

# La respuesta a la pregunta

## Desentrañando los secretos del extracto dializable de leucocitos de *Crocodylus moreletii*



**Salvador Pérez-Mora<sup>1</sup>,**  
**Carlos Pérez de la Mora<sup>2</sup>,**  
**Sandra Pérez-González<sup>2</sup>,**  
**Tania Domínguez-Fernández<sup>1</sup>,**  
**María del Consuelo Gómez-García<sup>1</sup>,**  
**David Guillermo Pérez-Ishiwara<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Laboratorio de Biomedicina Molecular 1, ENMH  
del Instituto Politécnico Nacional  
<sup>2</sup>Farmainmune S. A.

Correo electrónico: sprezm1510@alumno.ipn.mx

### Resumen

El extracto dializable de leucocitos de tejido linfoide derivado de *Crocodylus moreletii* contiene 302 péptidos diferentes, con un potencial asombroso para equilibrar el binomio salud-enfermedad. Estos péptidos poseen la capacidad de regular el sistema inmunológico, combatir la inflamación, ejercer funciones antioxidantes y luchar contra el cáncer, entre otras posibles funciones fisiológicas.

**Palabras clave:** Extracto dializable de leucocitos, Péptidos bioactivos, Salud.

**Keywords:** Bioactive peptides, Dialyzable leukocyte extract, Health.

Desde el 2007, el apasionante equipo liderado por el D. en C. David Guillermo Pérez Ishiwara de la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, ha estado investigando el extracto dializable de leucocitos de tejido linfoide derivado de *Crocodylus moreletii* (EDLc) (**Figura 1**) en diferentes modelos animales para comprender su funcionamiento y confirmar los sorprendentes efectos terapéuticos que se han observado durante más de 20 años de uso médico. Hemos encontrado que el EDLc estimula las defensas fisiológicas al regular la expresión de diversas

interleucinas (IL) que actúan como mensajeros químicos en el sistema inmunológico y desempeñan un papel crucial en la regulación de la respuesta inmunológica bajo condiciones patológicas.



**Figura 1.** *Crocodylus moreletii* (Fuente: [http://www.conabio.gob.mx/institucion/cooperacion\\_internacional/doctos/pdf/cocoMorelet.pdf](http://www.conabio.gob.mx/institucion/cooperacion_internacional/doctos/pdf/cocoMorelet.pdf)).

Entre estos trabajos, demostramos el efecto antiinflamatorio del EDLc en un modelo de ratas a las que se les generó artrosis (Desgaste y deterioro del cartílago en las articulaciones) mediante un procedimiento quirúrgico, los análisis de la expresión génica mostraron un incremento del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF), del Factor de Crecimiento de Fibroblastos 2 (FGF2) y del Interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) en organismos tratados con el EDLc (Acosta et al., 2016).

De igual manera, en un modelo murino de prostatitis (Inflamación de la próstata, afectando la función y el bienestar) crónica, se encontró que el tratamiento con EDLc disminuyó la expresión proteica del marcador de superficie celular CD45 y de citocinas proinflamatorias (proteínas secretadas por células inmunitarias que promueven la inflamación), tales como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), IFN- $\gamma$ , IL-6 e IL-17 (Pérez-Alvarado et al., 2017).

Por otra parte, se demostró en un estudio clínico que el EDLc presentó actividad antiinflamatoria y antiproliferativa en pacientes con lesiones premalignas (anormalidades o cambios en los tejidos del cuerpo que tienen un mayor riesgo de convertirse en cáncer) generadas por el virus del papiloma humano; particularmente, incrementó la expresión del Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- $\beta$ ), mientras que la expresión de IFN- $\gamma$ , Antígeno Nuclear de Proliferación Celular (PCNA) e IL-32 disminuyó (Acosta et al., 2017).

Hasta ahora, desconocíamos la composición del EDLc y que moléculas confieren esas propiedades biológicas. Por tal motivo, el objetivo del trabajo fue obtener la caracterización del EDLc y su posible impacto benéfico para la salud.

### Las etapas de nuestra investigación

Para lograr nuestro objetivo, inicialmente se obtuvo el EDLc a partir del tejido linfoide, principalmente del bazo, del cocodrilo de la especie *Crocodylus moreletti*. Este órgano desempeña un papel crucial en el sistema inmunológico al filtrar la sangre y contribuir a la respuesta inmunológica al eliminar las células sanguíneas dañadas y los patógenos (Figura 2).

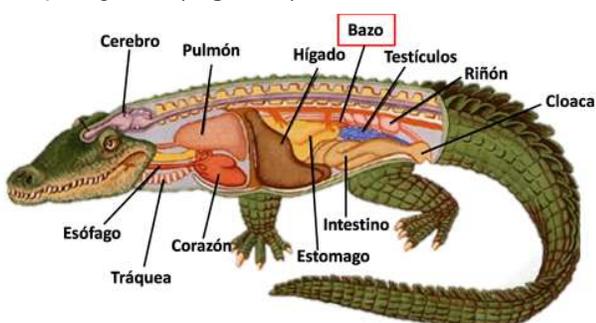


Figura 2. Anatomía del cocodrilo de la especie *Crocodylus moreletti* (Fuente: <https://www.trabajarenelzoo.com/2015/05/anatomia-del-orden-crocodylia.html>)

Luego, nuestra investigación se basó en tres pasos clave: I. Ensayos experimentales, II. Análisis bioinformáticos y III. Comparación con la literatura existente (Figura 3).

Inicialmente, el tejido linfoide se desmenuzó y se procedió a romper las células (lisis celular) para obtener las proteínas. La mezcla proteica resultante se fragmentó mediante hidrólisis enzimática con el propósito de obtener una amplia diversidad de péptidos (fragmentos proteicos, entre 2 y 50 aminoácidos). Estos péptidos fueron posteriormente sometidos a una serie de filtraciones a través de membranas impulsadas por presión y se llevó a cabo la concentración de los péptidos proteicos mediante ultrafiltración. Luego, los péptidos fueron analizados por la técnica de proteómica, una técnica que permite separar los péptidos de acuerdo con sus propiedades eléctricas y su masa molecular, para posteriormente identificarlos por el método de espectrometría de masas de alta precisión y resolución conocido como MALDI TOF-TOF. Finalmente, los péptidos así identificados se utilizaron para llevar a cabo análisis bioinformáticos a través del uso de programas y herramientas computacionales y predecir su posible actividad biológica.

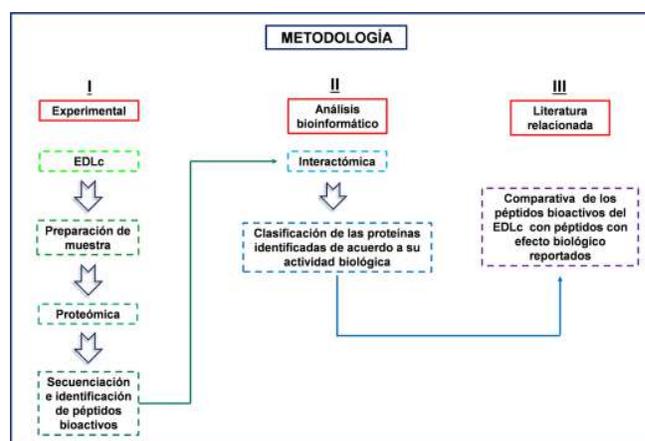
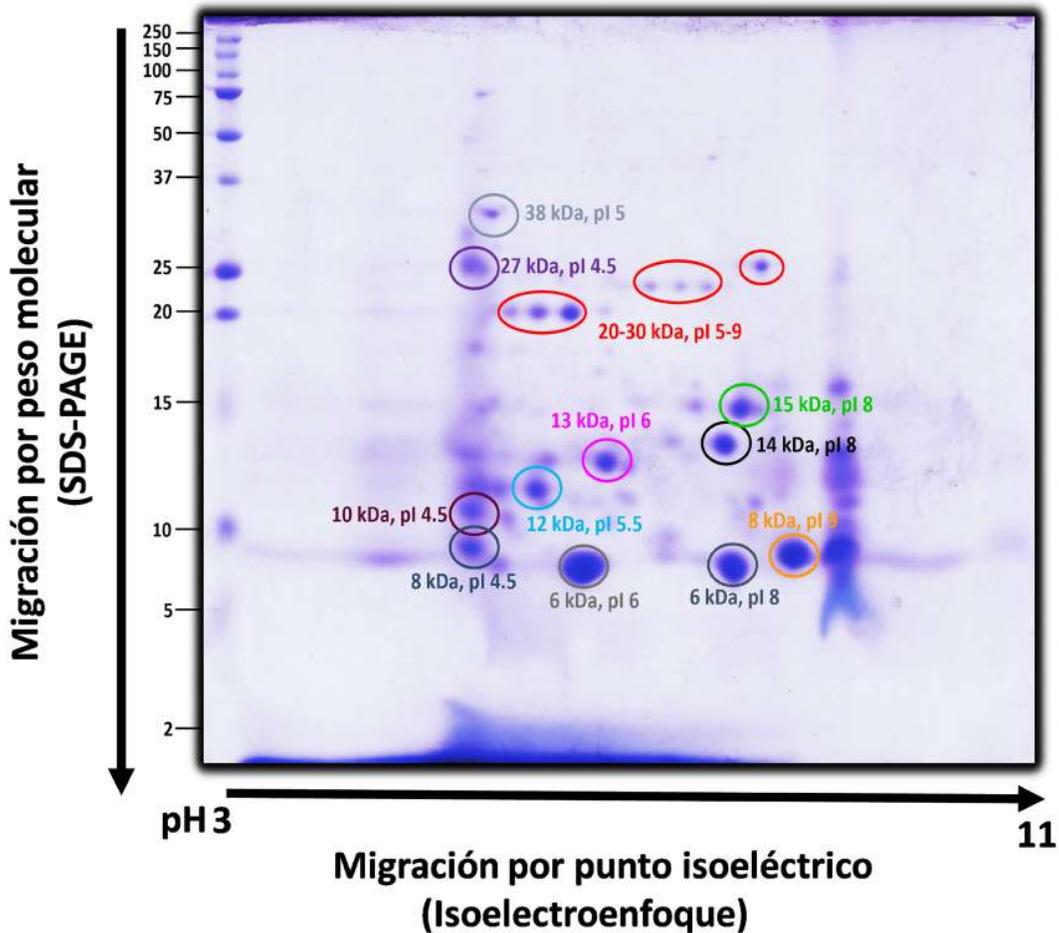


Figura 3. Metodología general para el estudio proteómico, análisis bioinformático y predicción de posibles actividades biológicas del EDLc.

### ¡Descubrimos un tesoro peptídico en el EDLc!

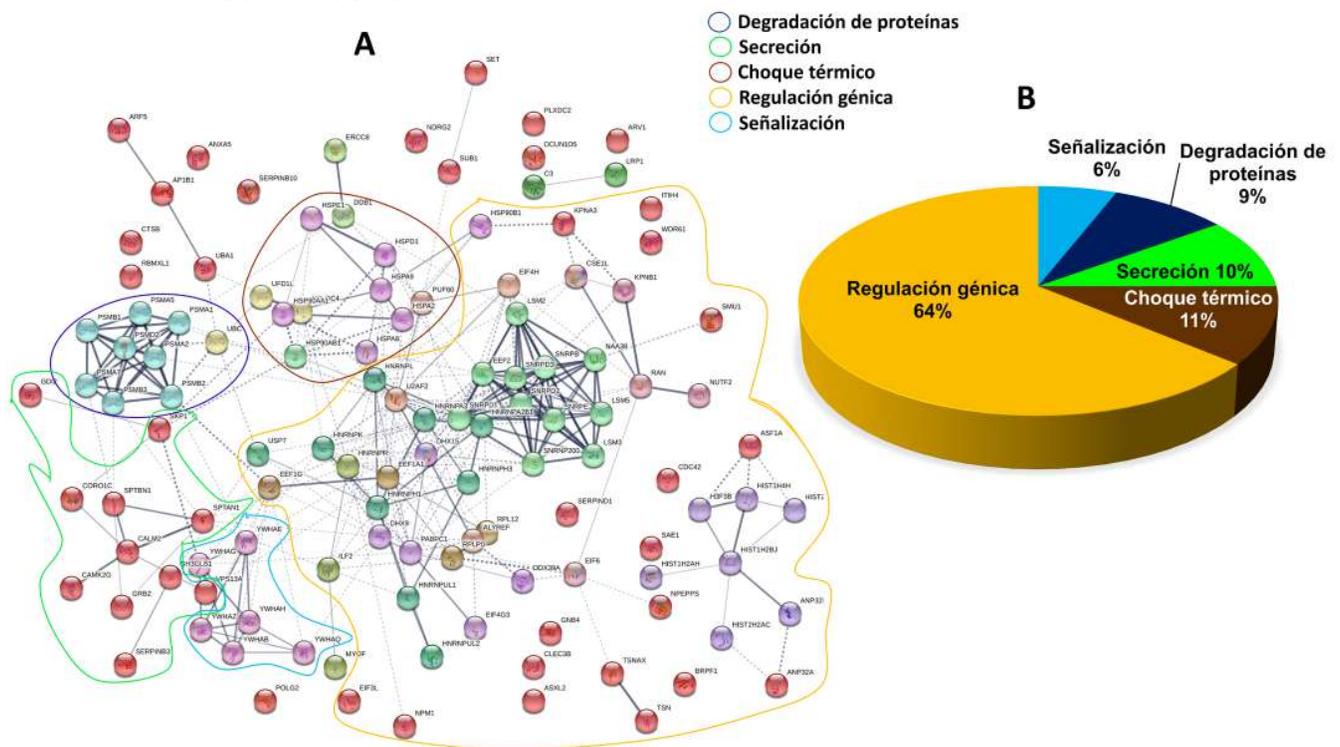
Gracias a estos estudios de proteómica, descubrimos una diversidad asombrosa de péptidos proteicos, derivados de la fragmentación proteica del EDLc, que tienen un peso molecular que varía desde 6 hasta 38 kilodaltones (kDa) (el kDa es la unidad que se utiliza para definir el peso de los péptidos y las proteínas), con puntos isoeléctricos (pH en el cual los péptidos no tienen carga eléctrica) entre 4 y 9 (**Figura 4**).



**Figura 4.** Análisis proteómico y visualización de los péptidos del EDLc. Los círculos muestran a los péptidos principales del EDLc indicando su peso molecular y punto isoeléctrico.

Después, los sometimos a un riguroso proceso de identificación para demostrar su identidad. Encontramos que el EDLc está compuesto por 302 péptidos diferentes ¡Es como un ejército de salvadores moleculares, capaces de reforzar nuestras funciones fisiológicas y ayudar a protegernos de agentes dañinos externos o internos!

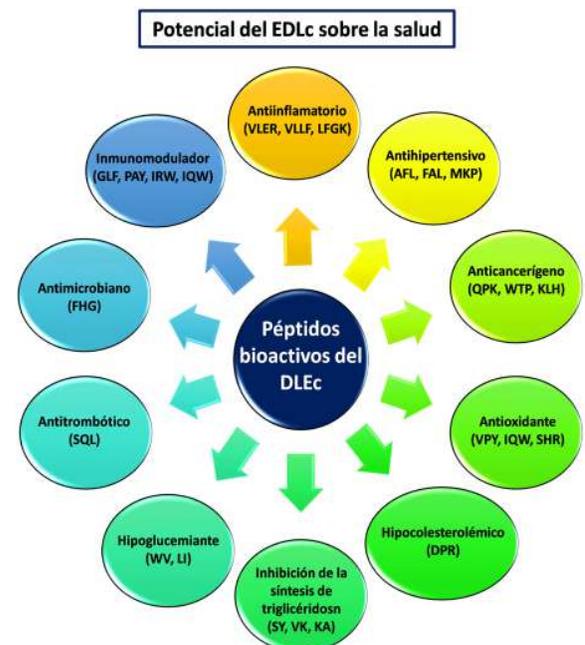
Con el fin de adentrarnos más en la investigación, usamos herramientas bioinformáticas para identificar las proteínas que contienen los 302 péptidos diferentes identificados y construir un mapa de interacciones entre estas proteínas. Al clasificarlas de acuerdo con su función biológica, encontramos cinco grupos de proteínas relevantes, entre ellos; I. Reguladores de la expresión génica, II. Proteínas relacionadas con el estrés térmico, III. Proteínas secretoras, IV. Vías de degradación y V. Proteínas señalizadoras (**Figura 5**). Es como tener un universo de funciones biológicas en nuestras manos.



**Figura 5.** Proteínas del EDLc. (A) Red de interacción proteica del EDLc. Las agrupaciones corresponden a proteínas de EDLc con funciones biológicas similares y (B) cuantificación porcentual de las proteínas del EDLc contenidas en las agrupaciones antes mencionadas.

Otro hallazgo emocionante fue al comparar los péptidos del EDLc con los que se han reportado en la literatura. Encontramos que están relacionados con una lista impresionante de efectos benéficos para la salud. Nos dimos cuenta de que el EDLc tiene péptidos bioactivos, es decir, que son capaces de ejercer efectos biológicos específicos en el cuerpo. Particularmente, pueden modular nuestro sistema inmunológico, reducir la inflamación, estimular la fagocitosis, combatir la hipertensión, prevenir el cáncer, ser antioxidante, influir en vías metabólicas, actuar como antimicrobiano y hasta prevenir la formación de coágulos (**Figura 6**) ¡Es como una caja de herramientas terapéuticas!

Estos avances nos abren las puertas a un futuro prometedor, donde podremos contar con tratamientos más efectivos y esperanzadores para mejorar la salud y el bienestar de las personas en todo el mundo.



**Figura 6.** Posibles actividades biológicas de los péptidos bioactivos del EDLc. En paréntesis se muestran algunos péptidos bioactivos caracterizados en múltiples investigaciones con efecto biológico comprobado experimentalmente, los cuales, están contenidos en el EDLc.

## Conclusión

El EDLc es una mezcla compleja y heterogénea de 302 péptidos diferentes que poseen la capacidad de modular de manera benéfica el sistema inmunológico en modelos murinos con artrosis y prostatitis crónica, además de demostrar actividad antiinflamatoria en pacientes con lesiones premalignas causadas por el virus del papiloma humano. Los análisis bioinformáticos sugirieron que estos péptidos podrían convertirse en poderosos aliados farmacológicos en la lucha contra diversas enfermedades.

## Perspectivas

El EDLc ofrece emocionantes perspectivas en la investigación, sugerimos que es un medicamento complejo en el que debemos centrarnos en comprender sus mecanismos de acción, biodisponibilidad y cinética farmacológica. Esto conducirá a desarrollar terapias más naturales y efectivas, adaptadas a las necesidades individuales. Además, el EDLc podría revolucionar la forma en que tratamos enfermedades, siendo menos tóxico y más seguro. En resumen, estamos en el umbral de una nueva era terapéutica, donde el EDLc será capaz de brindar soluciones efectivas y amigables con el ser humano.

Como resultado de nuestro estudio, hemos publicado un libro titulado "Extracto Dializable de Leucocitos vs Factor de Transferencia: Un cambio en el paradigma" (Pérez-Mora et al., 2023) (disponible en: <https://atenaeditora.com.br/catalogo/ebook/extracto-dializable-de-leucocitos-de-una-vision-unimolecular-a-considerarlo-un-medicamento-complejo-constituido-por-peptidos-bioactivos-beneficiosos-para-la-salud>), y un artículo científico en la revista Biomedical titulado "Proteomic and in silico analyses of Dialyzable Crocodile Leukocyte Extract: Identification of putative peptides and its potential beneficial impact on health" (Pérez-Mora et al., 2019) (disponible en: <https://biomedres.us/pdfs/BJSTR.MS.ID.007534.pdf>), que exploran en mayor profundidad los hallazgos descritos aquí.

## Agradecimientos

Este trabajo es el resultado del arduo esfuerzo de investigadores, académicos, médicos, estudiantes de posgrado y pregrado de la ENMyH, especialmente del laboratorio de Biomedicina Molecular I, así como de los administrativos, químicos y técnicos de la empresa Farmainmune. También queremos agradecer la valiosa colaboración de la Universidad Complutense de Madrid, España.

## Referencias

- Acosta, P., Pérez, N., Pérez, E., Correa, B., Pérez, C., Gómez, C., Sánchez, V., & Pérez, D. G. (2016). Anti-inflammatory effect of dialyzable leucocyte extract in a rat model of osteoarthritis: histopathological and molecular characterization. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 45(6). <https://doi.org/10.3109/03009742.2016.1153140>
- Acosta, R. M. P., Sauer-Ramírez, E., Castro-Muñoz, L. J., García-Solís, M., Gómez-García, C., Ocadiz-Delgado, R., Martínez-Martínez, A., Sánchez-Monroy, V., Pérez-De la Mora, C., Correa-Meza, B., & Perez-Ishiwara, D. G. (2017). Effect of Dialyzable Leukocyte Extract on chronic cervicitis in patients with HPV infection. *Journal of Medicine and Life*, 10(4).
- Pérez-Alvarado, C., Gómez, C., Reyes, M., García, M., Pérez, E., de La Mora, C. P., Sanchez, V., & Ishiwara, D. G. P. (2017). Anti inflammatory effect of Dialyzable Leukocyte extract in autoimmune prostatitis: Evaluation in animal model. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1832853>
- Pérez-Mora, S., Pérez de la Mora, C. A., Gómez-García, M. C., Perez-González, S., & Pérez-Ishiwara, D. G. (2023). Extracto Dializable de Leucocitos vs Factor de Transferencia: Un cambio en el paradigma. *Brazileña: Atena*.
- Pérez-Mora, S., Pérez de la Mora, C., Domínguez-Fernández, T., Gómez-García, M. C., Perez-González, S., & Pérez-Ishiwara, D. G. (2022). Proteomic and In Silico Analyses of Dialyzable Crocodile Leukocyte Extract: Identification and In Silico Analyses of Dialyzable Crocodile Leukocyte Extract: Identification of Putative Bioactive Peptides and Its Potential Beneficial Impact on Health. *Biomedical*, 47(4), DOI: 10.26717/BJSTR.2022.47.007534.