

USO DE UN MODELO INTESTINAL HUMANO PARA LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE COMPUESTOS BIOTECNOLÓGICOS

Vanessa Villegas-Ruiz, Silvia Andrea Moreno-Mendieta, Daniel Alejandro Guillen- Santos, Miguel Tapia-Rodríguez, Pedro Medina-Granados, Romina Rodríguez-Sanoja
Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, CDMX.
vanessavillegasruiz@yahoo.com.mx

Palabras clave: tricultivo, *in vitro*, biotecnológico

Introducción. La vía oral es la ruta de entrada de de una gran cantidad de moléculas como fármacos y vacunas orales¹. Para ejercer su función, todos ellos tienen que superar la barrera intestinal, por lo que es crucial que la industria farmacéutica, alimentaria y la investigación cuenten con un modelo *in vitro*²⁻³ que mimetice el microambiente complejo del intestino y que al mismo tiempo sea accesible y de fácil uso para la evaluación biológica y el cribado de nuevas biomoléculas.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue implementar y caracterizar un modelo *in vitro* tricelular intestinal humano que pueda ser retado con cualquier biomolécula novedosa de uso biotecnológico.

Metodología. Se estableció en un sistema de inserto el tricultivo formado por enterocitos (CaCo2/C2BBe1), células secretoras de moco (HT29) y linfocitos (Raji). Se determinaron las características morfológicas, celulares y físicas del tricultivo por microscopía óptica de campo claro, confocal, microscopía electrónica de transmisión y medición de la resistencia transepitelial (TEER)². Posteriormente, el sistema tricelular fue retado con micropartículas almidón (MPAs) y se determinó la viabilidad celular, citotoxicidad, permeabilidad aparente y la TEER.

Resultados. Se determinaron las condiciones óptimas de crecimiento, el tiempo y la proporción celular adecuada para la diferenciación celular para implementa las condiciones óptimas en el co- y tricultivo celular intestinal (Fig. 1).

Se determinó que la TEER se ve afectada por la proporción celular de Caco-2/C2BBe1 -HT29 durante el tiempo, lo que muestra que la presencia de las células productoras de moco incrementa la permeabilidad en el modelo. La presencia de las células del sistema inmune no tuvo ningún impacto en estos parámetros.

A los 14 días de diferenciación y crecimiento celular del co-cultivo se observó la presencia de moco y la expresión de proteínas de uniones estrechas que mantienen la integridad de la monocapa celular del co-cultivo (Fig. 2).

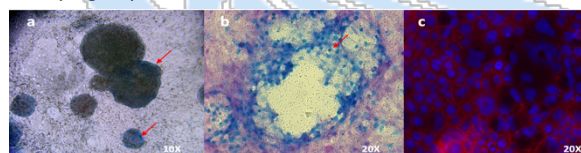


Fig. 2. Presencia de moco en el co-cultivo celular intestinal. a) tinción de Azul de alcian; b) tinción de Azul de alcian-PAS; d) Expresión de Cingulina a 488 nm por microscopía confocal. Las fechas rojas indican la presencia de moco.

No se observó efecto en el co-cultivo, ni el tricultivo por la exposición a las MPAs por lo que puede concluirse que no son citotóxicas, ni comprometen la viabilidad celular. Tampoco se observaron variaciones en la TEER ni en la permeabilidad aparente por la presencia de estas.

Conclusiones. Se implementó el modelo tricelular intestinal con la complejidad suficiente para observar algunas de las interacciones celulares más importantes en el intestino, pero suficientemente accesible para que pueda ser implementado en un laboratorio de investigación para la evaluación biológica de cualquier biomolécula que tenga una vía de administración oral.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado con el proyecto DGAPA IN216419 y proyecto CONACyT A1-S-9849.

Bibliografía.

1. Cui X, Bao L, Wang X, Chen C. (2020), *Small*. 16(21):e1907665.
2. Rahman S, et al., (2021), *Int J Mol Sci*. 22(24):13472.
3. Antunes F, Andrade F, Araujo F, Ferreira D, Sarmento B, (2013). *Eur J Pharm Biopharm*. 83(3):427-35.

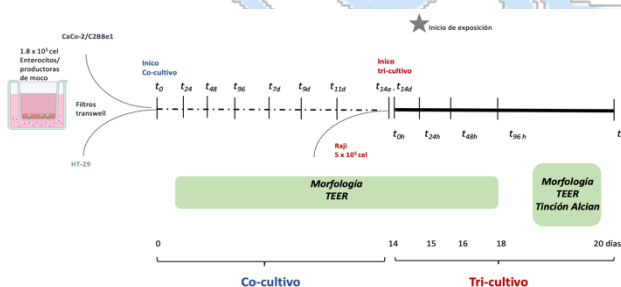


Fig. 1. Esquema general del establecimiento del co- y tri-cultivo intestinal humano.