

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

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO(A) EN BIOLOGÍA

Determinar el efecto en la apoptosis por la exposición subtóxica de partículas  $PM_{2.5}$   
en cultivos primarios de líquido pleural de pacientes con cáncer de pulmón.

QUE PRESENTA LA ALUMNA

Martha Mairani Canseco Osorio

Matricula: 2192034694

ASESORES



Dr. Jorge Castro Mejía (Interno)

Laboratorio de Producción de Alimento Vivo. CBS. Dep. El hombre y su ambiente.



Dr. Jesús Valencia Cervantes (Externo)

Departamento de Investigación en Toxicología y Medicina Ambiental.

## Índice

Marco Institucional del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias (INER), Ismael Cosío Villegas .....	
Ubicación geográfica.....	
Misión, Visión y Objetivo General del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias .....	
Justificación.....	
Aporte a la sociedad .....	
Objetivo general.....	
Objetivos particulares.....	
Especificación de las Actividades realizadas de acuerdo con el calendario propuesto .....	
Aprendizaje de habilidades obtenidas.....	
Bibliografía .....	

**Determinar el efecto en la apoptosis por la exposición subtóxica de partículas PM2.5 en cultivos primarios de líquido pleural de pacientes con cáncer de pulmón.**

**Marco Institucional del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias (INER), Ismael Cosío Villegas**

El INER es fruto de un contexto histórico marcado por una labor asistencial impecable y admirable a lo largo de cuatro diferentes pandemias. El ser capaces de aprender de nuestra historia, aciertos y errores provee capacidad a este proyecto de generar una visión innovadora, coherente y congruente. Conforme el Instituto y el sistema de salud mismo han ido cambiando a la largo del tiempo, se ha ido formando una estructura jurídica diseñada para alimentar la toma de decisiones. Dicha normativa, desde la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos hasta el Programa Sectorial en Salud actual, define las funciones y atribuciones de la Dirección General del Instituto y al mismo tiempo delimita la orientación que, un proyecto estratégico como este, debe de tomar para ser congruente con la política pública y normativa de salud a nivel nacional. A través de una estructura organizacional sólida, reformada y actualizada por los Directores Generales previos, el proyecto estratégico cobra importancia como el principal mecanismo para implementar este plan de trabajo en resultados concretos y visibles. El INER es y será siempre resultado del valor de su gente. Es así como el Marco Institucional aquí planteado informa y moldea un proyecto estratégico institucional que busca innovar procesos en pro de ofrecer mejor servicios y expandir el impacto que el INER tiene sobre la salud respiratoria de los mexicanos.

**Ubicación geográfica**

El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias INER está ubicado en Avenida Calzada de Tlalpan 4502, Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, alcaldía Tlalpan ciudad de México. Zona ubicada al sur de la ciudad de México delimitada por las avenidas Calzada de Tlalpan, Periferico Sur, Viaducto Tlalpan y Av. San Fernando.

## Misión, Visión y Objetivo General del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

- **Misión:** Mejorar la salud respiratoria de los individuos y las comunidades a través de la investigación, la formación de recursos humanos y la atención médica especializada.
- **Visión:** El INER debe ser la entidad nacional normativa en salud respiratoria y el principal sitio de enseñanza, investigación, promoción y atención de alta especialidad, con competitividad nacional e internacional.
- **Objetivo general:** Identificar los compromisos, aplicar los valores y las reglas de integridad en nuestra Institución aunados a las actitudes positivas que debemos conservar en todo momento para enriquecer nuestra cultura e identidad institucional. Asimismo, ofrecer pautas que fortalezcan los deberes sumados a los valores y responsabilidad social que tienen las y los servidores públicos del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

### Justificación

Durante mi estancia en el Departamento de Toxicología y Medicina Ambiental en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), he decidido llevar a cabo mi servicio social realizando actividades teóricas y prácticas evaluando la influencia de material particulado PM2.5 en la apoptosis de cultivos primarios de líquido pleural de pacientes con cáncer de pulmón. Información reciente de la agencia especializada en cáncer de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) mostró un mayor riesgo de cáncer de pulmón con el aumento de los niveles de exposición a las partículas y la contaminación atmosférica (IARC, 2020). Es importante destacar que la composición de la contaminación del aire y los niveles de exposición pueden variar, lo que aumenta los riesgos para una amplia gama de enfermedades, incluyendo infecciones respiratorias y cardíacas (Medina, 2019). Estudios recientes indican que, en los últimos años, los niveles de exposición a material particulado PM2.5 han experimentado un aumento significativo en diversas partes del mundo, especialmente en países con un rápido proceso de industrialización y una alta densidad de población (Becerra, 2020). De hecho, en

2010, se registraron 223,000 muertes por cáncer de pulmón en todo el mundo debido a la contaminación del aire (IARC, 2020).

El cáncer de pulmón se ha convertido en un importante desafío de salud pública, siendo una de las principales causas de mortalidad tanto en México como en el mundo (Rascón-Pacheco, 2020). En 2020, se estimó que se diagnosticaron más de 2 millones de casos de cáncer de pulmón en todo el mundo, con aproximadamente 1.8 millones de muertes atribuibles a esta enfermedad (IARC, 2020). En México, se documentaron 7,811 nuevos casos y 6,733 muertes relacionadas con el cáncer de pulmón, por lo que este presenta una alta mortalidad, en gran parte debido a su naturaleza asintomática y silenciosa, lo que dificulta su detección temprana ya que tan solo el 0.6% de los casos se diagnostica en etapas tempranas (Arroyo- Hernández, 2020). Por lo tanto, es esencial contar con información detallada sobre la identificación de biomarcadores que puedan mejorar la detección oportuna y el tratamiento, lo que a su vez mejoraría la calidad de vida de los pacientes (Rojas-Martínez, 2020). Además, es crucial comprender el impacto de la contaminación ambiental, especialmente la relacionada con las partículas PM2.5, en la incidencia y progresión de esta enfermedad, con el fin de desarrollar estrategias de tratamiento efectivas y, en última instancia, reducir la exposición a la contaminación (Arcos-Medina, 2018).

Es por ello que la biología desempeña un papel fundamental en la comprensión de los procesos celulares y moleculares que subyacen a numerosas enfermedades y fenómenos biológicos, y a través de los conocimientos adquiridos durante mi estancia en el servicio social, se plantea reforzar los conocimientos adquiridos en los módulos de "Procesos celulares fundamentales" identificando técnicas mediante las cuales se evalúa el desarrollo de la respuesta inmunitaria, división celular, ciclo celular y muerte celular, reforzando conocimientos en la preparación de soluciones para biología celular y molecular, siendo un paso fundamental en la investigación científica; "Historias de vida" ya que se analiza la historia de vida de los seres vivos y su aplicación en el diagnóstico de las condiciones que afectan a la productividad de una población, tomando en cuenta la relación entre los ciclos biológicos y el cómo afectan a los ciclos celulares; "Plagas y enfermedades" ya que se identificaran diferentes factores internos y externos que determinen la causa posible de en este caso los patógenos y las enfermedades, además se comprenderá la manifestación de estas enfermedades, como una manifestación de causas naturales como una compleja

interacción de causas naturales y antrópicas, por lo que se podrán proponer estrategias para su posible control.

### **Aporte a la sociedad**

Durante mi servicio social analizaré cómo las partículas PM2.5 afectan a nivel celular en pacientes con cáncer de pulmón, lo cual podría contribuir a una mejor comprensión de la relación entre la contaminación del aire y el cáncer de pulmón. Esto podría ayudar a las autoridades de salud pública a tomar decisiones más informadas sobre políticas de control de la contaminación y regulaciones ambientales. Por otro lado, la búsqueda de biomarcadores para la detección temprana y el tratamiento del cáncer de pulmón es de gran importancia. ya que al identificar biomarcadores específicos relacionados con la exposición a partículas PM2.5, podría tener un impacto directo en la mejora de las tasas de detección temprana y el desarrollo de tratamientos más efectivos.

### **Objetivo general**

Evaluar la respuesta en la apoptosis provocado por la exposición de PM2.5 en cultivos primarios de líquido pleural de pacientes con cáncer de pulmón.

### **Objetivos particulares**

- Preparar soluciones y reactivos necesarios aplicando técnicas de biología celular y molecular
- Ejecutar técnicas, tales como: extracción de proteínas, cuantificación de proteínas y cinéticas de actividad enzimática.
- Mantenimiento de cultivos celulares en condiciones óptimas.
- Realizar un análisis estadístico adecuado de los datos obtenidos en cada una de las técnicas y experimentos

### **Especificación de las Actividades realizadas de acuerdo con el calendario propuesto**

Las actividades que se realizaron durante mi estancia en el departamento de toxicología y medicina ambiental en el INER, consistieron en las siguientes etapas:

- I. Se prepararon medios de cultivos y mantenimiento de células, la línea celular utilizada para el proyecto será A549 provenientes de un carcinoma alveolar, estas células se cultivaron en medios DMEM (SIGMA ALDRICH), suplementado con 10 % de suero fetal bovino previamente inactivado (BIOWEST) y 1 mg mL<sup>-1</sup> de antibiótico Penicillin-Streptomycin (gibco), en condiciones de 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>.
- II. La extracción de proteínas, se realizó cuando la confluencia sea del 90 % o después del tratamiento experimental, donde se retirará el medio DMEM suplementado y se realizaron 3 lavados con PBS 1x, agregando 500 µl de buffer de lisis (10 mM Tris-HCl pH8.0, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl), con 1 mM de inhibidor de proteasas (Mini-Complete protease inhibitor cocktail, Roche) y 1 mM PMSF (Sigma-Aldrich). Las células se lisan y se recuperará la suspensión celular, esta fué sonicada por cuatro minutos en condiciones frías y se centrifugó a 13,000 rpm a 4°C por 10 min, recuperando el sobrenadante y almacenado a -70°C.
- III. Se realizó una cuantificación de proteínas por método de Lowry, y se utilizó albúmina sérica bovina (BSA) como estándar de referencia. Las muestras serán homogeneizadas y procesadas por triplicado, añadiendo primero el reactivo de Lowry y agitando por 10 min (350 rpm), después se agrega el reactivo de Folin (1:5, V/V) y se agitó por 20 minutos (350 rpm), y finalmente se determinará absorbancia a  $\lambda = 620$  nm (LabSystems, Multiskan MS) y se calculará la concentración de proteína total (Al-Soufi, 2020).
- IV. Se realizó la cuantificación de la actividad de superóxido dismutasa (SOD). La formación de nitrito a partir de cloruro de hidroxilamonio se determinará bajo las siguientes condiciones utilizando una mezcla de incubación de 2 ml de volumen total con agua destilada, 0.5 ml con buffer de fosfatos 1.0 ml, xantina oxidasa 0.3 ml, xantina 0.1 ml, cloruro de hidroxilamonio 0.1 ml. La reacción se iniciará mediante la adición de xantina oxidasa a una temperatura de 25°C durante 20 min. La determinación de nitrito como producto de la oxidación de hidroxilamonio, se tomará 0.5 ml de la mezcla de reacción anterior y agrega a 0.5 ml solución de ácido sulfanílico y 0.5 ml de solución de  $\alpha$ -naftilamina y agitar. Se incubó a temperatura ambiente durante 20 min y se determinará la absorbancia a 530 nm con lector de microplacas LabSystems Multiskan MS.

durante 3 min a intervalos de 30 segundos. Luego se medirá la oxidación de NADPH después de la adición de 100  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1.5 mM a 340 nm durante 3 min. Una unidad de actividad de GPx se definirá como la cantidad de proteína que oxida 1  $\mu$ M de NADPH por minuto.

### 6.9. Análisis estadísticos

De acuerdo a la distribución de los datos de los distintos procedimientos experimentales, se evaluará la normalidad por la prueba de Shapiro-Wilks. De acuerdo a las pruebas de normalidad, se aplicará estadística paramétrica con el promedio  $\pm$  desviación estándar (DE). Las diferencias entre los grupos serán comparadas mediante el análisis de varianza (ANOVA) o Kruskal-Wallis para las variables dimensionales con sus correspondientes pruebas posthoc para los datos que cumplen con la estadística paramétrica y no paramétrica, respectivamente. El análisis estadístico se realizará con GraphPad Prism 8.0 (La Jolla, CA). Los valores de probabilidad,  $P < 0.05$  serán considerados estadísticamente significativos.

### CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES SERVICIO SOCIAL

ACTIVIDAD	Mes-1	Mes-2	Mes-3	Mes-4	Mes-5	Mes-6
1. Preparación de soluciones para biología celular y molecular.						
2. Ejecución técnica: extracción de proteínas, cuantificación de proteínas, western blot, cinéticas de actividad enzimática.						
3. Mantenimiento de cultivos celulares.						
4. Análisis estadístico de datos.						
5. Preparación del informe final						

- V. Determinación de la actividad de glutatión peroxidasa (GPx). Las muestras fueron sonicadas con 500  $\mu$ l con buffer de fosfatos 50 mM (pH 7,8) con 1 mM de EDTA, 1 mM de NaN<sub>3</sub>, 10 mM de GSH y 2.4 unidades/ml de GR durante 10 min. Después de la adición de 100  $\mu$ l de 1.5 mM de NADPH, se determinará la oxidación de NADPH a 340 nm durante 3 min a intervalos de 30 segundos. Luego se medirá la oxidación de NADPH después de la adición de 100  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1.5 mM a 340 nm durante 3 min. Una unidad de actividad de GPx se definirá como la cantidad de proteína que oxida 1  $\mu$ M de NADPH por minuto.
- VI. De acuerdo a la distribución de los datos de los distintos procedimientos experimentales, se evaluó la normalidad por la prueba de Shapiro-Wilks. De acuerdo a las pruebas de normalidad, se aplicará estadística paramétrica con el promedio  $\pm$  desviación estándar (DE). Las diferencias entre los grupos serán comparadas mediante el análisis de varianza (ANOVA) o Kruskal-Wallis para las variables dimensionales con sus correspondientes pruebas poshoc para los datos que cumplen con la estadística paramétrica y no paramétrica, respectivamente. El análisis estadístico se realizará con GraphPad Prism 8.0 (La Jolla, CA). Los valores de probabilidad,  $P < 0.05$  serán considerados estadísticamente significativos.

### **Aprendizaje de habilidades obtenidas**

Durante mi servicio social, tuve la oportunidad de adquirir habilidades y conocimientos en el campo de la biología celular y molecular. Una parte significativa de mi labor involucró el manejo de equipos de laboratorio, así como la preparación de reactivos y materiales para experimentos de biología celular y molecular. Por otro lado, me familiaricé con la preparación de soluciones utilizadas en diversos procedimientos, incluyendo la cultivo de células de la línea A549, derivadas de un carcinoma alveolar, en medios DMEM. Además, desarrollé habilidades en el manejo de material biológico, como muestras de suero, plasma y orina, garantizando su integridad y adecuado almacenamiento.

Durante mi tiempo de servicio, también obtuve conocimientos en la utilización de la campana extractora en cuartos de cultivo, así como en el cumplimiento riguroso de los protocolos de seguridad, bajo la supervisión de un asesor experimentado.

De igual forma, también adquirí habilidades prácticas, como la determinación de la concentración de proteínas totales mediante el método de Lowry y la evaluación de marcadores de estrés oxidante, utilizando técnicas especializadas.

Participé en experimentos in vivo, donde expuse cobayos a vapeadores de nicotina, seguido de la disección para la extracción de órganos y evaluación de marcadores de estrés oxidante. Esta experiencia me permitió aplicar mis conocimientos teóricos en un entorno práctico y contribuir al avance de la investigación en el campo de la salud respiratoria.

Finalmente tuve la oportunidad de participar activamente en seminarios, donde enriquecí mis conocimientos en temas como PCR, genotipificación, efectos de la ceniza volcánica y respuesta pulmonar a la exposición de PM2.5. Además, tuve la oportunidad de presentar un seminario sobre la respuesta pulmonar de la rata a la exposición de PM2.5 en diferentes condiciones de estrés, reforzando así mi capacidad para comunicar eficazmente resultados de investigación e interactuar con expertos en el campo.

En resumen, mi servicio social me brindó una experiencia invaluable, donde pude desarrollar habilidades prácticas y teóricas en el campo de la biología celular y molecular, contribuyendo al avance del conocimiento científico y a mi crecimiento profesional.

## Bibliografía

- Al-Soufi, W., BARCIA VIÉITEZ, R. A. M. I. R. O., & NOVO RODRÍGUEZ, M. E. R. C. E. D. E. S. (2020). Determinación de proteínas co kit fotometrix. Boletín das ciencias, 33(91), 43-44.
- Arcos-Medina, G., Armijos-Arcos, F., Oñate-Andino, M. A., Pastor, D., & Jerves-Cobo, R. (2018). Simulación para Estimación de Muertes por Cáncer de Pulmón por Contaminación Ambiental de PM2. 5.. Ciencia Unemi, 11(27), 97-110.
- Arroyo-Hernández, M., Zinser-Sierra, JW y Vázquez-García, JC (2020). Detección temprana de cáncer de pulmón en México. salud pública de México, 61, 347-351.
- Becerra Pérez, L. A., & Ramos Álvarez, R. A. (2020). Evaluación Del Impacto En La Salud Por Partículas PM2. 5. En: Sinaloa, México. Revista internacional de contaminación ambiental, 36(2), 249-259.
- International Agency for Research on Cancer. Cancer Today. Global Cancer Observatory 2020. IARC, WHO, 2020. Disponible en: <http://bit.ly/3bsvutw>
- International Agency for Research on Cancer. Cancer Today. México. Global Cancer Observatory 2020. IARC, WHO, 2020. Disponible en: <http://bit.ly/3qLjSbg>
- Mahmood, T. y Yang, PC (2012). Western blot: técnica, teoría y resolución de problemas. Revista norteamericana de ciencias médicas, 4 (9), 429.
- Medina Palacios, E. K. (2019). La contaminación del aire, un problema de todos. Revista de la Facultad de Medicina, 67(2), 189-191.
- Rascón-Pacheco, R. A., González-León, M., Arroyave-Loaiza, M. G., & Borja-Aburto, V. H. (2020). Incidencia, mortalidad y costos de la atención por cáncer de pulmón en el Instituto Mexicano del Seguro Social. salud pública de México 1, 257-264.
- Rojas-Martínez R, Escamilla-Núñez C, Meza R, et al. Mortalidad por cáncer de pulmón en México, 1990 a 2016: efecto edad-periodo-cohorte. Salud Pública Mex. 2019;61:230-239. Disponible en: <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/9962>