos. Varios meses después de recibir la vacuna, más de 30 personas habían muerto debido a complicaciones relacionadas con el síndrome de Guillain-Barré, una enfermedad nerviosa paralizante. "En retrospectiva, si se cometió un error, fue la decisión de vacunar a la población de los EE.UU.", dijo Lamb.

Es demasiado pronto para saber que tan similares son las cepas de 2009 y 1976, gripe A/New Jersey/1976 (H1N1). "El virus A (H1N1) de 2009 ya ha hecho el salto", dijo Lamb. "Es básicamente un zoonótico que se ha adaptado para infectar a seres humanos". Dice que los cerdos son probablemente un crisol en el cual varios virus de la gripe se han mezclado para producir la gripe A (H1N1). "Los cerdos", observa, "a menudo han sido considerados un potencial lugar de transición para estos virus porque tienen receptores para la gripe aviaria y para la humana".

Aunque muchos han descrito a la gripe A (H1N1) actual como un "virus novedoso", Lamb no está tan seguro que tan nuevo sea. "Sabemos que los cambios genéticos que llevaron a la gripe A (H1N1) no ocurrieron todos al mismo tiempo. La cruza entre partes de genes porcinos, aviarios y humanos ya se encontraba en virus triples "de genomas reordenados" existentes. Por lo que parece de la gripe A (H1N1), estamos viendo un cambio entre la gripe porcina y este virus de genoma reordenado triple preexistente". Una pregunta que le preocupa a Lamb y a otros cientí-

ficos es si la vacuna contra la gripe más reciente administrada en los Estados Unidos podría otorgar una pequeña cantidad de protección contra la gripe A (H1N1), aun cuando fue producida para controlar otras cepas del virus de la gripe. "Uno de los componentes en esa vacuna era contra el virus H1N1 "estacional", que ya estaba en la población", dijo Lamb. "Deseamos saber cuánta reactividad cruzada existe entre la gripe H1N1 estacional y la gripe A (H1N1)". La reactividad cruzada es la reacción entre un antígeno y un anticuerpo que está dirigida contra un antígeno similar pero distinto. "Puede ser que haya una cantidad pequeña de reactividad cruzada que sea difícil de medir, pero que no obstante da un cierto efecto protector y hace la diferencia entre estar muy enfermo o levemente enfermo", dijo.

Fuente de la información
Noticias en español del Instituto Howard-Hughes.
Reproducido con autorización del HHMI.
<http://www.hhmi.org/news/lamb20090501-esp.html>

ANUNCIOS

SE SOLICITAN ESTUDIANTES DE LICENCIATURA PARA REALIZAR TESIS, SERVICIO SOCIAL Y/O POSGRADO EN DIVERSOS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN GENÓMICA Y PROTEÓMICA EN EL PCG-UACM.

Se solicitan estudiantes para realizar su tesis de licenciatura y posgrado en el estudio de la expresión génica y proteómica de *T. vaginalis*.

Se desarrollarán proyectos en mecanismos de regulación de la expresión génica de *T. vaginalis* mediado por poliaminas así como proyectos en expresión proteómica de la tricomonosis en hombres.

Requisitos: Estar inscrito en una institución de educación superior. Contar al menos con el 75% de los créditos de la licenciatura y con promedio general no menor a 8.0.

Informes: Dra. Elizabeth Álvarez Sánchez. PCG. Tel: 36912000 ext. 15306.

Email: elizabethlvarezsanchez@yahoo.com.mx

Solicito dos estudiantes de licenciatura para desarrollar proyectos en Genómica y Proteómica del Cáncer de Mama.

Se otorgarán 2 becas inmediatas. Se desarrollarán proyectos de investigación específicamente el análisis funcional de microRNAs y análisis proteómico de biopsias de carcinomas mamarios.

Requisitos: Estar inscrito en una institución de educación superior. Contar al menos con el 75% de los créditos de la licenciatura con promedio general mayor a 8.0.

Informes: Dr. César López-Camarillo.

Tel: 58-50-19-01, ext. 15307 y 15312.

Email: cesar.lopez@uacm.edu.mx

Solicito estudiantes para realizar su tesis de licenciatura, servicio social y/o en proyectos relacionados con el parásito *Entamoeba histolytica*.

Requisitos. Estar inscrito en una institución de educación superior. Contar con al menos el 75% de los créditos de la licenciatura. Informes.

Dra. Elisa Azuara, Posgrado en Ciencias Genómicas. Tel 58-50-19-01 ext 15302.

Email: elisa.azuara@uacm.edu.mx

UACM

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

La Universidad Autónoma de la Ciudad de México, a través del Posgrado de Ciencias Genómicas, invita a inscribirse en los programas de

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS GENÓMICAS

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

- Genómica humana
- Genómica de agentes infecciosos en humanos
- Genómica de agentes infecciosos de importancia veterinaria

El Programa de Maestría en Ciencias Genómicas pertenece al **Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC)** en la vertiente de Programa de Fomento a la Calidad del Posgrado (PFCP) del CONACyT, por lo que los estudiantes aceptados podrán solicitar una beca para realizar estudios de Maestría.

Maestría

REQUISITOS

- Licenciatura afín con promedio mínimo de 8.00
- Tiempo completo
- Comprensión de inglés científico

DOCUMENTOS

- Solicitud de admisión
- 2 *Curriculum vitae* con copia de comprobantes
- 2 Copias del certificado total de estudios de licenciatura
- 2 Copias del título de licenciatura
- 2 Cartas de recomendación con copia
- 2 Copias del acta de nacimiento
- 2 Fotografías tamaño infantil

RECEPCIÓN DE DOCUMENTOS

14 de marzo al 29 de abril de 2011

PROCESO DE ADMISIÓN

4 al 13 de mayo de 2011

CURSO PROPEDÉUTICO

16 de mayo al 1 de julio de 2011

RESULTADOS FINALES

28 y 29 de julio de 2011

FECHA DE INICIO DE CURSOS

1 de agosto de 2011

PLANTA ACADÉMICA

Dra. Minerva Camacho, UACM	Dr. José de Jesús Olivares, UACM
Dr. César López, UACM	Dr. Mauricio Castañón, UACM
Dra. Martha Yocupicio, UACM	Dra. Selene Zárate, UACM
Dra. Elizabeth Álvarez, UACM	Dr. José Fandiño, UACM
Dr. Humberto Nicolini, UACM	Dra. Sara Frías, INPIUACM
Dra. Elisa Azuara, UACM	

Doctorado

REQUISITOS

- Maestría en área afín
- Tiempo completo
- Comprensión de inglés científico

DOCUMENTOS

- Solicitud de admisión
- 2 *Curriculum vitae* con copia de comprobantes
- Original y 2 copias del certificado de estudios de licenciatura
- Original y 2 copias del acta de examen de maestría
- 2 Cartas de recomendación con copia
- Original y 2 copias del acta de nacimiento
- 1 Fotografía tamaño infantil

RECEPCIÓN DE DOCUMENTOS

Fecha abierta

ADMISIÓN

- Entrevista
- Presentación de la tesis de maestría
- Calendario de inscripción abierto

INFORMES

Catalina Sánchez,
Posgrado en Ciencias Genómicas, UACM
San Lorenzo # 290 Col. Del Valle, México, D.F.
Tel. 5488-6661 ext. 15313
genomicas_ucm@yahoo.com.mx

www.uacm.edu.mx/genomicas

CIENCIAArte

Suponiendo que el azar exista (segunda parte)

Colaboración de
Ernesto López Leónides*

El aspecto indeterminado puede afectar al acto de la composición, a la interpretación, o a ambos. Iannis Xenakis compuso con modelos probabilísticos, utilizando programas informáticos estocásticos, en su pieza "st/4" de 1962. Karlheinz Stockhausen manipulando una y otra vez la sintonía de un radio, fue grabando fragmentos al azar para generar: "hymnen" himnos de 1967. Ha compuesto también este músico alemán, piezas altamente experimentales como: "cuarteto para helicóptero y sala de concierto" y "música para una casa" donde toda la orquesta invade la casa, emplazándose los músicos en distintas habitaciones, de acuerdo al instrumento que ejecuten. El público se encuentra en algún sitio, escuchando, pero sin tener acceso visual a la orquesta. Stockhausen funge como director e ingeniero de audio y durante el concierto graba en cintas de audio y transmite enseguida desde altavoces. A una señal suya, secciones completas de la

orquesta abandonan la casa sin que los demás se den cuenta, la grabación permite seguir escuchando a los músicos ausentes en sincronía con los presentes. Así avanza la pieza, y sucesivamente todos los músicos se marchan. Debido a la extensa duración de la obra



(ahora la presencia de los músicos solo existe en la cinta magnética de audio, el mismo Stockhausen se ha ido) los miembros del público van abandonando la casa unos después de otros. Alrededor de la media noche la casa está vacía. La parte más extraña ocurre, supongo, cuando nadie escucha ya la música que ocurre en el interior de la casa y que a su vez nadie vivo produce (las grabaciones siguen sonando continuamente por los altavoces). Se trata de una pieza donde no hay fin. ¿En una casa vacía, sin otro movimiento que la vibración de la música sonando indefinidamente, el azar queda abolido?

¿Es posible que el azar nos aseche, esperando oculto, actuando impredecible como es, para apoderárselo todo? ¿es posible también que vivamos dentro del azar y que nuestra condición natural sea movernos en él? ¿que por algún desajuste, lo que nos parece el curso y comportamiento de la materia y el tiempo aquí, sea la excepción y no la generalidad de los seres? Con las nuevas teorías científicas sobre mecánica cuántica y los sistemas caóticos y turbulentos, algunos físicos consideran que no está tan clara su ausencia o presencia, o que se pueda afirmar que el azar no forme parte del mundo. Según la interpretación estándar de la mecánica cuántica, en un experimento controlado hasta en sus más mínimos detalles, siempre hay un grado de aleatoriedad en el resultado. Algo que puede ayudar a comprender "la poética" idea de la tan citada teoría del caos, es referido por Stephen W. Hawking en su libro "historia del tiempo":

"la segunda ley de la termodinámica dice, que hay siempre muchos más estados desordenados que ordenados. Por ejemplo, en las piezas de un rompecabezas hay un solo estado en orden, en el cual las piezas forman una imagen completa. Mientras que hay un número muy grande de disposiciones en las que las piezas están desordenadas y no forman imagen alguna. El desorden tenderá a aumentar con el tiempo, si el sistema estaba sujeto a una condición inicial de orden elevado..."

Un rompecabezas es un "sistema caótico" es decir, un sistema tan sensible a las condiciones iniciales que, los más pequeños cambios en su estado inicial se traducen en grandes cambios en el estado final. Como aquella mariposa que al volar produce al otro lado del mundo una tempestad. Pero veamos el ejemplo del físico Hawking: alguien construyó pacientemente un rompecabezas y luego, lo lanza al aire, en un arranque de repulsión contra el orden. Podría esperar que la realidad le entregara al caer, una grata apariencia del caos (todas las piezas en absoluto desorden), o la gradual descomposición de las partes, donde los grupos de piezas forman todavía fragmentos de imagen. Si continúa lanzándolo, el caótico acomodo de las piezas aumentara; pero porque el orden (cosmos en griego) ocupa un sitio fundacional en el tejido interno del universo en expansión (se cree que en los primeros momentos, luego del big-bang, el universo partió, probablemente, de un estado desordenado que disminuye con el tiempo) existe también, si se tiene paciencia de lanzar "n" veces aquel concurso de fuerzas en orden y desorden de piezas revueltas, la probabilidad que todo aquello vuelva a caer en su sitio, formando una imagen completa, sin otra ayuda que las fuerzas del azar.



La estructura del rompecabezas es también un "sistema turbulento" aquel cuya evolución no es predecible a corto plazo. Debido a que, hasta las variaciones infinitesimales en las condiciones del sistema, provocarían cambios exponenciales. Es decir que la cifra que indica la potencia a la que se eleva una "x" cantidad puede ser variable, indeterminada o desconocida en su progresión. Existen dos tipos de progresión matemática básica:

La progresión aritmética: es aquella en que cada término se obtiene sumando al anterior un número fijo. 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22...

Y la progresión geométrica: aquella en que cada término se obtiene multiplicando el anterior por un número fijo. 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128...

Aunque las leyes de la física sean estrictamente deterministas, dejan lugar para que en el universo exista un factor o elemento creador que genere innovaciones impredecibles. La física actual nos dice que hay otros mundos posibles: la teoría inflacionaria propone que, de forma similar a como en una tina repleta de burbujas de jabón se expande su estructura; así, la materia del universo se distribuye en el espacio-tiempo. La superficie de las burbujas es la región del cosmos que nos es posible conocer, pues es el sitio donde habitamos. A esta idea de Alan Guth, se añade la bella posibilidad de que en cada una de las burbujas vecinas se cree una existencia, una circunstancia paralela a la nuestra y poblada de seres similares a nosotros, tal vez especulares. Tal vez estén en un tiempo-espacial diferente, o solo sean seres potenciales. "no somos responsables de la creación del universo, tal vez seamos responsables de millones de universos, cada uno inaccesible para los demás. Y sea, la consciencia de los seres, la que los convence de que están en la única realidad." Esto es poesía de la más alta estirpe y ya como idea, fue elaborada por Hiu Evertt físico matemático de oficio y que a su vez se apoya en el experimento mental "el gato de Schrödinger" donde un personaje de notable clarividencia, capaz de ver lo que nadie, simultáneamente dentro de una caja sellada a un gato vivo y abierta la caja, al gato muerto, pues abrir la caja supone la ruptura de un frasco de ácido prúsico que imposibilita la mirada al interior. En la forma clásica de pensar solo una de estas posibilidades puede materializarse. Pero este observador y este gato viven

en dos universos paralelos donde ambos estados son posibles y latentes.

Pero este fenómeno reciente en las ciencias, llamémosle de momento nuevo esoterismo especulativo tiene una fuente más, y su referencia supone una deuda aun mayor: "la filosofía religiosa de la india." Joseph Campbell (hombre de occidente profundamente sensible a los mitos, religiones y cultos de oriente), refiere una idea muy antigua:

"...brahmá, el creador, está sentado en un loto, símbolo de la energía. Y esta flor, crece en el ombligo de Visnú dios que duerme y cuyo sueño es el universo, el océano cósmico. Cuando Brahmá abre sus ojos brota una lagrima y aparece un mundo, gobernado por un Indra (semi-dios orgulloso), cuando los cierra desaparece. La vida de un Brahmá es de cuatrocientos treinta y dos mil años, luego muere. Luego surge otro loto y otro Brahmá; hay infinitos Visnú soñando y Brahmás brotándole; ...estas hormigas son antiguos Indras que partieron de las más bajas condiciones, luego se elevaron a la más alta iluminación, para luego volver a caer en el círculo del karma..."



Imagen: <https://i4.goo.gl/ae9c9t>

El esoterismo antiguo, planteaba la incapacidad de los profanos para acceder a cierto tipo de conocimiento, y aquellos comunes que aspirasen llegar a él, tendrían

que pasar por un largo proceso de iniciación para poder participar de dichos misterios incomprensibles, reservados. Algunas escuelas de esoterismo en el pasado y tal vez del presente son: los gnósticos medievales, los cabalistas judíos y los pitagóricos griegos. De esta última escuela sus sectarios creían: cada uno de los planetas (cinco eran los conocidos) que orbitaban al sol, daban respectivamente una nota mientras se paseaban. El tono de la nota dependía de su distancia o cercanía en relación con el sol. Este sonido era provocado por el frotamiento del planeta en el éter que llenaba el vacío cósmico; como si se pulsara una cuerda invisible o de luz. Las vibraciones de estos sonidos eran tan sutiles, que los humanos jamás habrían de escuchar esta armonía celestial. Así se los enseñó su maestro Pitágoras, quien la llamó "la música de las esferas" en la actualidad dichos acordes toman el nombre de la teoría de las *supercuerdas*, que reelabora en lo micro, lo que ya Pitágoras había descrito en lo macro.

Hay diferentes modos de transformación de la energía (autótrofos como las plantas, heterótrofos como los animales ¿si existen seres superconductores o hechos de hebras de luz, de que se alimentan? Algún tipo de consciencia debe tener el poder de conocer mejor este universo que nosotros, imposibilitados de entender la verdadera velocidad), se especula que podría haber muchas formas distintas de vida y tan diversos modos de existencia que podrían no parecerse en nada a los de este mundo y a nuestra propia forma de ser, de la que opinamos nosotros mismos y por eso decimos que es, supuestamente inteligente (quizás sea este, un planeta de lisiados, un depósito de aberraciones mentales, de desperdicio. Un asilo de alienados del plan cósmico. Muestra de ello será nuestra propensión



Imagen: <http://www.pixelfperfectdigital.com>

a la maldad y la destrucción. Por lo demás, el planeta y sus criaturas funcionan con la delicadeza y armonía del dodecaedro de Pitágoras). Es posible (dicen "los expertos") que el mundo no sea una formación azarosa y cuyo orden no sabemos leer. Dentro de las posibilidades prácticamente infinitas que existen, ¿qué obliga a que nosotros tampoco seamos fruto del azar? Es posible también que bajo otras circunstancias hubiéramos evolucionado hacia algo muy distinto y sin embargo, fue una secuencia particular de hechos ambientales, mutaciones "causadas" o "casuales" las que hicieron posible nuestra forma, "nuestra mente" que, curiosa, quiere averiguar, entre otras muchas cosas, si el azar, si existe, se sirve de algún tipo de reglas para funcionar.

*Ernesto López Leónides es artista plástico, cineasta, escritor y gran amante de las ciencias. Estudió en la Escuela de Pintura Escultura y Grabado "La Esmeralda" y en el CUEC. Ha realizado varias exposiciones individuales y colectivas. Actualmente escribe guiones para cortos y cuentos de ciencia ficción. Su obra plástica transitando desde el nuevo realismo hasta el neo-expresionismo se decanta en el arte posmoderno donde todo se incluye, como lo demuestra este azaroso texto, lleno de sinuosidades del pensamiento, en una forma hermosamente barroca sobre la contingencia de acertar en la monstruosa razón de lo imposible.



Fuente: Cortesía del autor

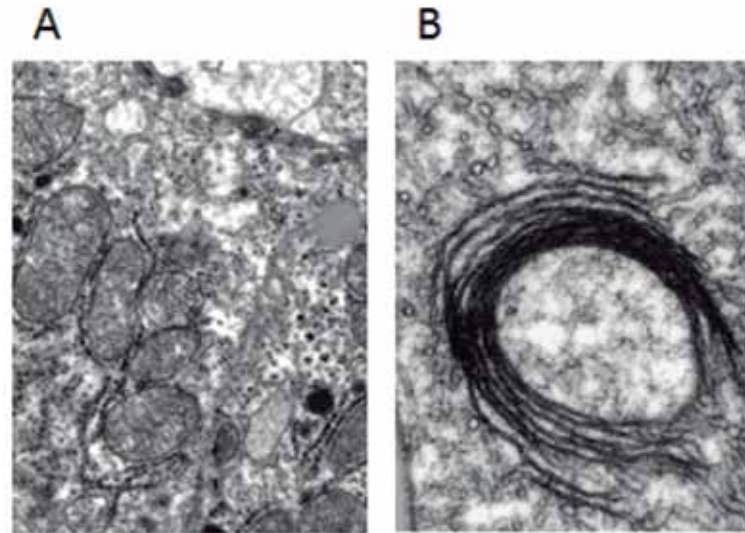
Bibliografía:

- Joseph Campbell. El héroe de las mil caras
- Robert P. Morgan. La música del siglo XX
- Stephen W. Hawking. Historia del tiempo
- Heinz Pagels. El código del universo
- Carlos Monsiváis. La rueda del azar
- Brian Greene. El universo elegante
- Paul Davies. Proyecto cósmico
- Jean Guitton. Dios y la ciencia
- Jean Rivière. El arte oriental



DESDE EL PORTA OBJETOS:

Imágenes del MicroUniverso



La mayoría de los organismos necesitan hierro para sobrevivir, sin embargo, demasiado hierro en la célula es tóxico y puede causar daño fatal en los órganos por lo que es necesario mantener un balance adecuado. En un estudio publicado en *Cell Metabolism*, científicos del European Molecular Biology Laboratory (EMBL) en Heidelberg, Alemania, han descubierto que un grupo de proteínas denominadas IRBPs regulan el adecuado balance del hierro lo cual es esencial para la sobrevivencia y función celular. Galy y colaboradores encontraron que en las células que no producen IRBPs, el mecanismo de exporte y almacenamiento de hierro se multiplica, mientras que el importe de hierro es drásticamente reducido.

Las imágenes de microscopía (arriba) muestran la mitocondria de una célula normal (A) y un acercamiento de una mitocondria que presenta defectos estructurales en una célula que no produce IRBPs (B).

Crédito de imagen: Bruno Galy-EMBL.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

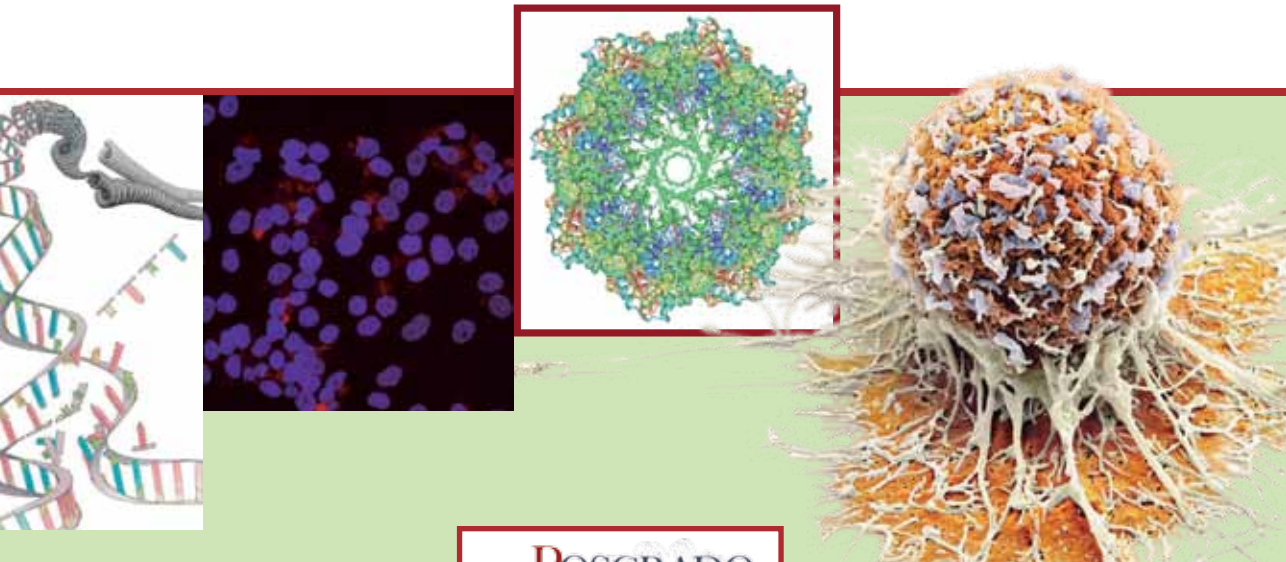
Esther Orozco Orozco
RECTORA

Minerva Camacho Nuez
Coordinadora Académica

Nora Isabel Huerta Guajardo
**Coordinación de Difusión Cultural
y Extensión Universitaria**

Jesús Fandiño
Coordinador del Colegio de Ciencia y Tecnología

Genómicas hoy
Boletín cuatrimestral del Posgrado en Ciencias Genómicas UACM
fue impresa en julio de 2011 en el taller de impresión de la
Universidad Autónoma de la Ciudad de México
con un tiraje de dos mil quinientos ejemplares



***Genómicas hoy es una publicación del
Posgrado en Ciencias Genómicas de la UACM***

Diseño: Alfredo Padilla