

Entorno

REVISTA DE CONOCIMIENTO E INNOVACIÓN

UDLAP

INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO
DE NANOMATERIALES
PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS

BIOMEDICINA

Una mirada a las tendencias en la investigación biomédica

udlap.mx



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

ISSN 2594-0147

DISTRIBUCIÓN GRATUITA ENE-ABR 2018

#4



UDLAP®

DOCTORADOS DE ALTA ESPECIALIZACIÓN

Doctorado directo en:

- Biomedicina Molecular
- Ciencias del Agua
- Ciencia de Alimentos
- Sistemas Inteligentes

Doctorado no directo en:

- Creación y Teorías de la Cultura

**Los alumnos aceptados cuentan con beca del 100% de colegiatura
y con una manutención mensual por toda la duración del programa**

Informes:

Dirección de Investigación y Posgrado
informes.doctorados@udlap.mx • Tel. 229 27 25

www.udlap.mx

EXCELENCIA ACADÉMICA

ELIGE UDLAP

CONTENIDO

1

UDLAP®



▲ 10. Genomics tools

PORTADA

BIOMEDICINA

Una mirada a las tendencias en la investigación biomédica

4. DEVELOPMENT OF BIOSIMILARS IN MEXICO

Por: Mariana P. Miranda Hernández · Carlos A. López Morales · Luis F. Flores Ortiz · Emilio Medina Rivero

10. GENOMICS TOOLS THAT ACCELERATE the making of medicine really individualized

Por: Hugo A. Barrera Saldaña

13. INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE NANOMATERIALES

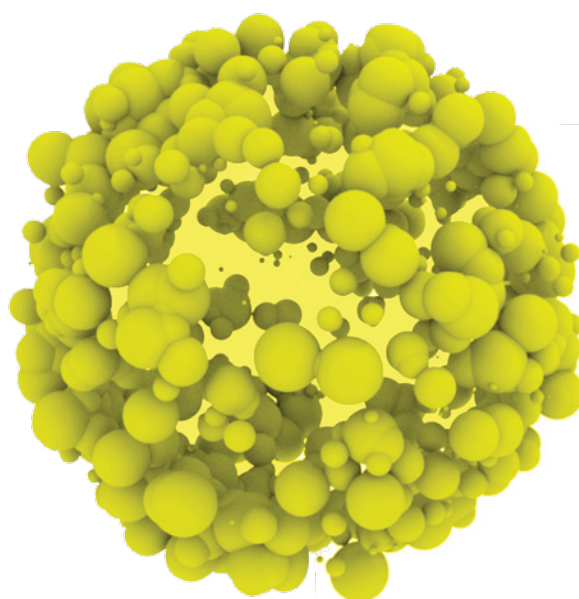
para aplicaciones biomédicas

Por: Miguel Ángel Méndez Rojas · Luis Arturo García de la Rosa · Jessica Flood Garibay · María Fernanda Veloz Castillo

22. FROM BEDSIDE TO BENCH AND BACK AGAIN: INVESTIGATING MEDICINAL EFFECTS

of Turmeric on Bone

Por: Janet L. Funk



▲ 13. Nanomateriales

30. SENSORES ELECTROQUÍMICOS

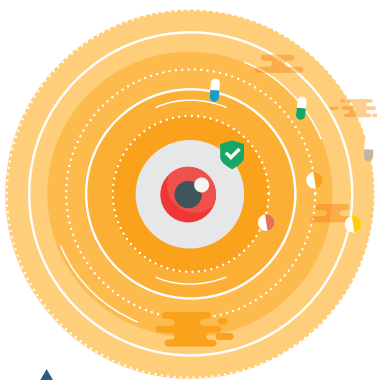
con aplicaciones biomédicas

Por: **Mónica Cerro López**

36. FARMACOGOBERNANZA E INVESTIGACIÓN CLÍNICA

farmacobiológica

Por: **Lucila Isabel Castro Pastrana**



36. Investigación clínica

48. LA BIOINFORMÁTICA COMO UNA FILOSOFÍA DE LA CIENCIA BIOLÓGICA

moderna: el caso de la bioquímica estructural

Por: **Paulina Cortes-Hernández · Benjamín Padilla Morales · Lenin Domínguez Ramírez**

56. PROPIEDADES MEDICINALES

en los venenos de animales

Por: **Irene Vergara Bahena**

Entorno UDLAP

REVISTA DE CONOCIMIENTO E INNOVACIÓN

PRESIDENCIA

José Ramón Valdés Parra

EDITOR GENERAL

Poliopetro Fortunato Martínez Austria

CONSEJO EDITORIAL

Dirección Ejecutiva

Sergio Picazo Vela
Decano de Investigación y Posgrado

Secretaría Ejecutiva

Lorena Martínez Gómez
Directora General de Planeación y Evaluación

Coordinación

Eduardo Izraim Marrufo Fernández
Director de Comunicación

Editora gráfica

Sonia Gisella Aguirre Narváez
Profesora de la Licenciatura de Diseño de Información

Tecnologías de la

Información
Fernando Thompson de la Rosa
Director General de Tecnologías de la Información

Biblioteca

María Elvia Catalina Morales Juárez
Directora de Bibliotecas

DISEÑO EDITORIAL

Angélica González Flores

CORRECCIÓN DE ESTILO

Aldo Chiquini Zamora
Andrea Garza Carbajal

FOTOGRAFÍAS

www.shutterstock.com

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES ASOCIADOS

Artes y Humanidades
Enrique Ajuria Ibarra

Ciencias
Miguel Ángel Méndez Rojas

Ciencias Sociales
Leandro Rodríguez Medina

Ingeniería e Innovación
Aurelio López Malo Vigil

Negocios y Economía
Raúl Bringas Nostti

MIEMBROS DEL COMITÉ EDITORIAL

Ileana Azor Hernández
Universidad de las Américas Puebla

Antonio Alcalá González
Tecnológico de Monterrey

Cecilia Anaya Berrios
Universidad de las Américas Puebla

Jorge Gamaliel Arenas Basurto
Universidad de las Américas Puebla

Lucila Castro Pastrana
Universidad de las Américas Puebla

Miguel Doria
UNESCO

Jorge Alberto Durán Encalada
Universidad de las Américas Puebla

Alexander James Hope
Universidad Autónoma de Madrid

Juan Enrique Martínez-Legaz
Barcelona Graduate School of Economics

Raúl Mújica García
Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica

René Reyes Mazzoco
Universidad de las Américas Puebla

Ulises Sandal Ramos Koprivitz
Universidad de las Américas Puebla

Manuel Francisco Suárez Barraza
Universidad de las Américas Puebla

María Luisa Torregrosa y Armentia
Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales

EDITORIAL

En 2014, la UDLAP abrió sus primeros doctorados de alta especialización. Con motivo de la apertura del Doctorado en Biomedicina Molecular (DBM), la revista *Entorno UDLAP* presenta este número especial titulado «Biomedicina: una mirada a las tendencias en la investigación biomédica», donde se muestran las líneas de investigación más emblemáticas que el DBM de la UDLAP desarrollará –durante la próxima década– en el campo de la biomedicina molecular. Esta colección de artículos académicos está enriquecida –además– con los aportes de algunos de nuestros socios estratégicos nacionales e internacionales en materia de investigación biomédica.

Como representante de la Universidad de Arizona, la Dra. Janet L. Funk presenta su trabajo con la cúrcuma, una planta medicinal cuyos extractos han demostrado utilidad terapéutica frente a la artritis reumatoide y, potencialmente, en el tratamiento de las metástasis óseas del cáncer de mama. También en la investigación contra el cáncer, el Dr. Hugo Barrera Saldaña, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, habla de sus contribuciones a la medicina personalizada a través de la aplicación de herramientas farmacogenómicas para optimizar los tratamientos de pacientes con cáncer de mama y cáncer colorrectal metastásico.

En el campo de las aplicaciones de la biotecnología a la biomedicina, el desarrollo de medicamentos biológicos implica numerosos retos en México y en el mundo. Particularmente, el vencimiento de las patentes de cada vez más medicamentos biotecnológicos y el surgimiento de sus versiones biosimilares o biocomparables, han impulsado los trabajos que aquí se presentan del Dr. Emilio Medina Rivero, director técnico-científico de la Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioprocesos del IPN, quien aborda la necesidad de caracterizar exhaustivamente los principios activos para así garantizar medicamentos biocomparables eficaces, seguros y de calidad.

También en la especialidad de los productos biológicos, pero de aquellos provenientes de venenos de animales, la Dra. Irene Vergara Bahena (UDLAP) nos presenta una interesante gama de posibles aplicaciones biomédicas para la amplia variedad de moléculas bioactivas presentes en algunos de estos venenos.

Por su parte, la Dra. Mónica Cerro López (UDLAP) escribe sobre los avances en el desarrollo de sensores electroquímicos para la detección de moléculas biológicas, permitiendo la identificación de enfermedades en etapas tempranas al ser cada vez más sensibles y fáciles de operar. Gran parte de estos avances se deben a la síntesis de materiales novedosos derivados de la nanotecnología, disciplina que ha permitido el desarrollo de la nanomedicina, así como del diagnóstico y tratamiento simultáneos («teranóstica») de enfermedades. Este segundo escenario es presentado por el Dr. Miguel Ángel Méndez Rojas, quien narra los principales proyectos que se están conduciendo en la UDLAP al respecto.

En calidad de colofón tecnológico y con una perspectiva integral, el Dr. Lenin Domínguez Ramírez (UDLAP) nos hace reflexionar sobre la interdisciplinariedad de la bioinformática moderna desde la óptica de sus contribuciones a la biología estructural, así como una herramienta que se transforma continuamente a través de los avances tecnológicos y científicos.

Finalmente, para contextualizar el marco de farmacogobernanza dentro del cual se desarrolla actualmente la investigación clínica y farmacobiológica en México, se presenta un análisis sobre la evolución del aparato regulatorio farmacéutico y las áreas de oportunidad que aún se tienen en materia de innovación, acceso y uso racional de medicamentos.

Esperamos que este número acerque más a nuestros lectores al quehacer científico de la UDLAP y, en particular, al relacionado con la biomedicina molecular.

Lucila I. Castro Pastrana
Editora invitada

ENTORNO UDLAP, Año 2, núm. 4, enero-abril 2018, es una publicación cuatrimestral editada por la Fundación Universidad de las Américas, Puebla. Exhacienda Santa Catarina Mártir s/n, San Andrés Cholula, Puebla, C. P. 72810. Tel. (222) 229 20 00. www.udlap.mx, revista.entornoudlap@udlap.mx. Editor responsable: Polioptro Fortunato Martínez Austria. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo núm. 04-2016-091418231700-102, ISSN: 2594-0147, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: Escuela de Ingeniería, Polioptro Fortunato Martínez, Exhacienda Santa Catarina Mártir s/n, San Andrés Cholula, Puebla, C. P. 72810. Fecha de última modificación: 23 de diciembre de 2018.

Los artículos, así como su contenido, su estilo y las opiniones expresadas en ellos, son responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan la opinión de la UDLAP.

Queda prohibida la reproducción parcial o total por cualquier medio del contenido de la presente obra, sin contar con autorización por escrito de los titulares de los derechos de autor.

Los artículos publicados en *Entorno UDLAP* se someten a revisión por pares, en el sistema de «doble ciego», es decir que los árbitros no conocen el nombre de los autores del texto que revisan, ni los autores los nombres de quienes lo revisan. La responsabilidad del contenido de los artículos corresponde exclusivamente a los autores, y no necesariamente refleja la postura de los editores, miembros del consejo y comité editoriales o de la Universidad de las Américas Puebla.

SIMBOLOGÍA / SECCIÓN

 **AUTOR INTERNO**

 **AUTOR EXTERNO**

UDLAP®

DEVELOPMENT OF BIOSIMILARS IN MEXICO

Por:  Mariana P. Miranda Hernández · Carlos A. López Morales · Luis F. Flores Ortiz · Emilio Medina Rivero

ABSTRACT

The pathway for the approval of biosimilars includes an exhaustive characterization and a comprehensive comparability study, including non-clinical and clinical stages to demonstrate similarity in quality and pharmacological behavior to the reference product. Herein we review the key points in the approval pathway of biosimilars through the identification of the critical quality attributes (CQAs) towards obtaining a desired product throughout in-process controls and the identification of critical process parameters (CPPs). In the case of biosimilars, similarity against the reference product is achieved based on a quality target product profile (QTPP) that allows knowing the batch-to-batch oscillation and distribution of the CQAs of the reference product. For the evaluation of CQAs it is important to include orthogonal analytical techniques to provide certainty to the results. The collective information obtained from the physicochemical characterization, as well as from non-clinical studies; provide scientific evidence that contribute to the design of clinical comparative studies.

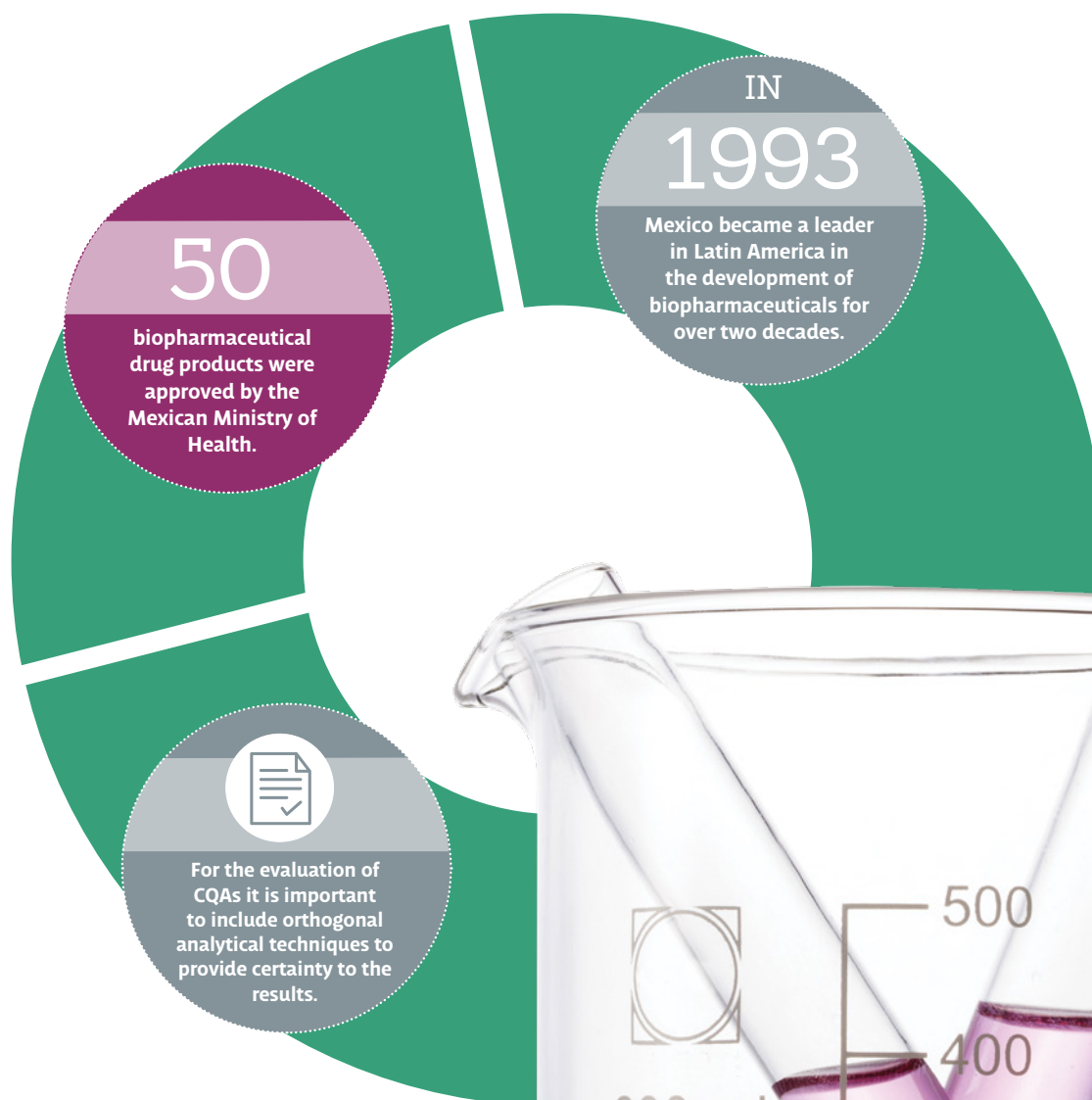
KEYWORDS

**Biosimilars · Biologics
Critical quality attributes
Characterization**

INTRODUCTION

Mexico became a leader in Latin America in the development of biopharmaceuticals for over two decades, since interferon alpha-2b was introduced into the national market in 1993. This was the first recombinant biopharmaceutical product manufactured in Mexico by Probiomed S. A. de C. V. Subsequently, more than 50 biopharmaceutical drug products were approved by the Mexican Ministry of Health (Secretaría de Salud) through the Federal Commission for the Protection against Sanitary Risk (COFEPRIS) as generics under the law that was effective until 2012, when an updated regulation specific for the approval of biosimilars was issued. According to the updated regulation, the pathway for biosimilars approval begins with an exhaustive characterization of the product and a comprehensive compara-

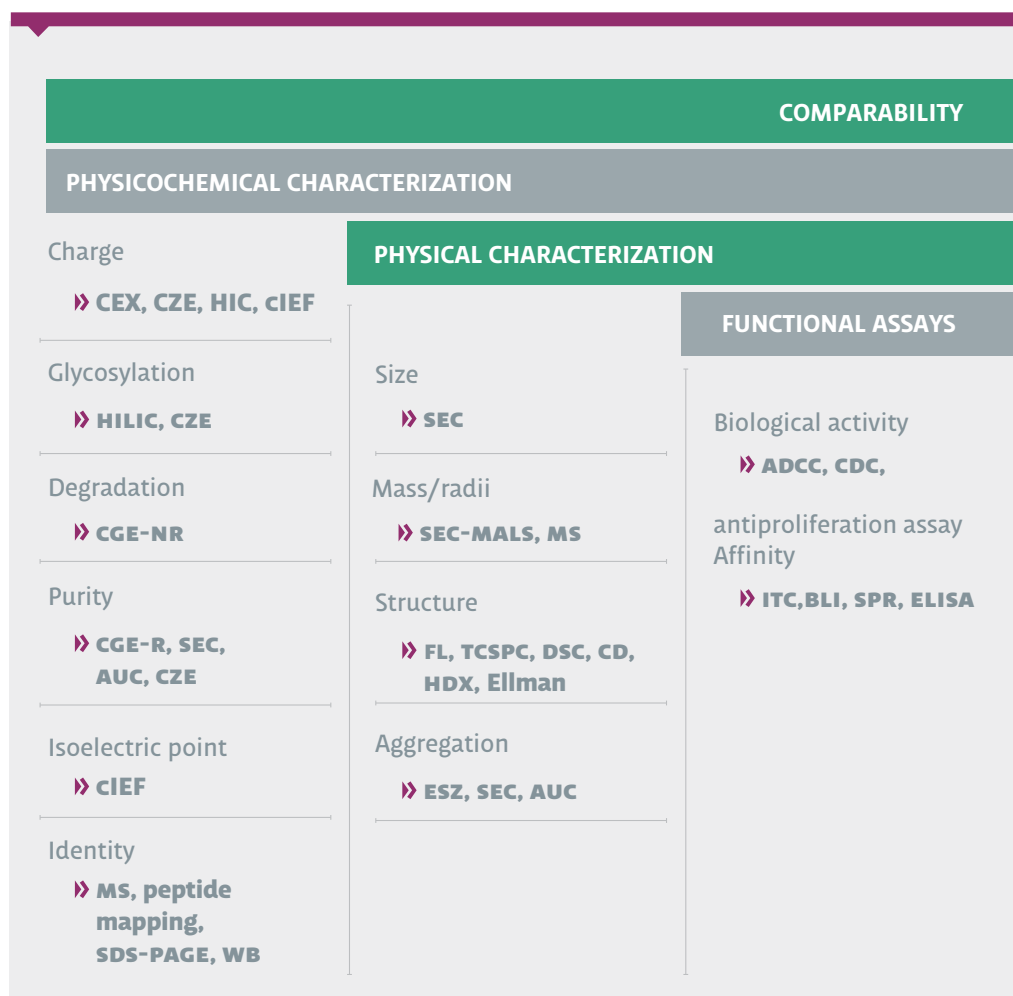




THE AIM OF THIS DOCUMENT IS TO REVIEW KEY POINTS AT EACH OF THE STAGES OF THIS APPROVAL PATHWAY THROUGH THE IDENTIFICATION OF THE CRITICAL QUALITY ATTRIBUTES (CQAs) OF THE BIOPHARMACEUTICAL PRODUCT, WHICH IMPACT ON ITS SAFETY AND EFFICACY.



Figure 1. Characterization strategy followed in the development of Trastuzumab-Probiomed (López-Morales *et al.* 2015). CEX (cation exchange chromatography); CZE (capillary zone electrophoresis); HIC (hydrophobic interaction chromatography); cIEF (capillary isoelectrofocusing); HILIC (hydrophilic interaction liquid-chromatography); CGE-NR (capillary gel electrophoresis under nonreducing conditions); CGE-R (capillary gel electrophoresis under reducing conditions); SEC (size exclusion chromatography); AUC (analytical ultracentrifugation); MS (mass spectrometry); SDS-PAGE (sodium-dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis); WB (western blot); SEC-MALS (size-exclusion chromatography-multi-angle light scattering); FL (fluorescence detection); TCSPC (time correlated single photon counting technique); DSC (differential scanning calorimetry); CD (circular dichroism); HDX (hydrogen-deuterium exchange); ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity); CDC (complement-dependent cytotoxicity); ITC (isothermal titration calorimetry); BLI (bio-layer interferometry); SPR (surface plasmon resonance); ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).



bility study, including non-clinical and clinical stages to demonstrate similarity in quality and pharmacological behavior.

The aim of this document is to review key points at each of the stages of this approval pathway through the identification of the critical quality attributes (CQAs) of the biopharmaceutical product, which impact on its safety and efficacy.

● 1. CHARACTERIZATION

In 2003, the European Medicines Agency (EMA) published the first guidelines for the approval of biosimilars, becoming a reference for other regulatory agencies worldwide, these guidelines invoke an exhaustive characterization study whose ultimate purpose is the identification of CQAs that may impact on the pharmacological or immunogenic behavior of the biopharmaceutical product.

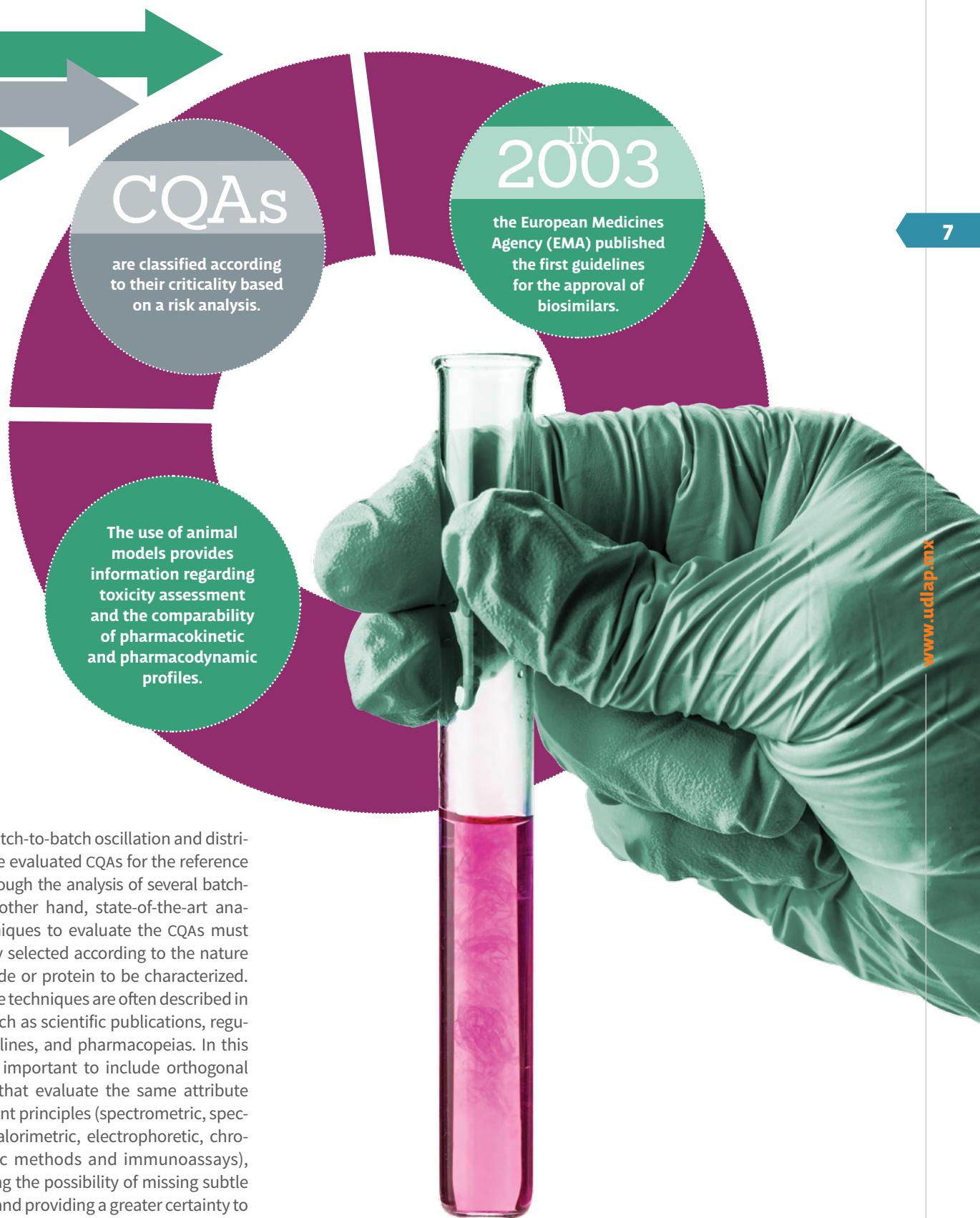
The identification of the CQAs is based on a deep knowledge of the physicochemical properties, the chemical composition, the higher or-

der structure and the heterogeneity of the reference product. Additionally, extrapolations of the relationship between certain attributes and their biological implications can be made from the study of similar molecules already reported in scientific publications. Once identified, CQAs are classified according to their criticality based on a risk analysis. Additionally, batch to batch consistency to obtain the desired product is ensured through a continuous surveillance and the establishment of in-process controls, the identification of critical process parameters (CPPs) and product specifications, regardless if drug product has been manufactured under different processes.

● 2. ESTABLISHMENT OF COMPARABILITY

2.1. Quality

The proposed biosimilar product could be considered «with a high degree of similarity» when its CQAs fit within the variability range of the reference product. Thus, is necessary to build a quality target product profile (QTPP) to under-



stand the batch-to-batch oscillation and distribution of the evaluated CQAs for the reference product, through the analysis of several batches. On the other hand, state-of-the-art analytical techniques to evaluate the CQAs must be rationally selected according to the nature of the peptide or protein to be characterized. Most of these techniques are often described in literature such as scientific publications, regulatory guidelines, and pharmacopeias. In this regard, it is important to include orthogonal techniques that evaluate the same attribute using different principles (spectrometric, spectroscopic, calorimetric, electrophoretic, chromatographic methods and immunoassays), thus reducing the possibility of missing subtle differences and providing a greater certainty to the obtained results.

Table 1. Identification of CQAs of a monoclonal antibody (modified from López-Morales *et al.* 2015).

Attribute	Impact		
	Efficacy		Safety
	Pharmacodynamics	Pharmacokinetics	Immunogenicity
Sequence	Affinity and biological potency	Volume of distribution and Clearance	Determined by the sequence variation against endogenous domains
Higher order structure			Differential response due to sequence modifications and structure complexity
Glycosylation microheterogeneity	Highly mannosylated and sialylated variants could alter in vivo efficacy	Highly mannosylated variants show higher clearance	Sialic acid residues can hide antigenic determinants
		Sialylated variants show lower clearance	Highly mannosylated, hybrid and non-glycosylated variants are prone to elicit immunogenicity
Charge heterogeneity	Affinity and biological potency	Volume of distribution and Clearance	Acidic variants are prone to elicit immunogenicity
Impurities	↓ Biological activity	↓ Bioavailability	↑ Antidrug antibodies
Affinity to HER2	Biological potency		
Affinity to FcγR	Affects endocytosis, antigen presentation, ADCC, phagocytosis	Not determined	
Affinity to FcRn		Not expected measurable differences in variants with 3 to 4 fold changes	Not determined
		Lower affinity for oxidized methionine	

HER2 (human epidermal growth factor receptor); ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity).

Among the most relevant CQAs of a therapeutic protein are those related to the identity of the biopharmaceutical product (sequence and three-dimensional structure) and those related to the heterogeneity (electric charge, polarity, electric dipole moment, glycosylation profile, etc.) that can be classified in physicochemical and physical properties that impact on its functionality (figure 1).

2.2. Non-clinical studies

The mechanisms of action of biotherapeutic proteins are highly specific, as they exert their therapeutic effect by binding to a receptor, ligand or substrate. The effects of these interactions are detectable at cellular or molecular level, so they can be evaluated *in vitro* using binding assays and bioassays.

Functionality assays are used to support the results of the physicochemical analyses because they are indicative of the physicochemical and structural integrity. Moreover, the use of animal models (relevant species) provides information regarding toxicity assessment and the comparability of pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles.

2.3. Clinical studies

Physicochemical and biological comparability exercises including non-clinical studies provide scientific evidence that contribute to the design of clinical comparative studies through the demonstration of a high degree of similarity between the CQAs of the proposed biosimilar and its reference product. The greater the similarity in the structural and functional studies between the reference product and the proposed biosimilar, the greater the scientific support for selective and specific design for subsequent clinical trials. This as a consequence of different studies that have demonstrated that high similarity in CQAs between both products diminishes the uncertainty of exhibiting different pharmacological profiles among them (table 1).

The collective information obtained from the physicochemical characterization, as well as from non-clinical studies, provide scientific evidence that contribute to the design of clinical comparative studies for the demonstration of similarity between the CQAs of the proposed biosimilar and its reference product. A high degree of similarity results in comparable biological activity, demonstrates that a controlled process is able to provide consistently the expected product.

REFERENCES

- Flores-Ortiz, L. F., Campos-García, V. R., Perdomo-Abúndez, F. C., Pérez, N. O., Medina-Rivero, E. (2014). Physicochemical properties of rituximab. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 37(10): 1438-1452.
- López-Morales, C. A., Miranda-Hernández, M. P., Juárez-Bayardo, L. C., Ramírez-Ibáñez, N. D., Romero-Díaz, A. J., Piña-Lara, N. et al. (2015). Physicochemical and biological characterization of a biosimilar trastuzumab. *Biomed Res Int*, 2015. Article ID 427235. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1155/2015/427235>.
- Miranda-Hernández, M. P., López-Morales, C. A., Ramírez-Ibáñez, N. D., Piña-Lara, N., Pérez, N. O., Molina-Pérez, A. et al. (2015). Assessment of Physicochemical Properties of Rituximab Related to its immunomodulatory activity. *J. Immunol. Res.*, 2015. Article ID 910763. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1155/2015/910763>.



✉ Mariana P. Miranda Hernández

Mariana P. Miranda Hernández es egresada de la Licenciatura de Química Farmacéutico Biológica de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Cuenta con 9 artículos científicos publicados en revistas arbitradas. Obtuvo el segundo lugar en el Premio Fundación UNAM a la Innovación Farmacéutica 2017, con la tesis Caracterización y comparabilidad de un anticuerpo monoclonal. Actualmente se desempeña como especialista de asuntos de regulación en PROBIOMED S.A. de C.V., desarrollando estrategias para la obtención de registros sanitarios de medicamentos biotecnológicos biocomparables.

mariana.miranda@probiomed.com.mx



✉ Luis Francisco Flores Ortíz

Especialista en ciencia e ingeniería de materiales con énfasis actual en biotecnología, caracterización y comparabilidad de biofármacos. Actualmente ocupa el cargo de Principal Scientist en Probiomed, S.A. de C.V. y funge como profesor de posgrado en aspectos regulatorios y de administración farmacéutica en la UNAM. Cuenta con numerosas publicaciones en evaluación y análisis de biofármacos así como con 6 patentes en síntesis de materiales nanoestructurados y de materiales con propiedades adsorbentes. luisfcfloresortiz@gmail.com



✉ Carlos A. López Morales

Médico Veterinario egresado de la UAEMex. Maestro en Biotecnología Genómica por el CBG-IPN y con estudios doctorales en Genética Animal en Texas A&M-Kingsville. Se desempeñó como químico analista y posteriormente como científico de investigación y desarrollo en la biofarmacéutica Probiomed. Actualmente es líder de proyectos relacionados con el desarrollo y evaluación de productos biotecnológicos en la Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioprocesos en la ENCB-IPN. carlos_lopezmorales@yahoo.com



✉ Emilio Medina-Rivero

El Dr. Emilio Medina Rivero es director técnico-científico de la Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioprocesos del IPN. Es doctor en ciencias (Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica) e investigador nivel I en el Sistema Nacional de Investigadores. Realizó estancias de investigación en University of Illinois at Urbana-Champaign y en University of Newcastle Upon Tyne. Entre sus principales logros están el primer lugar en el XIV Concurso Nacional de Creatividad, el reconocimiento como Ingeniero Distinguido egresado del ITM 2009 y la obtención de 2 patentes registradas ante el IMPI. emrivero@yahoo.com.mx



GENOMICS

TOOLS THAT ACCELERATE THE MAKING OF MEDICINE REALLY INDIVIDUALIZED

Por:  Hugo A. Barrera Saldaña



**GENOMIC
VARIATION
LARGELY
EXPLAINS THE
DIFFERENCES
IN AN
INDIVIDUAL'S
RESPONSE
TO DRUG
TREATMENTS.**

The development of a new drug candidate has traditionally been a long and expensive process, in which a molecule undergoes several stages of research (both pre-clinical and clinical) before being approved for commercialization. Scientific progress has revolutionized the pharmaceutical industry and reshaped the processes by which new drugs are discovered, investigated, and developed. However, nowadays, since the patents on many drugs are expiring and their biosimilars are entering the market, efficient ways to probe their alleged bioequivalency to the reference drug, are in high need (León-Cachón and Barrera-Saldaña, 2012).

For both scenarios, genomics is aiding to accelerate the development of new drugs either by identifying «drugable» cellular targets in the first case, or by genetically identifying vol-



unteers with normalization purposes for optimizing bioequivalence studies, as to choose only normal metabolizers for the drug being evaluated, so that by minimizing inter-individual variability, less volunteers are needed to reach reliable comparative results (León-Cachón and Barrera-Saldaña, 2012).

Genomic variation largely explains the differences in an individual's response to drug treatments. Either a patient has a unique set of mutations that drive his/her disease and because of this his/her progression and treatment outcome would be unique (disease diagnosis and prognosis); or his/her metabolism and/or physiological individuality also varies and in consequence, the prescribed drug varies in its efficacy and safety. Let's refer to these genomic applications as to *pharmacogenetics*, when dealing with metabolism of chemical drugs in general; and as to *precision medicine*, when a drug usually of biological nature is prescribed to match a unique condition of the patient resulting from a particular genetic alteration or mutation (León-Cachón *et al.*, 2015).

Pharmacogenetics (PGX) precisely focuses on the identification of genetic polymorphisms and gene mutations involved in the adsorption, distribution, metabolism and excretion of chemical drugs. Whereas *precision medicine* focuses on the development of new treatments directed specifically to target molecular and cellular alterations resulting from gene mutations, as well as in the identification, by means of accompanying genetic tests,



GENOMICS IS AIDING TO ACCELERATE THE DEVELOPMENT OF NEW DRUGS EITHER BY IDENTIFYING «DRUGABLE» CELLULAR TARGETS IN THE FIRST CASE, OR BY GENETICALLY IDENTIFYING VOLUNTEERS WITH NORMALIZATION PURPOSES FOR OPTIMIZING BIOEQUIVALENCE STUDIES.

of those patients harboring them, for matching them to the gene-based treatment (Barrera-Saldaña 2015).

Examples of *PGX* studies was our pioneer work with *PGX* DNACHIPS in which we investigated over 250 breast cancer patients under tamoxifen and capecitabine treatments. Just to mention one of the main discoveries of the referred study, we found out that a non-neglectable proportion of them were taking tamoxifen for several years, even with a metabolic phenotype that was not activating the drug efficiently hence not protecting them from a relapse (Alcázar-González *et al.*, 2013).

Example of *companion tests* was also our other pioneer study with patients suffering from metastatic colorectal cancer being treated with monoclonal antibodies (mAb) directed against a hormone-dependent cellular receptor that over-stimulates the proliferation of the cancer cells. In these cases, a condition for the drug to be efficacious is the absence of activating mutations on signal transducer intermediates placed downstream of the cascade ignited by the hormone-bound receptor. In our investigation, we were able to detect prior to initiating the treatment, that those patients lacking such mutations, would favorably respond to the prescribed therapeutic mAb (Cárdenas-Ramos *et al.*, 2015).

Currently, the influence of genomic variations in drug metabolism must be further investigated and better understood in order to predict an individual's response to a given

IN OUR PIONEER
WORK WITH PGX
DNACHIPS WE
INVESTIGATED OVER

250

BREAST CANCER
PATIENTS UNDER
TAMOXIFEN AND
CAPECITABINE
TREATMENTS.



THE INFLUENCE
OF GENOMIC
VARIATIONS IN
DRUG METABOLISM
MUST BE FURTHER
INVESTIGATED
AND BETTER
UNDERSTOOD IN
ORDER TO PREDICT
AN INDIVIDUAL'S
RESPONSE TO A
GIVEN TREATMENT.

treatment. Employing genomics tools, an individual's genetic profile may be obtained and used as the basis for prescription of the best treatment option, thus personalizing medicine. In this note, a brief overview was presented on how current mainstream genomic technologies used in genomic medicine research can accelerate the identification of populations that can benefit the most while reducing risks of adverse events or lack of treatment efficacy. Readers are invited to consult the cited references for a more comprehensive view of recent findings regarding this topic in Mexican population.

REFERENCES

- Alcázar-González G. A., Calderón-Garcidueñas A. L., Garza-Rodríguez M. L., Rubio-Hernández G., Escorza-Treviño S., Olano-Martin E., et al. (2013). Comparative study of polymorphism frequencies of the CYP2D6, CYP3A5, CYP2C8 and IL10 genes in Mexican and Spanish women with breast cancer. *Pharmacogenomics*. 13, 1583-1592.
- Barrera-Saldaña H. A. *Mexico Health Review 2015* (pp. 154, 155). México: Toguna.
- Cárdenas-Ramos S.G., Alcázar-González G., Reyes-Cortés L.M., Torres-Grimaldo A.A., Calderón-Garcidueñas A.I., Morales-Casas J., et al. (2017) The Frequency and Type of K-RAS Mutations in Mexican Patients With Colorectal Cancer: A National Study. *Am J Clin Oncol*. 40(3): 274-276.
- León-Cachón R. B., Ascacio-Martínez J. A., Barrera-Saldaña H. A. (2012). Individual response to drug therapy: Bases and study approaches. *R. I. C.* 64, 364-76.
- León-Cachón R. B., Ascacio-Martínez J. A., Gamino-Peña M. E., Cerda-Flores R. M., Meester I., Gallardo-Blanco H. L., et al. (2015). A pharmacogenetic pilot study reveals MTHFR, DRD3 and MDR1 polymorphisms as biomarker candidates for slow atorvastatin metabolizers *BMC Cancer*. doi: 10.1186/s12885-016-2062-2

Hugo A. Barrera-Saldaña

Professor of Biochemistry and Molecular Medicine and Director of the National Biobank Laboratory, School of Medicine and University Hospital at the Autonomous University of Nuevo Leon. Founder and General Director of Vitagénesis, S.A. Monterrey, N. L. México. Present address: TecSalud. Tecnológico de Monterrey, N. L. México habarrera@gmail.com



INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE **NANO** **MATERIALES** PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS

Por:  Miguel Ángel Méndez Rojas · Luis Arturo García de la Rosa ·
Jessica Flood Garibay · María Fernanda Veloz Castillo

RESUMEN

La explotación de las propiedades físicas únicas (ópticas, magnéticas, electrónicas o mecánicas) que caracterizan a los llamados materiales nanoestructurados o nanomateriales en biomedicina ha dado lugar al surgimiento de un área interdisciplinaria y muy prometedora: la nanomedicina. La versatilidad de estos materiales para poder modificar su estabilidad, dispersabilidad, toxicidad e incluso para controlar sus propiedades físicas, los hacen de gran utilidad para aplicaciones tales como transporte y libe-

ración controlada de fármacos, imagenología médica, diagnóstico clínico e incluso terapia, y promete el desarrollo de una medicina personalizada capaz de dar solución a numerosos problemas actuales de salud pública. En este trabajo discutimos algunos aspectos básicos de los nanomateriales aplicados a la biomedicina, así como algunas de las contribuciones desarrolladas por nuestro grupo de investigación en la UDLAP y su impacto en el nuevo posgrado institucional en Biomedicina Molecular.



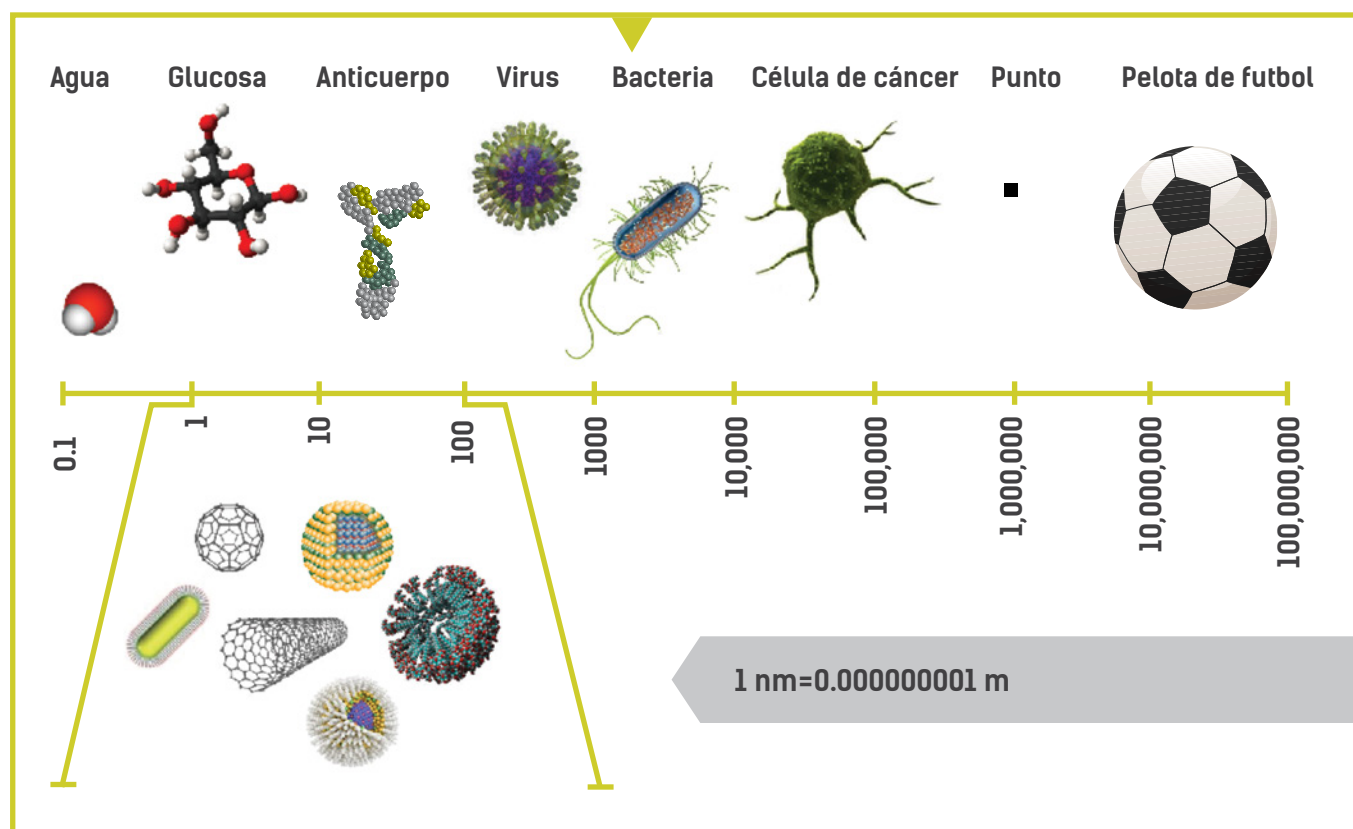


Figure 1. Escalas dimensionales relativas de estructuras biológicas y moleculares, comparadas con algunos nanomateriales selectos. Se encuentra señalada la región entre 1 y 100 nm ($1 \text{ nm} = 0.000000001 \text{ m}$ o $1 \times 10^{-9} \text{ m}$) que es donde se encuentran, por definición, los nanomateriales.

◆◆ PALABRAS CLAVE

Nanomateriales · Nanomateriales y
biomedicina · Aplicaciones nanomateriales

◆◆ ABSTRACT

The use of nanostructured materials or nanomaterials, with unique physical properties (optical, magnetic, electronic or mechanical), in biomedicine, has given rise to an interdisciplinary and very promising field called Nanomedicine. The ability of those nanomaterials to change their stability, solubility, toxicity or even to control their physical properties, makes them useful for several applications such as drug transport and controlled delivery, medical imaging, clinical diagnosis and even therapy, making it possible to develop personalized drugs that may help to solve several current public health problems. Here, we discuss some basic aspects about nanomaterials applications in Biomedicine, as well as some of the scientific contributions of our research group at UDLAP to the field of Nanomedicine and their impact on the new institutional graduate program in Molecular Biomedicine.

◆◆ KEYWORDS

Nanomaterials · Nanomaterials and
biomedicine · Nanomaterials applications

◆◆ ANTECEDENTES

La nanociencia y la nanotecnología (NyN) son consideradas un área emergente, enfocada en el diseño, preparación y manipulación de nuevos materiales en la escala de 1 a 100 nm (1 nm equivale a la mil millonésima parte de un metro, es decir, 0.000000001 m o $1 \times 10^{-9} \text{ m}$). Derivado del confinamiento espacial en esas dimensiones, los materiales nanoestructurados pueden presentar propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas y mecánicas únicas, lo que permite su explotación en novedosas aplicaciones tecnológicas (Noboru, 2009). En esa escala (1-100 nm), los nanomateriales tienen dimensiones similares a las de biomoléculas de importancia metabólica o clínica, células (sanas o enfermas), virus y bacterias (patógenas o benéficas), lo que hace muy interesante comprender la forma en que éstos se comportan con el fin de poder aprovecharlos tecnológicamente o evitar potenciales efectos toxicológicos (figura 1).

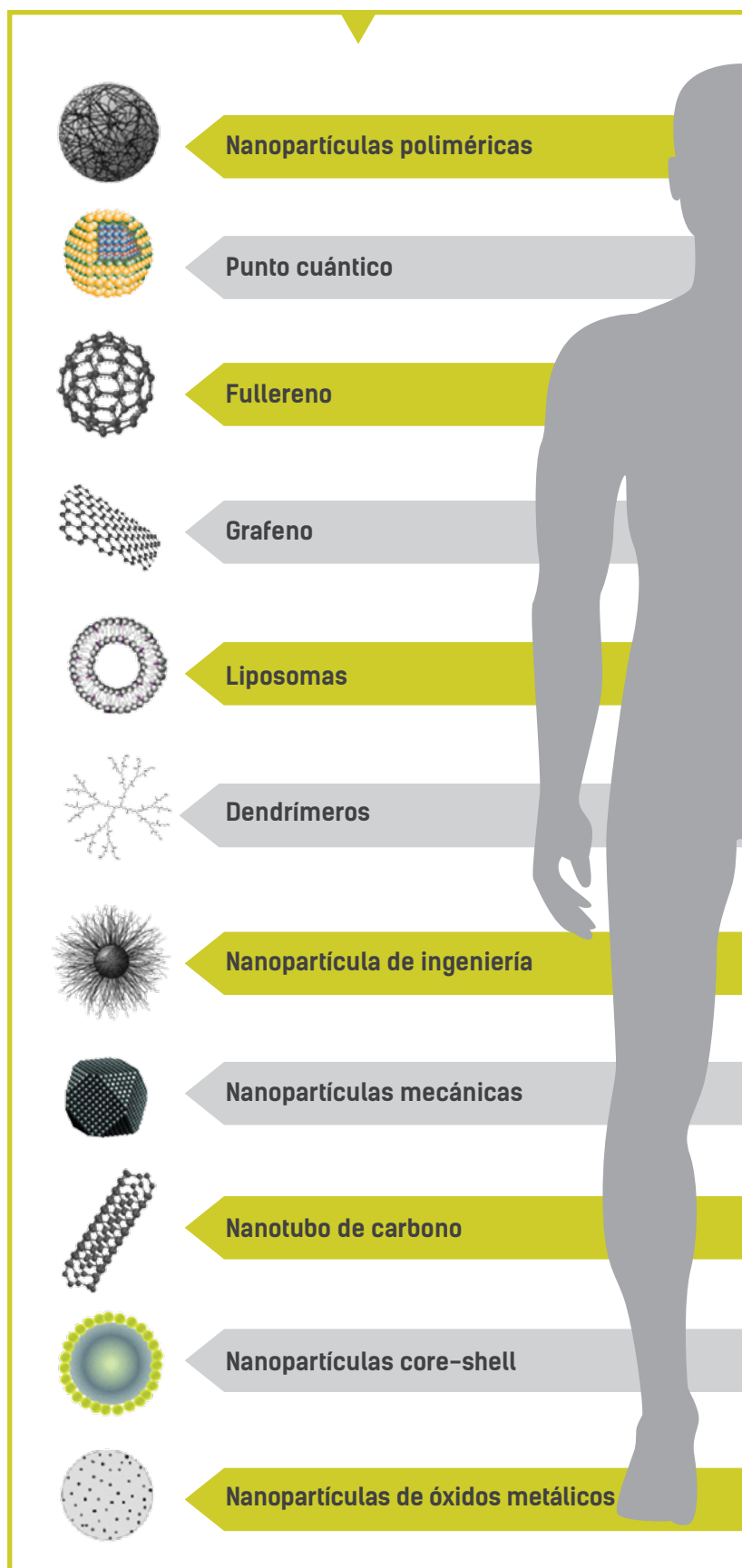


Figura 2. Representación esquemática de diferentes tipos de nanomateriales empleados para aplicaciones biomédicas.

Los nanomateriales pueden tener distintas formas, tamaños y composiciones químicas. Podemos encontrar nanomateriales basados, principalmente, en carbono (fullerenos, nanotubos de carbono, grafeno, entre otros), o conteniendo uno o más metales en algún estado de oxidación (magnetita, sílica, óxido de cerio, óxido de zinc, óxido de titanio, óxido de cobalto, entre otros), o pueden ser calcogenuros metálicos del tipo de los puntos cuánticos (selenuro de cadmio, sulfuro de zinc), o metales nobles en estado de oxidación cero (oro, plata, platino, rutenio), así como sistemas moleculares complejos como los dendrímeros, entre muchos otros (figura 2) (Veloz-Castillo *et al.*, 2016). Ya que las propiedades físicas de los nanomateriales dependen de uno o más parámetros es difícil hacer una extrapolación al comportamiento (y por tanto a la utilidad) de un nanomaterial basado únicamente en criterios simples como tamaño o forma. Nanomateriales cuyas características los hagan útiles para una aplicación biomédica particular, al ser modificados en su composición química, o en su superficie para cambiar su solubilidad o estabilidad, podrían no presentar las mismas características del material original e, incluso, llegar a ser tóxicos o altamente reactivos.

Las propiedades físicas únicas (ópticas, magnéticas, electrónicas, mecánicas), que pueden presentar los nanomateriales, están ya siendo explotadas en áreas como la electrónica, la remediación ambiental, la generación y almacenamiento de energía, e incluso en aplicaciones cotidianas como en el desarrollo de textiles de nueva generación y de nuevos materiales para construcción. Su pequeño tamaño les permite

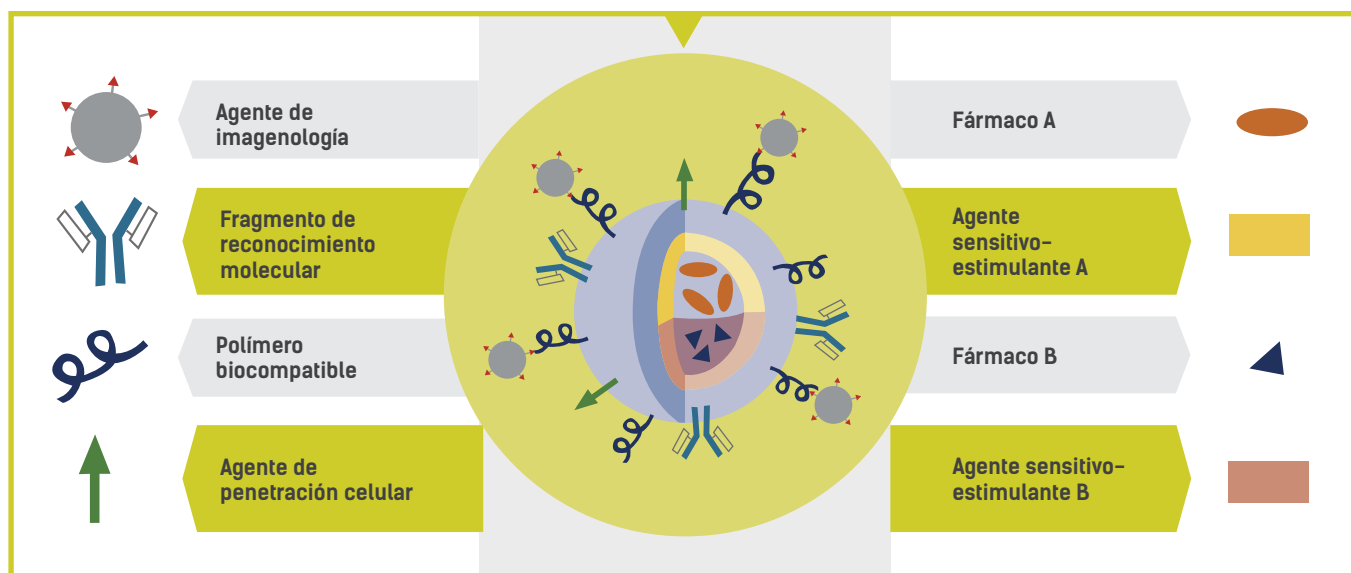


Figura 3. Representación esquemática de una nanopartícula de ingeniería multifuncional.

atravesar, casi sin problemas, numerosas barreras biológicas, lo que genera preocupación en términos de posibles efectos toxicológicos, pero también despierta el interés por su capacidad para ser explotados y llevar principios activos, nutrientes o agentes de imagenología a prácticamente cualquier célula o tejido biológico. Las potenciales aplicaciones biomédicas de los nanomateriales han llamado poderosamente la atención de numerosos grupos de investigación, que están enfocándose en revolucionar la atención a la salud de la población a través de una medicina personalizada, accesible y que pueda atender algunos problemas para los que la medicina actual presenta limitaciones (Méndez-Rojas *et al.*, 2016; Arteaga-Cardona y Méndez-Rojas, 2017b).

● APLICACIONES DE LOS NANOMATERIALES EN BIOMEDICINA

Las aplicaciones biomédicas de materiales nanoestructurados, en particular de nanopartículas, se encuentran en un desarrollo vertiginoso y acelerado debido al enorme potencial en áreas tales como diagnóstico clínico, transporte de fármacos, imagenología médica y terapéutica. La modificación superficial de los nanomateriales permite mejorar su solubilidad en el medio acuoso fisiológico, al mismo tiempo que permite disminuir su potencial toxicidad, mejorando de esta forma su biodisponibilidad, así como su biodistribución. Estos nanomateriales, modificados superficialmente (también

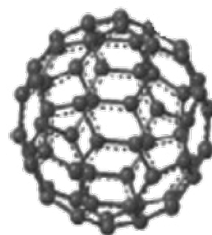
conocidos como nanomateriales de ingeniería, o ENMs, por sus siglas en inglés), pueden poseer marcadores de fluorescencia, fármacos y numerosas funciones químicas que pueden ser útiles para imagenología, diagnóstico y terapia.

La inmovilización superficial con anticuerpos, péptidos, azúcares, lípidos, proteínas, fármacos, entre otras moléculas, hace a los ENMs sistemas complejos, tanto para su diseño y preparación, como en su caracterización. Además, muchos de estos sistemas nanoestructurados sufren cambios en un medio fisiológico por la interacción con numerosas biomoléculas e iones presentes en el mismo, los cuales pueden recubrir la superficie en un proceso conocido como «formación de corona» alrededor del núcleo del nanomaterial, lo que puede modificar la estabilidad e incluso la toxicidad del sistema. La combinación de más de una de estas aplicaciones hace al material versátil y capaz de servir –simultáneamente– para diagnóstico y tratamiento, lo que es hoy conocido con el término de «teranóstica». Muy atractiva es la posibilidad de hacer altamente selectivo el proceso de interacción con alguna célula o tejido en particular, a través de la funcionalización superficial con anticuerpos específicos y diversas moléculas que pueden ser reconocidas de forma específica por receptores moleculares en la membrana celular (Méndez-Rojas *et al.*, 2016; Veloz-Castillo, *et al.*, 2016; Sava, *et al.*, 2017; Arteaga-Cardona, *et al.*, 2017b). Los ENMs son materiales multifuncionales muy versátiles para su

aprovechamiento en nanomedicina, por la facilidad de modificar la superficie o incorporar distintos tipos de agentes moleculares en su estructura (figura 3).

Los nanomateriales magnéticos biocompatibles pueden ser explotados como agentes para imagenología de resonancia magnética nuclear (también conocida por sus siglas en inglés, MRI, [Magnetic Resonance Imaging]). Dadas sus dimensiones, estas nanopartículas se movilizan a través del organismo con facilidad, acumulándose en distintos tejidos y órganos; la modificación superficial permite que reconozcan ciertos objetivos con especificidad (por ejemplo, células cancerosas), auxiliando al especialista de salud en el diagnóstico oportuno y en el tratamiento temprano de distintos padecimientos. Además, estas nanopartículas magnéticas pueden calentarse selectivamente mediante la aplicación de un campo magnético externo que alterne rápidamente. Mediante este fenómeno físico, uno puede aprovecharlas, no sólo para localizar (mediante MRI) el sitio en donde un tumor se encuentra; sino también para matar selectivamente dichas células mediante este calentamiento inducido por un campo magnético (también conocido como terapia hipotérmica). Esta novedosa técnica, actualmente se encuentra en fase clínica II en algunos países y es muy prometedora para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer que son de muy difícil acceso quirúrgico por su ubicación anatómica (Arteaga-Cardona, *et al.*, 2016a, 2016b, 2016c, 2017a, 2017b).

La sensibilidad térmica que tienen las células cancerosas la comparten también varios organismos patógenos, incluyendo bacterias, hongos y virus. Para tal fin, ciertos nanomateriales pueden comportarse como sensibilizadores en la llamada «terapia fotodinámica», que consiste en la aplicación de pulsos de radiación (normalmente en la región del infrarrojo que puede penetrar con facilidad varios milímetros de espesor de la piel), para el tratamiento



**LOS NANOMATERIALES
MAGNÉTICOS
BIOCOMPATIBLES
PUEDEN SER
EXPLOTADOS COMO
AGENTES PARA
IMAGENOLÓGIA
DE RESONANCIA
MAGNÉTICA NUCLEAR.**

de melanoma, infecciones microbianas o hiperpigmentación. Ya que la interacción entre la radiación electromagnética y los nanomateriales induce cambios locales de temperatura, este fenómeno también puede explotarse para activar cambios estructurales en la cubierta polimérica de una nanopartícula, promoviendo la liberación controlada de agentes terapéuticos en sitios específicos. El transporte y liberación controlada de fármacos es una de las aplicaciones más llamativas y prometedoras de los nanomateriales, con impacto en áreas diversas como la terapia génica, el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, la neuropsiquiatría o el síndrome metabólico, entre otros, con un mercado potencial para la industria farmacéutica de varios cientos de millones de dólares (Vargas-González, *et al.*, 2016).



EN LA UDLAP ESTAMOS DISEÑANDO NUEVOS SISTEMAS NANOESTRUCTURADOS MAGNÉTICOS, CON ESTRUCTURAS MULTICAPAS, CON LA INTENCIÓN DE MEJORAR SU BIOCOMPATIBILIDAD Y DESEMPEÑO COMO AGENTES DE IMAGENOLOGÍA Y PARA TERAPIA HIPERTÉRMICA.

La aplicación de los nanomateriales, tanto para diagnóstico, como en terapia y tratamiento, es un área que explota las propiedades multifuncionales de éstos para servir como agentes de imagenología o diagnóstico, así como para el transporte de fármacos o agentes terapéuticos por presentar propiedades físicas útiles para el tratamiento de alguna patología. Otras áreas que pueden beneficiarse de la explotación de los nanomateriales son el desarrollo de alimentos funcionales o enriquecidos que permitan mejorar la ingesta de micronutrientes y otros factores alimenticios necesarios para el desarrollo de un individuo sano (antioxidantes, probióticos, vitaminas, minerales, etcétera), en distintas etapas de su vida, previniendo, de esta forma, alteraciones metabólicas que pudieran desencadenar, al paso del tiempo, problemas de salud más graves.

● NANOMEDICINA HECHA EN LA UDLAP

En el laboratorio de investigación en nanomateriales de la UDLAP hemos trabajado durante los últimos diez años en el diseño, preparación y caracterización de nanomateriales con potencial utilidad en distintas aplicaciones biomédicas.

En este tiempo se han desarrollado contribuciones como el desarrollo de nuevos precursores para la preparación de óxidos metálicos nanoestructurados mediante la descomposición térmica controlada de complejos de carboxilatos metálicos (Palacios-Hernández *et al.*, 2012), el diseño de nanoestructuras magnéticas para el transporte y liberación controlada de fármacos antiinflamatorios y anticancerígenos (Angulo-Molina *et al.*, 2014; Vargas-González *et al.*, 2016), el desarrollo y evaluación de nuevos agentes para hipertermia magnética (Arteaga-Cardona *et al.*, 2016a; 2017a; 2017b), la preparación y evaluación del desempeño de los primeros agentes de contraste nanoestructurados para imagenología de resonancia magnética (MRI) hechos en el país (Arteaga-Cardona *et al.*, 2016b, 2016c) y la síntesis de materiales nanoestructurados biocompatibles para su incorporación como aditivos en alimentos funcionales (Santillán-Urquiza *et al.*, 2015; 2017).

Asimismo, estudiantes en nuestro grupo de investigación han colaborado en el desarrollo de sistemas nanoestructurados magnéticos, útiles para la detección temprana de infecciones virales (dengue) y parasitarias (mal de Chagas), y se encuentran actualmente diseñando un sistema colorimétrico que permita emplear tiras diagnósticas en papel, para el diagnóstico *in situ* de infecciones virales y bacterianas. También han estudiado las interacciones entre campos magnéticos externos débiles y nanopartículas magnéticas, encontrando interesantes respuestas de activación/inactivación de la capacidad de inducir muerte celular de forma selectiva en cultivos de células cancerosas, respecto a cultivos de células sanas. Nuestras colaboraciones con instituciones mexicanas y extranjeras como: Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG); Hospital General Manuel Gea Gonzá-

lez (HGMGG); Centro de Investigación Biomédica de Oriente (CIBIOR-IMSS); BUAP; Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM); Departamento de Química y Bioquímica de la Texas Christian University (TCU); Departamento de Física y Astrofísica de la University of Texas at San Antonio (UTSA); Bodega Marine Laboratory - University of California at Davis (BML-UC), entre otras, nos han permitido complementar nuestras capacidades experimentales de diseño, síntesis y caracterización de nanomateriales, a través de la capacidad de dichos grupos de investigación para la evaluación experta de actividad biológica, ensayos preclínicos y caracterización, usando la infraestructura más moderna.

Actualmente, nuestros proyectos de investigación se enfocan en la aplicación de nanomateriales como agentes para la liberación controlada de fármacos directamente en el cerebro (en colaboración con el grupo del Dr. Oscar Arias Carrión en el HGMGG) y su uso para imagenología clínica en cerebro (en colaboración con el grupo de la Dra. Silvia Hidalgo Tobón en el HIMFG) (Veloz-Castillo *et al.*, 2016). Asimismo, estamos participando en un proyecto multidisciplinario e interinstitucional para el transporte de activadores moleculares que desencadenan una respuesta eléctrica neuronal en ciertas regiones del cerebro (en colaboración con el Dr. Rafael Gutiérrez del CINVESTAV) y en la liberación controlada en cerebro de metabolitos secundarios con actividad neuroprotectora (en colaboración con la Dra. Anahí Chavarría de la UNAM). También estamos diseñando nuevos sistemas nanoestructurados magnéticos, con estructuras multicapas, con la intención de mejorar su biocompatibilidad y desempeño como agentes de imagenología y para terapia hipérmica. Con el fin de mejorar la biocompatibilidad de los nanomateriales magnéticos que preparamos en nuestro laboratorio, así como para facilitar su detección en cultivos celulares mediante microscopía, hemos desarrollado varios tipos de polisacáridos marcados con agentes de fluorescencia.

Finalmente, el reciente desarrollo de una plataforma biocompatible de nanopartículas carboxiladas superficialmente mediante una metodología innovadora por parte del Dr. Luis Arturo García de la Rosa, nos permitirá explorar una riquísima química para la preparación de numerosos derivados, con potencial uso en sistemas para aplicaciones biomédicas, ambientales, alimentarias, así como en el desarrollo de aditivos para uso en biomateriales. La eva-

Los proyectos de investigación en la UDLAP se enfocan en:

La aplicación de nanomateriales como agentes para la liberación controlada de fármacos directamente en el cerebro.

El transporte de activadores moleculares que desencadenan una respuesta eléctrica neuronal en ciertas regiones del cerebro.

La liberación controlada en cerebro de metabolitos secundarios con actividad neuroprotectora.

luación de la potencial toxicidad de los nanomateriales que se preparan en nuestro laboratorio, ha sido una preocupación constante y a través de la colaboración con nuestros colegas en México y en el extranjero hemos podido determinar los riesgos potenciales que nos permiten mejorar la composición o el diseño de dichos materiales. Nuestros proyectos han sido financiados por el CONACYT, a través del Fondo Sectorial de Investigación Científica Básica, y a través de los programas colaborativos UC-MEXUS/CONACYT. La colaboración del grupo de trabajo, integrado por jóvenes estudiantes de las licenciaturas en Nanotecnología e Ingeniería Molecular, Bioquímica Clínica, Ciencias Farmacéuticas y del Doctorado en Biomedicina Molecular, así como alumnos de otras instituciones nacionales, nos ha permitido consolidarnos como uno de los grupos de investigación más activos en el área de nanomedicina del país, con un interés en que la investigación básica pueda generar, en el futuro inmediato, productos que puedan llevarse a la sociedad y la beneficien.



LOS ESTUDIANTES EN NUESTRO GRUPO DE INVESTIGACIÓN SE ENCUENTRAN ACTUALMENTE DISEÑANDO UN SISTEMA COLORIMÉTRICO QUE PERMITA EMPLEAR TIRAS DIAGNÓSTICAS EN PAPEL, PARA EL DIAGNÓSTICO *IN SITU* DE INFECCIONES VIRALES Y BACTERIANAS.

● PERSPECTIVAS FUTURAS

A pesar de que el presupuesto destinado a ciencia y tecnología es menor al 0.5% del PIB, los científicos mexicanos (y en especial los de la UDLAP) se esfuerzan cada día para sacar provecho de lo que se tiene disponible, haciendo ciencia en distintos laboratorios a lo largo de todo el país. El gobierno mexicano tiene como objetivo llegar a una inversión pública y privada del 1% del PIB, lo que representaría un importante avance en la historia de la investigación en México. Sin embargo, los apoyos para investigación se han visto mermados en los últimos años, tanto en número de becas para estudiantes de posgrado, como en financiamiento de proyectos de investigación científica básica. Pero estamos seguros que, a través de proyectos de inversión mixtos (privados y públicos), nuestro país puede convertirse en un líder regional y mundial en investigación de vanguardia e impacto internacional. México cuenta con una tradición centenaria en investigación biomédica de vanguardia y es por eso que el nuevo Doctorado en Biomedicina Molecular de la UDLAP, en donde participamos con una vanguardista línea de investigación en nanomedicina, tiene el último fin de contribuir al desarrollo y mejora de la investigación y formación de recursos humanos de alto nivel para el beneficio de la salud de los mexicanos. Somos un grupo de investigación con cerca de quince años de experiencia

Los principales retos en la nanomedicina son:

La creación de sistemas nanoestructurados con propiedades físicas controladas.

Que sean biocompatibles.

Estables y con buen desempeño, que permitan el desarrollo de una medicina personalizada.

Con productos comerciales al alcance de toda la sociedad.

en el tema, en donde han participado más de setenta estudiantes de licenciatura, maestría y doctorado.

Los principales retos en la nanomedicina son la creación de sistemas nanoestructurados con propiedades físicas controladas, que sean biocompatibles, estables y con buen desempeño, que permitan el desarrollo de una medicina personalizada, con productos comerciales al alcance de toda la sociedad. La nanotecnología nos promete grandes avances en cuanto al diagnóstico y tratamiento simultáneo de diversas enfermedades (teranóstica), así como en contribuir significativamente al avance de nuevas líneas de investigación que conjuguen la NyN con la neurociencia, la oncología o numerosas enfermedades infecciosas emergentes como el dengue, la malaria o el SARS (síndrome respiratorio agudo y grave, por sus siglas en inglés). Pero la NyN solas no nos llevarán a la solución de éstos y otros problemas en distintas áreas. Es sólo a través de la investigación colaborativa, interinstitucional y multidisciplinaria, aunado a una transformación nacional de las políticas públicas e inversión en ciencia y tecnología, que podremos dar el salto de consumidores de ciencia y tecnología a creadores de la misma. Aún hay mucho por hacer.

REFERENCIAS

- Angulo-Molina, A., Méndez-Rojas, M. A., Palacios, T. J., Contreras, O. E., Hirata, G., Flores, J. C., Merino, S., Valenzuela, O., Hernández, J., Reyes, J. (2014). Magnetite nanoparticles functionalized with α -tocopheryl succinate (α -TOS) promote selective cervical cancer cell death. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(8), 2528.
- Arteaga-Cardona, F., Rojas, K., Costo, R., Méndez-Rojas, M.A., Hernando, A., de la Presa, P.(2016a). Improving the magnetic heating by disaggregating nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 663, 636-644.
- Arteaga-Cardona, F., Santillán, E., Costo, R., de la Presa, P., Hidalgo, S., Pal, U., Horta, P., José-Yacamán, M., Lozada, J.D., Ivkov, R., Méndez-Rojas, M.A. (2016b). Enhanced magnetic properties and MRI performance of bi-magnetic core-shell nanoparticles. *RSC Advances*, 6, 77558-77568.
- Arteaga-Cardona, F., Gutiérrez, E., Hidalgo, S., López, C., Brito, Y. A., Angulo, A., Reyes, J. R., González, R., Coffey, J. L., Pal, U., Pérez, M., Platas, D., Dies, P., Sosa, R., Méndez-Rojas, M. A. (2016c). Cell viability and MRI performance of highly efficient polyol-coated magnetic nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 18,345, 1-9.
- Arteaga-Cardona, F., Santillán, E., Pal, U., Mendoza, M. E., de la Presa, P., Torres-Duarte, C., Cherr, G. N., Méndez-Rojas, M.A. (2017a). Unusual variation of blocking temperature in bi-magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 441, 417-423.
- Arteaga-Cardona, F., Méndez-Rojas, M.A. (2017b). Nanomateriales para hipertermia magnética: principios y perspectivas de uso médico. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Física*, 31(2), abril-junio.
- Méndez-Rojas, M. A., Angulo, A., Aguilera, G. (2016). Nanomedicine: small steps, big effects. *CRC Concise Encyclopedia of Nanotechnology*, Chapter 61, CRC Press, 792-801.
- Noboru, T. (2009). *Nanociencia y nanotecnología: la construcción de un mundo mejor átomo por átomo*. México: Fondo de Cultura Económica.
- Palacios-Hernández, T. J., Hirata, G. A., Contreras, O. E., Mendoza, M. E., Valeriano, I., González, E., Méndez-Rojas, M. A. (2012). Synthesis and characterization of metal oxide nanoparticles obtained by thermal decomposition of metal tartrate complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 392, 288-282, 2012.
- Santillán-Urquiza, E., Hernández, E., Pacheco, P. F., González, R., Coffey, J. L., Mendoza, M. E., Vélez J. F., Méndez-Rojas, M.A. (2015). Inulin as a biocompatible coating for CaHPO_4 , α - Fe_2O_3 , ZnO , $\text{CaHPO}_4/\text{ZnO}$ and α - $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}$ nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 460, 339-348.
- Santillán, E., Méndez-Rojas, M. A., Vélez, J. F. (2017). Fortification of yogurt with calcium phosphate, iron oxide, zinc oxide nanoparticles coated with inulin: effect on physicochemical and flow properties. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 462-469.
- Sava, O. R., Sava, D. F., Radulescu, M., Albu, M. G., Ficai, D., Veloz, M. F., Méndez-Rojas, M. A., Ficai, A. (2017). Trends in materials science for ligament reconstruction. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 12(2), 145-154,.
- Vargas-González, B. A., Castro, L. I., Mendoza, M. E., González, R., Coffey, J. L., Méndez-Rojas, M. A. (2016). Hollow magnetic iron oxide nanoparticles as sodium meclizemate drug delivering systems. *Journal of Nanomedicine Research*, 3(6), 00071.
- Veloz-Castillo, M. F., West, R. M., Arias, O., Méndez-Rojas, M. A. (2016). Nanomaterials for Neurology: State-of-the Art. *CNS & Neurological Disorders*, 15(10), 1306-1324.



Miguel Ángel Méndez Rojas

AUTOR DE CORRESPONDENCIA

Doctor en Química por la Universidad Cristiana de

Texas (EE.UU.) y profesor titular senior del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas en la UDLAP desde 2003. Autor de 84 publicaciones en química, nanociencia y nanotecnología; catorce capítulos en libros y dos libros de divulgación científica. Es investigador nacional (SNI) nivel 2. Premio Estatal de Ciencia y Tecnología 2013 en el área de Ciencias Exactas y Naturales. Egresado de la Licenciatura en Química (UDLAP, 1997). miguela.mendez@udlap.mx



Luis Arturo García de la Rosa

Doctor en Bioquímica y Biología Molecular por la BUAP (2012). Profesor de tiempo

parcial en la UDLAP de 2012 a 2016. De 2016 a 2017 realizó una estancia posdoctoral bajo la supervisión del Dr. Miguel A. Méndez-Rojas. Tiene dos publicaciones científicas en el área de química orgánica. Actualmente está a cargo de la jefatura de Cursos, Encuentros y Festivales de la Dirección General de Difusión Cultural en la UDLAP. Egresado de la Licenciatura en Química (UDLAP, 2005). luis.garciadelar@udlap.mx



Jessica Flood Garibay

Maestra en Ciencias Químicas por la Universidad de Toronto (2011). De 2012 a 2017 fue

profesora de Química en el ITESM-CCM. Tiene dos publicaciones científicas en el área de química bioinorgánica. Actualmente se encuentra inscrita en el Doctorado en Biomedicina Molecular en la UDLAP. Egresada de la Licenciatura en Química (UDLAP, 2006). jessica.floodgy@udlap.mx



María Fernanda Veloz Castillo

Estudiante del 9° semestre de las licenciaturas en Química y en Nanotecnología

e Ingeniería Molecular en la UDLAP. Ha participado en varios congresos científicos nacionales e internacionales como el Congreso Latinoamericano de Química Bioinorgánica en Querétaro en 2016 y el 254th American Chemical Society (ACS) National Meeting en Washington, 2017. Es miembro fundador del capítulo estudiantil internacional de la ACS, «Catalyst» en UDLAP. Estudiante del Programa de Honores UDLAP. maria.velozco@udlap.mx

FROM BEDSIDE TO BENCH AND BACK AGAIN: INVESTIGATING
MEDICINAL EFFECTS OF
TURMERIC ON
BONE

Por:  Janet L. Funk

◆◆ ABSTRACT

Medicinal plants used in traditional healing systems hold great promise as leads for pharmaceutical development or as complementary treatments. However, their appropriate and most effective use requires knowledge of the active principles, their mechanism(s) of action, and safety/efficacy profiles. Moreover, insights into mechanism(s) of action can suggest novel, non-traditional uses for medicinal botanicals. An example of how modern scientific methods can be applied to evaluate a medicinal plant is presented here for turmeric (*Curcuma longa* L.), a tropical plant used as for its anti-inflammatory properties in Ayurvedic medicine for over 4,000 years. Moving from bench to bedside, our collaborative research efforts began by identifying active anti-inflammatory principles in complex turmeric extracts and testing their mechanism of action and efficacy in an animal model of rheumatoid arthritis (RA) as a prelude to performing dose finding and tolerability studies in people with RA using the most appropriate product. Elucidation of turmeric's mechanism of action has also identified possible new applications for use, including the treatment of breast cancer bone metastases, an incurable disorder.

◆◆ KEY WORDS

Curcuma longa-active principles · Treatment rheumatoid arthritis · Breast cancer

◆◆ RESUMEN

Las plantas medicinales utilizadas en los métodos de tratamiento tradicionales son muy prometedoras como guías para el desarrollo farmacéutico o como tratamientos complementarios. Sin embargo, su uso apropiado y más eficaz requiere el conocimiento de los principios activos, sus mecanismos de acción y perfiles de seguridad y eficacia. Además, la elucidación del mecanismo o mecanismos de acción puede sugerir nuevos usos no tradicionales para los productos medicinales botánicos. Se presenta aquí un ejemplo de cómo se pueden aplicar los métodos científicos modernos para evaluar una planta medicinal, específicamente la cúrcuma (*Curcuma longa* L.), una planta tropical utilizada por sus propiedades antiinflamatorias en la medicina ayurvédica durante más de 4,000 años. Pasando del laboratorio al lado de la cama del paciente, nuestros esfuerzos de investigación colaborativa comenzaron identificando principios activos antiinflamatorios en extractos de cúrcuma complejos y probando su mecanismo de acción y eficacia en un modelo animal de artritis reumatoide (AR). Lo anterior fungió como prelude para realizar posteriores estudios de determinación de dosis y tolerabilidad en pacientes con AR usando el producto más apropiado. La elucidación del mecanismo de acción de la cúrcuma también ha identificado posibles nuevas aplicaciones para su uso, incluyendo el tratamiento de las metástasis óseas del cáncer de mama, un trastorno incurable.



**A TROPICAL PLANT USED AS
FOR ITS ANTI-INFLAMMATORY
PROPERTIES IN AYURVEDIC
MEDICINE FOR OVER**

**4,000
YEARS**



◆◆ PALABRAS CLAVE

Curcuma longa • Principios activos •
Tratamiento • Artritis reumatoide •
Cáncer de mama

◆◆ INTRODUCTION

Plants have been used medicinally since the middle Paleolithic era and remain an important part of medical systems up to this day, both when prepared traditionally as chemically complex plant extracts (such as medicinal teas) or as the source of modern day drugs. Indeed, it has been estimated that up to 50% of chemotherapeutics are derived from natural products (Newman *et al.*, 2016). However, our understanding and therefore best use of medicinal plants remains rudimentary; while one third of the world's plants have been used medicinally, only 6% have been studied scientifically. Indeed, within Mexico alone, few of the estimated 383 plant species used to treat diabetes have been systematically studied (Mata *et al.*, 2013). Traditional medicinal plants therefore remain an untapped resource and a rich target for scientific discovery.

Why are plants biologically active in humans? Most medicinal, plant-derived moieties are so called *secondary metabolites* that can broadly be categorized into three structural groups: terpenes (composed of 5 carbon sub-units), alkaloids (nitrogen-containing compounds derived from amino acids) or polyphenols (containing hydroxylated aromatic rings). Unlike *primary metabolites*, required for plant growth and development that are similar across species, secondary plant metabolites are restricted to a specific plant family, genus or species and have no internal function (Gurib-Fakim, 2006.); they are instead defensive, having external targets that protect the plant from herbivores, insects or pathogens (e.g. fungus). Because plants and humans have evolved in parallel, it is not surprising, then, that many of these plant-derived compounds, of which phytoestrogens are an excellent example, are capable of targeting specific biological pathways in humans.

The medicinal study of plants (pharmacognosy) is therefore a focused evaluation of secondary metabolites in a given plant that is strongly guided by a knowledge of the plant's traditional use (ethnobotany, ethnopharmacology). Historically, morphine was the first chemical to be isolated from a plant (*Papaver som-*

IN MEXICO FEW OF THE ESTIMATED



383

PLANT SPECIES USED TO
TREAT DIABETES HAVE BEEN
SYSTEMATICALLY STUDIED.
TRADITIONAL MEDICINAL PLANTS
THEREFORE REMAIN AN UNTAPPED
RESOURCE AND A RICH TARGET
FOR SCIENTIFIC DISCOVERY.

niferum L [opium]), providing proof of principle that the biological effects of plants can be attributed to specific chemicals. However, pain relief obtained from complex opium products is likely due to multiple opiate and other (e.g. anti-spasmodic) compounds, whose relative abundance is variable and changes with growing conditions and the method of preparation. Standardization of chemically complex extracts is therefore difficult, at best, and further complicated in cases where the identity of active principles is not known (Pferschy-Wenzig *et al.*, 2015). The regulatory environment in each country provides an added layer of complexity; reports of mislabel botanical products, in terms of both plant species and chemical content, are not uncommon.

It is against this backdrop of challenges and gaps in knowledge, that our research group first began a systematic study of turmeric, a tropical plant whose dried rhizomes are used for their anti-inflammatory properties in Ayurvedic medicine. Despite traditional use for thousands of years, including written documentation dating back over 1000 years, a systematic scientific study of turmeric's active principles, mechanism of action, safety and tolerability had not been undertaken prior to the initiation of this collaborative research project, which was funded by the National Institutes of Health in the United States. An overview of this project is presented to elucidate issues to be considered and

IT IS AGAINST THIS
BACKDROP OF
CHALLENGES AND
GAPS IN KNOWLEDGE,
THAT OUR RESEARCH
GROUP FIRST BEGAN A
SYSTEMATIC STUDY OF
TURMERIC, A TROPICAL
PLANT WHOSE DRIED
RHIZOMES ARE USED
FOR THEIR ANTI-
INFLAMMATORY
PROPERTIES IN
AYURVEDIC MEDICINE.

Most medicinal, plant-derived moieties are so called secondary metabolites that can broadly be categorized into three structural groups:

1

TERPENES

composed of 5 carbon subunits.

2

ALKALOIDS

nitrogen-containing compounds derived from amino acids.

3

POLYPHENOLS

containing hydroxylated aromatic rings.

benefits to be drawn from the systematic evaluation of traditional medicinal plants.

MATERIALS AND METHODS

Chemically complex turmeric extracts and fractions enriched or depleted with respect to two major kinds of secondary metabolites, the polyphenolic curcuminoids or terpenoid-containing essential oils (EO), were isolated from the dried rhizomes of *Curcuma longa* L (turmeric) for *in vitro* and *in vivo* testing (Funk *et al.*, 2006a, 2006b, 2006c, 2010)). A crude extract containing approximately equal proportions of I) curcuminoids (curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin); II) essential oils, and III) polar components (Funk *et al.*, 2006) was prepared by mechanically stirring dry turmeric rhizome powder with MeOH, followed by filtration, washing of the marc with fresh MeOH, and stripping of the solvent under vacuum (9.5% yield). An essential oil-only fraction was isolated by n-hexane extraction of dried turmeric rhizome, combining the filtrate with an n-hexane wash of the marc, followed by solvent stripping (yield, 3.7%). An essential oil-free curcuminoid-containing fraction was prepared by MeOH extraction of the marc remaining after hexane extraction of the rhizome, followed by a final solvent stripping (3% yield, 41% curcuminoids). Lastly, a curcuminoid-only fraction was purchased (a “+98% curcumin” product [Sigma-Aldrich, St Louis, MO], that is actually a mixture of naturally occurring curcuminoids [94%]). Curcuminoid and EO content of these preparations, as noted above, were characterized by HPLC, with curcuminoid content quantitated using stock solutions of curcumin, demethoxycurcumin and bis-demethoxycurcumin,

with purity confirmed by HPLC, MS, NMR and elemental analysis.

Extracts and fractions were screened *in vitro* (Lantz *et al.*, 2005) to assess their dose-dependent ability to inhibit LPS-stimulated PGE₂ secretion from human HL-60 macrophages prior to *in vivo* testing in a rat model of rheumatoid arthritis (RA) (Funk *et al.*, 2006a, 2006b, 2006c, 2010). For the arthritis model, joint inflammation and peri-articular joint destruction was induced in female Lewis rats by administration of a single intraperitoneal injection of peptidoglycan-polysaccharide polymers isolated from the sonicated cell wall (SCW) of Group A *Streptococcus pyogenes* (Lee Laboratories, Grayson, GA). Daily treatment of control or SCW-treated rats with turmeric extracts (vs. vehicle [DMSO]) was initiated either 4 days prior (prevention protocol) or after (treatment protocol) initiation of arthritis with dosing normalized to total curcuminoids or estimated EO, as appropriate (mg/kg). Dose-dependent anti-inflammatory efficacy was determined in a blinded fashion by daily assessment of clinical paw swelling (arthritic index) or histologic assessment of SCW-induced granuloma formation at sites of SCW deposition in the liver. The mechanism of curcuminoid anti-arthritic action was explored by microarray analysis of gene expression in joints from control and curcuminoid-treated rats (naive or arthritic) and signaling pathway analysis, complemented by use of real time RT PCR and enzyme-linked immunosorbent assays to confirm changes in mechanistically important gene products, and electrophoretic mobility shift assays to verify curcuminoid inhibition of NFκB activation, a key transcription factor identified via pathway analyses (Funk *et al.*,

2006b). Dose-dependent anti-arthritic efficacy, safety, and mechanisms of action identified in the animal model were used to design an early phase clinical trial in patients with rheumatoid arthritis.

● RESULTS AND DISCUSSION

Bioassay-guided fractionation of turmeric extracts

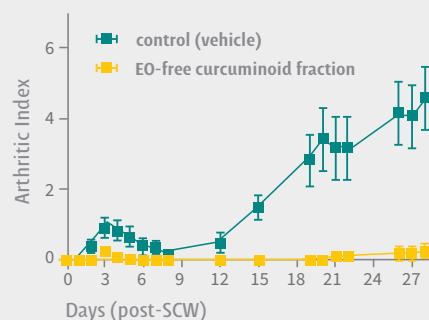
Polyphenolic curcuminoids in turmeric had previously been a focus of medicinal interest. It was therefore unanticipated when initial bioassay guided fractionation revealed potent anti-inflammatory effects of both of turmeric's secondary metabolites (Funk *et al.*, 2006c, 2010; Lantz *et al.*, 2005). A terpene-containing EO-only fraction and a curcuminoid-containing EO-free fraction were equipotent in inhibiting endotoxin-stimulated PGE₂ secretion from human macrophages (IC₅₀ < 1.0 µg/ml), with a suggestion of possible synergistic effects when present in combination in a crude extract.

In vivo arthritis model: efficacy and safety

The ethnobotany of turmeric includes its use as an anti-arthritic agent. Given the potency of both of turmeric's secondary metabolites in blocking PGE₂ *in vitro*, their anti-arthritic effects, alone and in combination, were assessed using an animal model of rheumatoid arthritis (RA), a particularly inflammatory, autoimmune form of arthritis whose modern-day treatment relies heavily on cytokine-neutralizing antibodies. Remarkably, the crude turmeric extract containing both types of secondary metabolites (50 mg curcuminoids and 50 mg EO/kg/d) completely inhibited joint swelling over a month-long course of disease activity when continuous treatment was started prior to the onset of arthritis (Funk *et al.*, 2006b). (figure 1). Similar doses of turmeric essential oils (EO) alone or a «complementary» EO-free curcuminoid-containing fraction (curcuminoids + polar compounds) each almost equipotently inhibited arthritis by > 90% (figure 1), with an ID₅₀ < 20 mg/mg/d, corresponding to a human equivalent dose (HED) of < 200 mg/d (Funk *et al.*, 2006a, 2006b, 2006c, 2010).

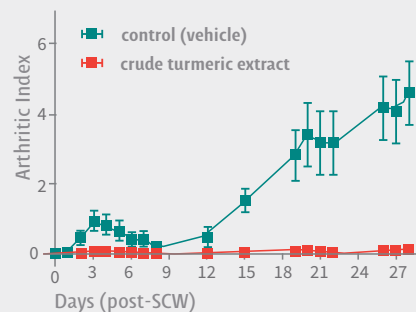
Importantly, in these initial efficacy studies, extracts were administered via intraperitoneal injection (IP) to identify and compare bioactivity independent of differences in oral bioavailability, since, for example, curcuminoid oral bioavailability is altered by the presence of essential oils. Toxicity analysis revealed marked differences between EO and EO-free extracts in

» Essential oil-free (curcuminoids + polar)



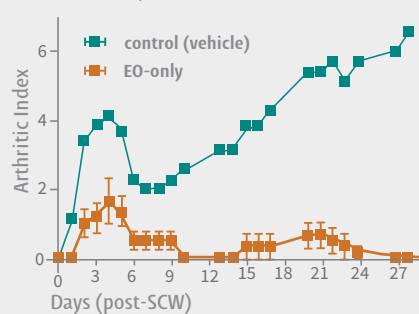
POLAR CURC

» Crude Extract



POLAR CURC EO

» Essential Oils-only



EO

Figure 1. Anti-arthritic efficacy: turmeric extracts

A crude extract containing both secondary metabolites almost completely suppressed joint swelling (Arthritic Index). While polyphenolic curcuminoids are a focus of medicinal interest, turmeric's essential oils were equipotent to a curcuminoid-containing, essential oil-free fraction in blocking arthritis.

The ethnobotany of turmeric includes its use as an anti-arthritis agent.

Given the potency of both of turmeric's secondary metabolites in blocking

PGE₂

in vitro, their anti-arthritis effects, alone and in combination, were assessed using



an animal model of rheumatoid arthritis (RA),



a particularly inflammatory, autoimmune form of arthritis whose modern-day treatment relies heavily on cytokine-neutralizing antibodies.

response to IP administration. Essential oil-containing extracts (either isolated or crude) had a high mortality associated with hepatotoxicity, gastrointestinal bleeding and anemia (Funk *et al.*, 2010) (figure 2). In contrast, essential-oil free fractions were better tolerated (Funk *et al.*, 2006a, 2006b); purified curcuminoids, devoid of both essential-oils and polar compounds, had the best safety profile, lacking any associated mortality, hepatotoxicity, or anemia (figure 2).

The use of the SCW model allowed for assessment of one additional safety concern; certain anti-inflammatory agents, such as TNF inhibitors, can reactivate quiescent tuberculosis and other similar infections that rely on the body's ability to mount a granulomatous inflammatory response to contain intracellular infections. In the SCW model, a granulomatous inflammatory response also occurs at sites of SCW deposition in the liver, allowing for assessment of untoward treatment effects on inhibition of granulomatous inflammation. Preparations containing either the essential oils or polar compounds all inhibited granulomatous inflammation, suggesting a potential treatment risk, while the curcuminoid-only fraction was without effect (Funk *et al.*, 2006c, 2010). In toto, the curcuminoid-only extract had the best safety profile when administered IP and also was the most potent inhibitor of arthritis (ID_{50} = 2 mg/kg/d), albeit with a lower maximal effect size (70% inhibition) (Funk *et al.*, 2006a).

To verify the clinical relevance of these findings, follow on studies were conducted to confirm oral efficacy and tolerability of turmeric's purified curcuminoids vs. essential oils. Oral

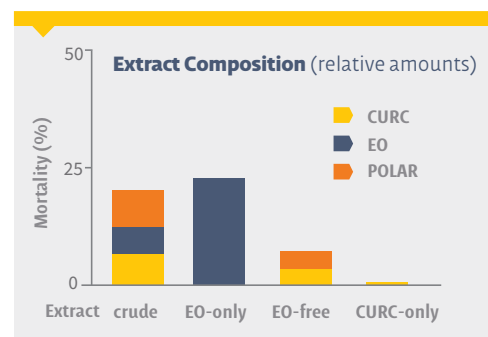


Figure 2. Mortality: turmeric extracts.

IP administration of turmeric extracts led to significant mortality in rats, with the exception of curcuminoid-only extracts. EO= essential oils. CURC=curcuminoids

treatment studies using the SCW model confirmed initial impressions related to the superiority of curcuminoid-only extracts; a curcuminoid-only fraction inhibited arthritis by 50% without toxicity when a 10-fold higher dose was administered to account for lower oral bioavailability (117 mg/kg/d [HED = 1 g/d]) (Funk *et al.*, 2006). In contrast, a 10-fold higher oral dose of EO (560 mg/kg/d [HED = 5 g/d]) was neither efficacious in blocking arthritis nor toxic (Funk *et al.*, 2010), an outcome that may be attributable to a low oral bioavailability of these essential oils.

***In vivo* arthritis model: mechanism of action**

Follow on studies focused on elucidating the mechanism of the curcuminoids' anti-arthritis effects. Guided by experiments demonstrating that early treatment with curcuminoids was critical, including an intriguing study demonstrating a month-long, joint protective effect when curcuminoids were administered for

only 4 days *preceding* induction of arthritis, we postulated that curcuminoids could be targeting acutely inducible elements at the apex of the body's inflammatory response (Funk *et al.* 2006). To ascertain possible mechanisms responsible for curcuminoids' joint protective effects, differential gene expression in arthritic (vs. normal) joints with and without *in vivo* curcuminoid treatment was examined (Funk *et al.* 2006b). Curcuminoids had little, if any, effect on gene expression in normal joints. However, curcuminoid treatment inhibited the expression of over 200 known genes altered acutely at the onset of joint inflammation, and an even larger number of genes during a later, persistent phase of joint inflammation that is accompanied by bone/joint destruction, analogous to the articular damage occurring in uncontrolled RA (Funk *et al.*, 2006b).

Pathway analysis software identified a majority of curcuminoid-targeted genes as being regulated directly or indirectly by NFκB, a transcription factor that is a master regulator of the inflammatory response (Funk *et al.*, 2006b) (figure 3). Sequestered in the cytoplasm as an inactive protein, NFκB serves as a rapid «on switch» for inflammation when it translocates to the nucleus. In arthritic joints, activation (nuclear translocation) of p50/p65 NFκB hetero-/homo-dimers was almost completely abolished by curcuminoid treatment, as determined by electrophoretic mobility shift assay (EMSA), thus establishing NFκB as a key curcuminoid target in arthritis (Funk *et al.*, 2006b).

Important classes of NFκB regulated, curcuminoid-targeted genes identified in gene expression microarrays included: chemokines (e.g. MCP-1 and GRO-KC), cytokines (e.g. IL-1β), and other important mediators of inflammation and joint destruction (e.g. COX-2, RANKL) (figure 3). Follow on experiments confirmed curcuminoid inhibition of these genes at the protein level, as well as physiologic consequences of this inhibition, including decreased articular influx of neutrophils and monocytes and intra-articular production of joint-damaging PGE₂ (Funk *et al.*, 2006b).

Of particular interest, in addition to preventing inflammation, curcuminoid treatment also prevented bone destruction, which is also an NFκB driven process (figure 3). Bone resorption in RA, as in all resorptive bone disorders (e.g. osteoporosis), is driven by the receptor activator of NFκB (RANK) pathway; binding of RANK ligand (RANKL) to RANK on the surface of

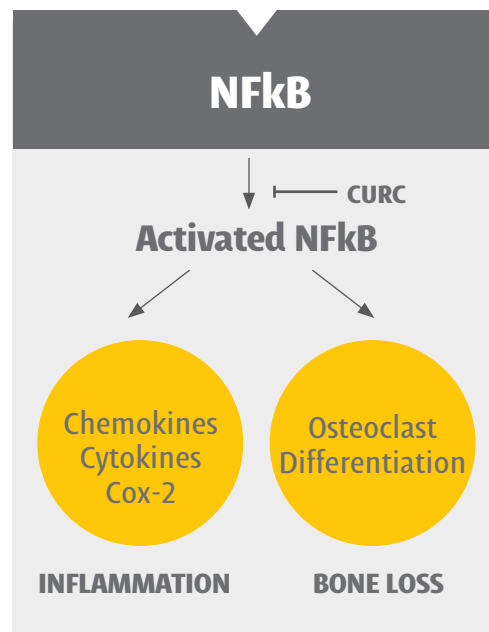


Figure 3. Mechanism of Action: Curcuminoids
Blockade of NF-κB signaling was primary mechanism by which the well tolerated curcuminoids blocked joint inflammation and peri-articular bone destruction in an experimental rat model of rheumatoid arthritis.

osteoclast precursors drives the formation of these bone resorbing cells. In arthritic joints, curcuminoid treatment: 1) normalized NFκB-inducible RANKL expression in arthritic joints; 2) prevented a marked increase RANKL-stimulated osteoclasts formed by «arthritic» bone marrow cells *ex vivo*; 3) inhibited RANKL-stimulated nuclear translocation of NFκB in osteoclast precursor cells *in vitro*; and 4) normalized periarticular osteoclast counts and preserved periarticular bone *in vivo* (Funk *et al.*, 2006b). These pre-clinical studies, therefore, not only provided important pharmacokinetic and pharmacodynamic data to guide the clinical use of turmeric in RA, but also, given the central role for RANK signaling in mediating bone loss in most resorptive bone diseases, provided a basis for exploring its use in non-traditional settings, such as osteoporosis (Wright *et al.*, 2010), a disease whose silence precludes a rich history of ethnobotanical treatment.

Moving from bench to bedside: Curcuma longa L. in rheumatoid arthritis (CLaRA) clinical trial

While a population-based survey conducted by our research group has identified turmeric as the botanical most commonly used by people with RA in the United States, little is known

«
TO ASCERTAIN
POSSIBLE MECHANISMS
RESPONSIBLE FOR
CURCUMINOIDS'
JOINT PROTECTIVE
EFFECTS, DIFFERENTIAL
GENE EXPRESSION
IN ARTHRITIC (VS.
NORMAL) JOINTS WITH
AND WITHOUT *IN VIVO*
CURCUMINOID
TREATMENT WAS
EXAMINED.

about its dose dependent efficacy and safety as an RA treatment. Therefore, guided by the results of our pre-clinical studies, we have designed a double-blind, placebo controlled phase 1b study of well characterized turmeric supplements in patients with RA. Because of the lower EC_{50} and better safety profile of curcuminoid-only extracts in our pre-clinical studies, a curcuminoid-only product was selected. While the pre-clinical data suggest that a HED of 1 g/d may be biologically active, dose-dependent increases in naturally occurring curcuminoid bioavailability have been reported in prior non-RA studies up to 8 g/d, albeit with increased reports of gastrointestinal symptoms, likely related to their poor oral bioavailability. To maximize bioavailability while minimizing gastrointestinal side effects, a proprietary curcuminoid-enriched product with a reported 10-fold increase in bioavailability was selected for study in doses corresponding to 4 and 8 g/d of naturally-occurring curcuminoids. Primary endpoints include feasibility of testing in an RA population with active joint inflammation not currently being treated with biologic inhibitors of cytokines (which would be a common target), tolerability, and pharmacokinetics, including an investigation of possible bioactive metabolites of the curcuminoids.

Future directions

Applying modern scientific methods to the study of traditional medicinal plants enhances our ability to maximize their effective use, as exemplified by our identification of turmeric's bioactive components and their dose-dependent efficacy and tolerability in a pre-clinical model of arthritis, a disease for which turmeric is traditionally used. Elucidation of botanical pharmacodynamics also enhances their rational use, particularly when botanicals are combined with drugs, as commonly occurs when treating complex chronic conditions, such as RA. Knowledge of a botanical's mechanism of action also expands its medicinal potential beyond its ethnobotanical use, as exemplified by ongoing studies in our laboratory exploring turmeric's its potential use in the management of osteolytic breast cancer bone metastases, a novel, non-traditional use (Wright *et al.*, 2013a, 2013 b).

Harnessing the bounty of nature to enhance our wellbeing is an exciting mission. In so doing we are essentially turning the table on plants, taking advantage of chemical «weapons» that

plants produce to keep us at bay to create medicines that will maximize our health. Building upon the medicinal knowledge of our ancestors, botanicals remain a rich area for study that complements modern day pharmaceutical approaches that often begin in the laboratory with a molecular target instead of with a traditional treatment.

ACKNOWLEDGEMENTS.

Studies described here, collaborative efforts of scientists at the University of Arizona and University of Kansas, were funded by the National Institutes of Health.

REFERENCES

- Funk, J. L., Oyarzo, J. N., Frye, J. B., Chen, G., Lantz, R. C., Jolad, S. D., Solyom, A. M., Timmermann, B. N. (2006a). Turmeric extracts containing curcuminoids prevent experimental rheumatoid arthritis. *J. Nat. Prod.* 69, 351-5.
- Funk, J. L., Frye, J. B., Oyarzo, J. N., Kuscuoglu, N., Wilson, J., McCaffrey, G., Stafford, G., Chen, G., Lantz, R. C., Jolad, S. D., Solyom, A. M., Kie-la, P.R., Timmermann, B. N. (2006b). Efficacy and mechanism of action of turmeric supplements in the treatment of experimental arthritis. *Arth. Rheum.* 54, 3452-64.
- Funk, J. L., Timmermann, B. N. (2006c). Translational investigation of turmeric for arthritis treatment: a review of lessons learned. *Nat. Prod. Comm.* 1, 1061-1066.
- Funk, J. L., Frye, J. B., Oyarzo, J. N., Zhang, H., Timmermann, B. N. (2010). Anti-arthritis effects of the essential oils of turmeric (*Curcuma longa* L.). *J. Ag. Food Chem.* 58, 842-849.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molec. Aspects Med.* 27, 1.
- Lantz, R. C., Chen, G. J., Solyom, A. M., Jolad, S.D., Timmermann, B.N. (2005). The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *Phytomed.* 12, 445-52.
- Mata, R., Cristians, S., Escandón-Rivera, S., Juárez-Reyes, K., Rivero-Cruz, I. (2013). Mexican antidiabetic herbs: valuable sources of inhibitors of α -glucosidases. *J. Nat. Prod.* 76, 468-83.
- Newman, D. J., Cragg, G.M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* 79, 629-61.
- Pferschy-Wenzig, E. M., Bauer, R. (2015). The relevance of pharmacognosy in pharmacological research on herbal medicinal products. *Epilepsy Behav.* 52, 344-62.
- Wright, L. E., Frye, J. B., Timmermann, B. N., Funk, J.L. (2010). Protection of Trabecular Bone in Ovariectomized Rats by Turmeric (*Curcuma longa* L.) is dependent on extract composition. *J. Agric. Food Chem.* 58, 9498-504.
- Wright, L. E., Frye, J. B., Lukefahr, A.L., Timmermann, B. N., Mohammad, K. S., Guise, T. A., Funk, J. L. (2013a). Curcuminoids block TGF- β signaling in human breast cancer cells and limit osteolysis in a murine model of breast cancer bone metastasis. *J. Nat. Prod.* 76, 316-21.
- Wright, L. E., Frye, J. B., Gorti, B., Timmermann, B. N., Funk, J. L. (2013b). Bioactivity of Turmeric-Derived Curcuminoids and Related Metabolites in Breast Cancer. *Cur. Pharm. Des.* 19, 6218-25.



Janet L. Funk

Dr. Janet Funk is a Professor of Medicine and Nutritional Sciences at the University of Arizona in Tucson. Clinically trained as an endocrinologist, Dr. Funk's primary research interest is in the study of bone disorders. Member of BIOS Institute/Arizona Cancer Center/Sarver Heart Center. Serves on external advisory boards in the United States, including the National Cancer Institute and National Center for Complementary and Integrative Health. jfunk@email.arizona.edu

SENSORES ELECTROQUÍMICOS CON APLICACIONES BIOMÉDICAS

Por:  Mónica Cerro López

RESUMEN

Los sensores electroquímicos se han desarrollado vertiginosamente en los últimos años debido a su gran sensibilidad, facilidad de operación y bajo costo. Una de las aplicaciones que han impulsado su desarrollo es su uso biomédico como herramienta de detección de diversos compuestos bioquímicos para monitorear el estado clínico de un paciente. El ejemplo más palpable de este tipo de sensores es aquel que permite la cuantificación de glucosa en el paciente diabético con tan sólo colocar una gota de sangre en una delgada tira de papel. La rapidez con que estos sensores pueden detectar una gran variedad de moléculas biológicas facilita el diagnóstico y promueve la identificación de enfermedades infecciosas en etapas tempranas. Por lo anterior, resulta interesante conocer en qué consisten estos electrodos y su principio de operación, así como algunas de sus

aplicaciones biomédicas y el papel que los nanomateriales juegan en la búsqueda de sensores de mayor sensibilidad, rapidez de respuesta y bajo costo.

ABSTRACT

Electrochemical sensors have remarkably developed in the last years due to their high sensitivity, ease of operation, and low cost. One of the applications that have triggered its development is its biomedical use as a detection tool for a variety of biochemical compounds to follow the health status of a patient. The most common example of these sensors is that one that allows glucose quantification in the diabetic patient with just placing a blood drop on a thin paper strip. The speed at which these sensors can detect a great variety of biological molecules makes the diagnostic easier and promotes the identification in infectious diseases in their

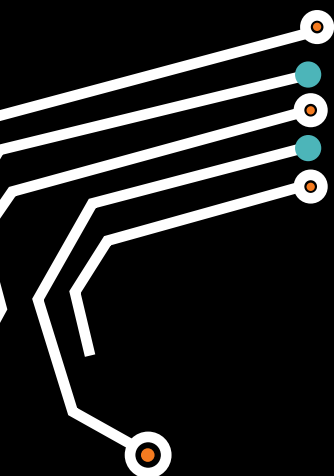


Figura 1. Medición casera de glucosa en sangre: el reducido tamaño del sensor requiere que sólo se necesite una gota para el análisis (Q4927806, 2017).

HAY TRES TIPOS DE SENSORES ELECTROQUÍMICOS:

1

POTENCIOMÉTRICOS

2

AMPEROMÉTRICOS

3

CONDUCTIMÉTRICOS

31

early stages. Because of this, it is interesting to know how these electrodes are conformed and their operation principle, as well as, some of their biomedical applications; and the role that nanomaterials play in the search of sensors with higher sensitivity, speed of response and low cost.

◆ PALABRAS CLAVE

Sensores electroquímicos • Aplicaciones biomédicas • Nanomateriales

◆ KEYWORDS

Electrochemical sensors • Biomedical applications • Nanomaterials

◆ ANTECEDENTES

Un sensor químico es un dispositivo compuesto por un material químicamente selectivo y un transductor de señal que transforma la respuesta derivada de la interacción de este material con su entorno en una señal detectable por un instrumento moderno. Los sensores pueden generar una señal proporcional a la reacción bioquímica o cambiar alguna propiedad eléctrica como resistencia, capacitancia o inductancia como resultado de la misma. Las señales producidas por estos dispositivos pueden ser eléctricas, térmicas u ópticas y se convierten en señales digitales posteriormente. Los sensores se pueden clasificar con base en estas señales. De igual forma, además de los sensores químicos, se encuentran los biosensores, que son capaces de encontrar compuestos bioquímicos como proteínas, nucleótidos e incluso tejidos. De lo anterior, surgen los biosensores

electroquímicos, cuya ventaja sobre otros sensores radica en su capacidad de sensor moléculas presentes en el huésped sin causarle ningún daño, por lo que sus aplicaciones en la biomedicina son ya considerables (Yogeswaran y Chen, 2008). Los sensores electroquímicos son la clase de sensores químicos que ha crecido al mayor ritmo entre este tipo de sensores. Éstos son de gran interés por su alta capacidad de detección, simpleza experimental y bajo costo.

● TIPOS DE SENSORES ELECTROQUÍMICOS

Hay tres tipos de sensores electroquímicos: potenciométricos, amperométricos y conductimétricos. En los potenciométricos se establece un equilibrio en la interfase del sensor y se mide el potencial del electrodo o de una membrana con respecto a un electrodo de referencia (un electrodo de potencial constante). El potencial así medido proporciona información acerca de la composición de una muestra. Los sensores amperométricos utilizan el potencial medido entre un electrodo de trabajo (electrodo en cuya interfase se lleva a cabo la reacción de interés) y otro de referencia, lo que provoca la oxidación o reducción de una especie electroactiva y se mide la corriente resultante de esta reacción. Por otro lado, los sensores conductimétricos involucran la medida de la conductividad a una serie de frecuencias (Stradioto, Yamanaka y Zaroni, 2003).

● SENSORES POTENCIOMÉTRICOS

Los sensores potenciométricos se han utilizado ampliamente debido a su facilidad de uso y costo. Hay tres tipos principales: los electrodos selectivos de iones (*ion-selective electrodes*, ISE),

LOS SENSORES PUEDEN GENERAR UNA SEÑAL PROPORCIONAL A LA REACCIÓN BIOQUÍMICA O CAMBIAR ALGUNA PROPIEDAD ELÉCTRICA COMO RESISTENCIA, CAPACITANCIA O INDUCTANCIA COMO RESULTADO DE LA MISMA.

Tabla 1. Nanomateriales utilizados en la fabricación de sensores electroquímicos con aplicaciones biomédicas. Adaptada de Chen y Chatterjee (2013). SWNT (Single walled carbon nanotubes); MWNT (Multi-walled nanotubes).

Nanomaterial	Analito	Método de detección	Intervalo dinámico / Límite de detección
SWNT-Nafion-Glucosa Oxidasa	Glucosa	Amperometría	2-20 mM
Composite de Polímero-SWNT	Dopamina	Voltametría cíclica (VC)	1.6×10^{-8} a 6×10^{-4} M/8 nM
SWNT	DNA	VC	5 a 30 μ M/1.43 μ M
MWNT	Colesterol	Amperometría	Hasta 6.0 mM/0.2mM
MWNT	Metimazol	Amperometría	0.074 a 63.5 μ M/0.056 μ M
MWNT-nanopartículas de plata	Sumatriptan	VC	80nM a 100 μ M/40 nM
Nanopartículas de oro	Biomarcador de cáncer	Amperometría	20 a 400 pgmL^{-1} /20 pgmL^{-1}
Nanopartículas de plata	H_2O_2	Amperometría	2.0 μ M a 353 mM/0.6 μ M
Nanopartículas de Pt-Au en nanotubos de TiO_2	Glucosa	Amperometría	Hasta 1.8 mM/0.1 mM
Composite de Nanotubos de TiO_2 y Ni	Glucosa	Amperometría y VC	0.1 a 1.7 mM/0.1 mM

los electrodos de alambre recubierto (*coated wire electrodes*, CWE) y los transistores de efecto de campo (*field effect transistors*, FET).

Un ISE es utilizado para medir con exactitud el pH de una solución y determinar así su acidez o basicidad. Este electrodo se basa en una membrana de vidrio conductora y selectiva para el ion hidrógeno (H^+) el cual al migrar al interior de la porción hidratada de la membrana cambia su potencial en una magnitud que se relaciona con la concentración del ion disuelto (H^+), (Harris, 1999).

La selectividad de un electrodo depende, primordialmente, de la naturaleza y composición de la membrana. Dependiendo de la naturaleza de la membrana, los ISE se pueden dividir en tres grupos: electrodos de vidrio, líquido o sólido. Los electrodos de vidrio, como el de pH, son los más comunes y se construyen de delgadas membranas de vidrio, capaces de medir concentraciones de iones monovalentes como Na^+ , K^+ , Li^+ , y NH_4^+ . Por su parte, los ISE de electrodos líquidos se basan en membranas poliméricas impregnadas con sustancias líquidas inmiscibles en agua. En estos electrodos, la sustancia líquida posee un acarreador móvil que transporta al ion a través de la membrana. El reconocimiento del ion por parte de este acarreador puede darse como fenómeno de intercambio iónico o bien porque actúa como un compuesto macrocíclico neutro que tiene cavidades de dimensiones apropiadas para rodear al ion objetivo. El uso principal de los ISE líquidos es en la determinación potenciométrica directa de cationes polivalentes, así como algunos aniones en un intervalo de concentraciones que va de 10^{-6} o 10^{-5} a 1 M.

Por su parte, los ISE sólidos, se basan en membranas de estado sólido que pueden estar hechas de cristales simples, *pellets* policristalinos, o cristales mezclados que son selectivos a aniones (p.ej, F^- , Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- , S^{2-}) o cationes (p.ej, Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}).

Los CWE se constituyen de un alambre conductor recubierto por una membrana polimérica selectiva a iones, usualmente, cloruro de polivinilo, cloruro de polivinilbencilo o ácido poliacrílico. El intervalo de concentraciones en el que este electrodo responde va de 10^{-6} a 10^{-1} M. La enorme ventaja de este electrodo es que no requiere de un electrodo de referencia interno, por lo cual, se le puede miniaturizar fácilmente. Es muy útil para la detección de diferentes analitos de tipo biomédico y clínico tanto *in vitro* como *in vivo*.

Los transistores de efecto de campo de ion selectivo (*ion-sensitive field-effect transistors*, ISFET) son un tipo de CWE cuya membrana se ha incorporado directamente sobre el área de la puerta (*gate*) de un FET. El FET es un dispositivo de estado sólido que presenta una alta impedancia de entrada y una baja impedancia de salida, por lo que puede monitorear la acumulación de carga en una membrana de ion selectivo. Su fabricación se basa en el grabado microelectrónico de los chips, por lo que, es posible preparar sensores con múltiples puertas que detectan varios iones simultáneamente. Asimismo, se puede alterar la selectividad de la matriz polimérica de estos sensores mediante la inmovilización de compuestos biomédicos o biológicos. Las aplicaciones biomédicas de estos sistemas incluyen la determinación enzimática y los inmunoensayos. Los electrodos

EL ÉXITO EN EL DESEMPEÑO DE LOS SENSORES AMPEROMÉTRICOS DEPENDE DEL MATERIAL QUE CONSTITUYE AL ELECTRODO DE TRABAJO.

enzimáticos se fabrican al unir covalentemente una enzima a un ISE, a un electrodo selectivo, a gases, o bien, a un ISFET. El electrodo da una respuesta al detectar directamente un subproducto iónico de la reacción del sustrato con la enzima. Por ejemplo, la glucosa oxidasa puede inmovilizarse en la superficie de un electrodo de pH, donde la glucosa no tiene un efecto en el cambio de pH. Sin embargo, el gluconato enzimáticamente formado, sí ocasiona un cambio de pH por acidificación del medio. Actualmente, en la construcción de los ISFET se usan transductores fisicoquímicos basados en semiconductores entre los que se pueden mencionar al nitruro de silicio (Si_3N_4), alúmina (Al_2O_3), óxido de zirconio (ZrO_2) y óxido de tantalio (Ta_2O_5) (Pohanka y Skládal, 2008; Grieshaber, *et al.*, 2008).

Una subclase de los sensores potenciométricos son los inmunosensores potenciométricos, los cuales basan su funcionamiento en el cambio de potencial asociado a la unión de un anticuerpo o antígeno con su compañero específico inmovilizado en el electrodo.

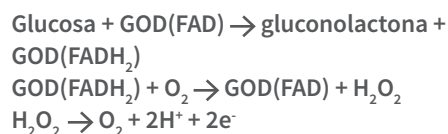
● SENSORES AMPEROMÉTRICOS

El principio de operación de los dispositivos amperométricos es la transferencia de electrones al analito o de éste al electrodo de trabajo a un potencial dado. La instrumentación básica para la operación de estos sensores requiere de un equipo que controla el potencial (potenciostato) y de al menos dos electrodos, aunque puede ser un sistema de tres electrodos que consta de un electrodo de trabajo sobre el que se lleva a cabo la reacción de interés, un electrodo de referencia (p. ej. Ag/AgCl , $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$) y un material conductor inerte (platino o grafito), que sirve de electrodo auxiliar. Estos electrodos se encuentran inmersos en una solución que contiene un electrolito soporte que mantiene la fuerza iónica constante, elimina efectos de electromigración y disminuye la resistencia de la solución (figura 2).

El éxito en el desempeño de los sensores amperométricos depende –principalmente– del material que constituye al electrodo de trabajo. Algunos materiales que se han usado son mercurio, metales como oro, platino, plata, etcétera, y diversas formas de carbono. Estos materiales de electrodo pueden modificarse en su superficie (electrodos químicamente modificados) mediante la inmovilización de un agente modificador a través de reacciones químicas, quimisorción, formación de *composites* (*composite*: material heterogéneo compuesto de dos o más sustancias no gaseosas en el que, al menos una de ellas, constituye una fase con-

tinua) o por recubrimiento polimérico. Estos sensores han encontrado gran aplicación en la cromatografía de líquidos y los sistemas de inyección de flujo.

Actualmente, la miniaturización de estos electrodos ha permitido su uso *in vivo* e *in vitro*. Lo que ha impulsado el desarrollo de biosensores que, modificados con un reactante bioespecífico (receptor bioquímico), traducen el reconocimiento biológico específico en una respuesta amperométrica cuantitativa. El electrodo de trabajo de un biosensor amperométrico se basa en un metal noble o una capa serigráfica recubierta por el componente de biorreconocimiento. En estos sensores, a determinado potencial aplicado, se lleva a cabo la conversión de especies electroactivas generadas en la capa enzimática y se mide la corriente resultante (en un rango típico de nA a μA). Un ejemplo de este proceso es la formación de peróxido de hidrógeno a partir de la oxidación de la glucosa por la glucosa oxidasa, cuyo sitio activo es el FAD, $\text{GOD}(\text{FAD})$; las reacciones involucradas se esquematizan a continuación:



Donde la última reacción es la oxidación electroquímica de peróxido de hidrógeno a un potencial cercano a 600 mV y de la cual se obtiene la corriente medida (Pohanka y Skládal, 2008).

Entre los receptores bioquímicos que se han usado para la fabricación de biosensores amperométricos se cuentan enzimas, tejidos, organelos, extractos crudos de vegetales, péptidos, anticuerpos, ácidos nucleicos, compuestos biomiméticos, etcétera. Dichas moléculas llevan a cabo un reconocimiento molecular que puede ir acompañado de una conversión química del analito a productos que se determinan por un sensor biocatalítico. En los casos en que las enzimas se usan como marcadores enlazados a anticuerpos, antígenos y oligonucleótidos, con una secuencia específica y en el reconocimiento, no ocurre la conversión del analito, el tipo de sensor asociado es un sensor de afinidad. En éste, el receptor bioquímico debe estar en contacto directo con el elemento de transducción electroquímica y la vida útil del biosensor estará sujeta a la estabilidad del material inmovilizado. Algunas enzimas procesadas biotecnológicamente que se han usado para la detección de metabolitos clínicos son: a) las oxidorreductasas como glucosa oxidasa y glucosa dehidro-



SENSORES POTENCIOMÉTRICOS



Un ISE es utilizado para medir con exactitud el pH de una solución y determinar así su acidez o basicidad.



HAY TRES TIPOS PRINCIPALES:

1

LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

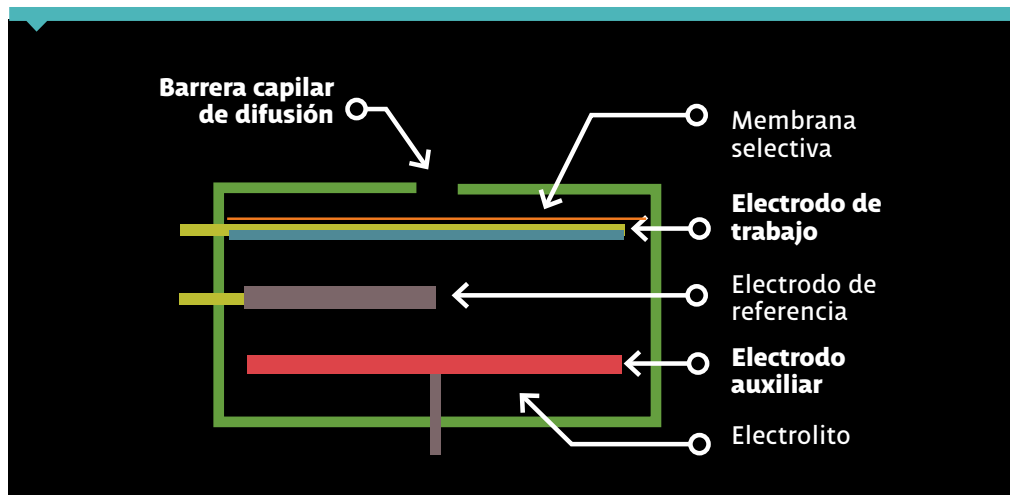
2

LOS ELECTRODOS DE ALAMBRE RECUBIERTO

3

LOS TRANSISTORES DE EFECTO DE CAMPO

Figura 2. Configuración básica de un sensor electroquímico (adaptado de *Capítulo 2: Electrochemical Sensors*).

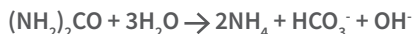


genasa para ensayos de glucosa, b) la ureasa para urea y c) la colesterol oxidasa para colesterol, por mencionar algunas (Pohanka y Skládal, 2008).

Los biosensores amperométricos se usan ampliamente en la detección de analitos como glucosa, lactato, ácido siálico, etcétera. También se han usado para la detección de pesticidas, como carbamatos y organofosfatos, y agentes patógenos como *Francisella tularensis* y *Bacillus cereus*.

● SENSORES CONDUCTIMÉTRICOS

En estos sensores la conductancia eléctrica de un filme o en el seno de un material se ve afectada por la presencia del analito. Los sensores conductimétricos son ventajosos, sobre los anteriormente mencionados, en que no es necesario un electrodo de referencia. El desarrollo de estos sensores se basa en la fabricación de materiales de electrodos novedosos. Se han desarrollado filmes de CdS para detectar oxígeno debido a que éste se quimisorbe en CdS, y diversos óxidos se han utilizado en sensores de humedad y otros gases. Los polímeros conductores también han encontrado uso en la detección de aminas volátiles y amoníaco. Un ejemplo del uso de estos sensores, en el área biomédica, es en el ensayo de urea, cuando se usa ureasa como componente de biorreconocimiento. La reacción que se lleva a cabo en el medio es



Como puede observarse, agua y urea tienen una mínima influencia en la conductancia medida. Sin embargo, los iones producidos de

la reacción enzimática sí contribuyen a un incremento significativo en la misma. El mismo principio se aplica para monitorear el crecimiento de microorganismos, debido a que producen metabolitos conductores.

Los sensores conductimétricos se usan con menor frecuencia que los potenciométricos y los amperométricos, pero su desarrollo ha ido en ascenso. Algunos ejemplos son el seguimiento de la hibridación de fragmentos de DNA mediante conductimetría o la construcción de un inmunosensor a base de un filme de polipirrol con avidina, conectada a través de biotina a una inmoglobina G (IgG) anti-humana, capaz de detectar anticuerpos en una concentración en el orden de los 10 pg/mL, o bien, la detección de etanol en bebidas alcohólicas por levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) inmovilizada en este tipo de biosensores.

● NANOMATERIALES Y LOS SENSORES ELECTROQUÍMICOS BASADOS EN ELECTRODOS SERIGRAFIADOS

Una clase de sensores electroquímicos que se ha desarrollado ampliamente en los últimos años es la que se refiere a los sensores electroquímicos a base de electrodos serigrafiados (*screen-printed electrodes*, SPE). Los electrodos serigrafiados, desde su aparición en la década de los noventa, han contribuido al desarrollo masivo de los sensores electroquímicos debido a su confiabilidad, reproducibilidad, facilidad de producción y bajo costo. Los electrodos serigrafiados son dispositivos dúctiles que pueden adoptar, en su fabricación, diferentes formas, así como diferentes materiales y son susceptibles de ser modificados por una variedad de elementos biológicos como enzimas, anticuerpos, DNA,



LOS SENSORES CONDUCTIMÉTRICOS SE USAN CON MENOR FRECUENCIA QUE LOS POTENCIOMÉTRICOS Y LOS AMPEROMÉTRICOS, PERO SU DESARROLLO HA IDO EN ASCENSO.

elementos sintéticos de reconocimiento, entre otros (Arduini, et al. 2016) (figura 1).

La técnica de serigrafado de estos electrodos ha permitido su modificación con una variedad de nanomateriales y elementos sintéticos de reconocimiento. Materiales carbonáceos como nanotubos de carbono (*carbon nanotubes*, CNTs), grafeno (GR), nanopartículas metálicas de oro, plata o materiales magnéticos, así como nanopartículas mediadoras de Azul de Prusia y ftalocianinas de cobalto son ejemplos del uso de nanomateriales en estos electrodos. Estos electrodos modificados pueden, posteriormente, acoplarse a elementos de reconocimiento biológico como enzimas, anticuerpos, DNA y aptámeros, para obtener electrodos con características mejoradas (Arduini, et al. 2016). La tabla 1 muestra ejemplos específicos de los nanomateriales empleados en la construcción de sensores electroquímicos para aplicaciones biomédicas.

La modificación de los biosensores basados en SPE con nanomateriales involucra técnicas variadas como el depósito por goteo (*drop casting*), la adición del nanomaterial en la tinta durante la impresión, la electrodeposición, la aproximación de Langmuir-Blodgett y la deposición por electro-rocado. De las anteriores, la técnica del depósito por goteo es de las más socorridas por su facilidad y costo pero tiene la desventaja de presentar baja homogeneidad en la superficie resultante; en este sentido, con la técnica de Langmuir-Blodgett se obtiene una mayor homogeneidad superficial pero se requiere un equipo más sofisticado. Por otro lado, la naturaleza del nanomaterial utilizado, así como de la arquitectura usada para la fabricación del electrodo, es también determinante en el desempeño del biosensor (Arduini, et al., 2016).

Un ejemplo de lo anterior es el caso del grafeno que se ha usado para la elaboración de FET, en los cuales, dependiendo de cómo se colocan las capas de grafeno en el sustrato, se puede manipular la conductividad eléctrica, la reactividad y la biocompatibilidad. Otro ejemplo es el uso de un *composite* de grafeno-oro depositado en la superficie del electrodo, el cual provee de una plataforma con una gran superficie y sitios activos donde se puede inmovilizar anticuerpos para la captura de anti-cTnI (anticuerpo anticardíaco de troponina I); lo que permite aumentar la sensibilidad de detección de la troponina cardíaca I, útil en el diagnóstico de infarto al miocardio (da Silva, et al. 2017).

CONCLUSIONES

Como hemos visto, la construcción de un sensor electroquímico es relativamente simple e involucra la aplicación de conceptos básicos de química, bioquímica y electroquímica. El desarrollo de estos sensores se ha visto beneficiado por el progreso de diferentes áreas de la ciencia, entre ellas la biotecnología y la microbiología y, recientemente, por la síntesis de materiales novedosos derivados de la nanotecnología. Ciertamente, el desarrollo de materiales como el grafeno, los nanotubos de carbono, las nanopartículas de oro, los semiconductores nanoestructurados, los polímeros conductores, etcétera, ha dado un nuevo impulso a la fabricación de sensores electroquímicos aplicados a la biomedicina, haciendo que cada día esta tecnología sea más confiable, accesible y de un gran valor como herramienta de diagnóstico.

REFERENCIAS

- Arduini, F., Micheli, L., Moscone, D., Palleschi, G., Piermani, S., Ricci, F., et al. (2016). Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: recent applications in clinical analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, (79), 114-126.
- Capítulo 2: Electrochemical Sensors. Electrochemical Sensors-International Sensor Technology. Recuperado de: <http://www.intlsensor.com/pdf/electrochemical.pdf>
- Chen, A. y Chatterjee, S. (2013). Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 42(12), 5425-5438.
- da Silva, E. T. S. G., Souto, D. E. P., Barragan, J. T. C., Giarola, J. F., de Moraes, A. C. M., y Kubota, L.T. (2017) Electrochemical biosensors in point-of-care devices: recent advances and future trends. *ChemElectroChem*. Doi. 10.1002/celc.201600758.
- Grieshaber, D., Mackenzie, R., Vörös, J., y Reimhult, E. (2008). Electrochemical Biosensors: Sensor Principles and Architectures, *Sensors*, (8), 1400-1458.
- Harris, D. C. (1999). *Quantitative Chemical Analysis*, Nueva York: Freeman and Company.
- Pohanka, M. y Skládal, P. (2008). Electrochemical biosensors: principles and applications. *Journal of Applied Biomedicine*, (6), 57-64.
- Q4927806. (Marzo 16, 2017). *Wikidata*. Recuperado de: <https://www.wikidata.org/w/index.php?title=Q4927806&oldid=467006146>
- Stradioto, N. R., Yamanaka, H., y Zannoni, M. V. B. (2003). Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14(2), 159-173.
- Yogeswaran, U., y Chen, S-M. (2008). A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanowires as sensing material. *Sensors*, 8(1), 290-313.

Mónica Cerro López

La Dra. Mónica Cerro López es egresada del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQU) y profesora-investigadora de tiempo completo en la UDLAP. Su investigación se enfoca en el desarrollo de nanomateriales a base de óxidos metálicos y materiales de carbono para diversas aplicaciones en el área ambiental y biomédica.
monica.cerro@udlap.mx



FARMACO- GOBERNANZA E INVESTIGACIÓN clínica farmacobiológica

Por:  Lucila Isabel Castro Pastrana

RESUMEN

Un aparato efectivo de farmacogobernanza permite que un país cuente con las estructuras, políticas y autoridades necesarias para proteger a su población contra eventos adversos asociados a los medicamentos que en él se comercializan. El objetivo de este trabajo fue revisar el estado del arte del sistema mexicano de farmacogobernanza como marco para analizar los avances y las tareas pendientes en materia de investigación clínica farmacobiológica en México. Se encontró que México cuenta con un marco regulatorio competitivo a nivel internacional y con un sector farmacéutico en expansión. Hacen falta estrategias para promover el uso racional de los medicamentos, pero hay un gran avance en materia de innovación y acceso a medicamentos que habrá que seguir impulsando a través de iniciativas de apoyo a la investigación, transparencia y farmacovigilancia.

PALABRAS CLAVE

Farmacogobernanza • Farmacovigilancia • Seguridad de los medicamentos • Investigación clínica • Farmacología clínica

ABSTRACT

An effective pharmacogovernance framework enables a country to have the necessary structures, policies and authority to protect its population against adverse events associated with the drugs marketed in the country. The objective of this study was to review the state of the art of the Mexican pharmacogovernance system and analyze the progress and pending tasks in clinical pharmacological research in Mexico. It was found that Mexico has a competitive regulatory framework at an international level and with an expanding pharmaceutical sector. There is a need for strategies to promote the rational use of medicines but there is a breakthrough in innovation and access to medicines that will have to continue to be promoted



Castro Pastrana L. (2018). Farmacogobernanza e investigación clínica farmacobiológica. *Entorno UDLAP*, 4.

 Recibido: 28 de agosto de 2017.  Aceptado: 29 de septiembre de 2017.

through initiatives to support research, transparency and pharmacovigilance.

KEYWORDS

Pharmacogovernance · Pharmacovigilance · Drug safety · Clinical research · Clinical pharmacology

INTRODUCCIÓN

Desde 1988 México ha estado buscando definir una política farmacéutica nacional que garantice la eficacia, seguridad y calidad de los medicamentos para atender a la población, así como el acceso constante y duradero a ellos, procurando que destaquen siempre los intereses de la salud pública y el derecho a la salud, por encima de los intereses económicos o políticos (Gasman, 2008). El desarrollo del cuadro básico de medicamentos del sector salud, el sistema de compras consolidadas, el control de precios y algunos incentivos para la investigación y el desarrollo de medicamentos fueron algunos de los importantes logros que, desde entonces, y hasta la fecha, han favorecido la disponibilidad y accesibilidad a los medicamentos esenciales para cubrir las necesidades en salud de los mexicanos.

En 2005 se publicó un documento que se consideró «inédito» pues propuso líneas de acción puntuales y oportunas para lo que debería ser el rumbo a tomar en el sector farmacéutico nacional, con bases científicas y tecnológicas de alto nivel y con una industria competitiva (Secretaría de Salud, 2005). Este informe titulado «Hacia una política farmacéutica integral para México» promovió las buenas prácticas de fabricación de medicamentos, control, manejo adecuado de los caducados, agilización del otorgamiento de registros sanitarios (tanto para medicamentos innovadores, como para genéricos), contención de gastos en las instituciones públicas, vinculación de centros de investigación con la industria farmacéutica, una mayor competitividad en la investigación clínica farmacéutica y el reforzamiento de la farmacovigilancia (FV).

Todas estas propuestas hicieron eco y actualmente se han convertido en las estrategias e iniciativas que nos permiten decir, a ciencia cierta, que contamos con un marco regulatorio innovador y de calidad internacional, y con un sector farmacéutico en expansión.

Sin embargo, quedaron temas pendientes de suma relevancia que, más de una década

**TODAS ESTAS
PROPUESTAS HICIERON
ECO Y ACTUALMENTE
SE HAN CONVERTIDO
EN LAS ESTRATEGIAS E
INICIATIVAS QUE NOS
PERMITEN DECIR, A
CIENCIA CIERTA, QUE
CONTAMOS CON UN
MARCO REGULATORIO
INNOVADOR
Y DE CALIDAD
INTERNACIONAL,
Y CON UN SECTOR
FARMACÉUTICO EN
EXPANSIÓN**

1988

México ha estado buscando definir una política farmacéutica nacional que garantice la eficacia, seguridad y calidad de los medicamentos para atender a la población.

2005

Se publicó un documento llamado «Hacia una política farmacéutica integral para México» que promovió:



► MANEJO ADECUADO
DE LOS CADUCADOS



► AGILIZACIÓN DEL
OTORGAMIENTO DE
REGISTROS SANITARIOS



► CONTENCIÓN DE GASTOS
EN LAS INSTITUCIONES
PÚBLICAS



► VINCULACIÓN DE CENTROS
DE INVESTIGACIÓN
CON LA INDUSTRIA
FARMACÉUTICA



► UNA MAYOR
COMPETITIVIDAD EN LA
INVESTIGACIÓN CLÍNICA
FARMACÉUTICA

después, aún no se han abordado satisfactoriamente. Entre ellos se encuentran el impulso al desarrollo y la regulación de los medicamentos herbolarios y homeopáticos, el reforzamiento de la vigilancia sanitaria contra los medicamentos falsificados o ilegales, y la promoción de los estudios farmacoeconómicos entre los profesionales y las instituciones de salud.

También se ha aplazado la formación de recursos humanos capacitados para la investigación y el desarrollo farmacéutico, el fomento de la investigación preclínica, el impulso de la farmacogenómica y el reforzamiento de los incentivos para la investigación farmacéutica de las enfermedades de mayor prevalencia en México.

De hecho, aunque actualmente las propuestas contenidas en el documento «Hacia una política farmacéutica integral para México» son actuales y pertinentes, la autoridad sanitaria nunca ha publicado, oficial ni formalmente, una política farmacéutica nacional. La ventaja de reconocer y discutir este hecho radica en la posibilidad de reconocer el tramo recorrido y, a partir de ahí, priorizar los elementos que hacen falta para conformar dicha política con base en una premisa fundamental: buscar siempre el equilibrio entre el acceso a medicamentos y la seguridad de los pacientes.

La globalización y, por lo tanto, la influencia de múltiples actores nacionales e internacionales en los procesos de decisión pública, han conducido a modelar el concepto de gobernanza en los diferentes países (Zurbruggen, 2011). La cooperación y el consenso entre el gobierno y los actores no gubernamentales en la confección de las políticas públicas es una de las características de esta nueva perspectiva de gestión del gobierno: la gobernanza. Por lo tanto, este concepto implica acciones concertadas y coordinadas, así como una regulación oportuna (IEPS, OHFOM, 2004).

LA «FARMACOGOBERNANZA» ES UN CONCEPTO QUE SE HA DEFINIDO COMO LA FORMA EN LA QUE LAS ESTRUCTURAS DE GOBIERNO, POLÍTICAS, NORMAS Y PROCESOS, AUTORIDAD INSTITUCIONAL Y LOS RECURSOS SON MANEJADOS PARA PROMOVER LOS INTERESES DE LA SOCIEDAD EN MATERIA DE SEGURIDAD DEL PACIENTE Y PROTECCIÓN CONTRA EVENTOS ADVERSOS ASOCIADOS A LOS MEDICAMENTOS.

Específicamente la «farmacogobernanza» es un concepto que se ha definido recientemente como la forma en la que las estructuras de gobierno, políticas, normas y procesos, autoridad institucional y los recursos son manejados para promover los intereses de la sociedad en materia de seguridad del paciente y protección contra eventos adversos asociados a los medicamentos (Moscou, Kohler y Lexchin, 2013; Moscou, Kohler y MaGahan, 2016). Por lo tanto, un aparato de farmacogobernanza deberá contribuir con la cultura de la seguridad de los medicamentos y mantener la salud de la población a través de la colaboración entre el estado y todos los sectores interesados, en consonancia con la FV.

El objetivo de este trabajo es revisar el estado del arte del sistema mexicano de farmacogobernanza como marco

1977

Una de las estrategias más significativas fue la publicación de la primera lista modelo de medicamentos esenciales. Según la OMS, los tres elementos básicos que debe contemplar toda política farmacéutica nacional son:



**EL ACCESO A LOS
MEDICAMENTOS**



**LA CALIDAD
GARANTIZADA
DE LOS MISMOS**



SU USO RACIONAL

Actualmente, dentro del marco del programa 5/15, nuestro ente regulatorio COFEPRIS proclama tener una política farmacéutica de cuatro ejes:

1

► **GARANTIZAR LA
SEGURIDAD, CALIDAD
Y EFICACIA DE LOS
MEDICAMENTOS**

2

► **CONTAR CON UN
ESQUEMA SOLVENTE
DE AUTORIZACIÓN DE
REGISTROS SANITARIOS**

3

► **ELIMINAR LAS BARRERAS
DE ENTRADA AL MERCADO
A PRODUCTOS QUE SON
SEGUROS, DE CALIDAD
Y EFICACES**

4

► **HOMOLOGAR LA
REGULACIÓN CON LAS
MEJORES PRÁCTICAS
INTERNACIONALES**

para analizar los avances y las tareas pendientes en materia de investigación clínica farmacobiológica en México.

● FARMACOGOBERNANZA Y POLÍTICAS FARMACÉUTICAS NACIONALES

Ninguna política de salud puede conducirse eficientemente y con éxito si no cuenta con una política de medicamentos que promueva la equidad y la sostenibilidad del sector farmacéutico (WHO, 2001). En los últimos cuarenta años la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha realizado esfuerzos incesantes para apoyar a los gobiernos a formular sus políticas farmacéuticas. Una de las estrategias más significativas fue la publicación de la primera lista modelo de medicamentos esenciales en 1977, misma que se actualiza constantemente desde entonces (WHO, 2017). Según la OMS, los tres elementos básicos que debe contemplar toda política farmacéutica nacional son: el acceso a los medicamentos, la calidad garantizada de los mismos y su uso racional. Estos componentes mínimos pretenden garantizar que estarán disponibles de manera equitativa y asequible los medicamentos esenciales que requiere la población para cubrir sus necesidades en salud (acceso); que la eficacia, la seguridad y la calidad de dichos medicamentos será procurada (calidad); y, que se promoverá que el uso de los medicamentos por parte de profesionales sanitarios y consumidores se haga con base en la evidencia médica y científica, así como buscando una relación conveniente entre su efectividad y su costo (uso racional).

Sin embargo, para cualquier país siempre será un reto cuidar el frágil equilibrio entre proteger la competitividad de la industria y la sostenibilidad del sistema sanitario, con respecto a garantizar la seguridad de los pacientes y el uso racional de los medicamentos.

La farmacogobernanza constituye un marco para examinar la FV de un país pues primordialmente se centra en la búsqueda del balance entre la seguridad de los medicamentos y el acceso a ellos (Moscou y Kohler, 2017). Aquí resulta importante precisar que el campo de acción de la FV es más amplio de lo que se piensa. Sus actividades no sólo engloban la detección, evaluación y prevención de los eventos o las reacciones adversas asociadas a los medicamentos (RAM), sino también de los errores de medicación, las interacciones farmacológicas, la falta de eficacia, la vigilancia de los medicamentos falsificados o ilegales, y del abuso o uso inadecuado de los medicamentos en general (WHO, 2015). Su objetivo de estudio no son sólo los medicamen-

tos en el concepto tradicional que tenemos de ellos, también abarca a los productos herbolarios, biológicos, vacunas, hemoderivados, nutracéuticos y, en cierta forma, a los dispositivos médicos, para los cuales se ha creado la disciplina de la tecnovigilancia.

Esta complejidad, en conjunto con las demandantes necesidades sanitarias de la población y los limitados recursos disponibles, hacen que la FV, a pesar de ser un componente crítico para obtener resultados positivos en el ámbito de la salud pública, no esté creciendo a la par del acceso a medicamentos en muchos países (Moscou, Kohler y Lexchin, 2013).

Actualmente el gobierno mexicano tiene definidas tres prioridades en salud: la calidad en el servicio, la prevención y el acceso efectivo y oportuno de la población a productos seguros, eficaces y de calidad a los menores precios (COFEPRIS, 2013). En concordancia, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) ha puesto en marcha su programa 5/15 como estrategia de gestión basada en los principios de ética, técnica, eficiencia, competitividad y visión global. Dentro del marco de esta iniciativa, nuestro ente regulatorio proclama tener una política farmacéutica de cuatro ejes:

- Garantizar la seguridad, calidad y eficacia de los medicamentos.
- Contar con un esquema solvente de autorización de registros sanitarios.
- Eliminar las barreras de entrada al mercado a productos que son seguros, de calidad y eficaces.
- Homologar la regulación con las mejores prácticas internacionales.

Sin embargo, aún cuando la COFEPRIS declara que México cuenta con una «política farmacéutica» responsable, competitiva y segura (COFEPRIS, 2016; COFEPRIS, 2016a), ésta se en-

cuentra incompleta pues no incluye un componente insustituible que es el uso racional de los medicamentos. Por ejemplo, las farmacias comunitarias y la gran mayoría de los hospitales mexicanos no cuentan, aún, con profesionales farmacéuticos al frente de servicios clínicos orientados a la selección inteligente de medicamentos, la dispensación activa, el seguimiento de la farmacoterapia, la educación del paciente y la vigilancia de la eficacia y seguridad de los medicamentos.

Asimismo, la rápida evolución de los cambios políticos no ha permitido que la política farmacéutica mexicana se exponga a un debate abierto y se analice sistemáticamente para que la opinión de los diferentes grupos de interés acredite su posterior oficialización (Wirtz, Reich y Hernández-Ávila, 2008).

Ciertamente, a pesar de las tareas pendientes, el marco de farmacogobernanza de México ha madurado de manera muy positiva. En la tabla 1 podemos observar la normatividad e iniciativas recientemente actualizadas, que permiten decir que actualmente el sector farmacéutico mexicano está fortalecido, homologado internacionalmente y, por lo tanto, ostenta competitividad global.

Prácticamente todas las normas e iniciativas que están citadas en la tabla 1 impactan directa o indirectamente en el uso seguro de los productos farmacéuticos, tanto por parte de las instituciones y prescriptores, como de los pacientes y de los consumidores en general. Por ejemplo, un empaçado incorrecto de un medicamento puede llevar a problemas de eficacia y/o de seguridad, como se documentó en 2012 tras el retiro del mercado de un millón de cajas de anticonceptivos orales en cuyos paquetes faltaban comprimidos o contenían comprimidos fuera de secuencia (AAFP, 2012). Esta



situación puso en riesgo innecesario a las pacientes, quienes pudieron haber tenido un embarazo no deseado. También, el etiquetado incorrecto o incompleto de los productos farmacéuticos puede conducir a un uso inseguro de los mismos.

Asu vez, una investigación clínica poco transparente o una FV sesgada pueden llevar a pasar inadvertidos problemas de eficacia o de seguridad que años después salen a la luz. Tal es el caso del antiviral Tamiflu (oseltamivir), que para la OMS fue considerado un medicamento «básico» a partir de 2009 debido a la influenza pandémica y que, en marzo de 2017, fue degradado a la categoría de «complementario» en la 20ª lista de medicamentos esenciales que publicó este organismo, por lo cual se ubica ahora como uno menos rentable, es decir, menos costo-efectivo (WHO, 2017). Lo anterior deriva de que después de varios años de revisión de la evidencia clínica y de varios estudios publicados que sirvieron como fundamento, el comité de la OMS declaró que el oseltamivir no cuenta con evidencia suficiente que soporte su uso en brotes estacionales y pandémicos, salvo en los casos de enfermedad grave confirmada o sospechada de virus influenza en pacientes hospitalizados críticamente enfermos (Ebell, 2017; Kmietowicz, 2017). Es decir, ocho años más tarde, nos encontramos debatiendo en todo el mundo sobre la pertinencia de haber recomendado y permitido la compra masiva de este medicamento con fines profilácticos debido a la influenza pandémica, a pesar de que la

2012

Un empaçado incorrecto de un medicamento puede llevar a problemas de eficacia y/o de seguridad, como se documentó en 2012 tras el retiro del mercado de un millón de cajas de anticonceptivos orales en cuyos paquetes faltaban comprimidos o contenían comprimidos fuera de secuencia (AAFP, 2012).



Esta situación puso en riesgo innecesario a las pacientes, quienes pudieron haber tenido un embarazo no deseado.

Tabla 1. Avances y actualizaciones más relevantes en la regulación e iniciativas del sector farmacéutico mexicano

INICIATIVA O DOCUMENTO NORMATIVO (ÚLTIMA VERSIÓN)	OBJETIVO
Artículo 222 Bis Ley General de Salud (11-junio-2009)	Adición de este artículo para definir a los medicamentos biotecnológicos, establecer los requisitos para obtener su registro sanitario, diferenciar entre productos innovadores, de referencia y biocomparables, y establecer la función del subcomité de evaluación de productos biotecnológicos.
Eliminación del requisito de planta establecida en territorio nacional (5-agosto-2009)	Eliminación del requisito de tener laboratorio o fábrica en México para obtener un registro sanitario y poder comercializar medicamentos en el país. Permite la importación tanto de medicamentos genéricos como de biotecnológicos.
Consolidación del requisito de bioequivalencia y de la red de laboratorios terceros autorizados (2010)	Aseguramiento y control de la presencia de medicamentos genéricos en el mercado mexicano que cumplan con los criterios de bioequivalencia y biodisponibilidad, y que, por lo tanto, garanticen ser eficaces, seguros y de calidad comprobada.
Reconocimiento a COFEPRIS como autoridad reguladora nacional de referencia regional (Junio-2012)	La Organización Panamericana de la Salud (OPS) otorgó esta categoría a la COFEPRIS reconociendo su desempeño y liderazgo en la región. Favorece la cooperación técnica, el intercambio y el reconocimiento de registros de medicamentos con otros países de la región.

Acuerdo para la promoción de la innovación
(9-octubre-2012)

Creación de un grupo técnico para acompañar la investigación de moléculas nuevas en México. Reforma para la realización de estudios clínicos en población mexicana y que nuestro país pueda ser el primero donde se comercialice una molécula nueva.

NOM-240-SSA1-2012
(30-octubre-2012)

Instalación y operación de la tecnovigilancia para la identificación y evaluación de los incidentes adversos producidos por dispositivos médicos.

NOM-072-SSA1-2012
(21-noviembre-2012)

Establecimiento de los requisitos que deberá contener el etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios, sus instructivos y muestras médicas.

Acuerdos de equivalencia de registros con agencias sanitarias extranjeras
(22-noviembre-2012)

Otorgamiento de registro sanitario, venta, distribución y uso de insumos para la salud en la Unión Europea, Estados Unidos, Canadá, Australia y Suiza, favoreciendo la cooperación internacional, la reducción de costos y la innovación.

NOM-177-SSA1-2013
(20-septiembre-2013)

Establece los lineamientos de intercambiabilidad y biocomparabilidad para medicamentos genéricos y medicamentos biocomparables, así como los requisitos que habrán de seguir los laboratorios que realicen estas pruebas.

Creación del registro nacional de estudios clínicos
(2013)

Inventario nacional electrónico de acceso público para informar sobre los estudios clínicos que involucran seres humanos o muestras biológicas derivadas de ellos que se conducen y fueron sometidos a COFEPRIS. Promueve el acceso a la información y la transparencia.

NOM-257-SSA1-2014
(11-diciembre-2014)

Establecimiento de las directrices generales para la evaluación de las solicitudes de registro de medicamentos biotecnológicos, regularizar aquellos ya presentes en el mercado, controlar su fabricación, autorizar los protocolos de los ensayos clínicos para investigarlos y determinar cuáles podrán ser reconocidos como medicamentos biotecnológicos de referencia.

NOM-241-SSA1-2012 (adiciones: 27-enero-2016)

Garantiza las buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de dispositivos médicos.

NOM-164-SSA1-2015
(4-febrero-2016)

Requisitos mínimos para cumplir las buenas prácticas de fabricación de fármacos o principios activos comercializados en el país o aquellos en desarrollo para uso en investigación clínica.

NOM-059-SSA1-2015
(5-febrero-2016)

Requisitos para cumplir las buenas prácticas de fabricación de medicamentos para uso humano comercializados en México y/o con fines de investigación.

NOM-073-SSA1-2015
(7-junio-2016)

Requisitos para los estudios de estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios para uso humano comercializados en México y/o con fines de investigación.

Nuevo modelo regulatorio en la industria farmacéutica (01-marzo-2017)

Incluye seis temas: lineamientos del comité de moléculas nuevas, acuerdo de prórrogas y modificaciones de registros, la nueva NOM-220 de farmacovigilancia, estrategia para la promoción a la investigación clínica en México, estrategia para el combate a la ilegalidad y la estrategia COFEPRIS DIGITAL.

Convenio entre COFEPRIS y CONBIOÉTICA
(2-junio-2017)

Fortalecer las acciones en materia de control y vigilancia sanitaria de los comités de ética en investigación y fomentar la protección de los derechos humanos en las tareas de investigación clínica. Permitirá avanzar en el proceso de reconocimiento de México ante la OPS en materia de medicamentos y vacunas.

Liberación del 15° paquete de medicamentos genéricos
(8-junio-2017)

Como parte de la estrategia de liberación de genéricos, garantiza que se respete la propiedad intelectual (patentes), que las sustancias se relacionen con las principales causas de mortalidad de los mexicanos y que su precio y montos de compra pública y privada representen ahorros significativos.

NOM-220-SSA1-2016
(19-julio-2017)

Lineamientos para la instalación y operación de la farmacovigilancia en el territorio nacional para la identificación y evaluación de las sospechas de reacciones adversas, las reacciones adversas, los eventos supuestamente atribuibles a la vacunación o inmunización, o cualquier otro problema de seguridad relacionado con el uso de los medicamentos y vacunas.

evidencia era poco contundente en términos de resultados y verdaderos beneficios del fármaco. Incluso, se ha usado todo este tiempo en grupos vulnerables como los pacientes pediátricos, sin exigirse investigación adicional para corroborar su seguridad y eficacia en niños.

Actualmente, muchos países, incluido México, siguen gastando millones de dólares al año para comprar, apilar y reponer continuamente miles de unidades del medicamento, que desde luego, se va caducando, de modo que esté disponible en caso necesario. Este desafortunado ejemplo es uno de los más ilustrativos en lo que respecta a la necesidad de estrategias de farmacogobernanza, globales y locales, que exijan y promuevan investigación clínica complementaria, en tiempo y forma, para ciertos medicamentos.

Al revisar la literatura, es evidente que muy pocos investigadores y publicaciones han analizado a la fecha los esquemas de farmacogobernanza. Sin embargo, entre los disponibles se encuentran trabajos sobre India (Moscou, Kohler y Lexchin, 2013), Brasil (Moscou, Kohler y Magahan, 2016) y Kenia (Moscou y Kohler, 2017) así como una interesante comparación de los modelos de gobernanza en el tema de FV de la Unión Europea, Reino Unido, Francia, Estados Unidos y Canadá (Wiktorowicz, Lexchin y Moscou, 2012). En particular este último, presenta un análisis muy ilustrativo que permite determinar puntos críticos que habrá que cuidar en México (tabla 2) con el actual marco regulatorio y las estrategias que se encuentran en proceso de implementación, de modo que se siga procurando un balance entre el acceso a medicamentos y la seguridad de los pacientes que los consumen.

Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC, 2016) ha mejorado el acceso a medicamentos en el lugar de atención para pacientes con enfermedades crónicas (diabetes, hipertensión, dislipidemia), subiendo del 65.2% (2012) al 77.1% (2016) de los pacientes recibiendo sus recetas surtidas en su totalidad (ENSANUT MC, 2016). Esta encuesta encontró que en los servicios públicos (IMSS, ISSSTE, Servicios Estatales de Salud), a estos pacientes se les prescriben más medicamentos que en los servicios privados, con una incidencia de polifarmacia de hasta el 40%.

Este patrón de prescripción de más medicamentos relacionado en cierta medida con un mayor acceso a los mismos, no implica necesariamente que la selección de la farmacoterapia sea adecuada, que la prescripción sea razonada y que los pacientes vayan a hacer un uso co-

Tabla 2. Riesgos para la farmacogobernanza en México

ESTRATEGIA IMPLEMENTADA O EN PROCESO	RIESGOS
Emisión ágil de registros sanitarios, eliminación de costos y barreras de entrada a medicamentos	Entrada al mercado mexicano de medicamentos falsificados, espurios o de calidad subestándar.
Enfoque en las buenas prácticas clínicas y en las buenas prácticas de fabricación	La toma de decisiones del ente regulador puede concentrarse en un conjunto reducido de variables críticas sin exigir que los productos sean evaluados continuamente y sin solicitar a la industria estudios complementarios que corroboren seguridad y eficacia después de autorizada la comercialización.
NOM-220-SSA1-2016	Falta de detección oportuna de riesgos sanitarios debido a la ambigüedad de la norma para la conducción de la farmacovigilancia (FV) en hospitales. Debilitamiento de la FV por la actual estructura organizacional con mínima autoridad y recursos para los centros estatales y nula para los responsables de la FV en hospitales y centros de salud.
Exigencia de los planes de manejo de riesgos para renovar o solicitar registros sanitarios	Cesión de la batuta a la industria para desarrollar FV, controlar ella misma cómo investiga sus productos y compartir los datos y la interpretación de resultados que ésta decida.
Nuevo modelo regulatorio en la industria farmacéutica	Tendencia al corporativismo y a las negociaciones con la industria que puedan crear conflictos de interés por parte de la agencia reguladora. Omisión de la representatividad de otros sectores interesados diferentes de la industria en la toma de decisiones.
Estrategia de liberación de genéricos	Aumento de la motivación institucional por el uso de medicamentos de menor costo aunque con limitada evidencia sobre su efectividad en población mexicana bajo los esquemas farmacoterapéuticos usuales.

recto de sus medicamentos. Tampoco implica que los medicamentos dispensados tengan la calidad requerida y, por lo tanto, su eficacia sea la esperada y su seguridad la mejor posible. De ahí que el componente «uso racional de medicamentos» sea el gran faltante dentro de la «política farmacéutica» mexicana actual y que sea imperante su abordaje. Estrategias importantes a incorporar a esta política son: la implementación de servicios farmacéuticos clínicos y de profesionales capacitados para proveerlos en las farmacias comunitarias y hospitales; el seguimiento farmacoterapéutico; la educación al

paciente, y la vigilancia de los efectos adversos de los medicamentos y de los errores de medicación, tanto en el ámbito hospitalario como en la atención primaria.

La estrategia de profesionalización de las farmacias, por ejemplo, se ha limitado a capacitar en línea unas cuantas horas a los empleados de estos establecimientos, después de las cuales asumen tener competencias de «dispensación», aún sin ostentar un título universitario de «farmacéutico» como se exige en otros países (COFEPRIS, 2016b).

En cuanto al flujo masivo de medicamentos genéricos, algunos analistas han señalado que el hecho de que en México se busquen precios lo suficientemente bajos para lograr el acceso, podría implicar seguir dependiendo de la innovación de otros países (González-Pier, 2008).

Cuando se libera un nuevo paquete de medicamentos genéricos generalmente los comunicados de COFEPRIS resaltan la importancia de los productos autorizados con base en la prevalencia de las enfermedades que permitirán tratar y en el ahorro que significará para el sistema de salud y/o para el presupuesto familiar de los mexicanos. Estos elementos, aunque de suma relevancia, nunca van acompañados de declaraciones sobre la efectividad y la seguridad demostradas para dichos medicamentos en otras partes del mundo y/o en los estudios clínicos realizados con población mexicana. Tampoco se han publicado guías farmacoterapéuticas, ni enviado comunicados a los prescriptores con información que apoye una prescripción racional de estos medicamentos y la promoción de la adherencia por parte de los pacientes, o bien con alertas para su uso con base en datos de FV.

Aún con las tareas pendientes, México se ha convertido en líder en la región, con un aparato de farmacogobernanza fortalecido, que al momento nos coloca a la cabeza de todos los miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico en materia de penetración en el mercado de medicamentos genéricos y se prevé que los genéricos mexicanos crezcan a una tasa de crecimiento anual del 11% entre 2015 y 2025 (Seale&Associates, 2016).

● FARMACOGOBERNANZA E INVESTIGACIÓN

Además de las áreas de oportunidad sugeridas en las secciones previas, es importante resaltar, a manera de agenda a futuro, algunos puntos adicionales que el aparato de farmacogobernanza debiera contemplar para reforzar la investigación clínica farmacobiológica en México.



2016

Ha mejorado el acceso a medicamentos en el lugar de atención para pacientes con enfermedades crónicas.



SUBIENDO DEL

65.2%

(2012)



AL

77.1%

2016

de los pacientes recibiendo sus recetas surtidas en su totalidad.

Primeramente, la investigación de la política farmacéutica actual debe ser un tema de análisis constante. Como parte de la estrategia «COFEPRIS digital» se ha creado el Centro de Excelencia para promover las buenas prácticas, la investigación y el desarrollo de las ciencias regulatorias, entre otros objetivos. Dado que se pretende vincularlo con la academia, la industria, otras instancias de gobierno y las agencias sanitarias de otros países, este centro constituye una excelente oportunidad para hacer evaluaciones del actual marco de farmacogobernanza. Entre otros temas, debiera analizarse, desde diversas perspectivas, el impacto a mediano y largo plazo de la autorización rápida que hoy se tiene para comercializar nuevas moléculas en México, estrategia que nos coloca a la cabeza en lo que respecta a tiempos para trámites de registros de medicamentos innovadores, ahora cada vez más cortos. Los métodos actuales de negociación y actualización de la regulación farmacéutica ameritan también una evaluación que permita incorporar gradualmente más representatividad de sectores interesados que no han participado, así como una mayor transparencia.

En lo que respecta a las alertas sanitarias de medicamentos, aún se requiere mayor sistematicidad en los procesos de comunicación del riesgo, pero sobre todo, un análisis periódico del impacto de las mismas.

Por otra parte, la investigación de moléculas nuevas en México ha sido acertadamente reforzada por la creación del grupo técnico correspondiente y la formalización de la colaboración entre el ente regulador y los institutos nacionales de salud, el IMSS y las universidades, con el objetivo de que apoyen a la autoridad con el pre-dictamen de protocolos de investigación (Gallaga-Solórzano *et al.*, 2016).

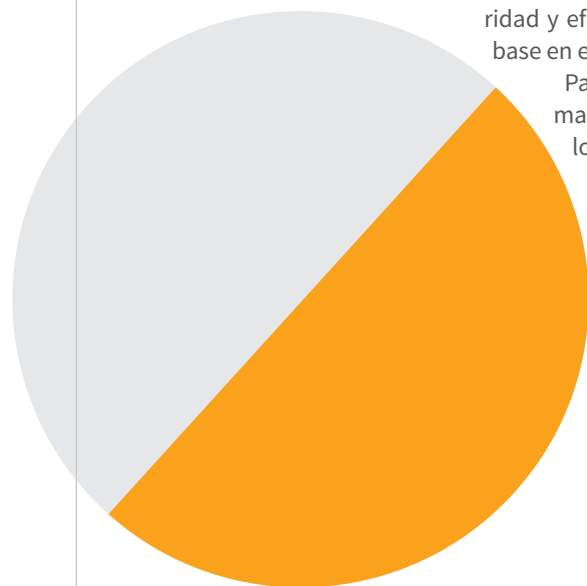
Sin embargo, falta concertar estas colaboraciones para el impulso de las investigaciones en farmacoepidemiología, emulando modelos como el europeo, donde se ha creado la red de centros de investigación ENCePP para conducir estudios observacionales multicéntricos sobre el uso de los medicamentos, su seguridad y relación beneficio-riesgo, de manera independiente a la industria (EMA, 2017). Una estrategia similar a ésta, sería de mucha utilidad para que la agencia sanitaria mexicana fomentara la realización de estudios clínicos posmercadeo que incrementaran la evidencia sobre la efectividad, seguridad y rentabilidad de las decenas de genéricos que se autorizan constantemente.

Más aún, para varios de los genéricos recientemente liberados (p/ej. abacavir, clopidogrel, atorvastatina) ya existe evidencia sobre la necesidad de hacer estudios de farmacogenética que permitan decidir si ajustar las dosis o seleccionar otro medicamento para un paciente determinado (PharmGKB, 2017). Por lo tanto, el proyecto de norma mexicana de farmacogenómica, que quedó en el tintero desde el Programa Nacional de Normalización 2013, debería rescatarse y convocar vinculaciones academia-industria-gobierno para abordar la seguridad y eficacia de ciertos medicamentos con base en el genotipo de los mexicanos.

Para facilitar las investigaciones en farmacoepidemiología y farmacogenómica, los registros nacionales de pacientes y de enfermedades son de suma utilidad. Actualmente, México ya cuenta con un Registro Nacional de Ensayos Clínicos y con un Registro Nacional de Cáncer. Sería ideal que los investigadores, independientes de la industria y guardando la debida confidencialidad de los datos, pudieran acceder también a la base

de datos nacional de FV, a un registro específico de estudios de bioequivalencia y contar con registros de pacientes con diabetes, hipertensión e insuficiencia renal, entre otras enfermedades que apremia investigar desde el punto de vista farmacoepidemiológico. En particular, para el avance de la FV se requieren bases de datos que puedan analizarse sistemáticamente. Por ejemplo, que permitan extraer específicamente las RAM reportadas para medicamentos genéricos y poder perfilar mejor la seguridad de estos productos una vez que se están usando en la práctica clínica real. De los medicamentos genéricos autorizados recientemente por COFEPRIS, varios tienen riesgos comprobados y documentados en la literatura internacional. Pioglitazona, montelukast y atorvastatina son algunos ejemplos que requieren seguirse investigando una vez en el mercado. Pero para poder reforzar esta vigilancia se requiere un mayor empoderamiento de la FV local. A nivel de los centros estatales de FV y en los hospitales, el responsable de esta actividad cuenta con mínima autoridad y muy limitados recursos y, desafortunadamente, la nueva NOM-220 no resalta la importancia de la FV hospitalaria ni sugiere apoyos para realizar estudios de FV intensiva en hospitales y centros de salud independientes de los liderados por la industria. Al respecto se ha reportado que cuando los reguladores se abandonan a la FV espontánea y a los reportes periódicos de la industria, sólo logran capturar del 1-10% de las RAM que realmente están ocurriendo en la población (Wiktowicz, Lexchin y Moscou, 2012). Lo anterior se suma al hecho de que desde que inició el programa de FV nacional en 1995 no se han publicado de manera consistente estadísticas de incidencia de RAM, tasas de morbilidad y mortalidad por RAM ni el número de ingresos hospitalarios que son causados por RAM en México.

En materia de biotecnología farmacéutica, área donde actualmente se concentra el flujo de innovación, nuestro país ha aprovechado bien las oportunidades. En 2014, COFEPRIS recibió el reconocimiento de «agencia funcional» por parte de la OMS en materia de vacunas, con lo que México ingresó al grupo de 28 países de élite en regulación sanitaria y tiene acceso a un fondo particular de la OMS para productores mexicanos (Gallaga-Solórzano *et al.*, 2016). Precisamente para esta área es que hace falta reforzar los estudios preclínicos (investigación en modelos animales) y, aunque ya se han autorizado unidades de investigación preclínica en el país, es importante seguir vinculando a los



actores de la triple hélice para conjuntar experiencias y avanzar de forma más eficiente en estas fases del desarrollo de medicamentos. Estos esfuerzos servirán también para impulsar la investigación de nuevos antibióticos, productos homeopáticos y medicamentos herbóleos que son prioridad para abordar los retos sanitarios actuales.

Por último, aunque no menos importante, la innovación tecnológica en materia de sistemas de rastreo de productos farmacéuticos es imperante y, sobre todo, para los medicamentos biotecnológicos. Con la apertura de los mercados y la agilización de trámites, México debe cuidar en extremo la autenticidad de todos los productos que se comercializan en territorio nacional. Actualmente, en Europa se ha establecido obligatoriamente que, para 2019, la industria farmacéutica y los distribuidores tendrán implementada la estrategia de serialización de medicamentos (Capone, 2017). Aunque compleja, esta iniciativa promete contener riesgos, potenciar la imagen de marca y eficientar la logística de distribución. Por lo anterior, en México será necesario desarrollar e implementar estrategias para que fabricantes, comercializadores y usuarios puedan tener certeza de la legitimidad de los medicamentos.

CONCLUSIÓN

En materia de farmacogobernanza, México cuenta con un marco regulatorio de calidad internacional y con un sector farmacéutico en expansión. A pesar de que la política farmacéutica mexicana aún adolece de estructuras y estrategias para promover el uso racional de los medicamentos, hay un gran avance en materia de innovación y acceso a medicamentos. Para garantizar la seguridad de los pacientes será importante reforzar aquellas iniciativas de apoyo a la investigación, transparencia y farmacovigilancia.



Lucila Isabel

Castro Pastrana

Doctora en Bioquímica Farmacéutica por la Universidad de Tübingen, Alemania. Fue profesora visitante en la Universidad de British Columbia en temas de farmacovigilancia y farmacogenómica. Es autora y compiladora de 3 libros sobre farmacovigilancia. Profesora de tiempo completo y coordinadora académica del certificado a distancia en Administración de Estudios Clínicos en Latinoamérica de la UDLAP en colaboración con la Universidad de California, San Diego. lucila.castro@udlap.mx

REFERENCIAS

- AAFP News. (2012). «Oral Contraceptives' Packaging Error Prompts Pfizer Recall. Incorrect Daily Regimen Could Pose Pregnancy Risk». Washington, DC: American Academy of Family Physicians. Recuperado de: <http://www.aafp.org/news/health-of-the-public/20120208contracept-recall.html>
- Capone, A. (2017). *Serialización: un enfoque para la problemática de la trazabilidad y la adulteración de medicamentos*. Grupo ASSA. Recuperado de: http://www.grupoassa.com/es/white_papers/espanol-serializacion/
- COFEPRIS. (2013). *Estrategia de liberación de genéricos para el ahorro de las familias mexicanas*. «VII Conferencia de la Red Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (CPARF)». Ottawa, Canadá.
- COFEPRIS. (2016). La COFEPRIS impulsa una política farmacéutica responsable. *Comunicado número 80*. México: COFEPRIS. 16 de agosto de 2016
- COFEPRIS. (2016a). La política farmacéutica fortalece al mercado mexicano. *Comunicado de prensa núm. 050*. México: COFEPRIS. 4 de febrero de 2016
- COFEPRIS. (2016b) Sistema Integral de Capacitación en Dispensación (SICAD). Ciudad de México: Comisión de Fomento Sanitario.
- Ebell Mark, H. (2017). WHO downgrades status of oseltamivir. *BMJ*, 358: j3266.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016). *Informe final de resultados*. México: SSA. Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública.
- European Medicines Agency. (c1995-2017). European Network of Centres for Pharmacoeconomics and Pharmacovigilance (ENCePP). London: EMA. Recuperado de: <http://www.encepp.eu/>
- Gallaga-Solórzano, J.C., Valencia Pérez-Rea, L.R., Lara-Méndez, M.L., Chavoya y Teutli A. (2016). Historia de la regulación farmacéutica. *Revista COFEPRIS*. 32-33.
- Gasman, N. (2008). Presentación. Políticas farmacéuticas en México: que 20 años no es nada. *Salud Pública Méx.* 50 (Suppl. 4): S423-S426.
- González-Pier, E. (2008). Política farmacéutica saludable. *Salud Pública Méx.* 50 (Suppl 4): S488-S495.
- Institut d'Etudes des Politiques de Santé (IEPS), Fondation des Oeuvres Hospitalières Françaises de la Orden de Malta (OHFOM). (10 de junio de 2004). El medicamento como símbolo del desarrollo sostenible. Discurso de inauguración del seminario «Una política de salud para los países en desarrollo». Recuperado de: http://trade.ec.europa.eu/doclib/docs/2004/july/tradoc_117850.pdf
- Kmietowicz Zosia. (2017). WHO downgrades oseltamivir on drugs list after reviewing evidence. *BMJ*. 357, j2841.
- Moscou, K., Kohler, J.C. y Lexchin, J. (2013). Drug safety and corporate governance. *Global Health Governance*, VII (1): 56-79.
- Moscou, K., Kohler, J.C., y MaGahan, A. (2016). Governance and pharmacovigilance in Brazil: a scoping review. *J Pharm Policy Pract.*, 9: 3.
- Moscou, K., y Kohler, J.C. (2017). Matching safety to Access: global actors and pharmacogovernance in Kenya - a case study. *Global Health*, 13: 20.
- PharmGKB. (c2001-2017). *The Pharmacogenomics Knowledgebase*. Stanford, CA: PharmGKB. Recuperado de: <https://www.pharmgkb.org/>
- Seale & Associates. (2016). Update on the pharmaceutical markets in Mexico. Business insights. Ciudad de México. Recuperado de: http://www.sealeasociates.com/wp-content/uploads/Update-on-the-Pharmaceutical-Industry-in-Mexico-June-2016_2.pdf
- Secretaría de Salud. (2005). *Hacia una política farmacéutica integral para México*. México: SSA.
- Wiktorowicz, M., Lexchin, J., Moscou, K. (2012). Pharmacovigilance in Europe and North America: divergent approaches. *Soc Sci Med.* 75(1), 165-70.
- Wirtz, V., Reich, M.R., y Hernández-Ávila, M. (2008). Investigación para sustentar políticas farmacéuticas. *Salud Pública Méx.*, 50 (Suppl. 4): S427-S428.
- World Health Organization. (2001). *How to develop and implement a national drug policy*. Geneva: WHO.
- World Health Organization. (2015). WHO pharmacovigilance indicators: a practical manual for the assessment of pharmacovigilance systems. Geneva: WHO.
- World Health Organization. (2017). Essential medicines and health products. 20th Essential medicines list Recuperado de: http://www.who.int/medicines/news/2017/21st_essential_med-list/en/
- Zurbriggen, C. (2011). Gobernanza: una mirada desde América latina. *Perfiles Latinoamericanos*, 19(38): 39-64.



LA BIOINFORMÁTICA

COMO UNA FILOSOFÍA DE LA CIENCIA BIOLÓGICA

MODERNA:

EL CASO DE LA BIOQUÍMICA ESTRUCTURAL

Por:  Paulina Cortes Hernández ·  Benjamín Padilla Morales · Lenin Domínguez Ramírez



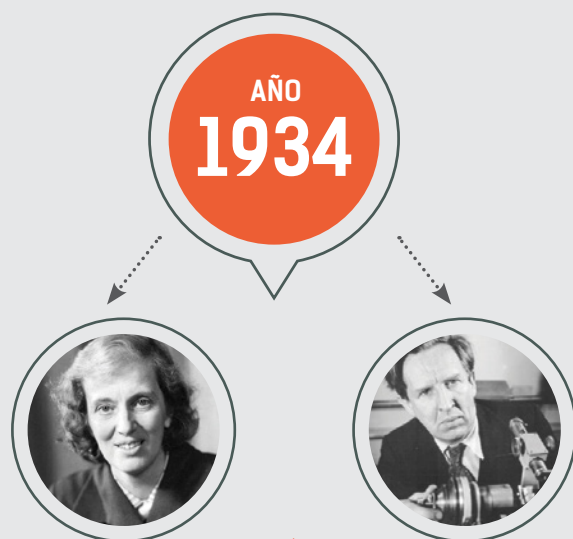
Cortes Hernández, P. et al. (2018). La Bioinformática como una filosofía de la ciencia Biológica Moderna: el caso de la bioquímica estructural. *Entorno UDLAP*, 4. ·  **Recibido:** 24 de agosto de 2017.  **Aceptado:** 9 de octubre de 2017.

RESUMEN

La bioinformática es comúnmente entendida como el estudio de secuencias genómicas, datos masivos derivados de sistemas biológicos y, en algunos casos, como el modelaje y predicción del comportamiento de estos sistemas. Sin embargo, la bioinformática moderna es más que una disciplina, es una interdisciplina de aplicación biológica. El presente trabajo no es una revisión exhaustiva de esta interdisciplina, más bien pretende enfocarla como una herramienta adicional en el arsenal del pensamiento científico de las ciencias biológicas, como una filosofía práctica. Una manifestación de esta aseveración es la dependencia inextricable de la bioinformática en la computación y la continua demanda por procesadores más poderosos, así como mayores capacidades de almacenamiento de datos. En el presente trabajo, tomaremos a la bioquímica estructural –una rama paralela de la bioinformática– como un ejemplo del impacto de esta interdisciplina en un área específica y de tanto impacto como la genómica.

1970

EL TÉRMINO BIOINFORMÁTICA SE CREÓ PARA DESCRIBIR UN CAMPO INTERDISCIPLINARIO QUE DESARROLLA Y EMPLEA MÉTODOS COMPUTACIONALES PARA ENTENDER DATOS BIOLÓGICOS.



La BE nació cuando John Desmond Bernal y Dorothy Crowfoot colocaron un cristal de la proteína pepsina en un haz de rayos X.

BIOLOGÍA ESTRUCTURAL (BE),
NACIDA DE LA DIFRACCIÓN
DE RAYOS X

◆ PALABRAS CLAVE

Bioinformática • Biología estructural
• Computación • Big data • Bioquímica
estructural

◆ ABSTRACT

Currently, bioinformatics is conceived as the study of genomic sequences, massive data obtained from biological systems and, in some cases, as modeling and prediction of said biological systems. Nevertheless, modern bioinformatics is much broader than that. It should be viewed as an interdisciplinary field with applications to Biology. The current work is not an exhaustive bioinformatics review but a reminder that this tool is part of the scientist's toolkit to understand biological sciences but it is also a practical philosophy. The fact that bioinformatics is interdependent and tied to the continuously growing computing power and storage capacity is a clear manifestation of this notion. Thus, to focus on the subject, we will discuss a branch of bioinformatics: structural biochemistry. Structural biology is an example of the profound impact Bioinformatics has had on Biochemistry in a fashion similar to the emergence of Genomics.

◆ KEYWORDS

Bioinformatics • Structural biology • Computers • Big data • Structural biochemistry



Max Perutz se embarcó a determinar la estructura de la hemoglobina utilizando el patrón de difracción de rayos X.



Figura 1. John Kendrew y Max Perutz con el modelo de la mioglobina (MRC Laboratory of Molecular Biology).

◆ INTRODUCCIÓN

En sus orígenes (c. 1970), el término bioinformática se creó para describir un campo interdisciplinario que desarrolla y emplea métodos computacionales para entender datos biológicos. Desde sus orígenes ha sido –en efecto– interdisciplinaria pues involucra la combinación de disciplinas como: ciencias de la computación, estadística, matemáticas, ingeniería y, desde luego, biología (Hogeweg, 2011). Es en tiempos más recientes (c. 1980) que se volvió un término asociado directamente al análisis de secuencias de genomas, de expresión de genes, y más recientemente, asociado con la biología sintética (c. 2000). Los esfuerzos por secuenciar genomas completos, anotarlos y extrapolar su contenido a los fenotipos del organismo completo, han hecho de la bioinformática moderna una piedra filosofal, una herramienta con capacidades únicas de procesar información masiva (Big Data). Tomemos, por ejemplo, los 3.2 billones de nucleótidos que forman el genoma del *Homo sapiens*. ¿Cómo correlacionar las secuencias de los 30,000 genes que contiene con sus respectivas funciones, predecir el estado de un organismo en un punto en el tiempo (cuándo desarrollará un padecimiento específico) e, idealmente, ser capaces de modificar ese estado predicho? Una vez logrado esto para un solo genoma, repitamos el proceso para los más de seis billones de seres humanos sobre la faz del

ESTE PROCESO LE LLEVÓ **30** AÑOS, POR DOS RAZONES



Por un problema intrínseco a la difracción de rayos X, la incapacidad de medir simultáneamente amplitudes y fases.



La ausencia de computadoras potentes en esa época.



Se construyó el modelo de la hemoglobina.



Las densidades electrónicas fueron calculadas a mano y graficadas sobre «acetatos» (material de dibujo translucido). Cada acetato contenía las coordenadas X y Y.

planeta. Sin los paradigmas fundacionales de la bioinformática, *id est*, la homología de las secuencias de genes y su relación con la evolución, esta tarea sería inimaginable. Si tomamos como guía (como hipótesis nula) la primera parte del título de este texto, podremos empezar a apreciar el impacto de la bioinformática en otros aspectos de la biología. Como un ejemplo específico retomaremos la historia de una disciplina madura y que cobra mayor importancia cada día: la biología estructural (BE). En las siguientes secciones describiremos la BE, y las técnicas que proveen las estructuras que son su materia prima: difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear y microscopía electrónica. Todas ellas son técnicas bioinformáticas de acuerdo a la definición de Hogeweg (2011) que en conjunto evidencian el valor de la bioinformática como una filosofía y no como una herramienta inmutable.

• BIOLOGÍA ESTRUCTURAL, NACIDA DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Si se juzgara el impacto de la BE en la bioquímica moderna, tomando como única referencia un texto moderno de bioquímica (por ejemplo, la *Bioquímica* de Lehninger), descubriríamos que sólo hay tres páginas donde se describen los métodos básicos de la BE, aunque el resto del libro está repleto de ilustraciones de estructuras y modelos de proteínas, ácidos nucleicos,

lípidos y sacáridos. En las páginas de ese mismo libro no se encontrará una definición del término «BE». Una definición moderna es, necesariamente, amplia: es el marco en el que se interpretan las medidas y las ideas de la biología molecular (Campbell, 2002). Pero, ¿qué es concretamente la BE y cuál es su relación con la bioinformática? La BE nació cuando John Desmond Bernal y Dorothy Crowfoot colocaron un cristal de la proteína pepsina en un haz de rayos X (c. 1934). En ese entonces se pensaba que las proteínas eran coloides sin estructura. Para el año 1936, Max Perutz se embarcó a determinar la estructura de la hemoglobina utilizando el patrón de difracción de rayos X (figura 2); este proceso le llevó 30 años (1962) por dos razones: 1) por un problema intrínseco a la difracción de rayos X, la incapacidad de medir simultáneamente amplitudes y fases (esto es una limitante física, los rayos X no pueden ser enfocados como la luz visible); 2) la ausencia de computadoras potentes en esa época, ya que los cálculos para convertir la información del patrón de difracción en un modelo tridimensional requieren de la transformada de Fourier. Mientras que es posible resolverla «a mano», el proceso se vuelve más intenso a mayor número de átomos en el modelo. Max Perutz y John Kendrew resolvieron las dos primeras estructuras mediante difracción de rayos X: la hemoglobina y la globina. Esta tarea les llevó tanto tiempo que

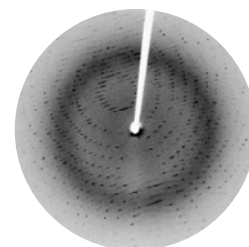


Figura 2. Patrón de difracción de rayos X de la proteasa 3C1pro del virus del SARS a 2.1 Angstroms de resolución. Esta fue capturada por la exposición de una placa fotográfica colocada tras el cristal de la proteína. En la parte superior y cruzando hasta el centro se observa el stopper que previene que la placa se sobreexponga. Debido a que los rayos X no se pueden enfocar, los puntos representan el espacio recíproco del cristal, cada punto contiene información de intensidad (qué tan opacos son) y de frecuencia (la posición relativa al centro indica la resolución, a mayor distancia mayor resolución). Imagen original por Jeff Dahl, reproducida bajo la licencia de Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported, 2.5 Generic, 2.0 Generic y 1.0 Generic.

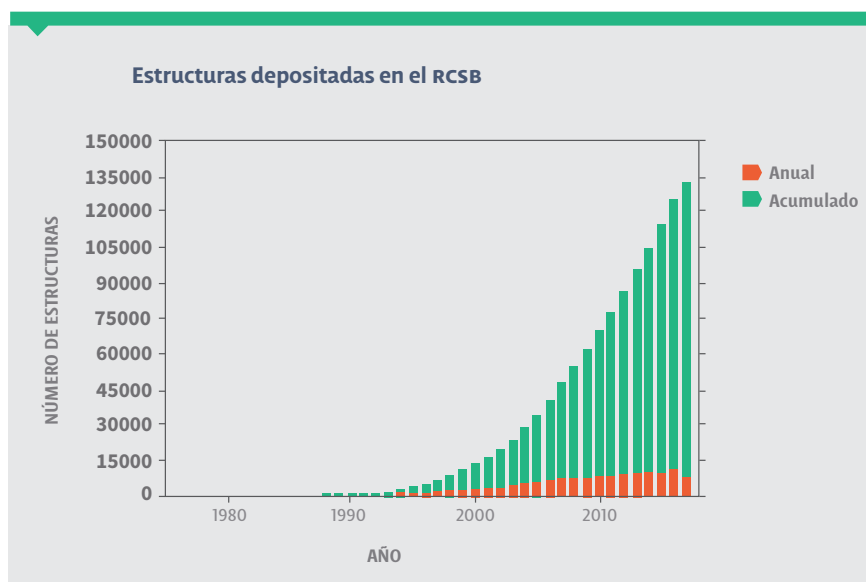


Figura 3. Número de estructuras resueltas y depositadas en la base de datos del RCSB-PDB de manera acumulada y por año. En esta gráfica se incluyen estructuras resueltas por difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear, microscopía electrónica y otras. No incluye modelos que no estén basados en datos experimentales. La tendencia de la gráfica muestra que el número de estructuras depositadas ha crecido exponencialmente.

no se esperaban grandes avances en el área. Sin embargo, para 1973, se habían resuelto diez estructuras, para 1983, 27 y en 1993, un total de 922. Actualmente, 55 años después, hay un total de 118,744 (figura 3). Estas estructuras son depositadas en una base de datos de proteínas (RCSB-PDB) y están disponibles de manera gratuita para todos los usuarios con acceso a internet. Desde el 2000 se resuelven y depositan alrededor de cien mil estructuras por año.

Al igual que la bioinformática, la BE cobró auge por dos razones: la disponibilidad de fuentes de rayos X y la capacidad de computación moderna. Mientras que la primera ha dependido de aceleradores de partículas (sincrotrones) asociados a grandes universidades, la computación ha sido más accesible a cualquier público. Usemos de contraste la manera en que Max Perutz construyó el modelo de la hemoglobina en 1960: las densidades electrónicas fueron calculadas a mano y graficadas sobre «acetatos» (material de dibujo translucido). Cada acetato contenía las coordenadas X y Y. Con ayuda de soportes metálicos e hilos, se creó una pila tridimensional que representaba la coordenada Z. Con esta pila como guía, se cortaron rebanadas de corcho para tener un modelo de tres dimensiones. El modelo de la mioglobina de John Kendrew, por su resolución atómica, requirió de un andamiaje más elaborado (figura 1). Hace quince años, todo este proceso se realizaba de manera completamente computacional

en ordenadores especializados, los ordenadores Silicon Graphics y un sistema operativo basado en Unix. Hace diez años, las CPU de Intel o AMD se volvieron lo suficientemente baratas y poderosas para realizar el mismo trabajo. Además, el éxito de los sistemas operativos Linux y sus compiladores gratuitos permitieron la migración de las aplicaciones necesarias para la generación de modelos de manera más rápida y de mejor calidad. Desde hace más de cinco años, las computadoras portátiles o laptops son capaces de procesar, en horas, estructuras de la complejidad de la hemoglobina e incluso se han migrado las aplicaciones a sistemas operativos de Microsoft.

El impacto de la computación y las telecomunicaciones en la determinación de estructuras de proteínas por rayos X (XRD) es tal, que hoy un cristal puede mandarse por correo a Berkeley, difractarse remotamente (mientras el usuario observa en su computadora o teléfono móvil) e incluso preprocesar los datos para determinar su calidad. Y, sin embargo, la metodología de XRD no es la única disponible.

● RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

La resonancia magnética nuclear (RMN) tiene una historia muy rica que inició con el estudio de haces de átomos en el vacío y su respuesta a campos magnéticos y exposición a radiofrecuencias (c. 1926-45) (Becker, 1993). De manera breve, la RMN es capaz de distinguir átomos in-

«**AL IGUAL QUE LA BIOINFORMÁTICA, LA BE COBRÓ AUQUE POR DOS RAZONES: LA DISPONIBILIDAD DE FUENTES DE RAYOS X Y LA CAPACIDAD DE COMPUTACIÓN MODERNA.**»



La resonancia magnética nuclear (RMN) tiene una historia muy rica que inició con el estudio de haces de átomos en el vacío y su respuesta a campos magnéticos y exposición a radiofrecuencias.



Las aplicaciones biológicas de dos métodos principales se hicieron manifestar: Correlated Spectroscopy (COSY) y Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy (NOESY).



La estructura tridimensional de la primera proteína, determinada por RMN, fue publicada.

dividuales (comúnmente hidrógenos, pero para proteínas nitrógeno y carbono) por su respuesta a un estímulo de radiofrecuencia en un campo magnético controlado.

Fue hasta la década comprendida entre 1976 y 1985 que las aplicaciones biológicas de dos métodos principales se hicieron manifestar: Correlated Spectroscopy (COSY) y Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy (NOESY). Como se describió para XRD, la computación jugó un papel fundamental pues, para realizar la asignación del espectro de RMN requirió del desarrollo de métodos sofisticados de análisis de datos, así como el uso coordinado de dinámica molecular para evaluar la energética de los modelos. Aun así, fue hasta 1985 que la estructura tridimensional de la primera proteína, determinada por RMN, fue publicada. Dada la complejidad de las biomoléculas, al día de hoy, la RMN está limitada a masas moleculares de 50 kDa (para proteínas significa 500 residuos), pero tiene una gran ventaja sobre la cristalografía: no se requieren cristales y las biomoléculas se analizan en solución.

• MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Aunque el primer microscopio electrónico (ME) fue desarrollado en 1930, fue hasta 1960 que se empezó a aplicar en la biología. El ME funciona de manera muy similar a los microscopios ópticos, excepto que reemplaza la luz visible por

electrones acelerados que vibran a altas frecuencias en una columna de vacío; la muestra que se observe tendrá que introducirse en dicha columna. Las lentes del microscopio óptico son lentes electromagnéticas que son capaces de enfocar estos electrones. Por ello, la resolución teórica del ME alcanza el nivel atómico. Con materiales inertes (*id est.*, aleaciones de metales) se pueden observar incluso átomos individuales. Con macromoléculas hay que considerar su fragilidad, un haz de electrones es capaz de evaporar una muestra de proteína y eso es sin considerar el vacío. El desarrollo de la tinción negativa, la cual rodea a las proteínas con una sal pesada que simultáneamente las protege del vacío y les da un gran contraste frente al haz de electrones, fue el primer paso para las aplicaciones en macromoléculas. Posteriormente, fue con la introducción de la criomicroscopía que esta técnica logró establecerse como una herramienta más de la BE (Gebel Berg, 2015). En la criomicroscopía se emplea una capa de hielo amorfo, a temperatura de nitrógeno líquido (77 K o -196 °C), que cumple las funciones de la tinción negativa y preserva mejor la estructura nativa de las macromoléculas. Sus primeros hitos tomaron lugar en 1975, cuando Richard Henderson y Nigel Unwin resolvieron la estructura de la bacteriorodopsina, una proteína de membrana, a 7 Angstroms de resolución, usando difracción de electrones¹. Para 1990, con ayuda

● RESONANCIA MAGNÉTICA
NUCLEAR

¹ Un ME es capaz de enfocar los electrones tomando, literalmente, fotos. Pero también es capaz de no enfocarlos y difractarlos sobre la muestra. De esta manera, no sufre la limitación de los rayos X pues se pueden obtener las amplitudes y fases para determinar una estructura.

de mejores microscopios, mejores algoritmos y computadoras más rápidas, se alcanzaron resoluciones de 3.5 Angstroms utilizando análisis de imagen de partícula única². Cabe resaltar que esta resolución es baja para los estándares de la XRD. Sin embargo, la XRD de proteínas de membrana es casi imposible en ambientes naturales (*id est.*, lípidos) y éste no es el caso para la ME. Al igual que la RMN, la ME no requiere de cristales. Al día de hoy resoluciones de 2 Angstroms, casi tan altas como las de XRD, son posibles mediante ME³.

Estas tres metodologías son el pilar moderno de la BE, por ejemplo, se puede determinar la estructura de una proteína junto con un fármaco, o cuando se identifica una mutación causante de una enfermedad, se puede sugerir cómo la mutación afecta la función de dicha proteína. Aunque esta información es en extremo valiosa, sin embargo, es estática; es decir, semejante a una sola fotografía del galope de un caballo. Una sola fotografía nos puede dar mucha información general del caballo (sus dimensiones, el largo de su zancada), pero carece de información del proceso del galope en sí (... y no nos dice ¡qué tan rápido corre!). Mejores y más rápidas técnicas de difracción se han desarrollado, sin embargo, hay otros métodos que usan los modelos generados experimentalmente para extrapolar su comportamiento dinámico, como la simulación por mecánica molecular. La mecánica molecular es tan antigua como la BE (c. 1938) (Wilson y Crawford, 1938), y también floreció con la disponibilidad de computación de alto poder alrededor de los ochenta. En pocas palabras, la mecánica molecular es una aplicación de la mecánica clásica (también llamada física newtoniana) para modelar y simular el comportamiento atómico de diversos sistemas. Inicialmente, cuando los cálculos se realizaban «a mano», se aplicó a sistemas químicos simples (uno clásico es el ión bifluoruro, FHF⁻) donde se podían realizar cálculos más rigurosos (mecánica cuántica o mecánica semiempírica). Posteriormente, en la descripción de la estructura de la proteína BPTI (Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor), en 1977, se usaron por primera vez los algoritmos del premio Nobel Martin Karplus⁴ en las supercomputadoras disponibles en las universidades y se aplicó la mecánica cuántica a problemas biológicos. En

El término Bioquímica Computacional fue plasmado en

2001

en el libro *Computational Biochemistry and Biophysics* (Becker, MacKerell, Roux, & Watanabe, 2001). Se refiere específicamente al uso de la mecánica molecular, semiempírica o cuántica, para entender la naturaleza de los fenómenos biológicos a nivel atómico.

mi opinión, es en ese artículo donde nació de la Bioquímica Computacional (BC).

• BIOQUÍMICA COMPUTACIONAL, HEREDERA DE LA BE

La bioquímica computacional (BC) ha recorrido un camino semejante a la bioinformática moderna, aunque ha ido de la mano de muchos experimentos que confirman o refutan sus resultados. El término BC fue plasmado en 2001 en el libro *Computational Biochemistry and Biophysics* (Becker, MacKerell, Roux, y Watanabe, 2001). Se refiere específicamente al uso de la mecánica molecular, semiempírica o cuántica, para entender la naturaleza de los fenómenos biológicos a nivel atómico.

Tal como se describió para la bioinformática, la BC surgió de la confluencia de varias disciplinas,azonadas con la programación y la computación moderna. Primero, la bioquímica *per se*, con la descripción de la estructura del material genético, ADN, y los modelos de la catálisis enzimática, había alcanzado una cima en importancia y desarrollo. Segundo, la descripción de la estructura tridimensional de las proteínas, el desarrollo de la mecánica molecular y su aplicación a las proteínas abrieron un panorama inexplorado que llevaría a novedosas hipótesis para entender la vida misma. Y, finalmente, la accesibilidad al poder de cómputo, necesario

2. Este análisis usa sólo información de imágenes enfocadas, no requiere difracción.
3. Premio Nobel de Química en 2017.

para simular estas proteínas (y otras macromoléculas), permitieron la fundación de esta área.

La observación inmediata, *id est.*, las vibraciones de la BPTI, hicieron palpable la naturaleza dinámica de la bioquímica a nivel molecular. Sin el conocimiento bioquímico para interpretar los resultados de la mecánica molecular, la aplicación de la BC sería limitada. Es decir, parafraseando las palabras de Martin Karplus⁴: las simulaciones no están reemplazando a los experimentos, sino que son también herramientas para entender dichos experimentos y extenderlos. Mientras que la difracción de rayos X, RMN y ME han recorrido un largo camino y madurado a disciplinas sólidas, la bioquímica estructural como parte de la bioinformática sigue evolucionando. Un ejemplo contemporáneo de las aplicaciones de la bioquímica computacional está en el diseño de fármacos. Para el diseño de fármacos se requieren estructuras de XRD o NMR de las macromoléculas blanco, una librería (computacional) de moléculas orgánicas que se usarán de señuelo, un set de programas de cómputo que realicen *docking*, simulación y cálculo de la energética de las interacciones y, finalmente, gran poder de cómputo⁵ y tiempo. Desde luego que un diseño de fármacos exitoso tendrá que ser acompañado de pruebas experimentales (por ejemplo, farmacología) u otras pruebas estructurales (XRD o espectroscopia).

Hoy por hoy, hay aún un largo camino por recorrer para hacer de la BC una digna heredera de la BE y también para cimentar sus vínculos con la bioinformática y la genética moderna. Sólo así nos moveremos algo más cerca al futuro utópico donde a partir de la secuencia de un gen podremos predecir una función, predecir las alteraciones causadas por mutaciones específicas (diagnóstico) y diseñar un tratamiento a nivel molecular.

CONCLUSIONES

En este trabajo presentamos a la bioinformática moderna no como una disciplina, sino como una filosofía de la ciencia, una plantilla del paradigma de la ciencia y como una interdisciplina. Es nuestra opinión, evidenciada por la evolución de la biología estructural, que es una filosofía pues involucra la resolución de preguntas biológicas tomando herramientas de muchas otras disciplinas. Además, enfatizamos que no es un producto acabado sino que sigue

cambiando, mejorando. Presentamos además el caso de la bioquímica computacional que nació de la interdisciplina (computo, química, BE) y tiene la capacidad en potencia de incluir a la biología celular y a las ciencias de la salud. Es crucial en la educación profesional incluir los elementos necesarios para alcanzar ese objetivo, mediante la bioinformática moderna.



REFERENCIAS

- Becker, E. D. (1993). A brief history of nuclear magnetic resonance. *Analytical Chemistry*, 65(6), 295A-302A.
- Becker, O. M., MacKerell, A. D., Jr, Roux, B., & Watanabe, M. (2001). Computational Biochemistry and Biophysics. (O. M. Becker, A. D. MacKerell Jr, B. Roux, & M. Watanabe, Eds.) (1st ed.). CRC Press.
- Campbell, I. D. (2002). Timeline: the march of structural biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(5), 377-381. <http://doi.org/10.1038/nrm800>
- Gebel Berg, E. (2015, September 23). Breaking the Crystal Ceiling. *ACS Central Science*, 283-285. <http://doi.org/10.1021/acscentsci.5b00295>
- Hogeweg, P. (2011). The roots of bioinformatics in theoretical biology. *PLoS Computational Biology*, 7(3), e1002021. <http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002021>
- Wilson, E. B., Jr., & Crawford, B. L., Jr. (1938). The Secular Equation for Molecular Vibrations. *The Journal of Chemical Physics*, 6(4), 223-223. <http://doi.org/10.1063/1.1750232>



Paulina Cortes Hernández

Médico cirujano y doctora en Ciencias Bioquímicas por la UNAM. Actualmente es investigadora asociada en el Centro de Investigación Biomédica de Oriente (CIBIOR), del IMSS en Metepec, Puebla. Conduce estudios que permiten entender las bases moleculares de las enfermedades humanas y el papel de la estructura de las proteínas en la enfermedad. Ha trabajado en enfermedades mitocondriales, enfermedades metabólicas y en cáncer.

paulina.cortes.hernandez@gmail.com



Benjamín Padilla Morales

Biólogo, egresado de la UDLAP y actualmente estudiante de MBA en la UDLAP. Colaborador del laboratorio de Modelaje Químico-Biológico y Visualización de la UDLAP en proyectos enfocados en determinar el comportamiento estructural de proteínas in-silico y detección computacional de patrones de especiación-extinción en artrópodos. Colaboró con el Departamento de Matemáticas en el diseño de la propuesta del Centro en Aprendizaje de Matemáticas. benjamin.padillams@udlap.mx

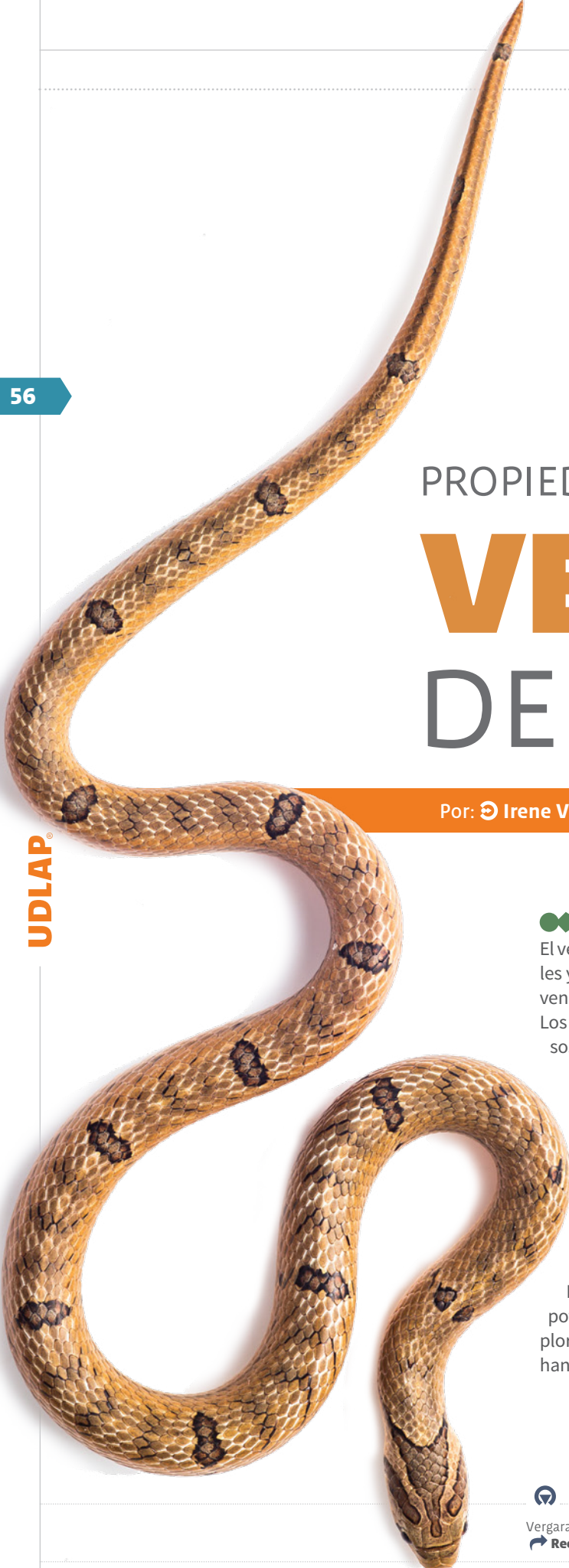


Lenin Domínguez Ramírez

Doctor en Ciencias, Licenciado en Investigación Biomédica Básica. Profesor de la UDLAP. Conduce investigación orientada a la aplicación de herramientas computacionales para el rediseño de proteínas y la búsqueda de nuevos fármacos, por ejemplo contra la influenza. julio.dominguez@udlap.mx

4. Premio Nobel de Química 2013.

5. Un cluster de supercómputo, como el Laboratorio Nacional de Supercómputo, LNS.



PROPIEDADES MEDICINALES EN LOS **VENENOS** DE ANIMALES

Por:  Irene Vergara-Bahena

RESUMEN

El veneno es un sistema de defensa para muchos animales y, en algunos casos, imprescindible para la supervivencia porque sirve para capturar y digerir a la presa. Los componentes que conforman un veneno son diversos; gracias a su caracterización bioquímica se ha determinado que contienen enzimas, neurotoxinas, proteínas que alteran la cascada de coagulación y componentes no proteicos. Algunos de ellos actúan en blancos moleculares presentes en células humanas; es así como distintas moléculas, provenientes de venenos, han servido como base en el desarrollo de fármacos que –actualmente– se utilizan para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas y trastornos de la coagulación. Los venenos son una vasta mina de moléculas con potencial terapéutico, sin embargo, es un área poco explorada dado que son escasos los componentes que se han estudiado con un enfoque farmacológico.



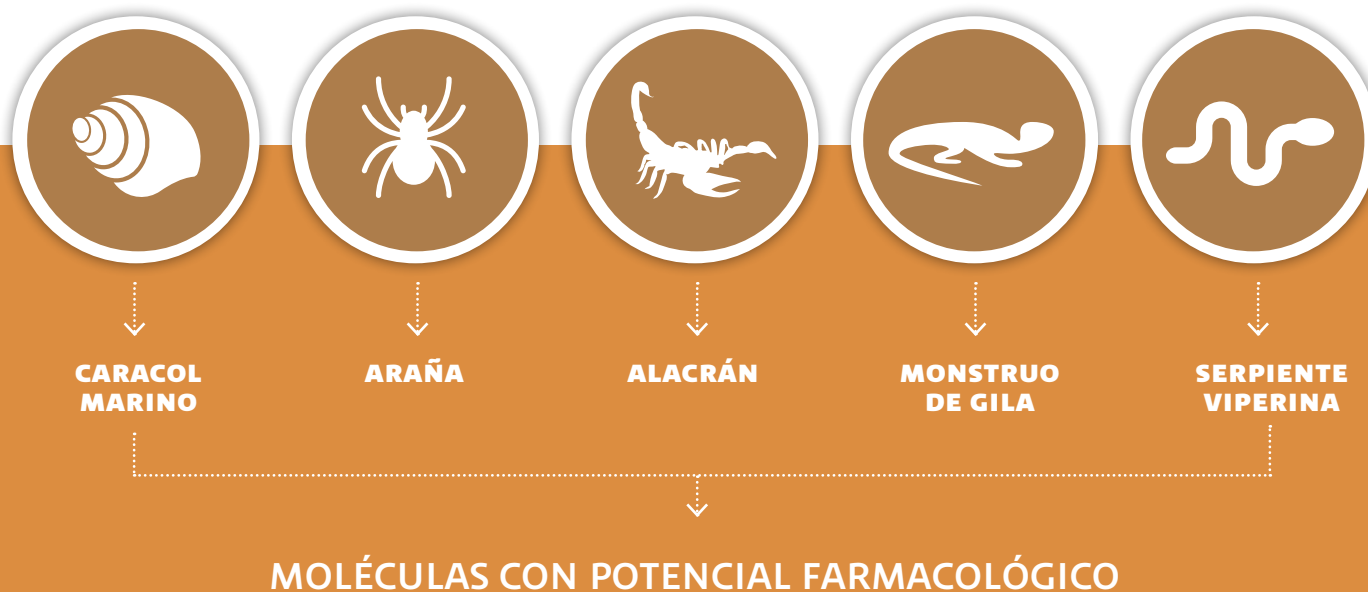


Figura 1. Ejemplos de venenos en los cuales se han descubierto moléculas con potencial terapéutico. Algunos fármacos que surgieron a partir de ellos ya se comercializan o están en fase clínica, como el Ziconotide del caracol marino *Conus magus*, el Exenatide del monstruo de Gila *Heloderma suspectum*, el Captopril de la serpiente *Bothrops jararaca* y la Clorotoxina del alacrán *Leiurus quinquestriatus*.



◆◆ PALABRAS CLAVE

Venenos • Toxinas • Blanco terapéutico • Fármacos

◆◆ ABSTRACT

The venom is a defense system for many animals and, in some cases, is essential for survival since it serves to capture and digest the prey. Components present in a venom are diverse; its biochemical characterization have revealed that contain enzymes, neurotoxins, proteins that disturb coagulation cascade and non-protein components. Some venom components act on molecular targets in human cells. Thus, some drugs currently used to treat chronic, degenerative diseases and coagulation disorders have been developed taking a venom molecule as a basis. Animal venoms are a wide mine of molecules with therapeutic potential. However, the field is poorly explored and few components

have been investigated from a pharmacological approach.

◆◆ KEYWORDS

Venom • Toxins • Therapeutic target • Drugs

◆◆ INTRODUCCIÓN

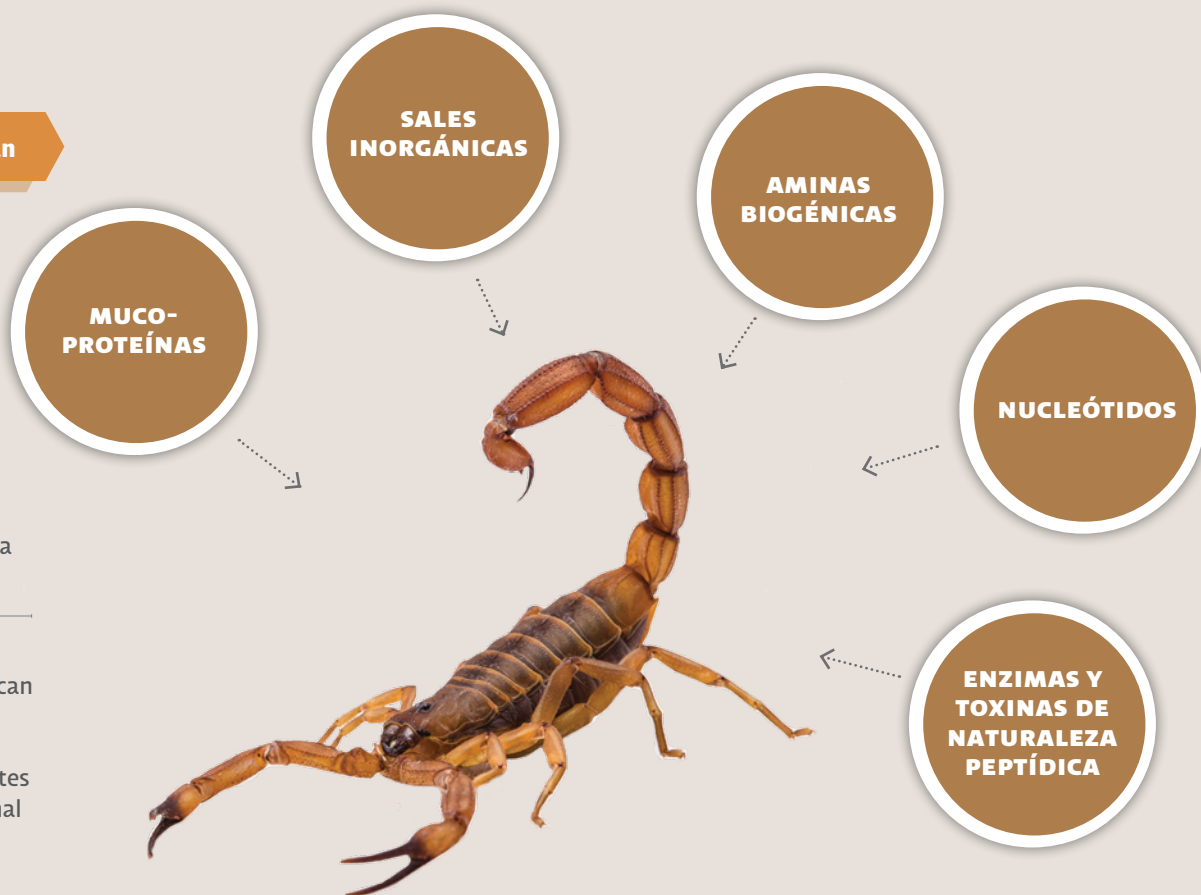
A lo largo de la evolución, muchos animales han desarrollado un arsenal de moléculas bioactivas llamadas veneno. Éste les sirve como defensa, para capturar a sus presas y, en algunos casos, hasta para digerirlas. Los venenos son mezclas complejas de moléculas con propiedades y naturaleza química diversa, entre ellas hay péptidos, proteínas con actividad enzimática, sales, nucleótidos, etcétera.

Antiguamente las diversas culturas en Asia, África y América utilizaron los venenos de animales, y partes de ellos, en la medicina tradicional para tratar distintos padecimientos, como

LOS VENENOS SON MEZCLAS COMPLEJAS DE MOLÉCULAS CON PROPIEDADES Y NATURALEZA QUÍMICA DIVERSA, ENTRE ELLAS HAY PÉPTIDOS, PROTEÍNAS CON ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, SALES, NUCLEÓTIDOS, ETCÉTERA.

» Es un sistema de defensa contra predadores.

» Las toxinas de alacrán se clasifican con base en su longitud, en el número de puentes disulfuro y el canal iónico sobre el cual actúan.



la artritis, el dolor y el cáncer, entre otros. En la era moderna, el estudio y caracterización de los venenos ha permitido identificar aquellas moléculas tóxicas para el ser humano y desarrollar antídotos –altamente efectivos– para neutralizar sus efectos. En este proceso se han encontrado también una gama de moléculas que pueden aprovecharse para nuestro beneficio en el tratamiento y diagnóstico de algunas enfermedades. El veneno de los animales ponzoñosos es una mina de moléculas bioactivas, en gran parte desconocidas, que varía entre las especies (figura 1).

● VENENO DE ALACRÁN

Es un sistema de defensa contra predadores. En su contenido se han encontrado sales inorgánicas, aminas biogénicas, mucoproteínas, nucleótidos, enzimas y toxinas de naturaleza peptídica con afinidad por canales de sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{++}) y cloro (Cl^-). Las toxinas de alacrán se clasifican con base en su longitud, en el número de puentes disulfuro y el canal iónico sobre el cual actúan.

Cuando estas toxinas se unen a su sitio de acción en un canal iónico determinado gene-

ran cambios, tales como: el retraso en la apertura del canal, la apertura a potenciales más negativos de lo habitual o la inactivación (Ortiz *et al.*, 2015).

Distintos grupos de investigación en el mundo se han interesado por estudiar los componentes del veneno de alacrán con un enfoque farmacológico. En este sentido, se han publicado estudios en los que se reportan moléculas con actividad antibacterial, antifúngica, citolítica y anticancerígena, entre otras. Actualmente no existe algún fármaco, derivado de estas investigaciones, que haya sido aprobado para su uso en humanos. El avance más relevante –en cuanto al descubrimiento de fármacos en el veneno de alacrán– es la clorotoxina, un péptido de 36 aminoácidos que se describe más adelante.

● VENENO DE SERPIENTES

Estos venenos presentan mayor grado de complejidad y diversidad en su composición, frente a los de alacrán; sus componentes pueden dividirse en dos: aquellos que sirven para capturar a la presa y los que sirven para digerirla. Dentro de los que se utilizan para la captura de presas

tenemos –principalmente– a las neurotoxinas pre y postsinápticas. Las presinápticas intervienen en el proceso de liberación del neurotransmisor acetilcolina, mientras que las postsinápticas interrumpen la unión de la acetilcolina con su receptor; ambas toxinas alteran el mecanismo de la contracción muscular provocando que la presa quede paralizada.

En cuanto a las moléculas que sirven para la digestión de la presa están aquellas que actúan a distintos niveles en la cascada de coagulación, enzimas como las fosfolipasas A2, miotoxinas, desintegrinas y tipo-trombina, entre otras (Harvey, 2014).

● VENENO DE CARACOLES MARINOS

Existen cerca de 700 especies de caracoles marinos, los cuales, en la evolución, desarrollaron un veneno altamente tóxico para sus presas y también para el humano. Estos animales poseen una estructura llamada probóscide, con una especie de arpón en la punta, que les sirve para inyectar el veneno y cazar a su presa. El veneno contiene –principalmente– péptidos pequeños que actúan en el sistema nervioso central, mejor conocidos como conotoxinas. Las conotoxinas se caracterizan por contener

varios puentes disulfuro que les confieren alta estabilidad, presentan también alta afinidad y selectividad a canales iónicos. Por ello, se han utilizado como herramientas bioquímicas para caracterizar subtipos específicos, como el canal de Ca^{++} tipo N (Lewis y García, 2003).

La variedad de componentes que encontramos en los venenos de alacranes, serpientes y caracoles marinos los posiciona como una atractiva fuente para la extracción de moléculas con posible potencial farmacológico. Hay otros venenos, que no se detallan aquí, pero que también han sido objeto de estudio para la búsqueda de fármacos como son: el veneno de arañas y tarántulas, de escolopendra y toxinas de diferentes animales marinos (King, 2011; Harvey, 2014).

Típicamente la metodología para investigar moléculas con potencial farmacológico comienza con la separación de péptidos, proteínas y otros componentes del veneno «crudo» (veneno completo sin tratar) mediante distintos métodos cromatográficos. Después, se realiza la reducción y alquilación de péptidos, y mediante espectrometría de masas se identifican las secuencias. Estas secuencias se comparan con lo reportado en las bases de datos a fin de

Veneno de caracoles marinos

» Existen cerca de

700

especies de caracoles marinos, los cuales, en la evolución, desarrollaron un veneno altamente tóxico para sus presas y también para el humano.

» Se han utilizado como herramientas bioquímicas para caracterizar subtipos específicos, como el canal de Ca^{++} tipo N (Lewis y García, 2003).

**LAS
CONOTOXINAS
ACTÚAN EN
EL SISTEMA
NERVIOSO
CENTRAL**

**EL VENENO
CONTIENE
CONOTOXINAS**

**POSEEN UNA
ESTRUCTURA
LLAMADA
PROBÓSCIDE**

**LAS
CONOTOXINAS
CONTIENEN
VARIOS
PUENTES
DISULFURO**



Ensayos de actividad biológica *in vivo*DL₅₀

Separación por métodos cromatográficos

Reducción y alquilación

Espectrometría de masas

Búsqueda de secuencias en bases de datos

Pruebas *in vitro*

- Afinidad a canales iónicos
- Citotoxicidad
- Actividad, enzimática, antimicrobiana, anticancerígena

Toxicidad

DE₅₀
DL₅₀

Figura 2. Metodología general para la búsqueda de péptidos o proteínas con actividad farmacológica a partir de un veneno completo. DE₅₀ = Dosis efectiva en el 50% de los individuos expuestos; DL₅₀ = Dosis letal en el 50% de los individuos expuestos. Ensayos de actividad biológica *in vivo* debe estar la mismo nivel que separación y pruebas *in vitro*.

hallar la identidad del péptido o proteína y la similitud con moléculas ya reportadas. La información obtenida sirve para dirigir los ensayos de actividades como la enzimática, antibiótica, anticancerígena, etcétera. De forma paralela se pueden realizar experimentos *in vitro* o *in vivo* para determinar los efectos biológicos del veneno crudo y así complementar la información sobre los posibles blancos de acción (figura 2).

● DESCUBRIMIENTO DE MOLÉCULAS CON PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS A PARTIR DE VENENOS

El primer estudio sistemático de un agente farmacológico a partir de venenos surgió en Brasil, en la década de los cincuenta, donde un grupo de farmacólogos y fisiólogos que estudiaban el veneno de la serpiente *Bothrops jararaca* encontraron péptidos potenciadores de la bradiquinina. Estudios posteriores mostraron que estos péptidos actuaban inhibiendo la acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y, por tanto, disminuían la presión arterial. Estos hallazgos culminaron con el desarrollo de uno de los fármacos más utilizados actualmente para disminuir la presión arterial, el captopril (Pennington *et al.*, 2017).

El desarrollo del captopril marcó la pauta para que varios grupos de investigación en el mundo se interesaran por la búsqueda de fármacos en otros venenos de serpiente, e incluso, en venenos de otros animales como lagartos, anfibios, alacranes, arañas, animales marinos, etcétera.

Posteriormente se descubrió un péptido antitrombótico en el veneno de la serpiente cascabel *Sistrurus mliarius barbouri*. El análogo de este péptido se produjo después mediante síntesis química y se le dio el nombre de eptifibatida, el cual actúa como antagonista competitivo del fibrinógeno. Actualmente se utiliza para disminuir el riesgo de isquemia cardiaca aguda y el infarto al miocardio, gracias a su acción como inhibidor de la agregación plaquetaria.

Otro caso de éxito ocurrió en la década de los ochenta con el descubrimiento de Exedin-4, una hormona similar al glucagón tipo I presente en la saliva del monstruo de Gila *Heloderma suspectum*. Esta hormona fue aislada por el Dr. John Eng, quien en sus investigaciones demostró que ésta podría aplicarse para el control de la glucosa en sangre, específicamente, en la diabetes mellitus tipo 2. Posteriormente, la empresa farmacéutica Amylin Pharmaceuticals, se

encargó de producir el péptido sintético llamado exenatide que fue aprobado en 2005 para el tratamiento de diabetes tipo 2 bajo el nombre de Byetta (Pennington *et al.*, 2017).

El ziconotide es otro destacado ejemplo de un fármaco desarrollado a partir de un veneno. Se trata de una omega-conotoxina que fue aislada del veneno de caracol marino *Conus magus* por Michael McIntosh, quien trabajaba en el laboratorio del reconocido toxínólogo Baldomero Oliviera. Esta conotoxina actúa modulando canales de Ca^{++} del tipo N en el sistema nervioso central, por lo que se utiliza para tratar el dolor crónico y agudo, su potencia es mil veces mayor al efecto observado con la morfina. En 2004 fue aprobado por la FDA para su comercialización bajo el nombre de PRIALT (Pennington *et al.*, 2017).

El caso más reciente es el de la clorotoxina, un péptido de 36 aminoácidos aislado del veneno del alacrán *Leiurus quinquestriatus*, éste se comenzó a utilizar como herramienta farmacológica para caracterizar canales iónicos de Cl^- . De forma paralela, estudios sobre glioma (el tipo de cáncer de sistema nervioso central más letal) mostraron la presencia de canales de Cl^- y K^+ , que son utilizados por las células cancerosas para invadir tejido sano. En 1998, un grupo de investigadores publicaron la alta selectividad de la clorotoxina marcada radioactivamente con yodo 131 (^{131}I -Clorotoxina) en células de glioma (Soroceanu *et al.*, 1998). En conjunto, los resultados de estas investigaciones condujeron a la generación de una toxina recombinante radiomarcada que se encuentra en estudios de fase clínica II con el nombre ^{131}I TM-601; donde se está probando su utilidad para delimitar y facilitar la extirpación de tumores, así como su actividad antineoplásica y antiangiogénica.

Los ejemplos aquí mencionados muestran un panorama sumamente prometedor en cuanto a la investigación de venenos de animales con aplicación en el área farmacéutica y de la salud, sin dejar de lado los retos a resolver.

● RETOS Y PERSPECTIVAS

Sin duda la diversidad de componentes que se encuentran en el veneno de animales ponzoñosos estimula la búsqueda de nuevas moléculas con potencial farmacológico. Sin embargo, existen desafíos a vencer para ir más allá de la caracterización de moléculas de venenos, lo cual permita llegar hasta su aplicación clínica.

Uno de estos retos radica en la falta de estudios multidisciplinarios que incluyan a toxínólogos, biólogos, farmacólogos, clínicos, farmacéuticos y biotecnólogos, entre otros.

Asimismo, se requiere utilizar, de manera conjunta, herramientas y tecnologías que permitan un avance sustancial, como por ejemplo, la bioinformática, proteómica, genómica y biotecnología, por mencionar algunas. Finalmente, otro reto importante consiste en fomentar la interacción entre las universidades y la industria farmacéutica para impulsar la investigación y desarrollo de moléculas con potencial farmacológico.

◆ CONCLUSIÓN

Los venenos de animales son una fuente invaluable de moléculas bioactivas que pueden actuar sobre distintos blancos, esta diversidad ha incentivado la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos, útiles en el tratamiento de enfermedades como: infecciones bacterianas, padecimientos crónico degenerativos, cáncer y dolor asociado a padecimientos crónicos, entre otras.

◆ REFERENCIAS

- Harvey, A. L. (2014). Toxins and drug discovery. *Toxicon*, 92, 193-200.
- King, G. F. (2011). Venoms as a platform for human drugs: translating toxins into therapeutics. *Expert opinion on biological therapy*, 11(11), 1469-1484.
- Lewis, R. J., & Garcia, M. L. (2003). Therapeutic potential of venom peptides. *Nature reviews. Drug discovery*, 2(10), 790.
- Ortiz, E., Gurrola, G. B., Schwartz, E. F., & Possani, L. D. (2015). Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon*, 93, 125-135.
- Pennington, M. W., Czerwinski, A., & Norton, R. S. (2017). Peptide therapeutics from venom: current status and potential. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*.
- Soroceanu, L., Gillespie, Y., Khazaeli, M. B., & Sontheimer, H. (1998). Use of chlorotoxin for targeting of primary brain tumors. *Cancer Research*, 58(21), 4871-4879.



● Irene Vergara Bahena

Doctora en Ciencias Bioquímicas y licenciada en Farmacia; actualmente, profesora de tiempo completo e investigadora en la Escuela de Ciencias, UDLAP. Con interés en ciencia aplicada, específicamente en el desarrollo de biofármacos de origen biotecnológico y búsqueda de moléculas bioactivas en venenos de animales.

irene.vergara@udlap.mx

Entorno

POLÍTICA EDITORIAL

CONSULTE LA POLÍTICA EDITORIAL EN: WWW.UDLAP.MX/ENTORNO

MISIÓN

Difundir el conocimiento, los avances científicos y tecnológicos, y la creación artística, a través de la publicación de artículos de divulgación y notas inéditos, que brinden aportaciones originales.

CONTENIDO

Multidisciplinario, integrado con artículos y notas derivadas de una investigación, innovación o creación artística, principalmente, pero no de forma necesaria desarrollada en la UDLAP, con la participación de profesores y/o estudiantes. Que difundan aportaciones o innovaciones científicas y tecnológicas originales, obras de creación artística o cultural que se desarrollen dentro del campo del conocimiento de las diversas disciplinas que se cultivan en la universidad. La orientación de los textos será de divulgación del conocimiento y la creación artística.

COBERTURA TEMÁTICA

Interdisciplinaria, en cualquiera de los campos del conocimiento, la innovación o la creación artística.

TIPO DE CONTRIBUCIONES

• Artículo científico

Documento científico que trata y difunde los resultados de una investigación o innovación exitosa, cuyas contribuciones aportan e incrementan el conocimiento actual. La orientación de los textos será divulgativa y éstos se someterán a revisión de pares.

• Artículo de creación

Documento que trata y difunde los resultados de una obra de creación artística o cultural. Será sometido a revisión de pares.

• Artículo de estado del arte

Documento que analiza a profundidad y difunde el conocimiento, en el estado del arte, de un problema, campo de investigación o área artística o literaria, de relevancia e interés general. Será sometido a revisión de pares.

• Nota especializada

Texto que trata avances en el campo de la práctica profesional, sin que necesariamente sea una aportación original, pero que contribuye con mejoras a aplicaciones o procedimientos.

• Notas breves

Reportan de manera resumida resultados de investigación, innovación y creación artística.

PROCESO DE ARBITRAJE

Las propuestas de contribuciones a la revista serán analizadas, revisadas y dictaminadas por el Comité Editorial, integrado por profesores e investigadores distinguidos. La participación de los miembros del Comité Editorial se considera una contribución profesional, que se realiza de manera honorífica. El proceso de arbitraje de los artículos se presenta en la Convocatoria, y puede consultarse en <http://www.udlap.mx/entorno/>.

Las «Notas breves» y «Notas especializadas» no se someterán a proceso de arbitraje, y su inclusión queda a cargo del editor en jefe y el editor temático.

AUTORES

Se publican trabajos de investigación, análisis e innovación científica, social, humanística o artística de especialistas y académicos mexicanos o extranjeros y en especial de profesores y/o estudiantes de la Universidad de las Américas Puebla. Se pueden incluir coautores de diversas instituciones. Se aceptarán trabajos en español o inglés, y en todos los artículos se incluirá un resumen en español y en inglés.

RESPONSABILIDAD DE LOS AUTORES:

- La responsabilidad del contenido de los artículos corresponde exclusivamente a los autores.
- La propuesta de un trabajo compromete a su autor a no someterlo simultáneamente a la consideración de otras publicaciones.
- Los colaboradores, cuyos artículos hayan sido aceptados, cederán formalmente los derechos de autor a la Fundación Universidad de las Américas Puebla.

- Ser responsable de la calidad del español o inglés que utilice. Si su redacción es deficiente, se rechazará su contribución. La revista sólo se hará cargo del cuidado editorial.
- Estar atento para resolver las dudas y propuestas que presenten los editores y la coordinación editorial.

Cada autor deberá aprobar las pruebas de imprenta de sus textos, paso previo a su publicación.

• Recepción de trabajos

La recepción de artículos y notas es permanente.

A juicio del Consejo Editorial, se podrán incluir artículos por invitación.

• Periodicidad

Edición cuatrimestral.

La revista se editará en papel y en formato electrónico.

• Acceso abierto

La revista en formato electrónico tendrá acceso abierto en los sitios de internet de la UDLAP.

CONVOCATORIA

El Decanato de Investigación y Posgrado, a través del Consejo Editorial de la revista *Entorno UDLAP*, convoca a especialistas, catedráticos, investigadores y estudiantes, a enviar textos originales para su publicación.

La revista tiene como propósito difundir el conocimiento, avances científicos y tecnológicos, y la creación artística, a través de la publicación de artículos y notas inéditas que brinden aportaciones originales.

La revista *Entorno UDLAP* publica textos provenientes de la comunidad académica de la universidad y de autores externos.

El contenido de *Entorno UDLAP* es multidisciplinario, integrado con artículos y notas derivadas de una investigación, innovación o creación artística, principalmente, pero no de forma necesaria desarrollada en la UDLAP con la participación de especialistas, profesores y/o estudiantes. El objetivo será difundir las aportaciones o innovaciones científicas y tecnológicas originales, así como las obras de creación artística o cultural que se desarrollen dentro del campo del conocimiento de las diversas disciplinas que se cultivan en la universidad. La orientación de los textos será divulgativa. Se aceptarán los siguientes tipos de contribuciones:

- **Artículo científico:** documento científico que trata y difunde los resultados de una investigación original o innovación exitosa, cuyas contribuciones aportan e incrementan el conocimiento actual. Éstos se someterán a revisión de pares.
- **Artículo de creación:** documento que trata y difunde los resultados de una obra de creación artística o cultural. Será sometido a revisión de pares.
- **Artículo de estado del arte:** documento que analiza a profundidad y difunde el conocimiento, en el estado del arte, de un problema, campo de investigación o área artística o literaria, de relevancia e interés general. Será sometido a revisión de pares.
- **Nota especializada:** texto que trata avances en el campo de la práctica profesional, sin que necesariamente sea una investigación original pero que contribuye con mejoras a aplicaciones o procedimientos.
- **Nota breve:** texto que reporta de manera resumida resultados de investigación, innovación y creación artística.

Los interesados en publicar sus artículos y notas deberán enviar el documento al Dr. Polioptro Martínez Austria, editor general de *Entorno UDLAP*, al correo electrónico: revista.entornoudlap@udlap.mx

Todos los artículos entregados serán sometidos a un proceso de revisión por pares, en el sistema de «doble ciego», antes de ser aceptados para su publicación.

Las notas serán revisadas directamente por el presidente del consejo, el editor general y los editores temáticos, antes de ser aceptadas para su publicación.

Todos los textos deberán enviarse acompañados de una carta de presentación, firmada por el autor de correspondencia, con el formato que se incluye en el portal de la revista en <http://www.udlap.mx/entorno/>

BASES

Sobre los textos

1. Respecto a los autores:

- a. Se aceptarán textos de autores de cualquier procedencia. Son especialmente bienvenidos los de cualquier universidad o centro de investigación, público o privado.

- b. El contenido de los textos publicados es responsabilidad exclusiva de los autores.
- c. En el caso de textos con más de un autor, se indicará el nombre del «autor de correspondencia» que será quien mantenga la comunicación con el cuerpo editorial de la revista y coordinará el proceso de revisión con sus coautores y, en caso de ser aceptado para publicación, recabará la aprobación de la impresión de todos los autores.
- 2.** Participarán textos originales, inéditos, que no hayan sido publicados o sometidos a proceso de publicación en alguna otra revista. Deberán enviarse en formato del procesador Word, editable.
- 3.** Los artículos deberán contar con una extensión mínima de 16 mil caracteres y máxima de 23 mil. No exceder las quince cuartillas, incluidas figuras y tablas, con un espacio interlineal de 1.5 y con márgenes de 2 cm arriba y abajo, y 3 cm a la izquierda y a la derecha.
- 4.** Las notas breves o especializadas deberán contar con una extensión mínima de 7 mil caracteres, y máxima de 15 mil. No exceder las cinco cuartillas, incluidas figuras y tablas, con un espacio interlineal de 1.5 y con márgenes de 2 cm arriba y abajo, y 3 cm a la izquierda y a la derecha.
- 5.** Los autores se comprometerán a presentar trabajos originales, escritos en español o inglés y acompañados con una breve ficha biográfica.
- 6.** Los sistemas de citas y referencias a usar serán APA para temas de Ciencias Sociales, Negocios y Economía, Ciencias e Ingeniería; y MLA para textos de Artes y Humanidades.
- 7.** La bibliografía final de las obras citadas se presentará también en el sistema indicado y con datos completos (sin abreviaturas en nombres y apellidos, ni siglas en nombre de instituciones).
- 8.** Las notas a pie de página servirán para comentar, complementar o profundizar información dentro del texto. No deberán ser notas bibliográficas.
- 9.** Las citas textuales de más de cuatro líneas se escribirán en párrafo aparte, sangrado a la izquierda y en letra tamaño 10 puntos. El resto de las citas textuales se incluirán dentro del texto e irán entre comillas latinas (« »).
- 10.** Las figuras, a color de preferencia, deben enviarse también en archivo aparte, claramente numeradas y con los letreros que deban usarse.
- 11.** Cuando sea posible, las figuras deben proporcionarse con el formato del programa en el que fueron creadas y que sean editables. Si se envían en formatos JPEG, la calidad debe ser de impresión I.E. 300 dpi con ancho de 1500 píxeles mínimo proporcional alrededor de 12.5 cm.
- 12.** Si el artículo propuesto sufrió modificaciones, producto de las observaciones de los árbitros, su versión definitiva (apegándose a las indicaciones) será enviada de nuevo en un archivo electrónico para su edición. El editor informará a los autores del avance en el proceso de aprobación de su artículo.
- Previo al envío de manuscritos, se solicita a los autores consulten las guías para autores, política editorial y formatos disponibles en el sitio web de la revista en <http://www.udlap.mx/entorno/>

PROCEDIMIENTO DE APROBACIÓN DE ARTÍCULOS

- 1.** A partir de la convocatoria o invitación realizada, el autor de correspondencia enviará el manuscrito del artículo propuesto al editor en jefe quien revisará el cumplimiento general de los criterios para someter un manuscrito a revisión, así como la carta de propuesta y originalidad del texto. En caso de no cumplir los criterios, el editor en jefe lo informará a los autores para que, si así lo consideran conveniente, lo revisen y envíen de nuevo al proceso. En caso de cumplirse los criterios, el editor en jefe abrirá un expediente para el artículo y, con el apoyo del editor asociado del área de conocimiento correspondiente, designará dos árbitros de entre los miembros del comité editorial o invitará a otros profesores, investigadores o profesionales destacados. Los árbitros seleccionados podrán ser de la propia UDLAP o externos.
- 2.** Se enviará a los árbitros y se les fijará un plazo de una semana para declinar o de tres semanas para su dictamen. En caso de declinación, el editor en jefe, junto con el editor asociado, designará a otro árbitro.
- 3.** El dictamen de los árbitros podrá emitirse en cualquiera de los siguientes sentidos:
- Aceptado
 - Aceptado con cambios menores
 - Aceptado sujeto a cambios mayores
 - Rechazado

En todos los casos el dictamen deberá ser argumentado adecuadamente. Por «aceptado sujeto a cambios mayores», se entiende que el manuscrito sólo será publicado si se cumple con los cambios propuestos por los árbitros y será sujeto a una nueva revisión de parte del editor y/o los árbitros. Por «aceptado con cambios menores» se entiende que el manuscrito ha sido aceptado y se publicará tan pronto el autor o autores cumplan con los cambios solicitados, lo cual será revisado por el editor.

EL DICTAMEN SERÁ INAPELABLE.

- 4.** En caso necesario, cuando se puedan producir demoras para la publicación de un artículo que se considere de interés, por falta o retraso de entrega de los árbitros, el editor en jefe, en coordinación con el editor temático que corresponda, tiene la facultad de emitir por sí mismo el dictamen.
- 5.** Una vez completado el ciclo de revisión y aprobado el texto, el editor en jefe enviará el manuscrito al coordinador editorial.
- 6.** El coordinador editorial, con el apoyo de la editora gráfica y del personal a su cargo, elaborarán el diseño editorial para impresión final y lo enviarán nuevamente al editor en jefe para su revisión, la del editor asociado y la de la secretaria ejecutiva. En caso necesario, se solicitará una nueva versión con correcciones a los autores.

Una vez concluido el diseño editorial, el editor general enviará a los autores la versión para impresión. Éstos harán en su caso las correcciones necesarias y firmarán una carta de autorización de la publicación y sesión de los derechos correspondientes a favor de la Fundación Universidad de las Américas, Puebla.

ENTREGA DE TEXTOS

Los interesados deberán enviar el documento original completo al Dr. Polioptro F. Martínez Austria, al correo electrónico revista.entornoudlap@udlap.mx

El texto deberá ir acompañado de una carta de presentación del trabajo en formato libre firmada por el autor de correspondencia, en representación de todos los autores.

Se recibirán textos de forma continua a partir de la publicación de esta convocatoria

PUBLICACIÓN DE LOS TEXTOS

Los documentos aceptados se mantendrán en una lista de espera para publicarse en la revista Entorno UDLAP. Los autores ceden, al aceptarse sus textos, el derecho de publicación a la Fundación Universidad de las Américas, Puebla.

LOS AUTORES

- 1.** El autor se compromete a no retirar su obra de la convocatoria una vez presentada.
- 2.** Es recomendable, más no necesario, que el autor haya registrado su obra en el Instituto Nacional de Derechos de Autor. Para más información: http://www.indautor.gob.mx/formatos/registro/registro_obras.htm
- 3.** En el caso de usar figuras, tablas o datos de otras fuentes que requieran de autorización para reproducción y publicación, los autores se comprometen a obtener los permisos o autorizaciones necesarias.
- 4.** Los autores aceptan que, de ser seleccionados, no retirarán su obra si no es por el consentimiento mutuo de las partes.
- 5.** Los autores seleccionados se comprometen a colaborar con los editores para una óptima publicación de acuerdo con las necesidades editoriales.
- 6.** Los autores seleccionados aceptan la utilización publicitaria de su nombre e imagen exclusivamente para promoción de la revista y en los portales de Internet de la UDLAP.
- 7.** Los autores elegidos se comprometen a participar personalmente en los actos de presentación y promoción de su obra, de acuerdo con las necesidades editoriales.
- 8.** Una vez aceptado su trabajo para publicación, los autores firmarán una carta de sesión de derechos a favor de la Fundación Universidad de las Américas, Puebla.

VIGENCIA

La presente convocatoria se mantiene abierta de manera permanente, los interesados pueden enviar sus manuscritos propuestos en cualquier momento, a partir de esa fecha inicia el proceso de revisión por editores y por pares. En caso de ser aceptados, en su versión final, se publicarán en el siguiente número de la revista en que se tenga el espacio disponible, usualmente a más tardar en tres meses después de la fecha de aceptación final.

Cualquier duda respecto de esta convocatoria podrá ser consultada con el director ejecutivo.

ATENTAMENTE,

DECANATO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

PARA
ALCANZAR
TUS METAS

SÍGUETE
PREPARANDO



DIPLOMADOS · TALLERES · SEMINARIOS · PROGRAMAS ESPECIALES

CERTIFICACIÓN

ADMINISTRACIÓN DE
ESTUDIOS CLÍNICOS
EN LATINOAMÉRICA

Programa online

UC San Diego Extension



CURSO

ELEMENTOS ESENCIALES
DE LA GESTIÓN DE
ENSAYOS CLÍNICOS

Programa online

UC San Diego Extension



UDLAP CONSULTORES

Edificio HU · Oficina 316

☎ (222) 229 27 13 · 229 30 66 · 229 20 00 ext. 5009

✉ udlap.consultores@udlap.mx · [/udlapconsultores](https://www.facebook.com/udlapconsultores) · [@UDLAPconsult](https://www.instagram.com/UDLAPconsult)

UDLAP®

MAESTRÍAS

PRESENCIALES

ESCUELA DE ARTES Y HUMANIDADES

- DISEÑO DE INFORMACIÓN

ESCUELA DE NEGOCIOS Y ECONOMÍA

- ADMINISTRACIÓN DE EMPRESAS
(MASTER IN BUSINESS ADMINISTRATION)
- ADMINISTRACIÓN DE LA MANUFACTURA
- NEGOCIOS INTERNACIONALES**
(MASTER IN INTERNATIONAL MANAGEMENT)

*** Plan de estudios impartido en inglés*

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES

- COMUNICACIÓN Y MEDIOS DIGITALES
- DERECHO FISCAL
- GOBERNANZA Y GLOBALIZACIÓN
- PSICOLOGÍA CLÍNICA

ESCUELA DE INGENIERÍA

- GERENCIA DE PROYECTOS DE CONSTRUCCIÓN

EN LÍNEA

ESCUELA DE CIENCIAS

- ADMINISTRACIÓN DE SERVICIOS DE LA SALUD

ESCUELA DE CIENCIAS SOCIALES

- DERECHO EMPRESARIAL
- DERECHO ENERGÉTICO
- PSICOLOGÍA DEL DEPORTE
- PSICOLOGÍA ORGANIZACIONAL

ESCUELA DE NEGOCIOS Y ECONOMÍA

- ADMINISTRACIÓN ENERGÉTICA
- ADMINISTRACIÓN DE NEGOCIOS
- ADMINISTRACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN
- FINANZAS CORPORATIVAS
- MARKETING



Tel.: (222) 229 20 00 ext. 4259 / 4634
ingreso.posgrados@udlap.mx
@PosgradosUDLAP
/posgradosudlap
www.udlap.mx



UDLAP®

JENKINS GRADUATE SCHOOL®

MAESTRÍAS

Maestría en Administración de Empresas
Master in Business Administration (MBA) RVOE 20160808

Maestría en Gobernanza Global
RVOE 20170003

Maestría en Finanzas
RVOE 20170311

**Maestría en Gestión y Liderazgo
de Instituciones Educativas**
RVOE 20170847

DIPLOMADOS

Diplomado en Telecomunicaciones:
Situación actual, Retos y Perspectivas

INFORMES:

www.udlapjenkins.mx · Tel.: (55) 4747 6200 · informes@udlapjenkins.mx

Av. Paseo de la Reforma 180 · Piso 16 · Col. Juárez
Del. Cuauhtémoc · Ciudad de México · C.P. 06600