



**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**

Manejo de cultivo celular de la línea músculo-esqueléticas C2C12 para ensayos en investigación de fitofármacos sobre los procesos de reparación del tejido

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Ce Acatzintlalli Farias Martinez

Matricula:

2182029716

ASESORES

Asesor interno:

M. en C. Alejandro Palma Ramos
No. Eco. 15941

Asesor externo:

M. en C. Alexandra Berenice Luna Angulo
Cedula:12519535

CDMX.

Noviembre 2023



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**

Manejo de cultivo celular de la línea músculo-esqueléticas C2C12 para ensayos
en investigación de fitofármacos sobre los procesos de reparación del tejido

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Ce Acatzintlalli Farias Martinez

Matricula:

2182029716

ASESORES

Asesor interno:
M. en C. Alejandro Palma Ramos
No. Eco. 15941

Asesor externo:
M. en C. Alexandra Berenice Luna Angulo
Cedula:12519535

CDMX.

Noviembre 2023

Introducción

Los músculos esqueléticos son responsables de ejecutar el movimiento y la generación de la fuerza, estas dos características, contribuyen de manera importante a desarrollar todas las actividades de la vida cotidiana, por ello, la pérdida de este tejido compromete la calidad de vida de las personas que la padecen. (1) El músculo, además de participar en las funciones motoras, también contribuyen en el metabolismo energético y en la participación en la captación, utilización y almacenamiento de sustratos del metabolismo como la glucosa, los lípidos y los aminoácidos(2). Por ello el mantenimiento de la masa muscular, no solo es relevante para el desarrollo de movimiento si no como un tejido endocrino y paracrino que contribuye a la homeostasis del organismo. La pérdida de masa y fuerza muscular se denomina atrofia muscular [bibliografía]. Su etiología va desde los desórdenes genético (como la distrofia) hasta los adquiridos (inmovilidad, cáncer, diabetes, etc.). En todos desordenes adquiridos, la disminución de la masa muscular adquiere relevancia, no solo por estar asociada a la pérdida de la movilidad y ser incapacitante, la atrofia ha mostrado clínicamente ser un marcador de mal pronóstico y rápida progresión en diversas enfermedades, está relacionada con la prolongación de estancias hospitalarias y fracasos terapéuticos, comprometiendo la recuperación del paciente y aumentando el riesgo de mortalidad.(2) , Bioquímicamente la pérdida de masa muscular ocurre como resultado de cambios en el equilibrio entre los procesos anabólicos y catabólicos de proteínas, en este caso la degradación supera la síntesis. Con relación a esto, el sistema ubiquitina-proteasoma y la autofagia son los sistemas proteolíticos fuertemente relacionados al desarrollo de la atrofia. (3) Otros nuevos entendimientos, abordan actualmente el

desarrollo de la atrofia. Aunque aún se discute su utilidad en el músculo adulto, potenciar la proliferación y fusión de células satélite, que contribuyen a la reparación del musculo esquelético, podría tener un papel importante en el mantenimiento de este tejido.

La terapia para disminuir la atrofia del músculo está actualmente enfocada en el ejercicio y en la modificación de la dieta, donde, aquellas dietas altas en proteínas son las más importantes. (4) Los fármacos, por otra parte, como el acetato de megestrol, tetrahidrocanabinol, Nandrolona, ciproheptadina y Glucocorticoides son usados para evitar la pérdida de peso en enfermedades crónicas como cáncer y HIV. Su principal mecanismo es el aumento en el apetito. Aunque el megestrol, nandrolona y los glucocorticoides han mostrado un efecto farmacológico benéfico inesperado para mejorar la fuerza muscular, sus efectos secundarios en todos ellos, los hacen de difícil manejo a nivel clínico y no utilizable como tratamiento principal en todos los pacientes que desarrollan atrofia.(5) Por ello nosotros analizaremos moléculas de origen natural, que puedan tener efecto en el catabolismo y anabolismo proteico, así como un posible efecto en los mecanismo principales de reparación como lo son la proliferación y diferenciación de células satélites.

El proceso de reparación del músculo esquelético es un mecanismo perfectamente orquestado, está a cargo de las denominadas células satélites, ubicadas entre la fibra muscular y la lámina basal que rodea a la miofibra. Las células satélites permanecen inactivas en condiciones normales, pero estímulos como el ejercicio, los traumas y otros estímulos las activan iniciando el mecanismo de reparación, el primer proceso se caracteriza por estimular la entrada a ciclo celular, para después proliferar y finalmente diferenciarse expresando proteínas específicas de músculo esquelético, de esta manera contribuye a la reparación de las fibras dañadas. Algunas de estas células activadas vuelven a su estado quiescente para poder mantener las células satélites y contribuir a reparaciones futuras.(6)

Para analizar estos procesos de reparación que incluyen proliferación y diferenciación, se llevan a cabo experimentos *in vitro*, para esto se utilizan células C2C12 que son células murinas, descritas por primera vez en el trabajo de D. yaffe y O. saxel (1977), quienes describen una línea de células satélite mononucleadas de las cuales describen una línea derivada de estas mismas, las células C2, las cuales tienen la capacidad de responder a tensiones o daños musculares, ya que pueden permanecer inactivas y activar su fase mioblastica, diferenciarse y

fusionarse, formando miofibras musculares para reparar daño en el Musculo. (11, 12, 13)

Lugar de realización del Servicio Social

Laboratorio de enfermedades neuromusculares, División de Neurociencias clínicas, Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra, Calzada México Xochimilco No. 289, Colonia Arenal de Guadalupe, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14389

Marco Institucional

El Instituto Nacional de Rehabilitación es un organismo descentralizado de la Administración Pública Federal, con personalidad jurídica y patrimonio propios, con autonomía técnica, operativa y administrativa en los términos de la Ley de los Institutos Nacionales de Salud y la Ley Federal de las Entidades Paraestatales, agrupado en el Sector coordinado por la Secretaría de Salud, que tiene por objeto, brindar atención de calidad para la rehabilitación de pacientes, mediante la formación de recursos humanos altamente calificados para la rehabilitación, mediante el desarrollo de la investigación que permita el conocimiento de los factores que influyen en la discapacidad, las acciones para prevenirla y los mecanismos para detectarla oportunamente.

Siendo un apoyo al Sistema Nacional de Salud impulsando acciones de prevención de la discapacidad, proporcionando servicios de calidad para la rehabilitación de pacientes y a largo plazo poder consolidarse como la institución de mayor prestigio en su campo en donde se desarrollará investigación de vanguardia en materia de discapacidad, con formación de recursos humanos líderes en este ámbito. Como modelo de atención en problemas de salud discapacitantes de la población y centro de referencia a nivel nacional e internacional alcanzando el más alto grado de humanismo, calidad y eficiencia.

Misión: Apoyar al Sistema Nacional de Salud para impulsar acciones de prevención de la discapacidad, proporcionando servicios de calidad para la rehabilitación de pacientes

visión: Consolidarse como la institución de mayor prestigio en su campo en donde se desarrollará investigación de vanguardia en materia de discapacidad, con formación de recursos humanos líderes en este ámbito. Como modelo de atención en problemas de salud discapacitantes de la población y centro de referencia a nivel nacional e internacional alcanzando el más alto grado de humanismo, calidad y eficiencia.

Objetivos:

Brindar atención de calidad para la rehabilitación de pacientes

Contar con personal altamente calificado en el área médica y administrativa.

Formar y capacitar recursos humanos para la rehabilitación.

Desarrollar investigación que permita el conocimiento de los factores que influyen en la discapacidad, las acciones para prevenirla y los mecanismos para detectarla oportunamente.

Justificación

La pérdida de masa muscular también denominada atrofia afecta la calidad de vida de los pacientes que la padecen, además es un marcador de mal pronóstico y rápida progresión en diversas enfermedades, prolongación de estancias hospitalarias y fracaso terapéutico, todo ello compromete la recuperación del paciente y aumenta el riesgo de mortalidad. Aunque aún se estudia la relación entre estos desenlaces negativos y la atrofia, se ha descrito que los factores secretados por el músculo esquelético denominados miocinas, muestran efectos de gran alcance en tejidos no musculares proporcionando una interacción entre la fisiología muscular y corporal. Por lo que el cambio metabólico que sufre el músculo durante el desarrollo de la

atrofia es posible que este asociado con las complicaciones médicas observadas en estos pacientes.(7) Por ello prevenir, tratar y entender el deterioro muscular, resulta relevante en las intervenciones multidimensionales que el paciente con atrofia necesita. A pesar de lo importante que ha demostrado ser evitar la pérdida de masa muscular, aún en nuestros tiempos no existe ningún tratamiento que contribuyan a evitar la aparición o progresión de la atrofia , por lo que nuestro trabajo se centra en el estudio de moléculas que podrían contribuir a inhibir la aparición o el avance de la atrofia, por diferentes vías. Exploraremos moléculas, antioxidante que podría ser capaz de evitar el daño estructural y funcional de la mitocondria, antes y durante el desarrollo de la atrofia, teniendo con ello un impacto en el anabolismo, catabolismo proteico, en la proliferación y diferenciación de mioblastos. Esto, nos permitirá a corto plazo tener un panorama amplio de la función de posibles moléculas con efecto farmacológico que puedan tener diferentes blancos terapéuticos y de esta manera incidir a largo plazo en el tratamiento de la atrofia muscular por diferentes vías para recuperar la estructura y también la función muscular en los pacientes con atrofia muscular.

Objetivo del servicio

Participar en un modelo experimental de cultivo celular de una línea celular C2C12 y poder evaluar el efecto de moléculas de origen natural sobre los procesos de reparación en las células C2C12 así como evaluar la viabilidad de células de músculo esquelético C2C12, tras someterlas a tratamiento con moléculas de origen natural.

Analizar la proliferación y diferenciación de células de músculo esquelético C2C12, con diferentes dosis de moléculas de origen natural.

Actividades realizadas

En la torre de investigación dedicada a enfermedades neuro-musculares en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, se llevaron a cabo diversas actividades relacionadas con el cultivo celular in vitro. Durante estas prácticas, se enfatizó la importancia de la precisión en el manejo de la micropipeta, una herramienta esencial para el cultivo celular, y se proporcionaron instrucciones detalladas sobre el manejo integral de líneas celulares, desde su descongelación hasta su mantenimiento.

En el proceso de descongelación y expansión de mioblastos C2C12, se implementaron técnicas que involucraron el uso de medio de crecimiento, centrifugación y resuspensión celular, así como un conteo celular y uso de material como las placas de 24 pozos con el objetivo de alcanzar una confluencia adecuada.

Las actividades también incluyeron ensayos de viabilidad y proliferación, donde las células mioblásticas fueron sometidas a tratamientos con formulaciones en diversas concentraciones y se analizaron utilizando la técnica de tinción de cristal violeta. En etapas posteriores, las placas fueron fijadas y conservadas, seguidas de una tinción con cristal violeta al 0.1%. Tras la tinción, se realizó la lectura de las placas mediante un espectrofotómetro, eluyendo el colorante con metanol absoluto. Aprendí a analizar los datos obtenidos en Excel y a generar gráficos con GraphPad Prism 7.

Conclusión

El Instituto Nacional de Rehabilitación desempeña un papel crucial en el ámbito de la salud pública, especialmente en la investigación de enfermedades neuromusculares, contribuyendo a la recuperación de los pacientes mediante diagnósticos precisos. La participación en estas actividades no solo permite familiarizarse con las técnicas de cultivo celular, sino también comprender la importancia de la investigación en el campo de la salud pública y la rehabilitación. Estas experiencias fortalecieron habilidades prácticas y contribuyeron a la comprensión de cómo la investigación puede impactar directamente en la mejora de la calidad de vida de las personas afectadas por estas enfermedades.

Bibliografía

1. <https://g-se.com/metabolismo-de-la-glucosa-en-el-musculo-esqueletico-134-san57cfb27107536>
2. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (3 de 12 de 2021). INEGI. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2021/EAP_PersDiscap21.pdf
3. Kanazawa I, Sugimoto T. [Analysis of Musculoskeletal Systems and Their Diseases. Integrated treatments for osteoporosis toward harmony of bone and muscle]. *Clinical calcium*. 2015;25(8):1109-15.
4. Escribano J, Cabanes J, Jiménez-Atiénzar M, Ibañez-Tremolada M, Gómez-Pando LR, García-Carmona F, et al. Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. *Food chemistry*. 2017;234:285-94.
5. Esquivel P., Stintzing FC. Phenolic compound profiles and their corresponding antioxidant Capacity of purple pitaya (*Hylocereus* sp.) genotypes. *Zeitschrift Naturforschung C, Journal of biosciences*. 2007;62(9-10):636-44.
6. Yang, W., & Hu, P. (2018). Skeletal muscle regeneration is modulated by inflammation. *Journal of orthopaedic translation*, 13, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2018.01.002>
7. Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra [INR LGII]. (2023, 28 junio). Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra. INR LGII. Recuperado 13 de agosto de 2023, de <https://www.inr.gob.mx/g22.html>
8. Espín, Luis, Vázquez, Bélgica, Schencke, Carolina, Sandoval, Cristian, & del Sol, Mariano. (2020). Reparación de Lesiones Musculares por Incisión Quirúrgica Coadyuvada con una Formulación Basada en Miel Nativa (Ulmoplus®). Estudio Experimental en Modelo Animal de Conejo (*Oryctolagus cuniculus*). *Revista Internacional de Morfología*, 38 (2), 492-498. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000200492>
9. Matsubara, T., Urata, M., Nakajima, T., Fukuzaki, M., Masuda, R., Yoshimoto, Y., Addison, W. N., Nakatomi, C., Morikawa, K., Zhang, M., Saeki, K., Takahashi, Y., Nakamichi, A., & Kokabu, S. (2018). Geranylgeraniol-induced Myogenic Differentiation of C2C12 Cells. *In vivo (Athens, Greece)*, 32(6), 1427–1431. <https://doi.org/10.21873/invivo.11395>

10. YAFFE, D., & SAXEL, O. (1977). Serial passaging and differentiation of myogenic cells isolated from dystrophic mouse muscle. *Nature*, 270(5639), 725–727. doi:10.1038/270725a0
11. Chang, N. C., & Rudnicki, M. A. (2014). Satellite Cells. *Stem Cells in Development and Disease*, 161–181. doi:10.1016/b978-0-12-416022-4.00006-8
12. Matsubara, T., Urata, M., Nakajima, T., Fukuzaki, M., Masuda, R., Yoshimoto, Y., Addison, W. N., Chihiro Nakatomi, Morikawa, K., Zhang, M., Saeki, K., Takahashi, Y., Nakamichi, A., & Shoichiro Kokabu. (2018). Geranylgeraniol-induced Myogenic Differentiation of C2C12 Cells. *In Vivo*, 32(6), 1427–1431. <https://doi.org/10.21873/invivo.11395>