
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

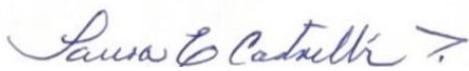
**Expresión de marcadores diferenciales de monocitos en cocultivo de
la línea celular A549 y THP-1 expuestos a condensados de vapeo**

QUE PRESENTA LA ALUMNA:

Alison Yomara Meza Molina

Matrícula: 2193030556

ASESORES



**Asesor interno: Dra. Laura Estela
Castrillón Rivera**



**Asesora externa: Dra. Yazmín
Debray García**

Ciudad de México.

Fecha: 14 de abril del 2026

MARCO INSTITUCIONAL DEL PROYECTO

El proyecto se llevó a cabo en el Departamento de Investigación en Toxicología y Medicina Ambiental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER), una entidad descentralizada de la Administración Pública Federal que cuenta con personalidad jurídica y patrimonio propios, integrada al Sector Salud. Esta institución tiene como finalidad principal, dentro del ámbito de las enfermedades respiratorias, desarrollar investigación científica, formar y capacitar recursos humanos especializados, así como brindar servicios médicos de alta especialidad en todo el país.

La misión del INER consiste en contribuir al mejoramiento de la salud respiratoria tanto a nivel individual como comunitario mediante la investigación, la formación de profesionales y la atención médica especializada. Su visión es consolidarse como la autoridad normativa nacional en salud respiratoria y posicionarse como un referente en docencia, investigación, promoción de la salud y atención médica de alta especialidad, con reconocimiento tanto a nivel nacional como internacional (INER, 2024).

UBICACIÓN

El INER se encuentra localizado en: Calzada de Tlalpan No.4502, Belisario Domínguez. Colonia Sección XV1, Cp. 14080. Alcaldía Tlalpan, Ciudad de México (Figura 1; INER, 2024).

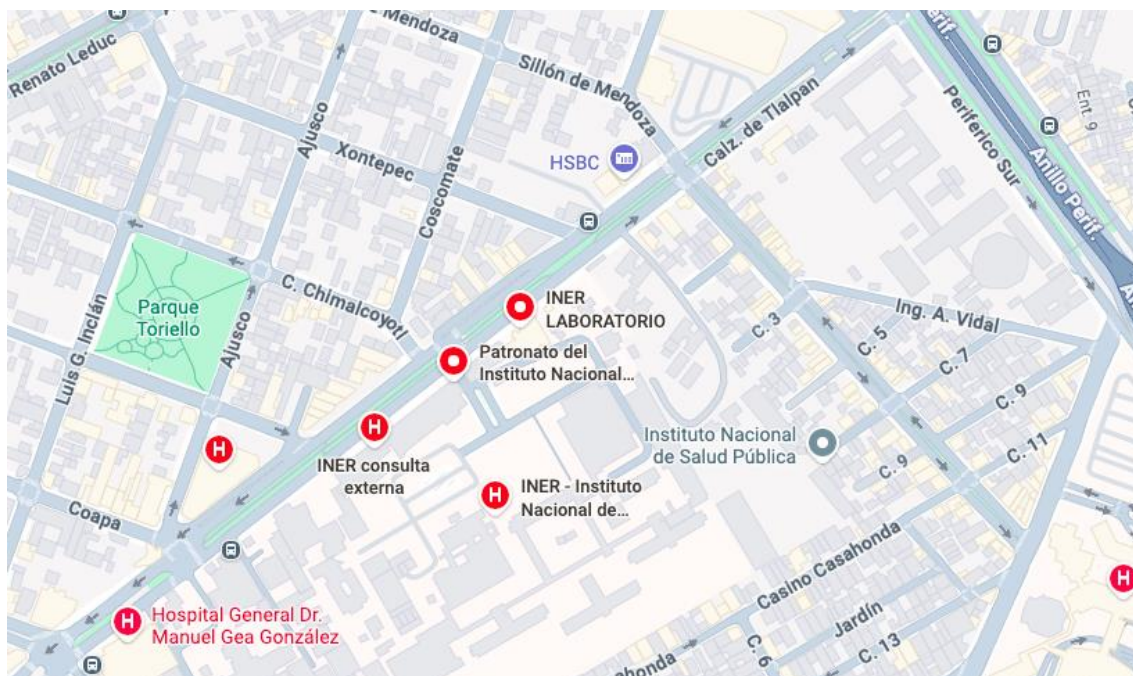


Figura 1. Ubicación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER, 2024).

INTRODUCCIÓN

Los vapeadores, también conocidos como cigarros electrónicos fueron creados como alternativas para dejar de fumar, se han convertido en un problema de salud, debido a los compuestos que se desprenden del calentamiento de los líquidos que utilizan estos dispositivos. En 2019 en Estados Unidos de América se describió una enfermedad asociada con el uso de estos dispositivos llamada EVALI por sus siglas en inglés (lesión pulmonar asociada al uso de cigarrillos electrónicos o vapeo) es un síndrome de insuficiencia respiratoria aguda caracterizado por inflamación alveolar monocítica y neutrofílica (Matsumoto et al. 2020).

Todos los pacientes han presentado disnea progresiva, náusea, vómito, dolor abdominal y fiebre; y se han diagnosticado con neumonía lipoidea ya que en los lavados broncoalveolares se presentan gotas lipídicas dentro de los macrófagos, generando una lesión pulmonar local que impide o dificulta el recambio gaseoso. Se sugiere que la presencia de las gotas lipídicas en los macrófagos es provocada por la VEA en las soluciones utilizadas en el vapeo. Debido a las manifestaciones clínicas, se han comenzado a evaluar los efectos a nivel celular provocados por los compuestos de la e-líquido.

El epitelio pulmonar constituye la primera barrera de defensa frente a los agentes inhalados. Ante una agresión, como la exposición a condensado de vapeo, se desencadenan mecanismos de señalización que promueven la activación y reclutamiento de células inmunes, entre ellas los monocitos y macrófagos, estas células desempeñan un papel fundamental en la respuesta inflamatoria y en la resolución del daño tisular. El cocultivo de líneas celulares humanas, como A549 (epitelio alveolar) y THP-1 (monocitos), constituye una herramienta útil para modelar la interacción célula-célula en el microambiente pulmonar.

La exposición de este modelo a condensados de vapeo permite evaluar los cambios fenotípicos e inmunológicos inducidos, especialmente mediante la detección de marcadores de superficie y citoplasmáticos característicos de la activación monocítica y su diferenciación hacia un perfil proinflamatorio o antiinflamatorio. Marcadores como CD68 (asociado a macrófagos), CD35 (receptor del complemento, relacionado con fagocitosis y activación inmune) y CD163 (marcador inflamatorio de macrófagos M2) permiten identificar la diferenciación de monocitos a macrófagos tras la exposición a estímulos nocivos.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la expresión de marcadores diferenciales de monocitos en cocultivo de la línea celular A549 y THP-1 expuestos a condensados de vapeo.

Objetivos Particulares

1. Determinar la concentración de proteínas totales por el método de Lowry.
2. Identificar la expresión de proteínas CD68, CD35 y CD163 mediante la técnica de Western Blot.

Metodología y descripción específica de las actividades desarrolladas

Durante el desarrollo del servicio social en el área de Investigación en Toxicología y Medicina Ambiental, se llevaron a cabo actividades experimentales integrales orientadas al estudio de la respuesta celular frente a agentes potencialmente tóxicos, utilizando modelos in vitro de cocultivo. Estas actividades abarcaron desde la preparación de condiciones experimentales hasta la obtención y análisis de resultados a nivel proteico.

Co-Cultivo celular

En una primera etapa, se realizó el manejo sistemático de cultivos celulares de las líneas A549 (epitelio alveolar humano) y THP-1 (monocitos humanos), bajo condiciones estrictas de esterilidad en campana de bioseguridad clase II. Esto implicó la preparación de medios de cultivo enriquecidos con suero fetal bovino y antibiótico, asegurando condiciones óptimas para el crecimiento celular (37 °C y una atmósfera con CO₂ al 5%). Asimismo, se llevaron a cabo procedimientos de descongelación controlada de crioviales, siembra inicial y mantenimiento de cultivos mediante subcultivos periódicos, garantizando la viabilidad, morfología y confluencia adecuadas para su uso experimental. El control de la densidad celular se realizó mediante conteo en cámara de Neubauer, lo que permitió estandarizar las condiciones de siembra y asegurar la reproducibilidad de los ensayos (Castaño & Zapata, 2000).

Posteriormente, se estableció un modelo de cocultivo entre ambas líneas celulares, con el propósito de simular interacciones fisiológicas entre células epiteliales pulmonares y monocitos, relevantes en procesos inflamatorios e inmunológicos. Este modelo fue expuesto a diferentes condensados de vapeo, lo que permitió evaluar el efecto de estos agentes sobre la modulación de marcadores celulares asociados a la respuesta inmune (Martínez, 2006).

En la fase analítica, se realizó la extracción de proteínas totales a partir de los cultivos celulares tratados, utilizando buffer de lisis tipo RIPA suplementado con inhibidores de proteasas, con el fin de evitar la degradación proteica y preservar la integridad de las muestras (Ramírez et. al, 2021). Las muestras obtenidas fueron almacenadas en condiciones controladas de temperatura para su posterior análisis.

Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas se llevó a cabo mediante el método colorimétrico de Lowry adaptado a microplaca, utilizando albúmina sérica bovina como estándar. A partir de la construcción de curvas de calibración y la medición de absorbancia a 750 nm, se determinaron las concentraciones proteicas de cada muestra, permitiendo la normalización de las cantidades de proteína a cargar en los geles de electroforesis (Herrera & Cardoso, 1999).

Determinación de la expresión de proteínas por Western Blot

Para la evaluación de la expresión de proteínas específicas, se implementó la técnica de Western Blot, considerada un método de referencia en la detección de proteínas. Esta técnica incluyó la separación de proteínas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE), seguida de su transferencia a membranas de PVDF.

Posteriormente, se realizó el bloqueo de sitios inespecíficos y la incubación con anticuerpos primarios dirigidos contra los marcadores CD68, CD35 y CD163, así como con anticuerpos secundarios conjugados con enzimas reporteras. La detección se efectuó mediante quimioluminiscencia, permitiendo visualizar las bandas correspondientes a cada proteína (de la Fuente González & Capdevila, 2007).

Análisis de resultados

Finalmente, se llevó a cabo el análisis densitométrico de las bandas obtenidas utilizando el software ImageJ, cuantificando la intensidad relativa de cada proteína en relación con un control interno (GAPDH). Este análisis permitió comparar la expresión de los marcadores entre los diferentes tratamientos y el grupo control, facilitando la interpretación de los efectos de los condensados de vapeo sobre la activación y polarización de monocitos/macrófagos en el modelo de cocultivo, no se pudo realizar prueba estadística ya que solo se realizó un experimento.

RESULTADOS

Expresión de CD163 en cocultivos expuestos a condensados de líquidos de vapeo

Se determinó la expresión de la proteína CD163 que es un marcador característico de macrófagos M2, relacionados con respuestas antiinflamatorias y procesos de reparación tisular. En el cocultivo, los tratamientos con mora y chocolate presentaron valores similares o ligeramente superiores al control (CV), sin diferencias marcadas. En contraste, tabaco, THC y VEA mostraron incrementos notorios en la expresión de CD163 comparado con el grupo CV, lo que sugiere que estos condensados pueden inducir un cambio hacia un fenotipo M2 en los monocitos/macrófagos del cocultivo.

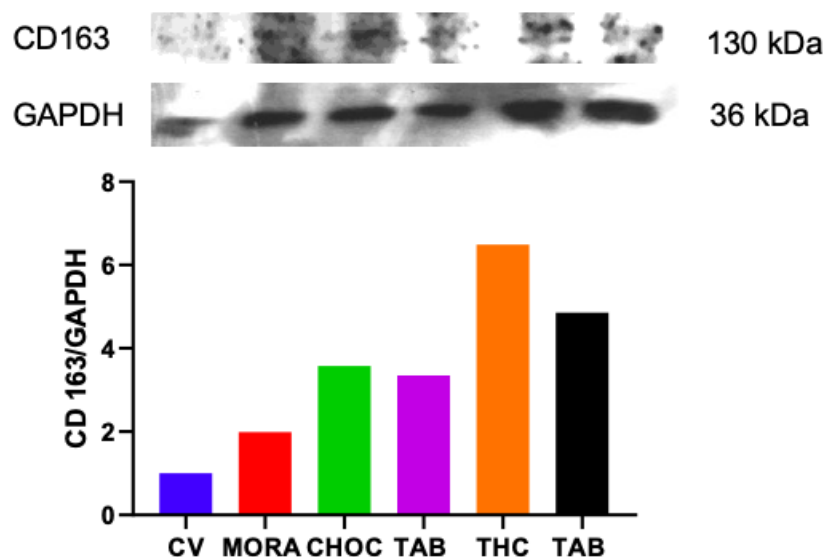


Figura 2. Expresión del marcador CD163 en cocultivos expuestos al condensado de líquidos de vapeo sabor mora (MORA), chocolate (CHOC), tabaco (TAB), tetrahidrocannabinol (THC) y acetato de vitamina E (VEA). La grafica es una representación de 1 experimento.

Expresión de CD35 en cocultivos expuestos a condensados de líquidos de vapeo

Se determinó la expresión de la proteína CD35 que es un receptor del complemento tipo 1, está asociado a la opsonización, activación de la vía del complemento y eliminación de complejos inmunes. La exposición a mora disminuyó la expresión de CD35 respecto al control, lo que indica una posible inhibición de la vía del complemento en estas condiciones.

En contraste, chocolate y tabaco mostraron un ligero aumento respecto al control, mientras que THC evidenció un incremento muy marcado en comparación con todos los demás tratamientos. Estos resultados sugieren que el THC puede activar fuertemente esta vía de respuesta inmune, mientras que otros sabores modulan la expresión de forma menos intensa.

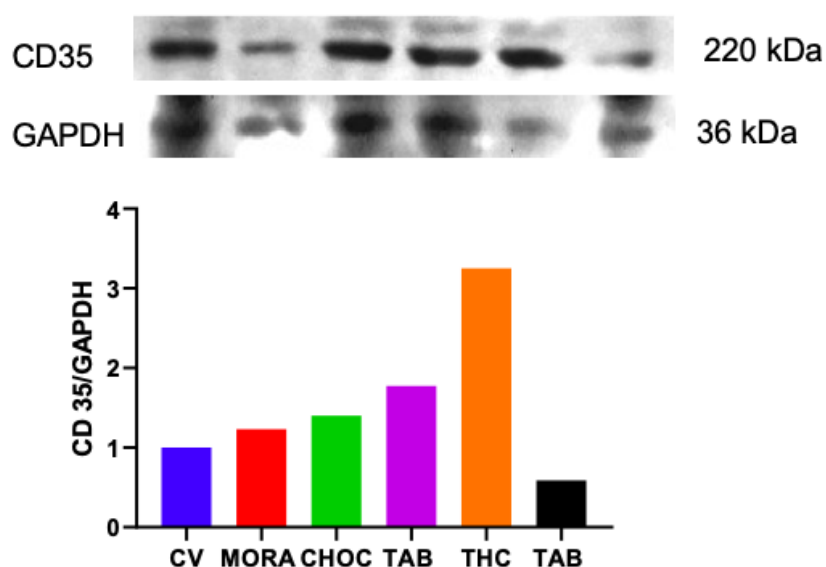


Figura 3. Expresión del marcador CD35 en cocultivos expuestos al condensado de líquidos de vapeo sabor mora (MORA), chocolate (CHOC), tabaco (TAB), tetrahidrocannabinol (THC) y acetato de vitamina E (VEA). La grafica es una representación de 1 experimento.

Expresión de CD 68 en cocultivos expuestos a condensados de líquidos de vapeo

Se determinó la expresión de la proteína CD68 que es una glicoproteína de membrana utilizada como marcador de macrófagos, asociada a fagocitosis y a un estado de activación general.

La exposición a mora, tabaco y VEA redujo la expresión en comparación con el control, lo que podría reflejar una disminución en la capacidad fagocítica o en el estado de activación global de los macrófagos en el cocultivo. Por el contrario, chocolate mostró un incremento notable en la expresión de CD68, seguido de THC con un aumento moderado, lo que indica que estos condensados promueven una mayor activación fagocítica en los macrófagos.

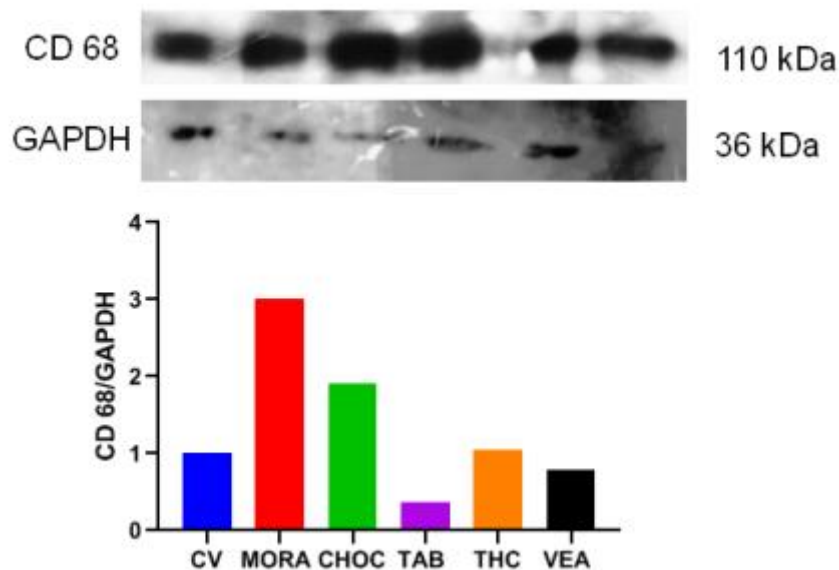


Figura 4. Expresión del marcador CD68 en cocultivos expuestos al condensado de líquidos de vapeo sabor mora (MORA), chocolate (CHOC), tabaco (TAB), tetrahidrocannabinol (THC) y acetato de vitamina E (VEA). La grafica es una representación de 1 experimento.

CONCLUSIÓN

Los resultados muestran que la exposición a condensados de vapeo modula de manera diferencial la expresión de CD163, CD35 y CD68 en el cocultivo A549–THP-1. Los condensados de tabaco, THC y VEA favorecieron un aumento en CD163, indicando una tendencia hacia un fenotipo M2 antiinflamatorio. El marcador CD35 se incrementó principalmente con chocolate, tabaco y, de manera marcada, con THC, lo que refleja activación de la vía del complemento.

Finalmente, CD68 se redujo con mora, tabaco y VEA, mientras que chocolate y THC lo incrementaron, evidenciando mayor actividad fagocítica. Este comportamiento sugiere que la composición de cada condensado puede dirigir respuestas inmunes distintas en el cocultivo, modulando tanto la activación proinflamatoria como antiinflamatoria de los monocitos/macrófagos.

VINCULACIÓN CON EL PLAN DE ESTUDIOS

La realización de este proyecto fue relevante debido al creciente uso de dispositivos de vapeo y la percepción errónea de que representan una alternativa segura al consumo de tabaco convencional. Sin embargo, la composición química de los condensados de vapeo incluye diversas sustancias potencialmente tóxicas capaces de inducir alteraciones en la función celular y en la respuesta inmunológica (Bello, 2020).

Por tal motivo, el estudio de la expresión de marcadores diferenciales en monocitos/macrófagos mediante modelos de cocultivo permite comprender de manera más precisa los efectos de estos compuestos a nivel pulmonar, particularmente en la modulación de procesos inflamatorios y de defensa inmunitaria. Aportando información complementaria para la evaluación del riesgo toxicológico y el desarrollo de estrategias de prevención en salud pública.

Las actividades realizadas durante el servicio social se relacionan directamente con la formación académica de la Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, particularmente con las áreas de biología celular, bioquímica, inmunología y toxicología. El manejo de cultivos celulares y el uso de modelos in vitro retoman conocimientos adquiridos en unidades de enseñanza-aprendizaje relacionadas con biología celular y técnicas experimentales. La extracción y cuantificación de proteínas se vinculan con contenidos de bioquímica, especialmente en el estudio de macromoléculas y métodos analíticos.

Por su parte, la técnica de Western Blot integra principios de química analítica, biología molecular e inmunología, al permitir la detección específica de proteínas mediante anticuerpos. Asimismo, el análisis de la respuesta celular frente a condensados de vapeo se relaciona con la toxicología, al evaluar efectos de agentes químicos sobre sistemas biológicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Bello, S. (2020). Daño pulmonar asociado al uso de cigarrillos electrónicos-vapeadores. *Revista chilena de enfermedades respiratorias*, 36(2), 115-121.
2. Castaño, M. E., & Zapata, J. C. (2000). Cultivos celulares. *Fondo Editorial Biogénesis*, 49-64.
3. de la Fuente González, A., Lozano, J. R., & Capdevila, E. F. (2007). Análisis de proteínas mediante electroforesis e inmunotransferencia (Western Blot). *Piel*, 22(5), 252-258.
4. Herrera, Y., Heras, N., & Cardoso, D. (1999). Adaptación a microplacas y validación de la técnica de Lowry. *VacciMonitor*, 3, 7-11.
5. Martínez Manrique, C. E. (2006). Modulación de la respuesta inmune: tendencias actuales. *Revista cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(4), 0-0.
6. Ramírez-Carreto, S., Miranda-Zaragoza, B., & Rodríguez-Almazán, C. (2021). Purificación de proteínas. *Mensaje bioquímico*, 45(1), 35-47.