



## PRODUCCIÓN DE AGEs Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS CON ANTICUERPOS ANTI-AGEs: APLICACIÓN PARA SU DETECCIÓN EN MUESTRAS BIOLÓGICAS Y ALIMENTOS.

María Teresa Sánchez Hernández, Gloria Barbosa Sabanero [gloriabs@hotmail.com](mailto:gloriabs@hotmail.com), María Eugenia Garay Sevilla; Universidad de Guanajuato, Departamento de ciencias Médicas, Campus León. Myrna Loreto Sabanero López; Universidad de Guanajuato, Departamento de Biología, Campus Guanajuato. Juan Luis Pichardo Molina; Centro de Investigación en Óptica.

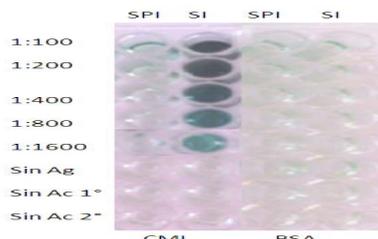
*Palabras clave: AGEs, Anti-AGEs, Nanopartículas.*

**Introducción.** Los productos finales de glucosilación avanzada (AGEs) son moléculas pro-inflamatorias, capaces de generar especies de oxígeno reactivas e inducir la producción de citocinas como TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6<sup>(1)</sup>. En pacientes diabéticos tipo 2, las complicaciones que presentan, están directamente relacionadas con los niveles de AGEs<sup>(2)</sup>.

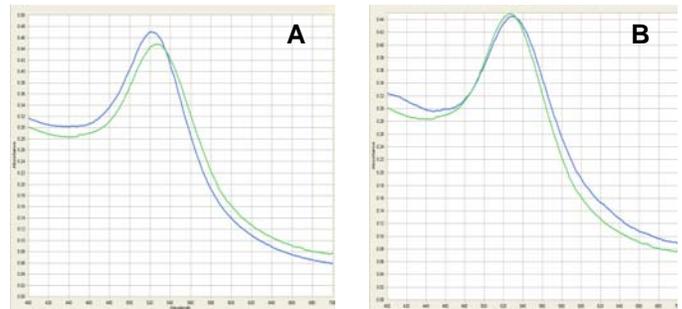
**Objetivo:** Producir AGEs (BSA-CML) y anticuerpos (anti-BSA-CML) para funcionalizar nanopartículas que tengan la capacidad de detectar proteínas modificadas por AGEs en alimentos y muestras biológicas (saliva y suero).

**Metodología.** Se preparó BSA-CML (AGE-BSA) a partir de BSA glucosilada<sup>(3)</sup>, ésta se conjugó con glutaraldehído (50 mM) como agente entrecruzador y la solución obtenida se utilizó como antígeno para producir anticuerpos policlonales (anti-BSA-CML)<sup>(4)</sup>. Nanopartículas de oro (NPs) se funcionalizaron con los anticuerpos anti-BSA-CML (1:10 v/v)<sup>(5)</sup>, los conjugados resultantes (NPs-anticuerpo) se emplearon para determinar el contenido de AGEs en muestras biológicas y de alimentos.

**Resultados.** Los anticuerpos producidos tuvieron capacidad de reconocimiento, específica para BSA-CML, a una concentración mayor a 1:1600 (Fig.1); se utilizó albúmina sérica bovina (BSA) y cisteína como agentes estabilizantes de las NPs; los anticuerpos anti-BSA-CML atacaron a las NPs estabilizadas formando un conjugado, la unión NPs-BSA y NPs-anticuerpo fue caracterizada por espectrofotometría UV-Vis (Fig. 2A y 2B); los conjugados tuvieron la capacidad de reconocer proteínas modificadas por AGEs en muestras de suero, saliva y alimentos (Tabla 3).



**Fig. 1.** Titulación de los anticuerpos anti-BSA-CML. Los anticuerpos policlonales reconocen a la BSA modificada hacia CML hasta una dilución mayor a 1:1600 y no a la molécula que le dio origen (BSA) ni a su dilución mayor (1:100).



**Fig 2.** Escaneo fotométrico (400-700nm) de nanopartículas estabilizadas y unidas al anticuerpo anti BSA-CML. **A** El espectro de absorción visible se modifica al cubrir las nanopartículas con BSA y cisteína cambiando su  $\lambda_{max}$  a 525-526nm. **B** La  $\lambda_{max}$  cambia a 530 nm con la adición del anticuerpo anti-BSA-CML.

Muestra	Abs 540nm	Conc de AGEs ( $\mu\text{g/mL}$ )
Suero Control	0.276	0.797
Suero Paciente	0.298	1.002
Saliva Control	0.320	1.204
Saliva Paciente	0.345	1.436
Alimento	0.287	0.897

**Tabla 1.** Cuantificación de AGEs.

**Conclusiones.** La conjugación NPs-anticuerpo (anti-BSA-CML) es un producto útil que permite determinar concentraciones de AGEs en muestras de interés biomédico (saliva, suero y alimentos), siendo así, una herramienta más para el diagnóstico clínico de enfermedades como la diabetes.

**Agradecimientos.** A la Universidad de Guanajuato por el apoyo a través de la Convocatoria Institucional 2009. A la Dra. Ma. Eugenia Garay Sevilla por su contribución con las muestras de alimentos de diferentes regiones de nuestro país y datos de sus valoraciones bromatológicas. A Pablo Eduardo Cardoso por su asesoría técnica para la síntesis de nanopartículas.

### Bibliografía.

- 1.- De la Maza MP, Bravo A, Leiva L, Gattás V, Petermann M, Garrido F, Bunout D, Hirsch S, Barrera G and Fernández M.(2007). Biol Res. 40:203-212.
- 2.- Cárdenas-León M, Díaz-Díaz E, Argüelles-Medina R, Sánchez-Canales P, Díaz-Sánchez V, Larrea F.(2009). Rev Inv Clin. 61:505-5201.
- 3.- Wróbel K, Wróbel K, Garay-Sevilla ME, Nava LE and Malacara JM.(1997). Clinical Chemistry.43:1563-1569.
- 4.- Mera M, Nagai M, Brock J, Fujiwara Y, Murata T, Mruyama T, Baynes JW, Otogiri M and Nagai R. (2008). J Immunol Methods.334:82-90.
- 5.- Yeh CH, Hung CY, Chang TC, Lin HP and Lin YC.(2009). Microfluid Nanofluid.6:85-9.