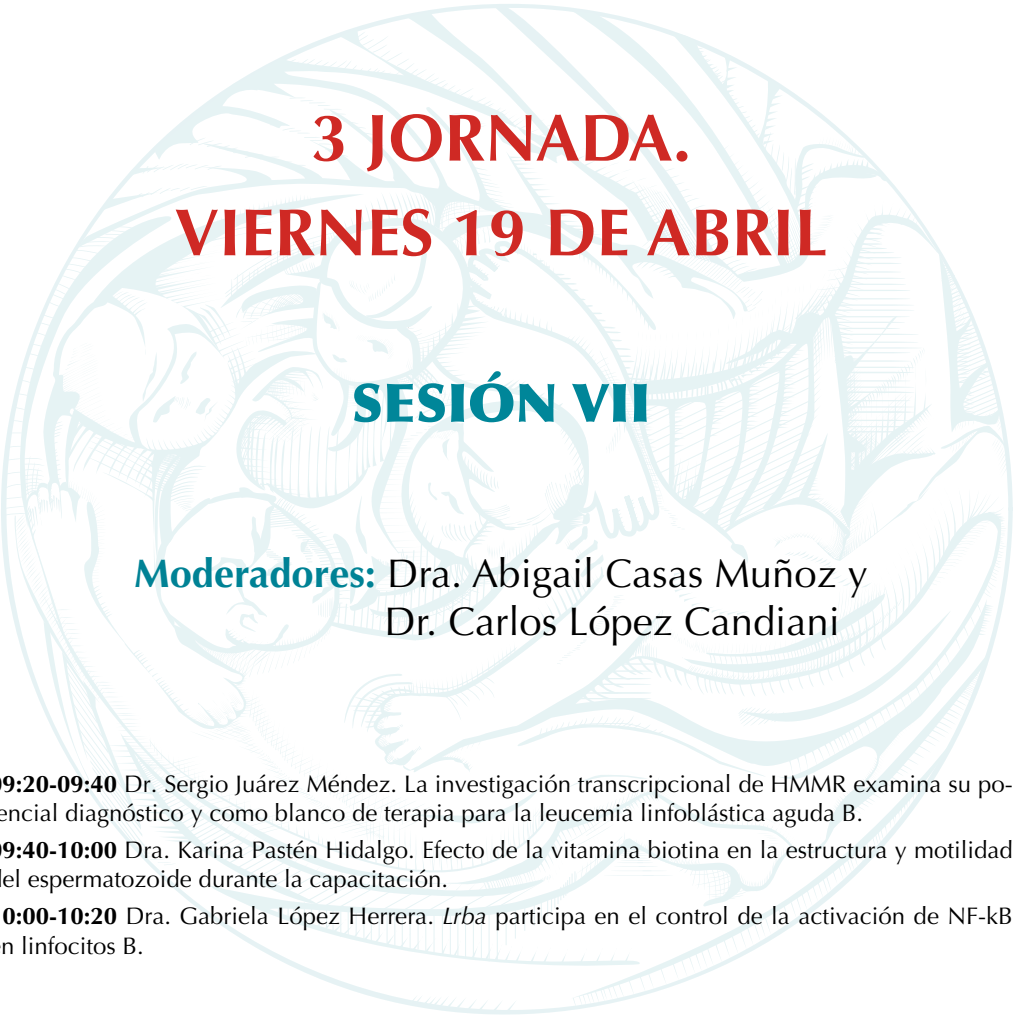




3 JORNADA. VIERNES 19 DE ABRIL

SESIÓN VII

Moderadores: Dra. Abigail Casas Muñoz y
Dr. Carlos López Candiani

09:20-09:40 Dr. Sergio Juárez Méndez. La investigación transcripcional de HMMR examina su potencial diagnóstico y como blanco de terapia para la leucemia linfoblástica aguda B.

09:40-10:00 Dra. Karina Pastén Hidalgo. Efecto de la vitamina biotina en la estructura y motilidad del espermatozoide durante la capacitación.

10:00-10:20 Dra. Gabriela López Herrera. *Lrba* participa en el control de la activación de NF- κ B en linfocitos B.



La investigación transcripcional de HMMR examina su potencial diagnóstico y como blanco de terapia para la leucemia linfoblástica aguda B

HMMR's transcriptional research examines its potential diagnostic and therapeutic target for acute lymphoblastic leukemia B.

Sergio Juárez Méndez,¹ Josseline Carina Ramírez Chiquito,¹ Areli Limón Rojas,^{1,7} Cesar Alejandro Galván Díaz,² Marcela Concepción Caballero Palacios², Norma López Santiago,³ Isabel Medina Vera,⁴ Horacio Reyes Vivas,⁵ José Guadalupe López Cortes,⁶ Adriana Vallejo Cardona⁷

Resumen

ANTECEDENTES: La leucemia aguda linfoblástica (LAL) es la neoplasia más común en nuestro país y, lamentablemente, su tasa de supervivencia es apenas del 65 %. El RNA se ha convertido en un blanco con una variedad de enfoques médicos precisos en la era postgenómica como: blancos de terapia, marcadores pronósticos, diagnósticos y terapia celular.

OBJETIVO: Analizar las variantes de RNA mensajero de HMMR y su relevancia como marcadores de pronóstico y de terapia.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se utilizó RT-qPCR para evaluar el perfil de expresión de *splicing* alternativo de HMMR en 59 pacientes LAL-B y 26 donadores sanos. Las diferencias de expresión se determinaron utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov Z, U de Mann-Whitney, curvas ROC, índice de Youden y curvas de Kaplan-Meier. Se realizó la síntesis in vitro de dos péptidos imitadores (variantes 2 y 3), se evaluaron mediante espectrometría de masas. La línea celular SUP-B15 experimentó el impacto de los péptidos imitadores con la viabilidad y citotoxicidad 24 horas después de la exposición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Los resultados cuantitativos mostraron un aumento significativo de la expresión de las variantes 1, 2 y 3 en los pacientes con leucemia aguda linfoblástica, con $p < 0.05$. La variante 1 parece aumentar su expresión en pacientes con recaída; la dos disminuye su expresión y la tres aumenta su expresión en pacientes fallecidos. La síntesis in vitro de los péptidos de HMMR se confirmaron mediante espectrometría de masas. La exposición de SUPB-15 a los péptidos mostró una disminución significativa de la viabilidad celular y un aumento en la citotoxicidad en con $p < 0.05$.

CONCLUSIÓN: La expresión de las variantes 1, 2 y 3 de HMMR, podrían ser utilizadas en el diagnóstico/pronóstico temprano y el uso de los péptidos imitadores podrían ser de utilidad como tratamiento coadyuvante de la LAL-B.

PALABRAS CLAVE: leucemia, HMMR, cáncer, marcador pronóstico.

Abstract

BACKGROUND: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common neoplasm in our country, and unfortunately, its survival rate is only 65%. RNA has become a target in a variety of precise medical approaches in the postgenomic era, such as therapy targets, prognostic markers, diagnoses, and cell therapy.

¹ Laboratorio de Oncología Experimental.

² Servicio de Oncología.

³ Servicio de hematología.

⁴ Departamento de metodología de la Investigación.

⁵ Laboratorio de Bioquímica Genética, Subdirección de Medicina Experimental, Instituto Nacional de Pediatría.

⁶ Departamento de Química Inorgánica, Instituto de Química UNAM.

⁷ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.

Campo del conocimiento: Investigación Biomédica

Vinculación a proyecto de Investigación INP: 2016/060 y 2020/028

Financiamiento externo: FOSISS 272633

Correspondencia

Sergio Juárez Méndez
ser.mend@gmail.com

OBJECTIVE: To analyze HMMR messenger RNA variants and their relevance as prognostic and therapeutic markers.

MATERIALS AND METHODS: RT-qPCR was used to evaluate the expression profile of alternative splicing of HMMR in 59 LAL-B patients and 26 healthy donors. Differences in expression were determined using the Kolmogorov-Smirnov Z test, the Mann-Whitney U test, ROC curve analysis, the Youden index and Kaplan-Meier curves. Solid-phase synthesis of two mimic peptides (variants 2 and 3) was performed, and the peptides were evaluated by mass spectrometry. The effects of the mimic peptides on the viability and cytotoxicity of the SUP-B15 cell line were evaluated 24 hours after challenge.

RESULTS AND DISCUSSION: The quantitative analysis revealed a significant increase in the expression of variants 1, 2 and 3 in patients with acute lymphoblastic leukemia ($p < 0.05$). Variant 1 seems to increase its expression in relapsed patients; the two diminish its expression, and the three increase its expression in deceased patients. The solid-phase synthesis of HMMR peptides was confirmed by mass spectrometry. Exposure of SUPB-15 to the peptides significantly decreased cell viability and increased cytotoxicity ($p < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of HMMR variants 1, 2 and 3 could be used for early diagnosis/prognosis, and the use of mimic peptides could be useful as an adjuvant treatment for B-ALL.

KEYWORDS: leukemia, HMMR, cancer, prognostic marker.

Efecto de la vitamina biotina en la estructura y motilidad del espermatozoide durante la capacitación

Effect of vitamin biotin on sperm structure and motility during capacitation.

Karina Pastén Hidalgo,¹ Leticia Riverón Negrete,² Angélica González Maciel,³ Rafael Reynoso Robles,³ Joaquín Cordero-Martínez,⁴ Ana L Roa Espitia,⁴ Enrique O Hernández González,⁴ Alain Hernández Vázquez,² Cristina Fernández Mejía²

Resumen

ANTECEDENTES: La biotina es una vitamina que actualmente se comercializa en concentraciones farmacológicas como coadyuvante en el tratamiento de diabetes, síndrome metabólico e hiperlipemia, además de usarse ampliamente con fines cosméticos. En estudios previos, encontramos que las concentraciones farmacológicas de biotina modifican la morfología de diversos tejidos como el páncreas, hígado y testículos, lo que podría modificar sus funciones.

OBJETIVO: Estudiar el efecto de diferentes concentraciones de biotina en la morfología y función capacitante del espermatozoide.

MATERIALES Y MÉTODOS: Espermatozoides de ratones Balb/c fueron incubados en un medio capacitante con diferentes concentraciones de biotina (10, 100, 590 y 5000 nanomolar). La morfología se realizó mediante microscopía de luz y la ultraestructura por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). La motilidad fue evaluada por el método de CASA (*Computer Asisted Sperm Analysis System*) y la abundancia de las proteínas estructurales por *Western-blot* e Inmunofluorescencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: El análisis morfológico reveló un deterioro gradual de los espermatozoides en la pieza media, dependiente de la dosis y el tiempo de incubación. Por TEM se visualizó alteraciones en la membrana plasmática, vacuolización de las mitocondrias, fibras menos densas e hinchadas al compararlas con el control. Por ensayos de *Western-blot* e inmunofluorescencia se encontró disminución en las proteínas de las fibras densas. La biotina disminuyó la motilidad progresiva del espermatozoide desde los 30 min de capacitación, siendo significativa a los 120 min con respecto al control. Estos efectos podrían deberse a la pérdida de proteínas que forman el axonema y las fibras densas, los dos componentes más importantes relacionados con la motilidad del espermatozoide.

CONCLUSIÓN: Los datos en conjunto muestran que la biotina daña significativamente las estructuras del flagelo, lo cual afecta la motilidad de los espermatozoides. Estos resultados alertan sobre los posibles efectos dañinos de la ingesta de suplementos conteniendo altas cantidades de biotina.

PALABRAS CLAVE: biotina, espermatozoide, capacitación, motilidad, morfología.

Abstract

BACKGROUND: Biotin is a vitamin that is currently marketed in pharmacological concentrations as an adjuvant in the treatment of diabetes, metabolic syndrome, and hyperlipemia, in addition to being widely used for cosmetic purposes. In previous studies, we found that pharmacological concentrations of biotin modify the morphology of various tissues, such as the pancreas, liver, and testes, which could modify their functions. Objective. To study the effect of different concentrations of biotin on sperm morphology and capacitance function.

¹ Investigadora por México de CONAH-CyT, comisionada al INP, Subdirección de Medicina Experimental.

² Unidad de Genética de la Nutrición, IIB UNAM/INP.

³ Lab. de Morfología celular y tisular, Subdirección de Medicina Experimental.

⁴ Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Campo del conocimiento: Biomédica

Vinculación a proyecto de Investigación INP: 2022/008

Financiamiento externo: No aplica

Correspondencia

Cristina Fernández Mejía
crisfern@iibiomedicas.unam.mx

MATERIAL AND METHODS: Spermatozoa from Balb/c mice were incubated in a capacitating medium with different concentrations of biotin (10, 100, 590, and 5000 nanomolar). Morphology was performed by light microscopy and ultrastructure by Transmission Electron Microscopy (TEM). Motility was evaluated by the CASA (Computer Assisted Sperm Analysis System) method and the abundance of structural proteins by western blot and immunofluorescence.

RESULTS AND DISCUSSION: Morphological analysis revealed a gradual deterioration of spermatozoa in the midpiece, depending on the dose and incubation time. By TEM, alterations in the plasma membrane, vacuolization of the mitochondria, and less dense and swollen fibers were visualized when compared to the control. Western-blot and immunofluorescence assays showed a decrease in the proteins of the dense fibers. Biotin decreased the progressive motility of the spermatozoa after 30 min of capacitation, being significant at 120 min with respect to the control. These effects could be due to the loss of proteins that form the axoneme and dense fibers, the two most important components of sperm motility.

CONCLUSION: Taken together, the data show that biotin significantly damages flagellum structures, which affects sperm motility. These results warn about the possible harmful effects of ingesting supplements containing high amounts of biotin.

KEYWORDS: biotin, spermatozoa, capacitation, motility, morphology.

***Lrba* participa en el control de la activación de NF-κB en linfocitos B**

***Lrba* is involved in the control of NF-κB activation in B lymphocytes.**

Daniela Pérez Pérez,^{1,2} José Mízael Flores Hermengildo,³ Héctor Romero Ramírez,³ Leopoldo Santos Argumedo,³ Manfred Kilimann,⁴ Juan Carlos Rodríguez Alba,^{5,6} Gabriela López Herrera¹

Resumen

ANTECEDENTES: La deficiencia de *LRBA* se caracteriza por defectos funcionales tanto en linfocitos B y T. Los pacientes presentan susceptibilidad a infecciones recurrentes y autoinmunidad desde edades pediátricas. La función de *LRBA* en células B es desconocida, por lo que en este trabajo se exploró la posible participación de *Lrba* en la señalización del receptor de antígeno en los linfocitos B (BCR).

OBJETIVO: Determinar si *Lrba* participa en la señalización del receptor de antígeno de las células B.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron defectos fenotípicos en ratones *Lrba*^{-/-}, tamaño y celularidad del bazo, números absolutos de linfocitos B y de sus subpoblaciones, respuesta proliferativa y sobrevivencia tras el entrecruzamiento del BCR. Por otra parte, se evaluó tanto la expresión como la fosforilación de proteínas involucradas en la señalización de dicho receptor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Los ratones *Lrba*^{-/-} presentan esplenomegalia con niveles elevados de esplenocitos totales. El análisis de las células B mostró que, existe un desbalance en las proporciones de células Transicionales 1, las cuáles se encontraron en menor porcentaje en el ratón *Lrba*^{-/-} versus el ratón silvestre. Por otra parte, la respuesta proliferativa y la sobrevivencia de los linfocitos B se encuentra reducida en linfocitos B *Lrba*^{-/-} tras el entrecruzamiento del BCR. Btk y Plcg2 se encontraron sobre-expresadas en células B del ratón *Lrba*^{-/-}, además de que presentaron una fosforilación basal incrementada de componente de NF-κB, tanto de IκBα y de p50, sin embargo, dicha fosforilación no se incrementó tras el entrecruzamiento del BCR. Finalmente, se detectó que la localización de p65 en condiciones basales es predominantemente intranuclear, indicando que la vía de activación del BCR está constitutivamente activada.

CONCLUSIONES: La deficiencia de *Lrba* se asocia con una activación constitutiva del BCR. Esto explicaría la presencia de esplenomegalia observada en la deficiencia humana.

PALABRAS CLAVE: *Lrba*, esplenomegalia, células B, NF-κB.

Abstract

BACKGROUND: *LRBA* deficiency is characterized by functional defects in both B and T lymphocytes. Patients present susceptibility to recurrent infections and autoimmunity from pediatric ages. The function of *LRBA* in B cells is unknown. In this work, the possible participation of *Lrba* in antigen receptor signaling in B lymphocytes (BCR) was explored.

MATERIAL AND METHODS: Phenotypic defects in *Lrba*^{-/-} mice, spleen size and cellularity, absolute numbers of B lymphocytes and their subpopulations, proliferative response, and survival after BCR cross-linking were evaluated. On the other hand, both the expression and phosphorylation of proteins involved in the signaling of said receptor were evaluated.

¹ Laboratorio de Inmunodeficiencias Primarias, Instituto Nacional de Pediatría.

² Programa de doctorado en ciencias biológicas, UNAM.

³ Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV IPN.

⁴ Instituto Max Planck de ciencias multidisciplinares, Göttingen, Alemania.

⁵ Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca.

⁶ Unidad de Neuroinmunología y neurooncología, INNN.

Campo del conocimiento: Biomédica

Vinculación a proyecto de Investigación INP: 2020/017

Financiamiento externo: CONAHcyT A1-2-26657

Correspondencia

Gabriela López Herrera
lohegabyqbp@gmail.com

RESULTS AND DISCUSSION: *Lrba*^{-/-} mice exhibit splenomegaly with elevated levels of total splenocytes. The analysis of B cells showed that there is an imbalance in the proportions of Transitional 1 cells, which were found in a lower percentage in the *Lrba*^{-/-} mouse versus the wild-type mouse. On the other hand, the proliferative response and survival of B lymphocytes are reduced in *Lrba*^{-/-} B lymphocytes after BCR cross-linking. Btk and Plc γ 2 were found overexpressed in *Lrba*^{-/-} B cells, in addition to presenting increased basal phosphorylation of the NF- κ B component, both I κ B β and p50, however, said Phosphorylation was not increased upon BCR cross-linking. Finally, it was detected that the localization of p65 under basal conditions is predominantly intranuclear, indicating that the BCR activation pathway is constitutively activated.

CONCLUSIONS: *Lrba* deficiency is associated with constitutive activation of the BCR. This would explain the presence of splenomegaly and observed in human deficiency.

KEYWORDS: *Lrba*, esplenomegaly, B cells, NF- κ B.