Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL
TÍTULO:

"Determinación de las proteínas para el estudio de la progresión de la nefropatía diabética en un modelo experimental"

Presenta:
Danae Regino Pérez
Matrícula: 2213058721

Periodo de realización: 01 de abril del 2025- 01 de octubre del 2025

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón
Asesor interno:
No. Eco. 38889

Luz Graciela Cervantes Pérez
Invest. Ciencias Médicas

Dra. Luz Graciela Cervantes Pérez
Asesor externo:
13829703

Ciudad de México, a 13 de junio de 2026

ÍNDICE

1. Introducción
2. Antecedentes
    2.1 Diabetes mellitus
    2.2 Nefropatía diabética
    2.3 Biomarcadores en nefropatía diabética
    2.4 Función renal y transporte de glucosa
    2.5 Transportadores SGLT-1 y SGLT-2
    2.6 Importancia terapéutica de los SGLT
    2.7 Análisis de proteínas mediante Western blot
    2.8 Justificación del estudio en modelos experimentales
3. Justificación
4. Objetivos
    4.1 Objetivo general
    4.2 Objetivos específicos
5. Material y método
    5.1 Diseño experimental
    5.2 Obtención de muestras y extracción de proteínas
    5.3 Cuantificación de proteínas
    5.4 Análisis de proteínas mediante Western blot
    5.5 Validación del método
6. Resultados
    6.1 Expresión de SGLT-2 en tejido renal
    6.2 Expresión de SGLT-1 en tejido renal
    6.3 Proteína de referencia (β-actina)
    6.4 Comparación global de la expresión proteica
7. Discusión
8. Conclusiones
9. Recomendaciones
10. Referencias bibliográficas

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por hiperglucemia persistente, derivada de alteraciones en la secreción o acción de la insulina (American Diabetes Association, 2020). En México, esta enfermedad representa un problema de salud pública debido a su alta prevalencia y a las complicaciones asociadas, entre las que destaca la nefropatía diabética, una de las principales causas de insuficiencia renal crónica (González-Villalpando et al., 2020).

El riñón desempeña un papel fundamental en la regulación de la glucosa mediante su filtración y reabsorción en el túbulo proximal, proceso mediado por los cotransportadores sodio-glucosa SGLT-1 y SGLT-2 (Vallon et al., 2011). En condiciones de hiperglucemia sostenida, la expresión de estos transportadores puede incrementarse, contribuyendo a la sobrecarga tubular y al desarrollo de daño renal (Zelniker & Braunwald, 2018).

Por ello, el estudio de biomarcadores proteicos en modelos experimentales permite comprender los mecanismos moleculares involucrados en la progresión de la nefropatía diabética. En este trabajo se evaluó la expresión de SGLT-1 y SGLT-2 en tejido renal de ratas con diabetes inducida mediante la técnica de Western blot.

2. ANTECEDENTES

2.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por la presencia de hiperglucemia persistente, derivada de alteraciones en la secreción de insulina, en su acción o en ambos mecanismos (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2025). Esta enfermedad representa uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial debido a su alta prevalencia y a las complicaciones asociadas.

En México, la diabetes mellitus continúa siendo una de las principales causas de morbimortalidad, con un impacto significativo en los sistemas de salud. La hiperglucemia crónica induce alteraciones metabólicas como estrés oxidativo, inflamación sistémica y formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), los cuales contribuyen al daño progresivo de diversos órganos, particularmente el riñón (Glastras & Pollock, 2024).

2.2 Nefropatía diabética

La nefropatía diabética es una de las complicaciones microvasculares más importantes de la diabetes mellitus y representa una de las principales causas de enfermedad renal crónica a nivel mundial (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2025).

Desde el punto de vista fisiopatológico, esta enfermedad se caracteriza por alteraciones estructurales y funcionales en el riñón, incluyendo engrosamiento de la membrana basal glomerular, expansión mesangial y fibrosis intersticial. Estos cambios están asociados con mecanismos como estrés oxidativo, inflamación y disfunción hemodinámica renal (Glastras & Pollock, 2024).

La progresión de la nefropatía diabética está estrechamente relacionada con la hiperglucemia sostenida, la cual activa múltiples vías metabólicas que contribuyen al daño celular y a la pérdida progresiva de la función renal.

2.3 Biomarcadores en nefropatía diabética

El diagnóstico tradicional de la nefropatía diabética se basa en la detección de microalbuminuria y en la estimación de la tasa de filtración glomerular; sin embargo, estos parámetros presentan limitaciones, ya que reflejan daño renal en etapas avanzadas (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2025).

En los últimos años, los biomarcadores moleculares han adquirido gran relevancia, ya que permiten identificar alteraciones tempranas a nivel celular y molecular antes de la aparición de manifestaciones clínicas evidentes. En particular, los biomarcadores proteicos han demostrado ser herramientas útiles para el diagnóstico temprano y el seguimiento de la progresión de la enfermedad renal (Dai et al., 2023).

2.4 Función renal y transporte de glucosa

El riñón desempeña un papel fundamental en la homeostasis de la glucosa mediante procesos de filtración y reabsorción a nivel del túbulo proximal. En condiciones fisiológicas, prácticamente la totalidad de la glucosa filtrada es reabsorbida, evitando su pérdida en la orina.

Este proceso es mediado por transportadores específicos, principalmente los cotransportadores sodio-glucosa SGLT-1 y SGLT-2, los cuales permiten el transporte activo de glucosa junto con sodio en contra de su gradiente de concentración (Podestà et al., 2023).

2.5 Transportadores SGLT-1 y SGLT-2

SGLT-2 es responsable de aproximadamente el 90% de la reabsorción de glucosa en el túbulo proximal, mientras que SGLT-1 participa en el porcentaje restante (Podestà et al., 2023).

En condiciones de hiperglucemia sostenida, se ha reportado un incremento en la expresión y actividad de SGLT-2, lo que favorece la reabsorción de glucosa y contribuye a la persistencia de la hiperglucemia. Este fenómeno incrementa la carga metabólica del riñón y favorece la progresión del daño renal (Dai et al., 2023).

Asimismo, SGLT-1 puede aumentar su expresión como mecanismo compensatorio, contribuyendo a la sobrecarga de glucosa en las células tubulares y al desarrollo de procesos patológicos como inflamación y estrés oxidativo (Podestà et al., 2023).

2.6 Importancia terapéutica de los SGLT

Los transportadores SGLT han cobrado gran relevancia como blancos terapéuticos en el tratamiento de la diabetes mellitus. Los inhibidores de SGLT-2 han demostrado efectos beneficiosos no solo en el control glucémico, sino también en la protección renal y cardiovascular (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2025).

Estos fármacos reducen la reabsorción de glucosa a nivel renal, favoreciendo su excreción urinaria y disminuyendo la sobrecarga metabólica del riñón, lo que contribuye a retrasar la progresión de la nefropatía diabética (Dai et al., 2023).

2.7 Análisis de proteínas mediante Western blot

El Western blot es una técnica ampliamente utilizada en investigación biomédica para la detección, identificación y cuantificación relativa de proteínas específicas en muestras biológicas. Su aplicación es fundamental en el estudio de biomarcadores, ya que permite evaluar cambios en la expresión proteica bajo diferentes condiciones experimentales.

Esta metodología se basa en la separación de proteínas mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE), lo que permite separar las proteínas en función de su peso molecular (Laemmli, 1970). Posteriormente, las proteínas son transferidas a una membrana de nitrocelulosa o PVDF, donde pueden ser detectadas mediante el uso de anticuerpos específicos (Towbin et al., 1979).

Una de las principales ventajas del Western blot es su alta especificidad, ya que la detección se realiza mediante la interacción antígeno-anticuerpo, lo que permite identificar proteínas de interés incluso en mezclas complejas. Asimismo, su sensibilidad permite detectar cambios en la expresión proteica asociados a procesos fisiopatológicos.

En el contexto de la nefropatía diabética, esta técnica resulta particularmente útil para evaluar la expresión de proteínas involucradas en el transporte de glucosa, como SGLT-1 y SGLT-2, así como otros biomarcadores asociados al daño renal.

Además, el Western blot permite realizar análisis semicuantitativos mediante densitometría de bandas, lo que facilita la comparación entre grupos experimentales y el seguimiento de cambios en la expresión proteica a lo largo del tiempo. Para ello, es necesario utilizar

proteínas de referencia, como la β-actina, que permiten normalizar los resultados y reducir la variabilidad experimental.

Para garantizar la confiabilidad de los resultados, es fundamental realizar la validación analítica del método, evaluando parámetros como linealidad, reproducibilidad, especificidad y robustez. Esto asegura que las diferencias observadas en la expresión proteica correspondan a cambios biológicos reales y no a variaciones técnicas.

En este sentido, el uso del Western blot en el presente estudio permite analizar de manera precisa la expresión de los transportadores SGLT-1 y SGLT-2 en tejido renal, contribuyendo a la comprensión de su papel en la progresión de la nefropatía diabética y su posible aplicación como biomarcadores tempranos.

2.8 Justificación del estudio en modelos experimentales

El uso de modelos experimentales permite analizar de manera controlada la progresión de enfermedades complejas como la nefropatía diabética. En este contexto, el análisis de la expresión de proteínas en tejido renal proporciona información relevante sobre los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo del daño renal.

El estudio de los transportadores SGLT-1 y SGLT-2 mediante Western blot en diferentes etapas de progresión permite identificar patrones de expresión asociados a la hiperglucemia, contribuyendo a su posible uso como biomarcadores tempranos en la nefropatía diabética.

3. JUSTIFICACIÓN

La nefropatía diabética afecta aproximadamente al 30–40% de los pacientes con diabetes mellitus y constituye una de las principales causas de enfermedad renal crónica a nivel mundial (Thomas & MacIsaac, 2019).

Los biomarcadores tradicionales, como la microalbuminuria y la creatinina sérica, presentan limitaciones en la detección temprana del daño renal, ya que suelen manifestarse cuando el deterioro funcional es avanzado (Sharma & Hsu, 2018). Por esta razón, es necesario identificar biomarcadores más sensibles que permitan detectar alteraciones en etapas iniciales de la enfermedad.

Los transportadores SGLT-1 y SGLT-2 participan activamente en la reabsorción de glucosa en el riñón y su sobreexpresión en condiciones de hiperglucemia ha sido relacionada con la progresión del daño renal (Vallon et al., 2011). Su estudio representa una oportunidad para comprender mejor la fisiopatología de la nefropatía diabética y proponer nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos.

Asimismo, la aplicación del Western blot como técnica de análisis proteico, junto con su validación analítica, permite obtener resultados confiables y reproducibles, lo que fortalece la calidad del estudio (Pérez-Márquez et al., 2017).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la expresión de proteínas asociadas con la progresión de la nefropatía diabética en tejido renal de ratas mediante la técnica de Western blot.

4.2 Objetivos específicos

- Estandarizar la técnica de Western blot para la detección de proteínas de interés.
- Optimizar las condiciones de extracción, separación y transferencia de proteínas.
- Validar analíticamente el método mediante parámetros de linealidad, reproducibilidad, robustez y especificidad.
- Analizar la expresión de SGLT-1 y SGLT-2 en diferentes etapas del modelo experimental.

5. MATERIAL Y METODO

5.1 Diseño experimental

El estudio se llevó a cabo utilizando ratas Wistar macho, las cuales fueron distribuidas en dos grupos experimentales: un grupo control y un grupo con diabetes. Se realizó un seguimiento longitudinal del modelo desde la semana 10 hasta la semana 20, con sacrificios programados en las semanas 10, 12, 14, 16, 18 y 20, con el objetivo de evaluar la progresión del daño renal a lo largo del tiempo. Durante el desarrollo del modelo experimental, se llevó a cabo el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre para confirmar el estado hiperglucémico en el grupo diabético y garantizar la validez del modelo. Como se muestra en la **Figura 1**, el diseño experimental incluyó las etapas de obtención de muestras, extracción de proteínas y análisis de expresión mediante Western blot.

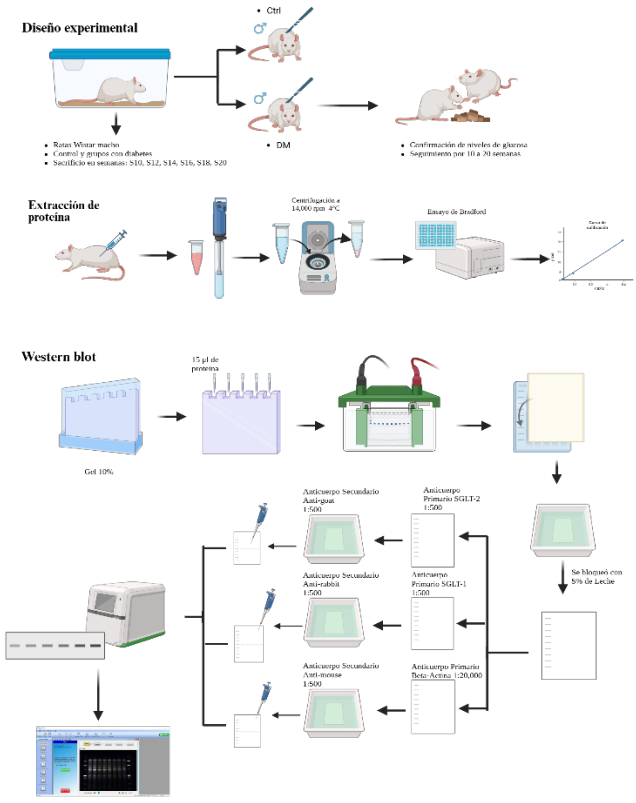


Figura 1. Representación esquemática del diseño experimental utilizado en el estudio, la obtención de tejido renal, la extracción de proteínas, cuantificación por método de Bradford y el análisis de la expresión de SGLT-1 y SGLT-2 mediante Western blot.

5.2 Obtención de muestras y extracción de proteínas

Posterior al sacrificio de los animales, se obtuvieron muestras de tejido renal, las cuales fueron procesadas para la extracción de proteínas totales. Para ello, se utilizó un buffer de lisis suplementado con inhibidores de proteasas, con el fin de preservar la integridad de las proteínas de interés. Las muestras fueron sometidas a centrifugación a 14,000 rpm a 4 °C, permitiendo la separación de los componentes celulares y la recuperación del sobrenadante proteico.

5.3 Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó mediante el método de Bradford, utilizando curvas de calibración para determinar la concentración proteica de cada muestra. Esto permitió asegurar una carga homogénea de proteína en cada carril durante la electroforesis.

A partir de los resultados obtenidos, se realizaron las diluciones necesarias para estandarizar la cantidad de proteína utilizada en el análisis.

5.4 Análisis de proteínas mediante Western blot

La separación de proteínas se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE), de acuerdo con el método descrito por Laemmli (1970). Posteriormente, las proteínas fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa siguiendo el procedimiento de Towbin et al. (1979).

Las membranas fueron bloqueadas con una solución de leche al 5% para evitar uniones inespecíficas. Posteriormente, se incubaron con anticuerpos primarios específicos para SGLT-1 y SGLT-2 a una dilución de 1:500, así como con β-actina como control de carga a una dilución de 1:20,000.

Posteriormente, se incubaron con anticuerpos secundarios conjugados a una dilución de 1:500. La detección de las proteínas se realizó mediante un sistema de quimioluminiscencia, permitiendo visualizar las bandas correspondientes a las proteínas de interés.

5.5 Validación del método

Se realizó la validación analítica del método de Western blot mediante la evaluación de parámetros como linealidad, reproducibilidad, robustez y especificidad, con el fin de garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos.

6. RESULTADOS

6.1 Expresión de SGLT-2 en tejido renal

Se evaluó la expresión de la proteína SGLT-2 en tejido renal de ratas Wistar mediante la técnica de Western blot en diferentes semanas de progresión del modelo experimental. Como se muestra en la **Figura 2**, se observan las bandas correspondientes a SGLT-2 en los grupos control y diabético desde la semana 10 hasta la semana 20. Los dos primeros carriles corresponden al grupo control, mientras que los carriles subsecuentes representan las diferentes semanas del grupo experimental.

De manera general, se aprecia una variación en la intensidad de las bandas a lo largo del tiempo, lo que sugiere cambios en la expresión de SGLT-2 durante la progresión de la enfermedad.

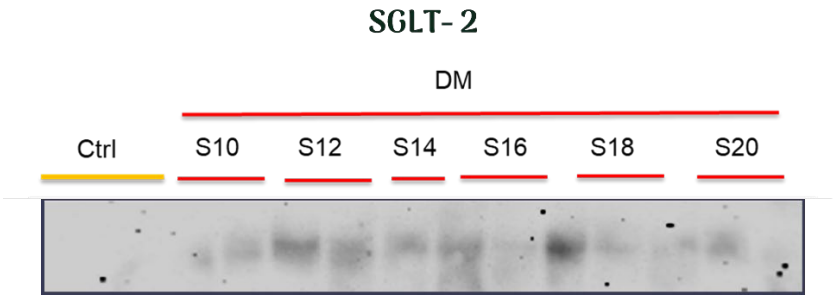


Figura 2. Expresión de SGLT-2 en tejido renal evaluada mediante Western blot en diferentes semanas de progresión del modelo experimental.

6.2 Expresión de SGLT-1 en tejido renal

La expresión de SGLT-1 fue evaluada bajo las mismas condiciones experimentales. Como se observa en la **Figura 3**, las bandas correspondientes a esta proteína muestran variaciones en su intensidad entre los grupos analizados. Se observa un patrón de expresión diferencial entre el grupo control y el grupo diabético, lo que podría indicar una respuesta compensatoria en el transporte de glucosa a nivel renal.

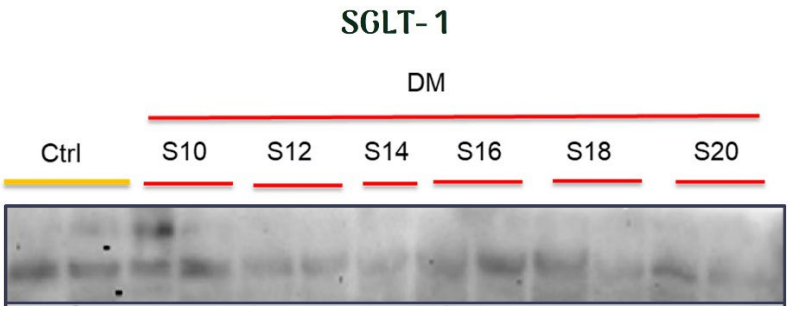


Figura 3. Expresión de SGLT-1 en tejido renal de ratas Wistar evaluada mediante Western blot.

6.3 Proteína de referencia (β-actina)

Con el fin de normalizar la expresión proteica, se analizó la proteína β-actina como control de carga. Como se muestra en la **Figura 4**, la expresión de β-actina se mantuvo relativamente constante entre los diferentes grupos experimentales.

Esto permitió validar la homogeneidad en la carga de proteína y asegurar que las variaciones observadas en SGLT-1 y SGLT-2 corresponden a cambios reales en la expresión proteica.

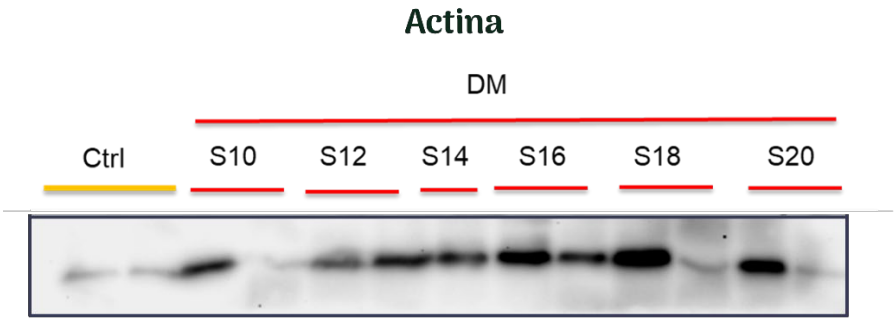


Figura 4. Expresión de β-actina utilizada como control de carga en el análisis de Western blot.

6.4 Comparación global de la expresión proteica

Con el fin de visualizar de manera conjunta los resultados obtenidos, se realizó una comparación de la expresión de SGLT-1, SGLT-2 y β-actina, como se muestra en la **Figura 5**.

En esta figura se pueden observar las diferencias en la intensidad de las bandas entre las proteínas analizadas, así como su comportamiento a lo largo del modelo experimental, lo que permite identificar patrones generales de expresión asociados al estado diabético.

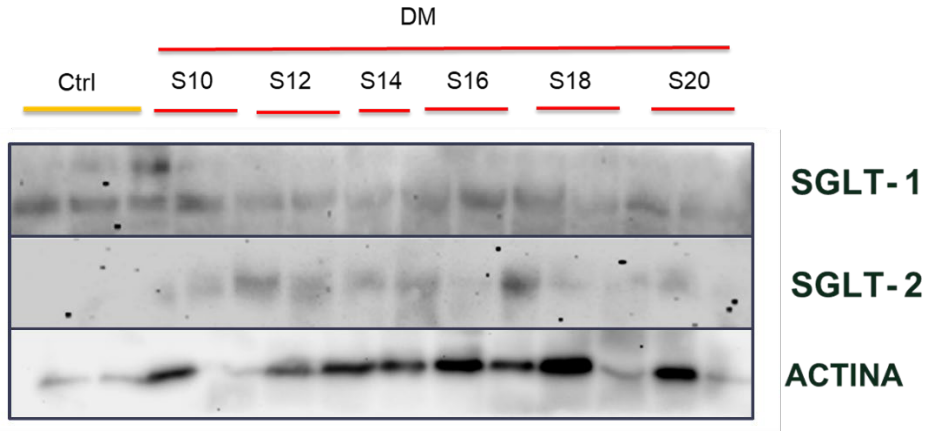


Figura 5. Comparación de la expresión de SGLT-1, SGLT-2 y β-actina en tejido renal de ratas Wistar mediante Western blot.

7. DISCUSION

Los resultados obtenidos muestran variaciones en la expresión de los transportadores SGLT-1 y SGLT-2 en tejido renal a lo largo del modelo experimental, lo que sugiere su participación en la progresión del estado diabético.

En particular, la variación observada en SGLT-2 coincide con lo reportado en la literatura, donde se ha descrito que la hiperglucemia sostenida favorece un incremento en su expresión, promoviendo una mayor reabsorción de glucosa a nivel renal (Dai et al., 2023; Podestà et al., 2023).

De manera similar, los cambios en SGLT-1 podrían estar asociados a un mecanismo compensatorio en el transporte de glucosa, contribuyendo a la sobrecarga tubular en condiciones de diabetes (Podestà et al., 2023).

Asimismo, estos hallazgos son consistentes con estudios que relacionan la actividad de los transportadores SGLT con procesos de daño renal, como estrés oxidativo e inflamación, característicos de la nefropatía diabética (Glastras & Pollock, 2024).

Por otra parte, la estabilidad observada en la expresión de β-actina respalda la adecuada carga de proteína, lo que permite considerar que las variaciones detectadas corresponden a cambios reales en la expresión proteica.

Finalmente, es importante señalar que el análisis realizado fue cualitativo, por lo que la ausencia de un análisis densitométrico limita la cuantificación precisa de los resultados. No obstante, los hallazgos obtenidos permiten identificar tendencias en la expresión de SGLT-1 y SGLT-2 y respaldan su posible papel en la progresión de la nefropatía diabética.

8. CONCLUSIONES

Se logró evaluar la expresión de proteínas asociadas con la progresión de la nefropatía diabética en tejido renal de ratas Wistar mediante la técnica de Western blot.

La técnica fue estandarizada y optimizada adecuadamente, permitiendo la detección específica de las proteínas de interés y garantizando la confiabilidad del método.

El análisis de SGLT-1 y SGLT-2 evidenció variaciones en la expresión proteica a lo largo del modelo experimental, lo que sugiere su posible participación en la progresión del estado diabético.

En conjunto, el Western blot se confirma como una herramienta útil para el estudio de biomarcadores proteicos en nefropatía diabética.

9. RECOMENDACIONES

- Complementar el estudio con técnicas como ELISA
- Incrementar el número de muestras analizadas.
- Evaluar otros biomarcadores renales.
- Analizar el efecto de inhibidores de SGLT2.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2025). *Standards of care in diabetes—2025*. *Diabetes Care, 48*(Suppl. 1), S1–S350.

Dai, Z. C., Chen, J. X., Zou, R., Liang, X. B., Tang, J. X., & Yao, C. W. (2023). Role and mechanisms of SGLT2 inhibitors in the treatment of diabetic kidney disease. *Frontiers in Immunology, 14*, 1213473. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1213473

Glastras, S. J., & Pollock, C. A. (2024). Diabetic kidney disease: current and emerging therapeutic approaches. *Nature Reviews Nephrology, 20*, 75–76.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature, 227*, 680–685. https://doi.org/10.1038/227680a0

Podestà, M. A., Sabiu, G., Galassi, A., Ciceri, P., & Cozzolino, M. (2023). SGLT2 inhibitors in diabetic and non-diabetic chronic kidney disease. *Biomedicines, 11*(2), 279. https://doi.org/10.3390/biomedicines11020279

Towbin, H., Staehelin, T., & Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 76*(9), 4350–4354. https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4350