



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



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, 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 α , IL-1 β e IL-6⁽¹⁾. En pacientes diabéticos tipo 2, las complicaciones que presentan, están directamente relacionadas con los niveles de AGEs⁽²⁾.

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⁽³⁾, 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)⁽⁴⁾. Nanopartículas de oro (NPs) se funcionalizaron con los anticuerpos anti-BSA-CML (1:10 v/v)⁽⁵⁾, 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).

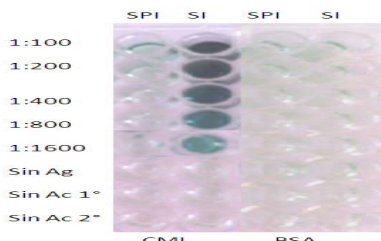


Fig. 1. Titulación de los anticuerpos anti-BSA-CML. Los anticuerpos policlonales reconocen a la BSA modificada hacia CML hasta una dilución mayor a 1:1600 y no a la molécula que le dio origen (BSA) ni a su dilución mayor (1:100).

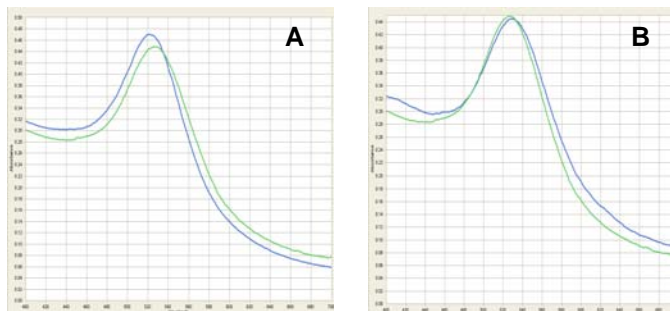


Fig 2. Escaneo fotométrico (400-700nm) de nanopartículas estabilizadas y unidas al anticuerpo anti BSA-CML. **A** El espectro de absorción visible se modifica al cubrir las nanopartículas con BSA y cisteína cambiando su λ_{max} a 525-526nm. **B** La λ_{max} cambia a 530 nm con la adición del anticuerpo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

- 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.
- Cárdenas-León M, Díaz-Díaz E, Argüelles-Medina R, Sánchez-Canales P, Díaz-Sánchez V, Larrea F.(2009). Rev Inv Clin. 61:505-5201.
- Wróbel K, Wróbel K, Garay-Sevilla ME, Nava LE and Malacara JM.(1997). Clinical Chemistry.43:1563-1569.
- Mera M, Nagai M, Brock J, Fujiwara Y, Murata T, Mruyama T, Baynes JW, Otagiri M and Nagai R. (2008). J Immunol Methods.334:82-90.
- Yeh CH, Hung CY, Chang TC, Lin HP and Lin YC.(2009). Microfluid Nanofluid.6:85-9.