



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO “EL HOMBRE Y SU AMBIENTE”
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL
POR ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LA PROFESIÓN
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

“Expresión de proteínas asociadas al deterioro cognitivo en un modelo murino establecido de cetoacidosis diabética”

QUE PRESENTA:

Atziry Yareth Guerrero Pérez

Matrícula

2193072821

ASESORA INTERNA:

Dra. María del Carmen Monroy Dosta (28906)
Departamento El Hombre y su Ambiente-UAM-X

ASESOR EXTERNO:

Dra. Diana Ivette Aparicio Bautista (330)
Instituto Nacional de Medicina Genómica

México, CDMX.

Diciembre, 2024

RESUMEN

El proyecto de servicio social se llevó a cabo en el laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo dentro del Instituto Nacional de Medicina Genómica, una institución mexicana idónea para el desarrollo de investigación de vanguardia aplicada a la medicina en donde se me permitió aplicar y fortalecer mis conocimientos adquiridos durante mi formación en la licenciatura en Biología.

El objetivo de este informe fue evaluar los cambios en la expresión de las proteínas asociadas a deterioro cognitivo en un modelo murino de cetoacidosis diabética (CAD), lo que ayudaría a entender los posibles mecanismos asociados al deterioro cognitivo en personas con esta patología.

Algunas de las actividades realizadas en la institución fueron la cuantificación de proteína utilizando la técnica 2D-Quant, así como la separación de las proteínas por electroforesis y Western Blot, el bloqueo e incubación de anticuerpos y por último la detección y el revelado utilizando el sustrato ECL (Enhanced Chemiluminescence Detection System); siendo una parte fundamental pues se estandarizaron algunas proteínas asociadas al deterioro cognitivo como Tau, Tau5, Tau 212, Sinapsina, GSK3-B.

Este estudio no solo busca mejorar la atención clínica de los pacientes con CAD, sino también reducir la carga económica y emocional asociada a esta complicación. Así como las estrategias de prevención y tratamiento más efectivas esperando disminuir la incidencia de complicaciones neurológicas y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: cetoacidosis, deterioro cognitivo, proteínas.

INDICE

Portada	1
Resumen	2
índice	3
Introducción	4
Lugar donde se realizó el servicio social	5
Marco institucional	6
Objetivo de las actividades realizadas	6
Descripción específica de las actividades desarrolladas	6
Descripción del vínculo de las actividades desarrolladas con los objetivos de formación del plan de estudios	8
Referencias	8
Anexos	11
Visto bueno: firma de los asesores interno y externo.	12

Introducción

El Instituto Nacional de Medicina Genómica es una institución mexicana idónea para el desarrollo de investigación de vanguardia aplicada a la medicina. Siendo un espacio de formación de recursos humanos, desarrollo de soluciones innovadoras y técnicas genómicas para la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades de mayor incidencia en México (*PAT*, 2020), como lo es la diabetes Mellitus (DM). Esta enfermedad es un problema de salud pública en México, que afecta al 18.3% de la población adulta, lo que equivale a aproximadamente 14.6 millones de personas. Además, constituye la segunda causa de defunciones a nivel nacional (Basto-Abreu et al., 2023; Consumidor, 2022; «INEGI, 2022», 2023). Este panorama resalta la necesidad urgente de desarrollar estrategias efectivas para abordar esta epidemia.

La diabetes mellitus no solo impacta la salud metabólica, sino que también está estrechamente relacionada con el deterioro cognitivo. Estudios han demostrado que los pacientes diabéticos tienen un mayor riesgo de desarrollar trastornos cognitivos y demencia en comparación con aquellos sin diabetes (Biessels et al., 2014; Whitmer et al., 2009). Este deterioro cognitivo es una condición que afecta a millones de personas a nivel mundial y está asociado con diversos factores genéticos, ambientales y metabólicos. Existen múltiples complicaciones derivadas de la diabetes, una de ellas es la cetoacidosis diabética (CAD), la cual ha demostrado tener un efecto significativo en la función cerebral, acelerando el deterioro cognitivo (Chico Ballesteros, 2010).

La cetoacidosis diabética es una complicación aguda y potencialmente mortal que se presenta principalmente en pacientes con diabetes tipo 1, aunque también puede ocurrir en aquellos con diabetes tipo 2 bajo ciertas condiciones. Esta condición resulta de la acumulación excesiva de cuerpos cetónicos en el organismo debido a una insuficiencia insulínica severa, lo que altera el equilibrio metabólico y puede afectar estructuras cerebrales críticas (García-Rodríguez y Giménez-Cassina, 2021).

La CAD no solo induce cambios metabólicos, sino que también está asociada con complicaciones neurológicas y estrés oxidativo, esto a que en pacientes con DM1 la insulina regula la fosforilación de proteínas Tau y los niveles elevados de estas están asociados al deterioro en la integridad de la sustancia blanca cerebral teniendo factores que contribuyen como consecuencia al deterioro cognitivo acelerado (Aderinto et al., 2023; Kantar y Paoli, 2019; Vergel et al., 2012).

Una de las demencias que involucran el deterioro cognitivo es la enfermedad de Alzheimer (EA) y hallazgos histopatológicos corresponden a placas seniles formadas por depósitos de péptido β - amiloide, y ovillos neurofibrilares formados por proteína tau hiperfosforilada. En sus tapatías existen dos enzimas que son capaces de regular la fosforilación de la Tau, las cinasas; siendo GSK3b (cinasa glucógeno sintetasa "glycogen synthase kinase" 3 b) una de las principales enzimas que fosforila tau y las fosfatasas siendo la principal PP2A que remueve los grupos fosfatos. Y estudios recientes indicaron que la tau en los cerebros de ratas con CAD se hiperfosforiló notablemente en pT205, pT212, pS214 y pS262 tanto en la corteza cerebral como en el hipocampo (Arriagada y Villalobos, 2022; Basurto-Islas et al., 2024; García y Jay, 2004).

En este contexto, investigar las proteínas asociadas al deterioro cognitivo en modelos animales representa una oportunidad valiosa para comprender los mecanismos moleculares que vinculan la CAD con el daño cerebral. Durante mi servicio social, se llevó a cabo un estudio para evaluar la expresión de proteínas en un modelo murino de cetoacidosis diabética. Este estudio tuvo como objetivo explorar cómo estos marcadores proteicos pueden influir en el deterioro cognitivo bajo condiciones de alteración metabólica severa (Janeiro et al., 2021). La identificación y caracterización de estas proteínas podrían abrir nuevas vías para intervenciones terapéuticas dirigidas a mitigar los efectos neurotóxicos asociados con la CAD.

Este informe final presenta un análisis detallado de las actividades realizadas y los métodos empleados. Su finalidad es contribuir al entendimiento del impacto que tiene la CAD en la cognición.

Lugar donde se realizó el servicio social

Las actividades se realizaron en el laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo dentro de las instalaciones del Instituto Nacional de Medicina Genómica, ubicado en Periférico sur 4809, Colonia Arenal Tepepan, Tlalpan, C.P. 14610, Ciudad de México.

Marco Institucional

El Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) es el undécimo Instituto Nacional de Salud, fundado en el año 2004 como resultado de los esfuerzos del Consorcio Promotor del Instituto de Medicina Genómica desde 2001 incluyendo a la Universidad Nacional Autónoma de México, el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de la Secretaría de Salud y la Fundación Mexicana para la Salud.

Su misión es contribuir a la salud de la población de México mediante la formación de recursos humanos y la vinculación con el sector productivo para acelerar el acceso a bienes y servicios que elevan los niveles en la calidad de vida de los mexicanos. Así como su visión es convertirse en referente nacional e internacional de investigación, desarrollo de políticas públicas e innovación en la salud preventiva.

Teniendo como objetivos, formar recursos humanos de alto nivel, aplicar el conocimiento Genómico en la medicina a través de la cultura innovadora, planear y dirigir actividades de investigación científica en Medicina Genómica y disciplinas relacionadas y desarrollar científicos de excelencia.

Esto es de gran relevancia para el desarrollo intelectual de los estudiantes egresados de la licenciatura en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X) pues su perfil es formar profesionales creativos y críticos capaces de realizar actividades científicas, con una perspectiva multidisciplinaria lo que permitirá adquirir nuevos conocimientos y habilidades para fortalecer su formación académica y científica.

Objetivo General

Evaluar los cambios en la expresión de las proteínas asociadas a deterioro cognitivo Tau, Tau5, Tau 212, Sinapsina, GSK3-B, en un modelo murino de cetoacidosis diabética.

Actividades desarrolladas

- Cuantificación de proteínas

El procedimiento para la cuantificación de proteínas se llevó a cabo utilizando la técnica 2D-Quant. Esta técnica combina la electroforesis y el análisis cuantitativo para la precisión de las concentraciones de proteínas, siendo esencial para estudios de expresión proteica identificación de biomarcadores y análisis de cambios proteómicos en diferentes condiciones biológicas.

- Separación de las proteínas por electroforesis y Western Blot

La electroforesis se realizó siguiendo el protocolo 1D SDS-PAGE preparando un gel de poliacrilamida al 12%, este proceso se llevó a cabo agregando los reactivos para

el gel separador a la cámara, esperando 20 min aproximadamente para que el gel polimerizara a temperatura ambiente. Seguido de este tiempo se agregaron los reactivos para el gel concentrador a la cámara dejando polimerizar a temperatura ambiente por 15 min aproximadamente. Terminando este proceso se adicionó buffer de corrida en la cámara asegurándose que el gel se cubriera completamente y se cargaron 15 µg de proteína así como 8ul de marcador de peso molecular, dejándose correr aproximadamente 30-45 min a 60V y posteriormente 2 horas a 120V, hasta el término de la electroforesis.

- Transferencia de proteínas en membrana de PVDF

Con la ayuda de una cuña, se abrió el casete que contiene el gel y se utilizó una membrana de PVDF. La membrana se activó con metanol para su posterior uso con el gel colocando hojas de papel filtro y almohadillas de fibra (de cada lado) entre el gel y la membrana, formando un sándwich y pasando un rodillo para las posibles burbujas formadas. Posteriormente se colocó dentro del casete adicionando buffer de transferencia 1X utilizando en todo momento guantes. Se corrió durante 1hr 30 min a 0.25A teniendo en cuenta no permitir un sobrecalentamiento del sistema por lo que se aconseja utilizar un sistema de refrigeración o hacer la transferencia en una cámara fría.

- Bloqueo e incubación de anticuerpos

Se preparó una solución de leche con TBS-T (dependerá de anticuerpos a analizar) para bloquear los sitios inespecíficos de la membrana y otra solución para la incubación de los anticuerpos primarios. El bloqueo se dejó en agitación por una hora en una bolsa sellada, acabando la hora se realizaron 3 lavados con TBS-T durante 5 minutos cada uno y posteriormente se incubó el anticuerpo primario con la membrana en una bolsa de plástico sellada y solución de bloqueo, este se dejó toda la noche en agitación en cámara fría.

Se retiró el anticuerpo y se lavó con TBS-T. La membrana se incubó con el anticuerpo secundario, correspondiente al anticuerpo primario, en agitación por una hora y se lavó con TBS-T.

- Detección y revelado

Para este último paso se utilizó el Sustrato ECL (Enhanced Chemiluminescence Detection System), se observó mediante quimioluminiscencia ECL Peróxido de hidrógeno (1) + luminol (2), utilizando el equipo ChemiDoc MP Imaging System de BIO-RAD.

El sustrato se adicionó sobre la membrana donde se encuentra el anticuerpo colocándola dentro de un casete de revelado y dejándolo a exposición automática hasta visualizar las bandas.

Vinculo de las actividades desarrolladas con el plan de estudios

De acuerdo con los objetivos académicos del programa y el perfil de egreso de la licenciatura en Biología en la UAM-X, los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera nos brindan las habilidades para ser partícipes de este proyecto para el servicio social pues la comprensión de la biología y la medicina es esencial para la complejidad de las interacciones entre la fisiología y la función cerebral además de preparar e inspirar a futuras generaciones de profesionales estudiar estos campos de la biología molecular y entender la neurobiología.

Este estudio no solo busca mejorar la atención clínica de los pacientes con CAD, sino también aumentar la conciencia sobre la importancia del control glucémico y reducir la carga económica y emocional asociada a esta complicación. Así como estrategias de prevención y tratamiento más efectivas. Al establecer pautas claras para el manejo del deterioro cognitivo en el contexto de la CAD, se espera disminuir la incidencia de complicaciones neurológicas y mejorar la calidad de vida de los pacientes, lo que a su vez puede reducir los costos asociados a la atención médica de emergencia y la hospitalización prolongada.

Referencias

- Aderinto, N., Olatunji, G., Abdulbasit, M., Ashinze, P., Faturoti, O., Ajagbe, A., Ukoaka, B., & Aboderin, G. (2023). The impact of diabetes in cognitive impairment: A review of current evidence and prospects for future investigations. *Medicine*, *102*(43), e35557. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003557>
- Arriagada, J., & Villalobos, R. Á. (2022). Proteína Tau como biomarcador en Alzheimer preclínico: Tau protein as a biomarker in preclinical alzheimer's disease. *ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas*, *47*(2), Article 2. <https://doi.org/10.11565/arsmed.v47i2.1892>
- Basto-Abreu, A., López-Olmedo, N., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Moreno-Banda, G. L., Carnalla, M., Rivera, J. A., Romero-Martinez, M., Barquera, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2023). Prevalencia de prediabetes

- y diabetes en México: Ensanut 2022. *Salud Pública de México*, 65, s163-168. <https://doi.org/10.21149/14832>
- Basurto-Islas, G., Tung, Y. C., Dai, C.-L., Iqbal, K., & Gong, C.-X. (2024). Diabetic ketoacidosis induces Tau hyperphosphorylation in rat brain. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 8(1), 615-626. <https://doi.org/10.3233/ADR-240040>
- Biessels, G. J., Strachan, M. W. J., Visseren, F. L. J., Kappelle, L. J., & Whitmer, R. A. (2014). Dementia and cognitive decline in type 2 diabetes and prediabetic stages: Towards targeted interventions. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 2(3), 246-255. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(13\)70088-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(13)70088-3)
- Chico Ballesteros, A. (2010). Variabilidad glucémica y deterioro cognitivo del anciano con diabetes. *Avances en Diabetología*, 26(1), 59-61. [https://doi.org/10.1016/S1134-3230\(10\)61014-9](https://doi.org/10.1016/S1134-3230(10)61014-9)
- Consumidor, P. F. del. (2022). 14 de noviembre. *Día mundial de la diabetes*. gob.mx. <http://www.gob.mx/profeco/documentos/14-de-noviembre-dia-mundial-de-la-diabetes-319474>
- Estadísticas de Defunciones Registradas (EDR) 2022. (2023). *INEGI*, 644/23, 102.
- García, T., & Jay, D. (2004). Fosforilación de Tau y enfermedad de Alzheimer. *Gaceta médica de México*, 140(3), 329-333.
- García-Rodríguez, D., & Giménez-Cassina, A. (2021). Ketone bodies in the brain beyond fuel metabolism: From excitability to gene expression and cell

signaling. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14, 732120.

<https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.732120>

Janeiro, M. H., Ardanaz, C. G., Sola-Sevilla, N., Dong, J., Cortés-Erice, M., Solas, M., Puerta, E., & Ramírez, M. J. (2021). Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Advances in Laboratory Medicine*, 2(1), 39-50.
<https://doi.org/10.1515/almed-2020-0109>

Kantar, Y. E., & Paoli, M. (2019). Efectos de la diabetes mellitus tipo 1 en la cognición. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 17(2), 61-68.

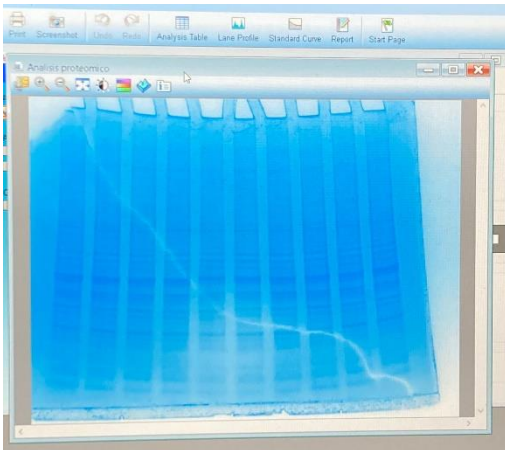
Programa Anual de Trabajo (PAT). (2020).
<https://www.gob.mx/salud/conadic/documentos/programa-anual-de-trabajo-2020-pat>

Vergel, M. A., Azkoul, J., Meza, M., Salas, A., & Velázquez M, E. (2012). Cetoacidosis diabética en adultos y estado hiperglucémico hiperosmolar: Diagnóstico y tratamiento. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(3), 170-175.

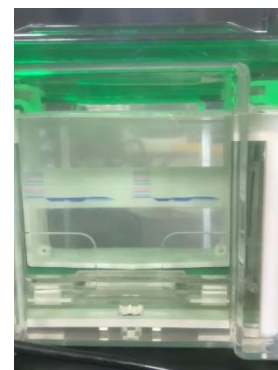
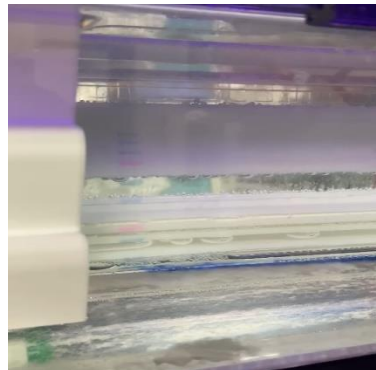
Whitmer, R. A., Karter, A. J., Yaffe, K., Quesenberry, C. P., & Selby, J. V. (2009). Hypoglycemic Episodes and Risk of Dementia in Older Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA*, 301(15), 1565-1572.
<https://doi.org/10.1001/jama.2009.460>

Anexos

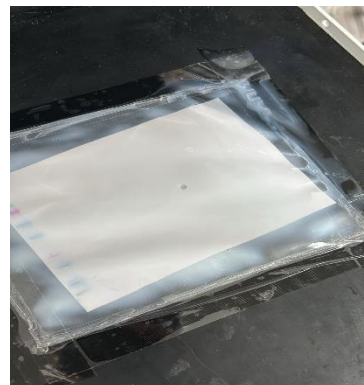
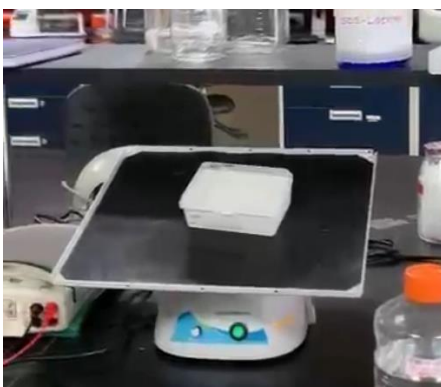
Anexo 1. Cuantificación de proteínas



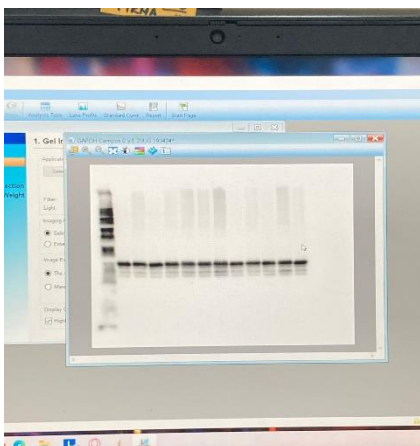
Anexo 2. Separación de las proteínas por electroforesis y Werstern Blot



Anexo 3. Bloqueo e incubación de anticuerpos



Anexo 4. Detección y revelado



Visto bueno: firma de los asesores.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized loop followed by several horizontal strokes.

Dra. María del Carmen Monroy Dosta – Asesora interna

A handwritten signature in blue ink, featuring a large, stylized loop followed by a few vertical and horizontal strokes.

Dra. Diana Ivette Aparicio Bautista – Asesora externa