



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA - UNIDAD XOCHIMILCO

División académica:

Ciencias Biológicas y de la Salud

Licenciatura:

Química Farmacéutica Biológica

Informe de Conclusión de Servicio Social:

Apoyo en actividades relacionadas con la evaluación del efecto antiasmático de extractos de *Juglans regia* en modelos animales *ex vivo* e *in vivo*

Presenta:

Carlos Gustavo Alcántara Cordero
Matrícula - 2183027065

Asesor Interno:

Dra. Rubria Marlen Martínez Casares
Número Económico: 41833

Asesor Externo:

Dra. Angélica Flores Flores
Cédula de Doctorado: 11760801

Lugar de realización:

Laboratorio de Inmunofarmacología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas".

Fecha de inicio: 16 de enero del 2023.

Fecha de finalización: 16 de julio del 2023.

V.º B.º Asesor interno



Dra. Rubria Marlen Martínez Casares

Número Económico: 41833

Departamento de Sistemas Biológicos, Ciencias Biológicas y de la Salud,
Universidad Autónoma Metropolitana.

V.º B.º Asesor externo



Dra. Angélica Flores Flores

Cédula de Doctorado: 11760801

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas", Unidad
de Investigación, Laboratorio de Inmunofarmacología.

V.º B.º Responsable del proyecto



Carlos Gustavo Alcántara Cordero

Matrícula: 218302765

1. Introducción:

El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas" (INER), es un organismo público adscrito al Sector Salud del país, que forma parte de los Institutos Nacionales de Salud, siendo así una institución que brinda servicios de atención médica, docencia e investigación biomédica especializada en enfermedades del aparato respiratorio. Como institución, su misión consiste en mejorar la salud respiratoria de los individuos y las comunidades a través de la investigación, la formación de recursos humanos y de la atención médica especializada; mientras que su visión se enfoca en convertir el Instituto en una entidad nacional normativa en salud respiratoria y el principal sitio de enseñanza, investigación, promoción y atención de alta especialidad, con competitividad nacional e internacional. El INER prioriza la investigación, prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades respiratorias para mejorar la salud respiratoria de la población mexicana. El Servicio Social se realizó en el Laboratorio de Inmunofarmacología de este instituto, para aplicar los conocimientos y habilidades adquiridos a la evaluación química y farmacológica de compuestos de uso terapéutico, así como para la construcción y desarrollo de habilidades, además de participar en equipos interdisciplinarios que colaboren a la solución de problemas de salud en el país, en este caso particularmente para el asma.

2. Objetivos:

a. Objetivo general

- i. Colaborar activamente en las evaluaciones *ex vivo* e *in vivo* de extractos de plantas medicinales en modelos animales realizadas en el Laboratorio de Inmunofarmacología.

b. Objetivos específicos

- i. Realizar una revisión bibliográfica sobre el impacto del asma en la salud pública a nivel nacional e internacional.
- ii. Realizar técnicas inmunológicas cualitativas y cuantitativas a muestras provenientes de roedores.
- iii. Comunicar mediante un seminario las potenciales aplicaciones de la farmacognosia.

3. Actividades realizadas:

Se realizó una revisión bibliográfica sobre diversas enfermedades respiratorias, especialmente del asma, la cual es una patología de gran relevancia en la salud pública, con la finalidad de comprender los aspectos clínicos y fisiológicos de esta patología y revisar las últimas investigaciones y su avance en el campo. La revisión fue realizada utilizando PubMed, se revisaron 10 artículos científicos publicados entre los años 2014 - 2022, que abordaban las características fisiopatológicas de la enfermedad en el sistema respiratorio y los factores que predisponen su aparición y complicación, así como los regímenes farmacológicos actuales y los acercamientos del uso de productos naturales como tratamientos complementarios al asma. Con esta revisión se logró una comprensión más detallada de los mecanismos inmunológicos involucrados en las afecciones respiratorias como el asma. Además se examinaron 3 artículos científicos publicados entre 2017 y 2021 sobre la evaluación farmacológica de compuestos *in vivo* y *ex vivo* para, se realizó una comparación de sus características, propósito, ventajas y desventajas.

Se colaboró en la evaluación del efecto traqueorelajante *ex vivo* de extractos hexánico, diclorometanólico y metanólico de hoja y fruto de *Juglans regia* en comparación con el efecto de un vehículo (Tween 80) y un control positivo del que se conozca su efecto relajante en las vías respiratorias (teofilina), con la finalidad de comprender si los compuestos presentes en los extractos modifican la función de constricción de los anillos traqueales y, de ser así, su potencial utilidad como agentes terapéuticos.

Se colaboró en el desarrollo de un modelo de asma crónico en cobayos, que alcanzó el día 120 del experimento. Inicialmente, se sensibilizaron a 12 cobayos mediante una inyección intraperitoneal de ovoalbúmina, con hidróxido de aluminio como adyuvante, mientras que otros 6 fueron considerados para el experimento sin ser sensibilizados (controles). Utilizando un pletismógrafo, en ciclos de 10 días, se realizaron mediciones a los índices de broncoobstrucción tanto en condiciones basales como posteriores a un reto antigénico con ovoalbúmina, este tipo de reto antigénico es relevante para imitar las reacciones alérgicas observadas en pacientes asmáticos. El modelo fue diseñado para simular las condiciones de asma a largo plazo y permitir el estudio de los mecanismos subyacentes de la enfermedad en un contexto experimental controlado.

Se realizaron inmunohistoquímicas a cortes de tejidos pulmonares y traqueales obtenidos de cobayos y se establecieron los tiempos y las proporciones más

apropiadas para los anticuerpos ACTA2, ACTB, ACTG1, MYH11, MYL9, FLNA, RG1y TGLNA para obtener resultados precisos y confiables por triplicado. Además, se cuantificó el número de células inmunitarias y proteínas presentes en muestras sanguíneas recolectadas de los cobayos. Estas cuantificaciones proporcionaron datos cuantitativos esenciales para evaluar la respuesta inmune en el contexto de enfermedades respiratorias.

Se procesaron muestras de tejidos pulmonares, traqueales, de hígado y de corazón, preservando su estructura y características originales, provenientes de cobayos tanto grupos control como en grupos sensibilizados con ovoalbúmina, para su inclusión en bloques de parafina y un posterior análisis histológico.

Se obtuvieron lavados bronquioalveolares de ratones y cobayos. Además, de muestras sanguíneas obtenidas de cobayos se separó el plasma del material plaquetario mediante un procedimiento de centrifugación. Una vez separados, los componentes sanguíneos y los lavados bronquioalveolares fueron almacenados en ultracongelador para preservar su integridad y viabilidad a lo largo del tiempo y ser utilizados en futuros ensayos. Además, se realizaron una serie de tinciones de Romanowsky en botones celulares, lo que permitió visualizar y analizar la morfología y composición de las células bajo estudio. También se determinó la cantidad de glucosa en sangre en un grupo de ratones hiperglucémicos.

Se realizaron cálculos matemáticos con el fin de obtener soluciones a diferentes concentraciones. Estas soluciones, cuidadosamente preparadas, fueron almacenadas en refrigeración para su uso en los ensayos y experimentos planificados, y así preservar la estabilidad y la integridad de las muestras.

Se identificaron los compuestos presentes en una solución de salbutamol mediante cromatografía de capa fina para determinar si había presencia de impurezas.

Se participo en la revisión de literatura para la redacción de un apartado para un artículo de revisión centrado en el impacto de las plantas medicinales en la población mexicana, donde se revisaron numerosos estudios científicos, literatura especializada y fuentes relevantes entre los años 2001 y 2023, para obtener una visión completa y actualizada sobre el uso tradicional y actual de plantas medicinales en la medicina herbolaria. El apartado redactado proporciona un análisis detallado de los beneficios y desafíos asociados con el empleo de plantas medicinales en la salud de la población, el aporte que tienen a la medicina moderna

y a la investigación contemporánea para la obtención de alternativas terapéuticas en el tratamiento de enfermedades y padecimientos.

Se impartió un seminario de la farmacognosia y sus diversas aplicaciones en el campo de la ciencia farmacéutica, así como la obtención de principios activos provenientes de productos naturales, profundizando en las técnicas de extracción, aislamiento y purificación de compuestos bioactivos presentes en plantas y otros organismos naturales, desde métodos tradicionales hasta técnicas más modernas y avanzadas. Se presentaron ejemplos prácticos que resaltaron la importancia de la farmacognosia en la búsqueda de nuevos medicamentos y en el desarrollo de terapias alternativas basadas en productos naturales.

La hoja y fruto de *Juglans regia* se maceraron con diferentes disolventes orgánicos como hexano, diclorometano y metanol, seleccionados cuidadosamente para extraer diferentes clases de compuestos bioactivos presentes en las muestras vegetales. Se realizó una evaluación rigurosa para determinar su actividad antioxidante. Para ello, se utilizó el método del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), una técnica ampliamente reconocida para medir la capacidad antioxidante de sustancias naturales. La actividad antioxidante de los extractos hexánico, diclorometánico y metanólico de las hojas de *Juglans regia* fue estandarizada y posteriormente evaluada con precisión y reproducibilidad, lo que proporcionó datos valiosos sobre el potencial antioxidante de los compuestos presentes en esta parte de la planta.

Se realizaron soluciones amortiguadoras de distintas sales para el ajuste y mantenimiento óptimo de los niveles de pH en diversos experimentos y análisis bioquímicos, así como para la realización de ensayos en condiciones específicas y el estudio de reacciones a pH controlados que buscaban imitar de manera precisa situaciones biológicas, mismos que fueron necesarios para el desarrollo de las actividades.

4. Vínculo de las actividades desarrolladas con los objetivos de formación del plan de estudios:

El egresado de Química Farmacéutica Biológica de la Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco es un profesional altamente capacitado con una formación integral y diversificada que le permite abordar de manera efectiva los problemas de salud en México y en el ámbito global. Gracias a su formación sólida en distintas áreas, está preparado para enfrentar los desafíos que surgen en el campo de la salud, considerando las diversas variables y complejidades inherentes a la problemática. Durante su formación, el egresado adquiere conocimientos teóricos sólidos y desarrolla habilidades técnicas que lo capacitan para intervenir de manera competente en el ámbito profesional. La participación en el Laboratorio de Inmunofarmacología, donde se aplican técnicas inmunológicas y se evalúa la actividad farmacológica de extractos de productos naturales, representó una experiencia valiosa y enriquecedora para el desarrollo de estas competencias.

Las actividades realizadas en el Laboratorio de Inmunofarmacología del INER implicaron enfrentar desafíos científicos y técnicos, lo que fomenta el desarrollo de habilidades analíticas, capacidad de resolución de problemas y pensamiento crítico. Además, la experiencia en este entorno promueve la colaboración, el trabajo en equipo y el desarrollo de habilidades interpersonales, aspectos esenciales para el éxito en la profesión de QFB. En el entorno de laboratorio y en relación con las actividades desarrolladas durante el período de Servicio Social, se aplicaron los conocimientos adquiridos durante las Unidades de Enseñanza Aprendizaje Obtención de compuestos orgánicos de interés farmacéutico (modulo V), los fármacos como modificadores de funciones biológicas y prevención (modulo VII) y control de la propagación microbiana, se abordan temas específicos relacionados con los productos naturales (modulo X), la farmacología y la inmunología.

Los módulos V y VII se vinculan con las actividades realizadas en el servicio social, fundamentalmente en la aplicación de la farmacognosia como estrategia, desde las fases preclínicas, en el desarrollo de nuevos fármacos que respondan a problemáticas de salud en México, la evaluación de extractos de productos naturales como posibles alternativas terapéuticas ha cobrado relevancia en aquellos padecimientos donde aún no se ha logrado un tratamiento efectivo y universal, como es el caso del asma, así, la aplicación de la farmacognosia como estrategia resalta debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que pueden encontrarse, encontrar una posible diana terapéutica y estudiar su mecanismo mediante los diferentes ensayos desarrollados, así como las

evaluaciones *in vivo* en modelos de cobayo y ratón, las evaluaciones traqueorelajantes *ex vivo*, así como las evaluaciones de la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos. Con respecto al módulo X la relación con el servicio social es directa con el área de inmunología, abordada desde la perspectiva celular y los mecanismos de respuesta de los extractos a haptenos, inmunógenos y agentes infecciosos, involucrando la realización de técnicas cualitativas y cuantitativas a muestras, las cuales fueron desarrolladas en el laboratorio durante el desarrollo del Servicio Social.

La interdisciplinariedad de esta experiencia, que combina aspectos de ramas diversas de la Química y la Biología, brinda una perspectiva más amplia y completa de la ciencia y la práctica profesional. Además, la oportunidad de colaborar en investigaciones y experimentos en el laboratorio contribuyó al avance del conocimiento en el campo de la inmunofarmacología y a la generación de información relevante para el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos, orientados particularmente a extractos de productos naturales, ya que también amplió la visión individual sobre el potencial terapéutico de compuestos derivados de plantas y otros organismos naturales, desde una perspectiva responsable y sustentable del medio ambiente.

5. Metas alcanzadas:

Durante el período de Servicio Social, se logró aplicar de manera efectiva el conocimiento teórico obtenido en las Unidades de Enseñanza Aprendizaje y se adquirieron y fortalecieron habilidades técnicas esenciales que forman parte integral de la formación prevista en el plan de estudios de la licenciatura.

La realización del seminario y la redacción de un apartado de un artículo de revisión sobre la farmacognosia fomentó tanto la divulgación científica como la educación continua en este campo específico. Esta iniciativa contribuyó al avance personal en el conocimiento sobre el tema, así como a la audiencia presente o a futuros lectores, al brindarles una oportunidad para expandir su comprensión de la farmacognosia, ya que proporcionaron un espacio valioso para la actualización de información, lo que en última instancia enriqueció la comprensión global de la farmacognosia y sus aplicaciones.

Formar parte en la dinámica e interacción de un laboratorio multidisciplinario me permitió ampliar horizontes y estar al tanto de los avances y desafíos en el uso de productos naturales como fuentes potenciales de principios activos para el desarrollo de nuevos fármacos y terapias médicas que contribuyan a resolver problemas de salud en el país.

6. Conclusión:

La actividad biológica que pueden tener los extractos de productos naturales se debe a la gran cantidad de metabolitos secundarios que pueden extraerse, para después ser evaluados en modelos *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo*, lo que da como resultado una aproximación a los potenciales efectos benéficos a la salud. Además, la evaluación de extractos de productos naturales como posibles alternativas terapéuticas ha cobrado relevancia en aquellos padecimientos donde aún no se ha logrado un tratamiento efectivo y universal, como el asma. En el presente proyecto se colaboró en la evaluación del efecto antiasmático de extractos de *Juglans regia*, y se obtuvo que el extracto en hexano es el que presentó una mayor relajación de los anillos traqueales en los ensayos *ex vivo*. Además, se observó que el mayor efecto antioxidante se da con extracto metanólico de la hoja. En ambos casos, los resultados indican la ruta a seguir para el posterior aislamiento de las moléculas responsables de la actividad observada.

Por último, la participación como Servicio Social en el Laboratorio de Inmunofarmacología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas", representó una etapa crucial en la formación personal como egresado de QFB de la UAM - Unidad Xochimilco, donde fueron aplicados los conocimientos y habilidades adquiridas durante la formación académica y fortaleció la preparación profesional individual para enfrentar los retos de la salud en México y más allá de sus fronteras.