

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa
División en Ciencia Biológicas y de la Salud



Posgrado en Biología Experimental

“Efecto de la administración aguda y crónica de nanopartículas de oro menores de 20 nm en la expresión génica y topología subcelular de la proteína conexina 43 en el miocardio ventricular”

TESIS

Que para obtener el grado de Maestra en Biología Experimental

PRESENTA

Biol. Brenda Guadalupe Romero Flores

2233804005

Director

Dr. Luis Enrique Gómez Quiroz

Asesores

Dr. Roberto Carlos Lazzarini Lechuga

Dr. Antonio Rodríguez Sinovas

Ciudad de México, marzo de 2026

Declaración de originalidad

La que suscribe Brenda Guadalupe Romero Flores, alumna del posgrado en Biología Experimental, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autora de la tesis titulada: “Efecto de la administración aguda y crónica de nanopartículas de oro menores de 20 nm en la expresión génica y topología subcelular de la proteína conexina 43 en el miocardio ventricular”.

Declaro que:

1. La tesis que presento ante el H. Jurado para la obtención del grado de Maestra en Biología Experimental es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis, respondiendo por la autoría y originalidad de esta, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 27 de marzo de 2026.

Atentamente



Biol. Brenda Guadalupe Romero Flores

El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del SECIHTI, registro 001481, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020.

Número de registro de la beca otorgada por SECIHTI: CVU 1327219

Esta investigación fue financiada por el Laboratorio de Medicina Experimental y Carcinogénesis, bajo la dirección del Dr. Luis Enrique Gómez Quiroz.

Miembros del Jurado

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada “Efecto de la administración aguda y crónica de nanopartículas de oro menores de 20 nm en la expresión génica y topología subcelular de la proteína conexina 43 en el miocardio ventricular”, que presentó Brenda Guadalupe Romero Flores el día 27 de marzo del 2026.

Presidente

Dr. Roberto Carlos Lazzarini Lechuga

Departamento de Biología de la Reproducción
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa

Secretaria

Dra. María Isabel García Peláez

Departamento de Biología Celular y Tisular
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

Vocal

Dr. Alejandro Silva Palacios

Departamento de Biomedicina Cardiovascular
Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez

Vocal

Mtra. Laura Villavicencio Guzmán

Laboratorio de Biología del Desarrollo y Teratogénesis
Experimental
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Comité de Tutores

Director

Dr. Luis Enrique Gómez Quiroz

Laboratorio de Medicina Experimental y Carcinogénesis

Departamento de Ciencias de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa

Ciudad de México, México

legq@xanum.uam.mx

Asesor interno

Dr. Roberto Carlos Lazzarini Lechuga

Laboratorio Divisional de Microscopía Confocal

Departamento de Biología de la Reproducción

Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa

Ciudad de México, México

lazzarini@xanum.uam.mx

Asesor externo

Dr. Antonio Rodríguez Sinovas

Laboratorio de Investigación en Enfermedades

Cardiovasculares

Departamento de Cardiología

Vall d'Hebron Institut de Recerca

Barcelona, España

antonio.rodriguez.sinovas@vhir.org

Dedicatoria

*A **mis padres**, porque sus sacrificios y su amor incondicional han sido el verdadero motor de mi vida. Gracias por no soltarme de la mano y ser mi refugio.*

*A mis hermanos, **Areli y Carlos**, por ser mi inspiración. Gracias por recorrer este largo camino a mi lado.*

*Al resto de mi familia, **Flores y Romero**, por ser mi raíz, mi mayor ejemplo de esfuerzo y por enseñarme a perseguir mis metas. Todo lo que soy y este logro, se los debo a ustedes.*

*Al **Dr. Roberto**, por su invaluable orientación y respaldo constante a lo largo de todos estos años. Gracias por compartir su experiencia y por impulsar mi desarrollo profesional e intelectual.*

*A **Alain y Alina**, por su paciencia infinita y por creer en mí incluso antes de que yo misma lo hiciera. Mil gracias.*

*A **Mariana, Maricruz y Ana**, con quienes compartí los pasillos, los salones, los laboratorios y las interminables horas de investigación. Gracias por el apoyo mutuo, por no dejarme decaer y por celebrar cada pequeño avance juntas.*

*A mis crías, **Mozart y Rafaela**, porque su afecto incondicional y sus travesuras aligeraron hasta los días más pesados de este proyecto.*

*A los **ratones de experimentación**, cuyo latido se detuvo para que nosotros pudiéramos hacer un mundo mejor.*

*A la **población mexicana**, a la que pertenezco y a la que espero servir. Que los resultados de esta investigación sean un pequeño aporte para construir un entorno médico y tecnológico más seguro para todos.*

*Y sobre todo, **a mí**, por todo mi esfuerzo.*

Agradecimientos

A la **Universidad Autónoma Metropolitana (UAM)**, por abrirme sus puertas y brindarme una formación de excelencia. Agradezco profundamente el respaldo institucional, el acceso a las instalaciones y el entorno científico que hicieron posible desarrollar y concluir esta investigación.

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)**, por el financiamiento otorgado a través de la beca de Maestría (CVU 1327219) para la realización de esta investigación.

A mi **comité tutorial**, Dr. Roberto Lazzarini, Dr. Luis E. Gómez Quiroz y Dr. Antonio Rodríguez Sinovas, por su seguimiento meticuloso y su orientación metodológica a lo largo de toda la maestría. Su experiencia, sus observaciones críticas y su exigencia académica fueron pilares fundamentales para dar solidez y dirección a este proyecto.

A los miembros del **jurado**, Dr. Roberto Lazzarini, Dra. Isabel García Peláez, Dr. Alejandro Silva Palacios y Mtra. Laura Villavicencio Guzmán, por el valioso tiempo dedicado a la revisión cuidadosa de este manuscrito. Sus aportaciones, correcciones y sugerencias constructivas enriquecieron sustancialmente la calidad y el alcance final de esta tesis.

A mis **profesores del Posgrado en Biología Experimental**, por compartir su valiosa experiencia científica, su rigor académico y por brindarme las bases teóricas y metodológicas fundamentales para mi formación.

A la **Esp. en Microscopía Electrónica Lorena Vadillo**, técnica académica del Laboratorio Divisional de Microscopía Confocal de la UAMI, por su labor indispensable en este proyecto.

A todos los miembros del **Laboratorio de Medicina Experimental y Carcinogénesis** de la UAMI, por su apoyo; pero especialmente a la Mtra. en Biol. Exp. Maricruz González y al Mtro. en Biol. Exp. Genaro Rosales por su valiosa asistencia en la ejecución técnica de los ensayos de Western Blot.

Resumen

El crecimiento acelerado de la industria nanotecnológica ha incrementado significativamente la exposición humana y ambiental a las nanopartículas de oro (AuNPs). A pesar de su prometedora aplicación biomédica e industrial, existe preocupación debido a la limitada regulación y a la evidencia de toxicidad en diversos modelos biológicos. Si bien se ha documentado que las partículas incidentales de la contaminación del aire incrementan la mortalidad cardiovascular, el impacto de las nanopartículas ingenierizadas, como las AuNPs, en el corazón sigue siendo poco explorado. La mayoría de los estudios sobre cardiotoxicidad de AuNPs se limitan a la bioacumulación o a la histopatología, dejando de lado el impacto en la función cardíaca.

El presente trabajo tuvo como objetivo central evaluar la cardiotoxicidad inducida por la administración intraperitoneal de AuNPs menores de 20 nm en un modelo murino, analizando las alteraciones a diferentes niveles y, principalmente, la expresión *in situ* y la topología subcelular de la proteína conexina 43 (Cx43) bajo esquemas de administración aguda de 7 días y crónica de 28 días.

Se emplearon 48 ratones macho de la cepa C57BL/6J, a los cuales se les administraron AuNPs de 5, 10 o 15 nm. Se diseñó una estrategia de evaluación integral que incluyó: análisis de toxicidad manifiesta (peso corporal y supervivencia), perfil sérico cardíaco, anatomía de superficie, morfometría ventricular, histopatología y análisis de expresión total mediante Western Blot e inmunodetección confocal para determinar la topología subcelular de la proteína Cx43, dos de sus fracciones

fosforiladas (p^{S368} Cx43, p^{S262} Cx43) y su interacción con la proteína de anclaje β -catenina.

Nuestros resultados mostraron que las AuNPs inducen cardiotoxicidad caracterizada por un remodelado cardíaco en los niveles orgánicos, tisulares, celulares y moleculares, con un patrón dependiente del tiempo de administración pero independiente del tamaño de la nanopartícula. La administración aguda de AuNPs se caracterizó por la ausencia de remodelación a nivel orgánico. En contraste, a nivel histológico observamos alteraciones como vacuolización y degeneración vacuolar, junto con fibrosis asociada a un aumento de la proliferación de fibroblastos cardíacos, lo que sugiere un intento temprano de reparación tisular. Molecularmente, aunque la expresión total de la proteína Cx43 no cambió, encontramos una remodelación topológica caracterizada por la reducción de la señal en el disco intercalar y un incremento concomitante de las internalizaciones y lateralizaciones. Por su parte, la administración crónica de AuNPs se distinguió por la aparición de remodelado orgánico: aunque el peso cardíaco no varió, observamos atrofia ventricular y la adopción de una geometría esférica. Histológicamente, el daño celular persistió y se confirmó la atrofia de los cardiomiocitos; sin embargo, la fibrosis no progresó, hallazgo que se asoció con el retorno de la proliferación de fibroblastos cardíacos a niveles basales. A nivel molecular, al igual que en la administración aguda de AuNPs, no hubo cambios en la expresión total de la proteína Cx43, pero las alteraciones topológicas se acentuaron, predominando la pérdida de localización en el disco intercalar frente al aumento de internalizaciones y lateralizaciones.

En general, la remodelación topológica de la proteína Cx43 se asoció con su fosforilación en el residuo S368, la cual exhibió un patrón de redistribución similar: una marcada disminución en el disco intercalar concomitante con un incremento en las internalizaciones y lateralizaciones. Asimismo, la co-translocación de las proteínas Cx43 y la β -catenina durante estos procesos mostró que el daño no se limita a las uniones comunicantes, sino que puede comprometer la integridad estructural del disco intercalar. Finalmente, identificamos la presencia nuclear de la fracción p^{S262}Cx43 en fibroblastos cardíacos y cardiomiocitos. En los fibroblastos cardíacos, la disminución de esta fosforilación se asoció con el aumento de proliferación celular al final de la administración aguda de AuNPs; en contraste, su disminución en los cardiomiocitos no logró activar una respuesta anabólica efectiva

Este trabajo mostró que las AuNPs no son materiales biológicamente inertes, ya que poseen un potencial cardiotóxico que induce atrofia ventricular, daño histológico y un posible desacoplamiento eléctrico. Estos hallazgos, que ocurren en ausencia de toxicidad manifiesta, subrayan la urgencia de establecer regulaciones estrictas sobre su aplicación industrial y biomédica, así como sobre su liberación al medio ambiente para prevenir un nuevo factor de riesgo cardiovascular.

Abstract

The rapid expansion of the nanotechnology industry has significantly increased human and environmental exposure to gold nanoparticles (AuNPs). Despite their promising biomedical and industrial applications, concerns persist due to limited regulation and evidence of toxicity across various biological models. While it is well-documented that incidental particulate matter from air pollution increases cardiovascular mortality, the impact of engineered nanoparticles, such as AuNPs, on the heart remains largely underexplored. Most studies on AuNP cardiotoxicity are limited to bioaccumulation or histopathology, often overlooking the impact on cardiac function.

The main aim of this study was to evaluate the cardiotoxicity induced by the intraperitoneal administration of AuNPs smaller than 20 nm in a murine model. We analyzed alterations at various levels, specifically focusing on the *in-situ* expression and subcellular topology of the Connexin 43 (Cx43) protein under acute (7-day) and chronic (28-day) administration regimens.

Forty-eight male C57BL/6J mice were administered AuNPs of 5, 10, or 15 nm. A comprehensive assessment strategy was designed, including analyses of overt toxicity (body weight and survival), cardiac serum profile, surface anatomy, ventricular morphometry, histopathology, and total expression analysis via Western Blot and confocal immunodetection to determine the subcellular topology of Cx43, two of its phosphorylated fractions (p^{S368}Cx43, p^{S262}Cx43), and its interaction with the anchoring protein β -catenin.

Our results demonstrate that AuNPs induce cardiotoxicity characterized by cardiac remodeling at the organ, tissue, cellular, and molecular levels, exhibiting a time-dependent pattern that is independent of nanoparticle size. Acute administration of AuNPs was characterized by the absence of remodeling at the organ level. In contrast, at the histological level, we observed alterations such as vacuolization and vacuolar degeneration, alongside fibrosis associated with increased cardiac fibroblast proliferation, suggesting an early attempt at tissue repair. Molecularly, although total Cx43 protein expression remained unchanged, we found topological remodeling characterized by a reduction of the signal at the intercalated disc and a concomitant increase in internalizations and lateralizations. Conversely, chronic administration of AuNPs was distinguished by the emergence of organ-level remodeling: although cardiac weight did not vary, we observed ventricular atrophy and the adoption of a spherical geometry. Histologically, cellular damage persisted, and cardiomyocyte atrophy was confirmed; however, fibrosis did not progress, a finding associated with the return of cardiac fibroblast proliferation to basal levels. At the molecular level, similar to the acute phase, there were no changes in total Cx43 expression, but topological alterations were exacerbated, with a predominant loss of localization at the intercalated disc versus an increase in internalizations and lateralizations.

Overall, the topological remodeling of Cx43 was associated with its phosphorylation at residue S368, which exhibited a similar redistribution pattern: a marked decrease at the intercalated disc concomitant with an increase in internalizations and lateralizations. Furthermore, the co-translocation of Cx43 and β -catenin during these processes indicated that damage is not limited to gap junctions but may also compromise the

structural integrity of the intercalated disc. Finally, we identified the nuclear presence of the p^{S262}Cx43 fraction in cardiac fibroblasts and cardiomyocytes. In cardiac fibroblasts, the decrease in this phosphorylation was associated with increased cell proliferation at the end of the acute administration; in contrast, its decrease in cardiomyocytes failed to activate an effective anabolic response.

This work demonstrates that AuNPs are not biologically inert materials, as they possess a cardiotoxic potential that induces ventricular atrophy, histological damage, and electrical uncoupling. These findings, which occur in the absence of overt toxicity, underscore the urgency of establishing strict regulations regarding their industrial and biomedical application, as well as their release into the environment, to prevent the emergence of a new cardiovascular risk factor.

Abreviaturas

Ad	Atrio derecho	Nm	Nanómetros
Ai	Atrio izquierdo	PBS	Solución salina tamponada de fosfatos
ANOVA	Análisis de varianza	PBS-T20	PBS-Tween 20
AST	Aspartato transaminasa	PM_{2.5}	Partículas finas
AuNPs	Nanopartículas de oro	PVDF	Polivinilideno
BUN	Nitrógeno ureico en sangre	RER	Retículo endoplasmático rugoso
CK	Creatina cinasa	ROS	Especies reactivas de oxígeno
CNG	Red <i>cis</i> -Golgi	Rpm	Revoluciones por minuto
COPII	Complejo proteico de coatómero II	Ser(S)	Serina
Cx40	Conexina 40	Sinanotox	Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica
Cx43	Conexina 43	T-Chol	Colesterol total
Cx45	Conexina 45	T-Prot	Proteínas totales
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol	TAV	Tabique atrioventricular
DE	Desviación estándar	TBS	Solución salina tamponada con Tris
ECV	Enfermedades cardiovasculares	TBS-T20	TBS-Tween 20
GBD	<i>Global Burden of Disease</i>	Thr (T)	Treonina
GJA1	<i>Gap Junction Protein Alpha 1</i>	TIA	Tabique interatrial
H&E	Hematoxilina- y eosina	TIV	Tabique interventricular
HRP	Peroxidasa de rábano picante	TNG	Red trans-Golgi
IDP	Proteína intrínsecamente desordenada	Tyr (Y)	Tirosina
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía	UFP	partículas ultrafinas
kDa	KiloDaltons	Vd	Ventrículo derecho
LSPR	Resonancia de plasmón de superficie localizada	Vi	Ventrículo izquierdo
mV	Milivolts	ZO-1	Zonula Occludens 1
NBF	Tampón de formalina neutra	μm	Micrómetros

Índice

Resumen	vii
Abstract.....	x
Abreviaturas.....	xiii
I. Introducción	1
1.1. Las enfermedades cardiovasculares y su relación con la contaminación	1
1.2. El corazón: anatomía, histología y función.....	2
1.2.1. Aspectos anatómicos básicos del corazón	2
1.2.2. El miocardio	5
1.2.3. La función cardíaca: descripción básica del sistema de conducción	8
1.3. La comunicación intercelular como base de la función cardíaca.....	10
1.3.1. El disco intercalar	10
1.3.2. Las uniones comunicantes	12
1.3.3. Estructura, función y regulación de la proteína Cx43	13
1.4. Las nanopartículas de oro	21
1.4.1. Aplicaciones de las AuNPs	22
1.4.2. Exposición humana y ambiental a las AuNPs	23
1.4.3. Toxicidad de las AuNPs	25
1.5. Remodelaciones cardíacas en respuesta a agentes tóxicos.....	26
II. Antecedentes	29
III. Justificación	31
IV. Pregunta de Investigación	32
V. Hipótesis.....	32
VI. Objetivos.....	33
6.1. Objetivo general	33
6.2. Objetivos específicos	33
VII. Materiales y Métodos	34
7.1. Animales y diseño experimental	34
7.2. Peso corporal y longitud de tibia	36
7.3. Perfil bioquímico sérico	36
7.4. Anatomía de superficie, índice de esfericidad y peso cardíaco	37
7.5. Histología	38
7.5.1. Análisis de microfotografías de histología	38
7.6. Western blot.....	39

7.7. Inmunofluorescencia	41
7.7.1. Análisis de microfotografías de inmunofluorescencia.....	43
7.8. Análisis estadístico.....	44
VIII. Resultados.....	45
8.1. Supervivencia y peso corporal durante la administración de AuNPs.....	45
8.2. Evaluación del perfil sérico en animales administrados con AuNPs	46
8.3. Efecto de la administración de AuNPs en la anatomía del corazón	48
8.3.1. Peso cardíaco, índice de esfericidad y anatomía de superficie	48
8.3.2. Morfometría ventricular	52
8.4. Efecto de la administración de AuNPs en la histología del miocardio.....	56
8.4.1. Análisis histopatológico	56
8.4.2. Fibrosis y proliferación celular	59
8.5. Cambios en la expresión de la proteína Cx43 después de la administración de AuNPs	64
8.5.1. Expresión total y topología subcelular de la proteína Cx43.....	65
8.5.2. Fosforilación de la proteína Cx43.....	69
8.5.3. Co-localización de las proteínas Cx43 y β -catenina.....	76
IX. Discusión.....	80
9.1. Las AuNPs no inducen toxicidad manifiesta ni alteraciones en el perfil sérico.....	81
9.2. Las administración crónica de AuNPs provoca atrofia y esfericidad ventricular	81
9.3. La vacuolización citoplasmática, la degeneración vacuolar y la atrofia del cardiomiocito sugieren un fallo bioenergético y una respuesta autofágica maladaptativa	84
9.4. Las AuNPs promueven un evento temprano de proliferación de fibroblastos cardíacos y fibrosis.....	86
9.5. Las AuNPs inducen remodelado de la topología subcelular de la proteína Cx43 mediado por fosforilación sin alterar su expresión total.....	87
9.6. La co-translocación de las proteínas Cx43 y β -catenina sugiere el desmantelamiento de unidad estructural del disco intercalar después de la administración de AuNPs.....	90
9.7. La reducción de la fosforilación nuclear p ^{S262} Cx43 sugiere una desregulación del crecimiento celular ...	91
9.8. Influencia del tamaño de nanopartícula y tiempo de administración en la cardiotoxicidad inducida por AuNPs.....	93
X. Conclusiones	95
XI. Referencias	98
Anexo.....	122

I. Introducción

1.1. Las enfermedades cardiovasculares y su relación con la contaminación

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) representan la principal causa de muerte y discapacidad a nivel mundial (GBD 2021 Causes of Death Collaborators, 2024). El estudio *Global Burden of Disease* (GBD) estimó que en 2023, las ECV causaron aproximadamente 19 millones de muertes en todo el mundo (alrededor del 32% del total de muertes) debidas principalmente a cardiopatías isquémicas y accidentes cerebrovasculares (Institute for Health Metrics and Evaluation [IHME], 2023). México no es una excepción a la tendencia global. Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), las enfermedades del corazón se han consolidado como la primera causa de muerte en el país, con más de 190,000 defunciones (cerca del 23% del total de muertes) reportadas para el año 2024 (INEGI, 2025).

Las ECV se relacionan en gran medida a factores de riesgo tradicionales, como alteraciones cardiometabólicas (hipertensión, dislipidemia, diabetes, obesidad), factores conductuales (alcoholismo, tabaquismo, dieta deficiente, sedentarismo), y factores no modificables, como el envejecimiento y el sexo biológico (North et al., 2012; Rodgers et al., 2019; Yusuf et al., 2020). Sin embargo, la evidencia reciente ha consolidado a factores ambientales —por ejemplo, la exposición humana a la contaminación del aire— como una causa determinante en el desarrollo de ECV y mortalidad (Yusuf et al., 2020; Rajagopalan & Landrigan, 2021; de Bont et al., 2022). La contribución de la contaminación del aire al desarrollo de las ECV y mortalidad es

considerable alarmante (Brook et al., 2010). Tan solo en el año 2019, el estudio GBD estimó que la contaminación del aire fue responsable de cerca de 6.7 millones de muertes en todo el mundo, de las cuales el 61.9% de las muertes fueron de origen cardiovascular, comprendiendo un 31.7% por cardiopatías isquémicas y un 27.7% a accidentes cerebrovasculares (GBD 2019 Risk Factors Collaborators, 2020).

La fuerte asociación entre la contaminación del aire y las ECV se atribuye en gran medida a las partículas incidentales. Específicamente, las partículas finas ($< 2.5 \mu\text{m}$ de diámetro aerodinámico medio de masa [$\text{PM}_{2.5}$]) y las partículas ultrafinas ($< 0.1 \mu\text{m}$ [UFP]) —que por su tamaño son, de hecho, nanopartículas— se consideran los agentes más tóxicos (Brook et al., 2010). Su diminuto tamaño les permite evadir las defensas pulmonares, translocarse a la circulación sistémica e inducir mecanismos patológicos subyacentes (Oberdörster et al., 2005). La cardiotoxicidad reportada de estas partículas incidentales genera una pregunta paralela y urgente: ¿qué sucede con las nanopartículas ingenierizadas, como las nanopartículas metálicas, a las que la población está cada vez más expuesta a través de la nanomedicina, así como productos de consumo y contaminación de la industria nanotecnológica?

1.2. El corazón: anatomía, histología y función

1.2.1. Aspectos anatómicos básicos del corazón

El corazón, órgano principal del sistema cardiovascular de los vertebrados, es un músculo hueco que funciona como una bomba que transporta a la sangre a través de todo el sistema circulatorio (Standring, 2020).

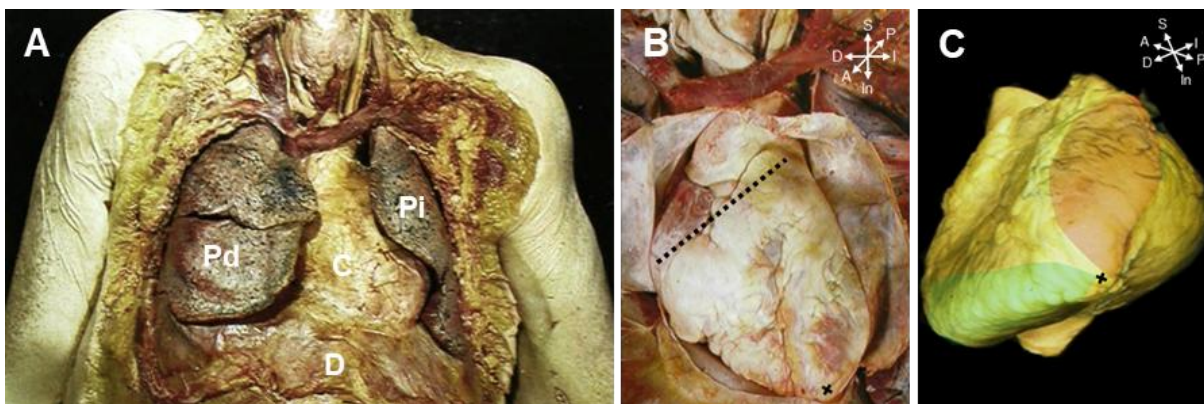


Figura 1. Relaciones espaciales del corazón. A. Posición in situ del corazón (C) y su relación con los pulmones derecho (Pd) e izquierdo (Pi), y el diafragma (D). B. Silueta cardíaca representada por una pirámide invertida, con una base (línea punteada) y una punta (X). C. Borde derecho (color verde) y borde izquierdo (color rojo) vistos desde la punta del corazón. Brújula: anterior (A), derecha (D), inferior (In), posterior (P), superior (S). Imágenes modificadas de Anderson y Becker (1981).

Anatómicamente, el corazón se ubica en el mediastino medio de la cavidad torácica, entre los pulmones y descansando sobre el diafragma (Figura 1A) (Anderson y Becker, 1981). Generalmente, se describe que la silueta cardíaca tiene aspecto de pirámide invertida. La base, definida por la línea imaginaria entre los apéndices atriales y la emergencia de los grandes vasos, se dirige posteriormente; mientras que el vértice (punta o ápex), formado por la parte infero-lateral del ventrículo, se proyecta infero-anteriormente y hacia la izquierda (Figura 1B) (Anderson y Becker, 1981). Los lados de la pirámide están formados por cuatro caras: la cara anterior (o esternocostal), que se ubica detrás del esternón y entre las costillas; la cara inferior (o diafragmática), sobre la que descansa la pirámide en el diafragma; la cara izquierda (o pulmonar izquierda), que está en contacto con la impresión cardíaca del pulmón izquierdo; y la cara derecha (o pulmonar derecha), que se orienta hacia el pulmón derecho (Standring, 2020). Asimismo, tiene dos bordes principales: el borde derecho, que es

un borde agudo entre las caras anterior e inferior del corazón, y el borde izquierdo, que es un borde obtuso entre las caras anterior e izquierda, ambos extendiéndose desde la base hasta la punta del corazón (Figura 1C) (Standring, 2020).

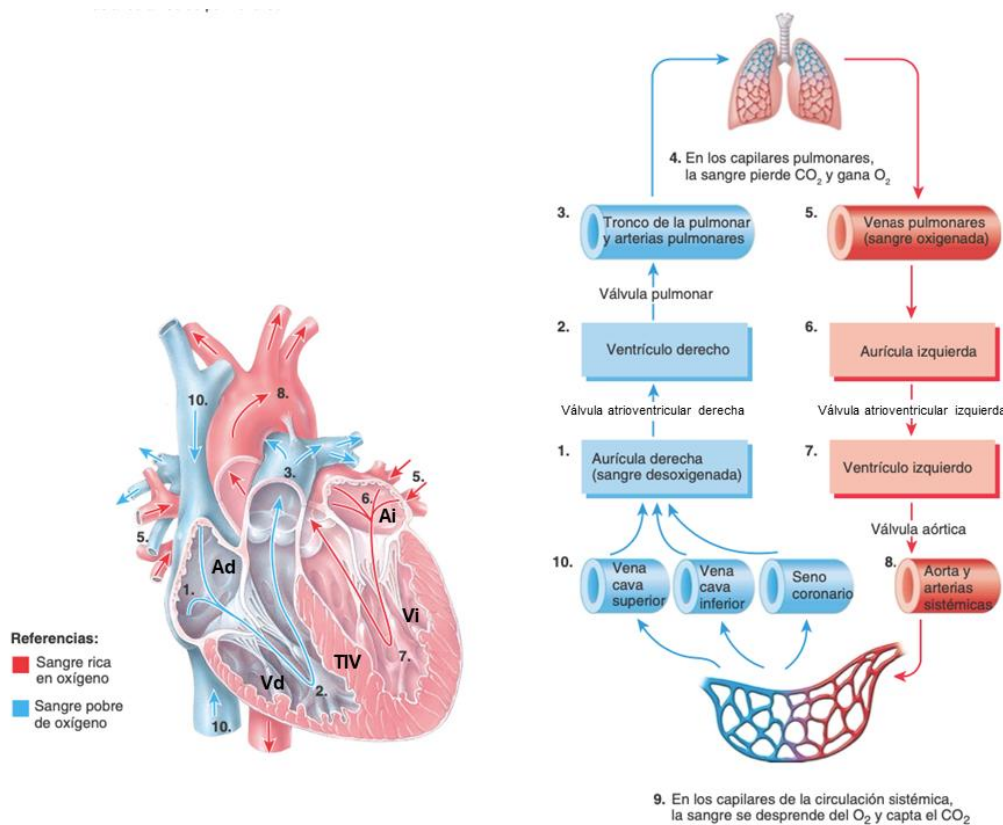


Figura 2. Resumen esquemático de la circulación cardíaca. Abreviaturas: Atrio derecho (Ad), Atrio izquierdo (Ai), Ventrículo derecho (Vd), Ventrículo izquierdo (Vi). Imagen modificada de Tortora & Derrickson (2017).

Internamente, el corazón es un órgano hueco dividido en cuatro cavidades morfológicamente distintas, diseñadas para mantener un flujo sanguíneo unidireccional: dos cavidades superiores, el atrio derecho (Ad) y el atrio izquierdo (Ai), y dos cavidades inferiores, el ventrículo derecho (Vd) y el ventrículo izquierdo (Vi) (Standring, 2020). Las cavidades derechas se mantienen separadas de las izquierdas

por el tabique interatrial (TIA), el tabique atrioventricular (TAV) y el tabique interventricular (TIV), lo que es crucial para mantener la sangre venosa (circulación pulmonar) independiente de la sangre arterial (circulación sistémica) (Standring, 2020). El flujo de la sangre a través de estas cavidades está controlado por cuatro válvulas que aseguran su paso en una sola dirección. Las válvulas atrioventriculares derecha e izquierda regulan el flujo de los atrios a los ventrículos. Por su parte, las válvulas semilunares (pulmonar en el lado derecho y aórtica en el izquierdo) controlan la salida de la sangre desde los ventrículos hacia las grandes arterias (Standring, 2020). Este sistema de tabiques y válvulas dirige la circulación de forma precisa: la sangre venosa (pobre en oxígeno) llega al Ad, pasa al Vd y es bombeada a los pulmones para oxigenarse. Una vez oxigenada, la sangre regresa al Ai, fluye hacia el Vi y es finalmente impulsada a través de la aorta para distribuirse por todo el cuerpo (Figura 2) (Standring, 2020). De esta manera, el corazón está contiguo a una red de circuitos cerrados de arterias, capilares y venas que permiten la circulación de la sangre como vehículo de nutrientes esenciales, productos de desecho y xenobióticos.

1.2.2. El miocardio

La pared del corazón está compuesta por tres capas: el epicardio (externa), el miocardio (media) y el endocardio (interna) (Figura 3A). Esta arquitectura básica se mantiene en todas las cavidades del corazón, presentándose diferencias regionales en la composición y el grosor de una o más capas (Maleszewski et al., 2016).

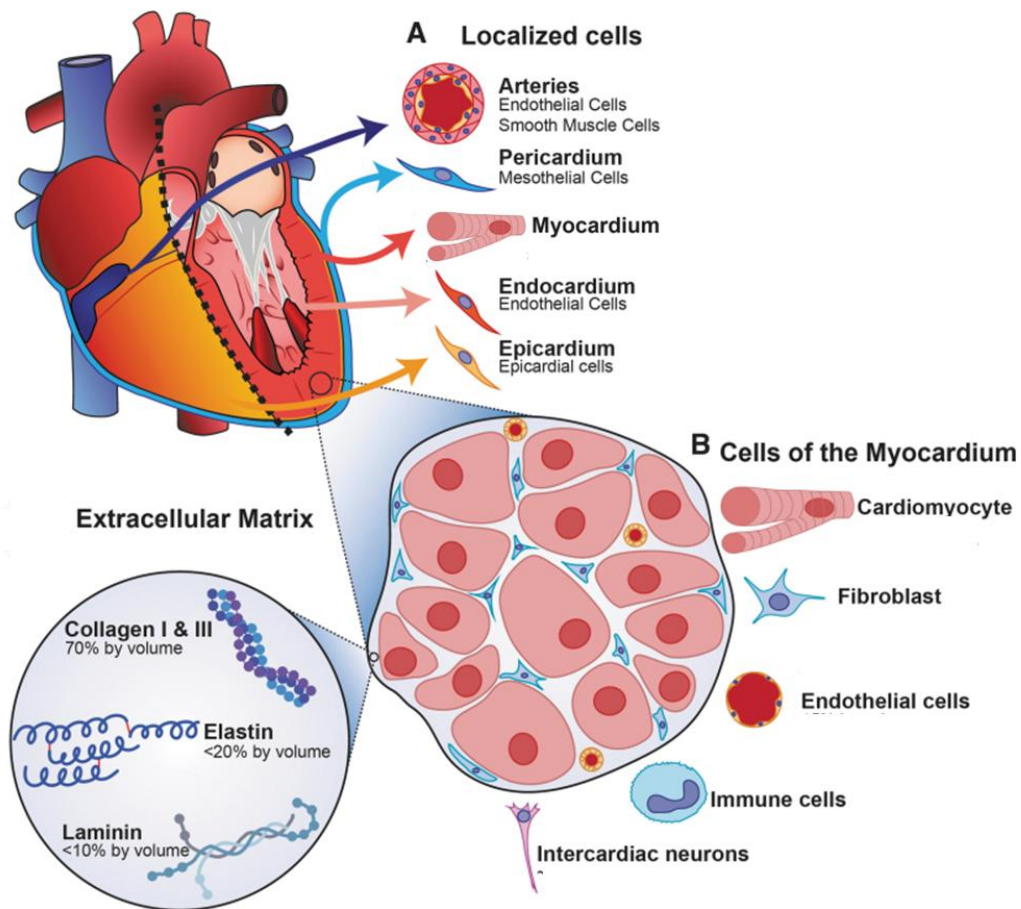


Figura 3. Composición celular del corazón. A. Localización de los tejidos del corazón. B Componentes del miocardio. Imagen modificada de Salem y colaboradores (2022).

De las tres capas de la pared cardíaca, el miocardio confiere mayor volumen y es la responsable de la acción de bombeo (Figura 3B). Histológicamente, el miocardio está formado principalmente por cardiomiocitos, células musculares estriadas de contracción involuntaria (Maleszewski et al., 2016), que representan gran parte del volumen del miocardio pero solo alrededor del 30% del contenido celular en número (Pinto et al., 2015). Los cardiomiocitos son células alargadas, a menudo ramificadas, y presentan uno o dos núcleos centrales ovalados (Maleszewski et al., 2016). La característica fundamental de los cardiomiocitos es que no actúan de forma aislada,

sino como un sincitio funcional. Esta coordinación es posible gracias a los discos intercalares, que son estructuras complejas donde los sarcolemas de los extremos de cardiomiocitos adyacentes se unen estrechamente (Nielsen et al., 2023). Existen dos poblaciones de cardiomiocitos: los cardiomiocitos de trabajo, cuya función principal es la contracción de los atrios y los ventrículos, y los cardiomiocitos especializados del sistema de conducción, que generan y propagan el impulso eléctrico para coordinar cada latido (Maleszewski et al., 2016).

Otro componente fundamental del miocardio son los fibroblastos cardíacos. Aunque los fibroblastos aportan poco volumen al tejido, son una población celular que constituye alrededor del 20% del total de las células del corazón (Pinto et al., 2015). Los fibroblastos cardíacos son células alargadas, fusiformes o estrelladas con prolongaciones citoplasmáticas, las cuales presentan un núcleo ovalado y eucromático (Maleszewski et al., 2016). Su función principal es proporcionar soporte estructural, ya que producen y mantienen la matriz extracelular que da sostén a los cardiomiocitos. Además, son cruciales en la respuesta a lesiones, ya que son responsables de la reparación de heridas, de la formación de cicatrices tras un infarto y de los procesos patológicos de fibrosis cardíaca (Porter y Tuner, 2009).

El resto de los componentes del miocardio incluye una vasta red vascular compuesta por células endoteliales, que recubre la superficie interna de los vasos sanguíneos. Asimismo, se compone de células de músculo liso rodeando los vasos sanguíneos, con excepción de los capilares y las vénulas poscapilares. Finalmente, una población de células inmunitarias residentes, como macrófagos y mastocitos, se encarga de la

vigilancia y reparación del tejido, completando la diversa composición celular del miocardio (Maleszewski et al., 2016).

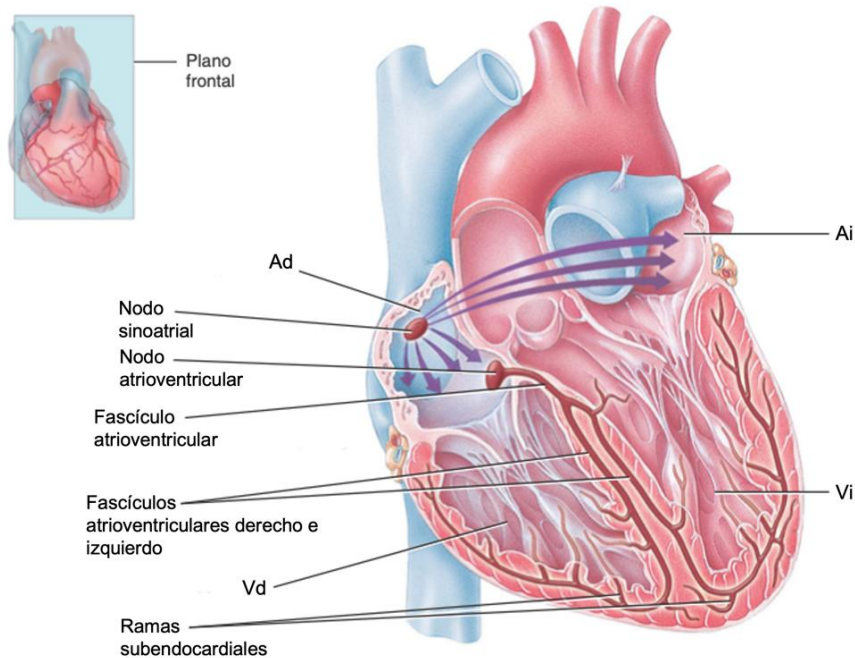


Figura 4. Representación esquemática del sistema de conducción cardíaca. Imagen modificada de Tortora & Derrickson (2017) .

1.2.3. La función cardíaca: descripción básica del sistema de conducción

El sistema de conducción del corazón inicia y propaga el impulso eléctrico, lo que resulta en la contracción sincronizada de los atrios y, posteriormente, los ventrículos. En un corazón sano, la contracción comienza en el nodo sinoatrial (marcapasos natural) y se extiende a través de los atrios hasta el nodo atrioventricular, donde experimenta un breve retraso. Desde allí, el impulso viaja rápidamente por el fascículo atrioventricular (o haz de His) y sus ramificaciones hasta las ramas subendocardiales (o fibras de Purkinje), que lo distribuyen a los ventrículos. Una vez que el impulso

alcanza a los cardiomiocitos de trabajo, la contracción se propaga de una célula a otra como una onda expansiva (Figura 4) (Tortora & Derrickson, 2017).

La función contráctil del corazón depende de los cardiomiocitos del sistema de conducción. A diferencia de los cardiomiocitos de trabajo, los cardiomiocitos del sistema de conducción están modificados para generar y propagar los impulsos eléctricos. Histológicamente, se distinguen de los cardiomiocitos de trabajo por contener menos miofibrillas debido a la escasez de proteínas sarcoméricas, y estar aislados por vainas de tejido fibroso (Anderson et al., 2009). Sus propiedades electrofisiológicas también son únicas: poseen automaticidad, es decir, la capacidad de generar su propio ritmo. En lugar de un potencial de reposo estable, tienen canales iónicos especiales, llamados canales *Funny* (o canales I_f), que permiten una "fuga" lenta y constante de iones positivos (Na^+ y K^+) hacia el interior de la célula. Esta fuga eleva el voltaje espontáneamente hasta alcanzar el umbral, disparando un potencial de acción rítmico (Barbuti & DiFrancesco, 2008; DiFrancesco, 2010). Además, su acoplamiento eléctrico es distinto: en lugar de la proteína conexina 43 (Cx43) que domina a los cardiomiocitos de trabajo, el sistema de conducción expresa diferentes isoformas de conexinas. La proteína conexina 45 (Cx45), por ejemplo, tiene una expresión restringida y dominante en los nodos sinoatrial y atrioventricular, así como en el fascículo atrioventricular y las ramas subendocardiales (Coppen et al., 1998; Coppen et al., 1999). La proteína Cx45 forma canales de baja conductancia que son fundamentales para generar el ritmo y el retraso fisiológico del nodo atrioventricular (Temple et al., 2013). Por su parte, la proteína conexina 40 (Cx40) es la isoforma

dominante en los componentes de conducción rápida del sistema, como el fascículo atrioventricular y las ramas subendocardiales, ya que forma canales de alta conductancia (Kanter et al., 1993; Gros et al., 1994). Este aislamiento, tanto físico como funcional, asegura que el impulso eléctrico viaje de forma ordenada a través del sistema de conducción antes de transmitirse a los cardiomiocitos de trabajo para la contracción del corazón.

1.3. La comunicación intercelular como base de la función cardíaca

1.3.1. El disco intercalar

Un latido del corazón es el resultado de millones de cardiomiocitos que se contraen en sincronía. De esta manera, la función cardíaca a nivel celular depende de la actividad de los cardiomiocitos como un sincitio funcional, lo que logran mediante su acoplamiento mecánico y eléctrico. Este acoplamiento es posible gracias al disco intercalar: una estructura compleja, dispuesta perpendicularmente al eje longitudinal de la célula, donde los sarcolemas de cardiomiocitos adyacentes se unen estrechamente a través de diferentes uniones celulares (Figura 5A) (Nielsen et al., 2023).

A nivel ultraestructural, el disco intercalar no es una línea recta como se observa en microscopía óptica, al contrario, consiste en una morfología escalonada con regiones transversales (regiones plicadas) y longitudinales (regiones interplicadas) alternas (Figura 5B) (Fawcett & McNutt, 1969). Esta arquitectura separa espacialmente las uniones celulares según su función. Las regiones plicadas, que soportan la mayor tensión, anclan las uniones mecánicas (desmosomas y uniones adherentes). Por el

contrario, las regiones interplicadas, paralelas al eje de la célula, albergan las uniones comunicantes, creando un camino principal para la rápida propagación del impulso eléctrico (Nielsen et al., 2023).

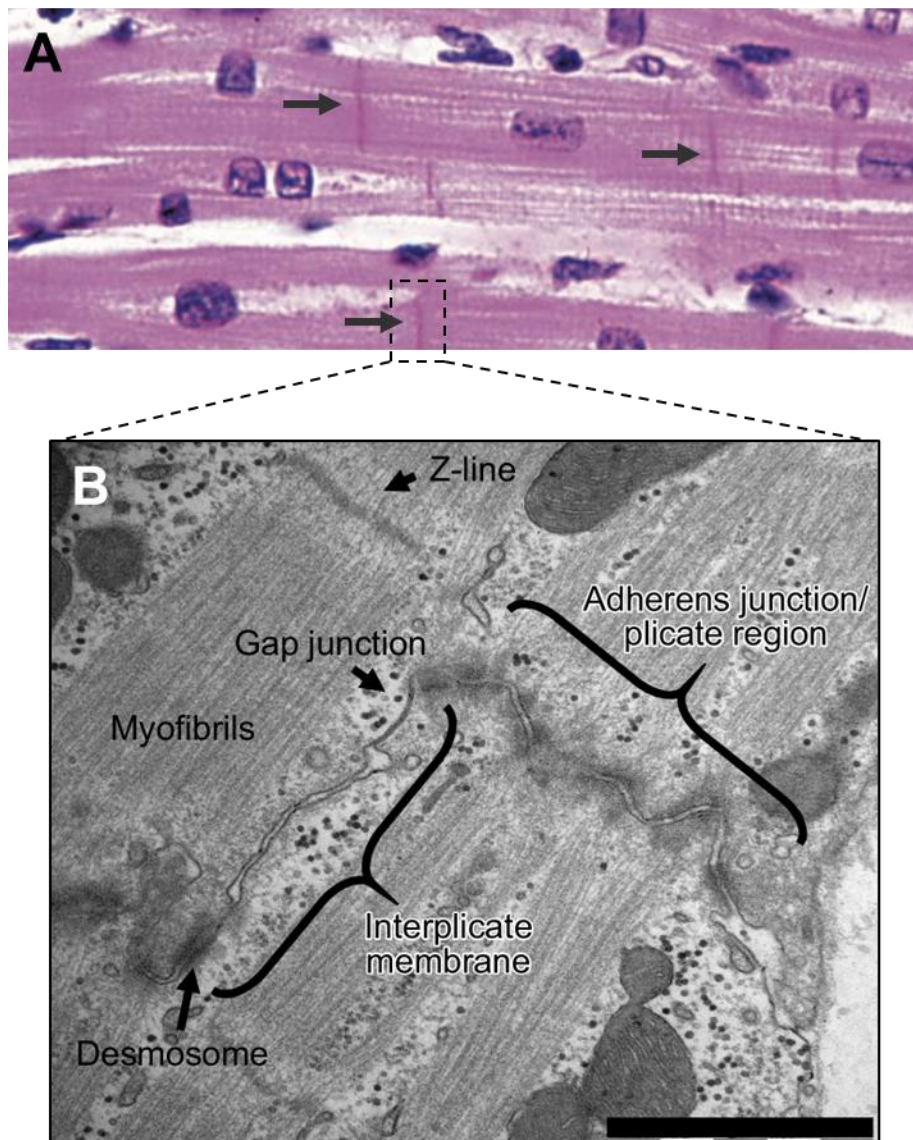


Figura 5. Disco intercalar. (A) Microfotografía de miocardio en corte longitudinal (tinción de H&E, aumento 360 X). Las flechas señalan a los discos intercalares. (B) Microfotografía de miocardio en corte longitudinal, donde se muestran estructuras típicas de uniones adherentes, desmosomas y uniones comunicantes en el disco intercalar (microscopía electrónica de transmisión, barra de escala corresponde a 1 μ m). Imagen tomada de Nielsen et al. (2023).

1.3.2. Las uniones comunicantes

Las uniones comunicantes son grupos de canales proteicos intercelulares que permiten la difusión directa de iones y moléculas pequeñas entre células adyacentes de prácticamente todos los tejidos sólidos (Goodenough & Paul 2009). Las uniones comunicantes están compuestas exclusivamente por una familia de proteínas transmembrana altamente homólogas conocidas como conexinas. Hasta el momento, se han identificado 21 isoformas de conexinas en humanos, las cuales normalmente se denominan según su peso molecular en kiloDaltons (kDa) (Beyer & Berthoud, 2018; Rodríguez-Sinovas et al., 2021).

Aunque cada isoforma presenta propiedades electrofisiológicas distintas (Veenstra et al., 1995), todas comparten una estructura similar: cuatro dominios α -hélice transmembrana (M1-M4) interconectados por dos bucles extracelulares (E1 y E2) y un bucle citoplasmático (CL), con los extremos amino y carboxilo terminales orientados hacia el citoplasma (Figura 6A) (Sosinsky & Nicholson, 2005). Asimismo, la formación de la unión comunicante sigue un proceso de ensamblaje jerárquico para todas las isoformas de conexina. Primero, la oligomerización de seis moléculas de conexina forma un hemicanal cilíndrico, llamado conexón. Posteriormente, dos conexones de células adyacentes se acoplan en el espacio extracelular para crear un canal intercelular (o unión comunicante) (Figura 6B). Finalmente, el agrupamiento de cientos o miles de uniones comunicantes en una región de la membrana citoplasmática da lugar a la placa comunicante (Figura 6C) (Sosinsky & Nicholson, 2005).

Las uniones comunicantes facilitan el acoplamiento eléctrico al permitir el flujo intercelular directo de iones, que propaga el potencial de acción entre células

adyacentes de tejidos excitables. Además, proveen acoplamiento metabólico al permitir la transferencia de moléculas pequeñas (~1 kDa, dependiendo de la isoforma de conexina) y segundos mensajeros, asegurando que un grupo de células pueda responder a una señal de manera unificada (Goodenough & Paul, 2009).

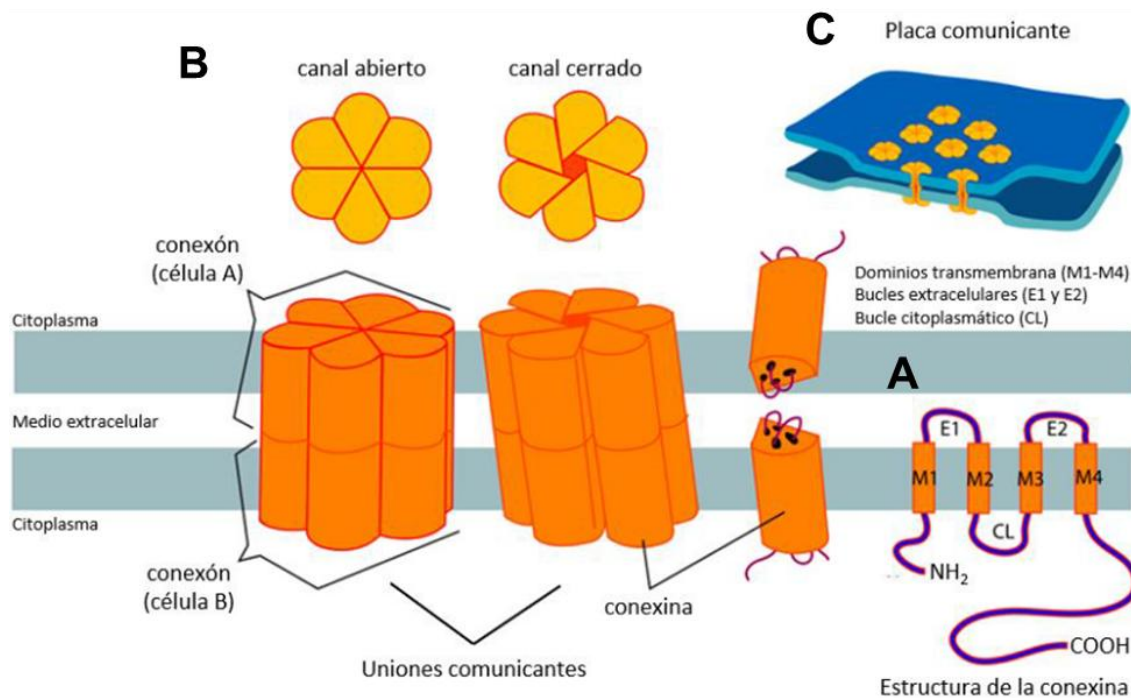


Figura 6. Niveles de organización de la placa comunicante. A. Estructura de la proteína Cx43. B. Formación de la unión comunicante. C. Placa comunicante. Ilustración de modificada de Mariana Ruiz (LadyofHats), Dominio público, vía Wikimedia Common

1.3.3. Estructura, función y regulación de la proteína Cx43

La proteína Cx43 es la isoforma más abundante en el corazón, se expresa principalmente en el miocardio de trabajo y, en menor grado, en partes del sistema de conducción ventricular (Beyer et al., 1987; Beyer et al., 1989; Kanter et al., 1993; Gros et al., 1994). En el miocardio de trabajo, la proteína Cx43 es un componente

fundamental del disco intercalar de los cardiomiocitos, donde su función es indispensable para el acoplamiento eléctrico que permite la contracción coordinada.

Si bien la proteína Cx43 comparte la estructura general de las demás conexinas, se distingue por su extremo carboxilo terminal. Este extremo es intrínsecamente desordenado (IDP), a excepción de dos dominios α -helicoidales (Sorgen et al., 2004). Este desorden intrínseco le permite al extremo carboxilo terminal de Cx43 funcionar como una plataforma de señalización, y añade flexibilidad en la unión, ya que pequeñas alteraciones —por ejemplo, modificaciones postraduccionales— pueden inducir grandes cambios en las afinidades de unión (Sorgen et al., 2004; Sorgen et al., 2018).

La proteína Cx43 es codificada por el gen constitutivo GJA1 (*Gap Junction Protein Alpha 1*) (Fishman et al., 1991), y su expresión génica continua es esencial para sostener el recambio rápido y constante de la proteína Cx43, con una vida media de 1 a 2 horas en el corazón (Laird et al., 1991; Beardslee et al., 1998).

Al ser una proteína transmembranal, el recambio de Cx43 está dirigido por el sistema de endomembranas (Figura 7). Su síntesis inicia en los ribosomas del retículo endoplasmático rugoso (RER), donde la proteína se inserta co-traduccionalmente en la membrana, asegurando su correcto plegamiento y orientación (Nielsen et al., 2012). En el RER, la proteína Cx43 permanece como monómero y no se oligomeriza (Musil & Goodenough, 1993). Como monómero, la proteína Cx43 viaja del RER a la red *cis*-Golgi (CNG) mediante transporte mediado por el complejo proteico de coatómero II (COPII), un proceso controlado por la pequeña GTPasa Sar1 (Majoul et al. 2009). Su

tránsito a través del aparato de Golgi es fundamental, ya que, a diferencia de otras proteínas transmembranales, las conexinas se oligomerizan tardíamente (Nielsen et al., 2012). De esta manera, en la red *trans*-Golgi (TNG) es donde seis monómeros de Cx43 se oligomerizan para formar un conexón (Musil & Goodenough, 1993). Finalmente, los conexones ensamblados son transportados desde la TGN hacia el disco intercalar en un proceso que depende del citoesqueleto de microtúbulos (Giessmann et al., 2005). Los conexones se insertan primero al sarcolema adyacente a la placa comunicante, en una región conocida como el perinexo. Se ha demostrado que la proteína de andamiaje zonula occludens-1 (ZO-1) se une al extremo carboxilo terminal de Cx43 y regula la tasa de agregación de los conexones del perinexo a la placa comunicante (Gaietta et al., 2002; Sorgen et al., 2004; Hunter et al., 2005; Rhett et al., 2011). A su vez, la proteína ZO-1 también se asocia con las uniones adherentes, actuando como un nexo clave que vincula la adhesión mecánica con la comunicación eléctrica (Nielsen et al., 2023).

Es importante mencionar que también existe un tráfico intracelular no dirigido, donde los conexones no llegan al perinexo, sino que se insertan en el sarcolema lateral del cardiomiocito, un evento conocido como lateralización. No obstante, el mecanismo exacto que subyace a la lateralización de la proteína Cx43 no está claro y parece depender del modelo fisiopatológico empleado (Nielsen et al., 2023). En algunos casos, pueden estar involucradas modificaciones postraduccionales de Cx43. Por ejemplo, en la isquemia cardíaca aguda se ha observado un incremento de la lateralización que coincide con una fosforilación reducida de Cx43 (Lampe et al., 2006). También se ha propuesto que fallos en la inserción de la proteína Cx43 en la placa

comunicante podrían permitir que los conexones se difundan desde el disco intercalar hacia el sarcolema lateral (Nielsen et al., 2023). En apoyo de esta idea, se ha encontrado que en la zona límite epicárdica después de un infarto de miocardio, la lateralización se correlacionó con una pérdida de la interacción de las proteínas Cx43 y ZO-1 (Kieken et al., 2009).

En la placa comunicante, las uniones comunicantes son estabilizadas por la unión del extremo carboxilo terminal de Cx43 con el citoesqueleto. Esta estabilización ocurre mediante una unión directa a los microtúbulos (Giepmans et al., 2001) o a través de proteínas intermediarias que se unen a la actina, como la drebrina (Ambrosi et al., 2016) o la β -catenina (Spagnol et al., 2018). Además, existe una interacción funcional entre las proteínas Cx43 y β -catenina: la inducción de Cx43 secuestra a β -catenina e inhibe su actividad transcripcional, mientras que la activación de la vía de señalización de β -catenina incrementa los niveles de Cx43 (Ai et al., 2000). Este circuito de retroalimentación respalda la idea de que las uniones comunicantes y las uniones adherentes no operan de forma aislada, sino que conforman una unidad funcional integrada en la arquitectura y señalización del disco intercalar (Nielsen et al., 2023).

Una vez cumplen su función, la eliminación de la proteína Cx43 ocurre mediante la internalización de la placa comunicante. En este evento, la región de los sarcolema que contiene a la placa comunicante se internaliza en el citoplasma de uno de los cardiomiocitos, formando una vesícula de doble membrana conocida como unión comunicante anular o conexosoma (Nielsen et al., 2023). La internalización puede desencadenarse por cambios en el estado de fosforilación y ubiquitinación del extremo carboxilo terminal de la proteína Cx43 (Lampe et al., 2006; Leykauf et al., 2006). Una

vez internalizada, la degradación de la proteína Cx43 puede ocurrir por vías proteosómicas, lisosomales y autofagosomales (Lang et al., 1997; Hesketh et al., 2010).

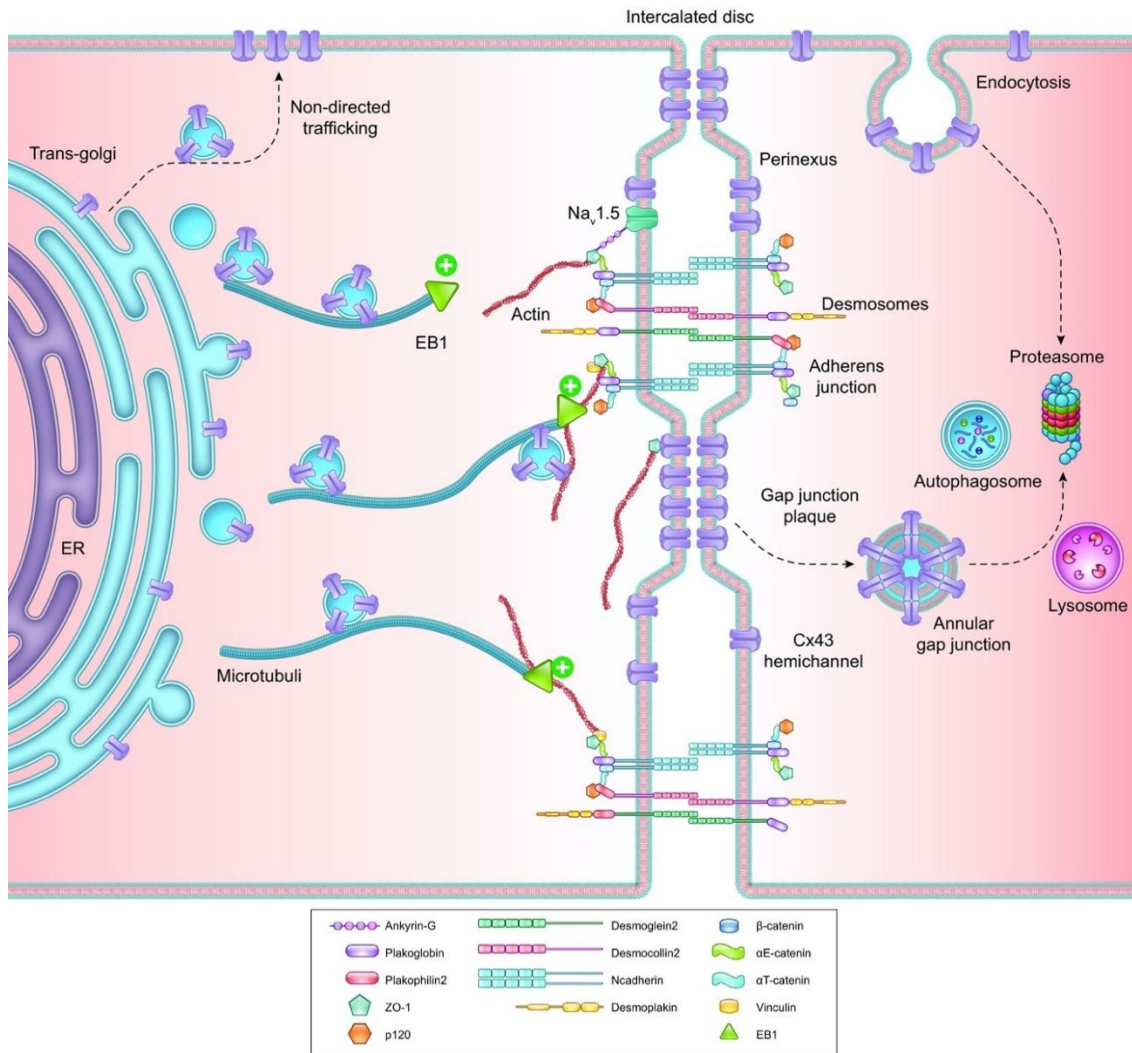


Figura 7. Representación esquemática del ciclo de vida de la proteína Cx43 en los cardiomiocitos, donde se muestra el tráfico no dirigido hacia la membrana lateral (lateralización), el tráfico directo de Cx43 a lo largo de los microtúbulos, la internalización y la degradación. Imagen tomada de Nielsen et al. (2023).

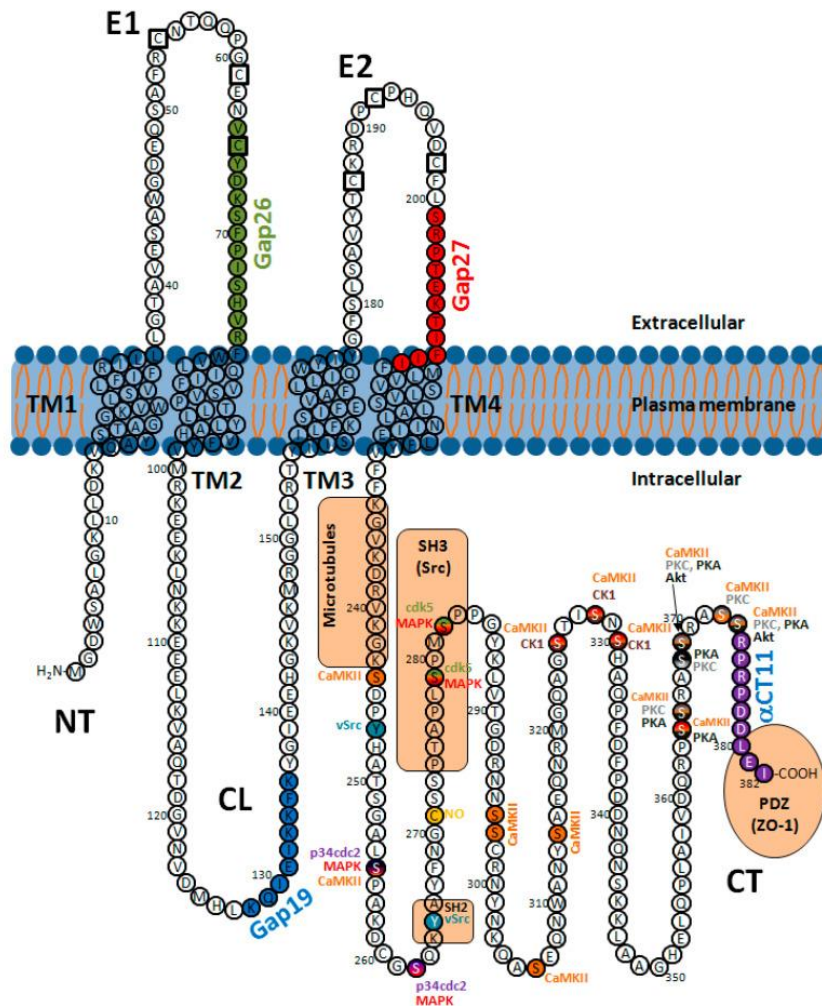


Figura 8. Representación esquemática de la secuencia de aminoácidos de la proteína Cx43 del humano, que muestra la ubicación de los residuos reguladores. Los residuos de serina (S) se muestran en naranja, mientras que los residuos de tirosina (Y) se muestran en verde azulado. Abreviaturas: CL (bucle citoplasmático), CT (extremo carboxilo terminal), NT (extremo amino terminal), E1 y E2 (bucles extracelulares) y TM1-TM4 (dominios α -hélice transmembrana). Imagen tomada de Rodríguez-Sinovas et al. (2021).

Gran parte de los eventos del ciclo de vida de la proteína Cx43 están altamente regulados por modificaciones postraduccionales, donde la fosforilación es una de las más estudiadas y, probablemente, la más importante (Nielsen et al., 2012). Hasta el momento, se han identificado 21 sitios de fosforilación en el extremo carboxilo terminal

de Cx43 (Figura 8), de los cuales 18 sitios corresponden a residuos de serina (Ser [S]), 2 residuos a tirosina (Tyr [Y]) y 1 residuo a treonina (Thr [T]) (Nielsen et al., 2012; Rodríguez-Sinovas et al., 2021). La fosforilación de la proteína Cx43 es un mecanismo fundamental que modula todo su ciclo de vida, afectando desde la oligomerización de conexina a conexón y el tráfico intracelular, hasta el ensamblaje de la unión comunicante, la regulación del canal y su degradación (Nielsen et al., 2012; Rodríguez-Sinovas et al., 2021). Por ejemplo, la fosforilación en el residuo S368 es un regulador importante de la función y estabilidad de la proteína Cx43. Esta fosforilación induce cambios conformacionales que pueden afectar la permeabilidad del canal y promueve la internalización y degradación de la proteína, un mecanismo que reduce la comunicación intercelular entre cardiomiocitos (Pun et al., 2023). Por su parte, la fosforilación en el residuo S262 también se ha implicado como un regulador negativo. Específicamente, se ha relacionado con la pérdida de la proteína Cx43 de la unión comunicante (Nimlamool et al., 2013) e incluso con eventos de síntesis de ADN (Doble et al., 2014).

En el cardiomiocito sano, la localización subcelular (o topología subcelular) de la proteína Cx43 se encuentra casi exclusivamente formando las uniones comunicantes del disco intercalar (Beyer et al., 1989), mientras que su lateralización e internalización son escasas (Figura 9) (Andelova et al., 2020). Sin embargo, en condiciones de estrés o patológicas, la comunicación intercelular de los cardiomiocitos se puede alterar mediante la remodelación de la topología subcelular de la proteína Cx43, lo que resulta en el aumento de internalizaciones y/o lateralizaciones. Las alteraciones en la topología subcelular de la proteína Cx43 se han documentado en enfermedades

cardíacas, como la insuficiencia cardíaca (Wang y Gerdes, 1999), la isquemia cardíaca aguda (Lampe et al., 2006) y las miocardiopatías hipertróficas (Kostin et al., 2004) y dilatadas (Ito et al., 2021). Además, este efecto no se limita al daño cardíaco directo, sino que también se observa en condiciones sistémicas como la diabetes (Lin et al., 2016; Billur et al., 2022) y durante el proceso de envejecimiento (Bonda et al., 2016; Billur et al., 2022). Incluso factores ambientales, como la exposición al ruido de baja frecuencia (Antunes et al., 2013), se han asociado con estas reorganizaciones de la proteína Cx43. En general, la reducción de Cx43 en el disco intercalar, ya sea por internalización o lateralización, compromete la transmisión eléctrica y contribuye directamente a la disfunción cardíaca (Fontes et al., 2012). Por lo tanto, el análisis de la topología subcelular de Cx43 en el miocardio de trabajo es un indicador sensible de la función del corazón.

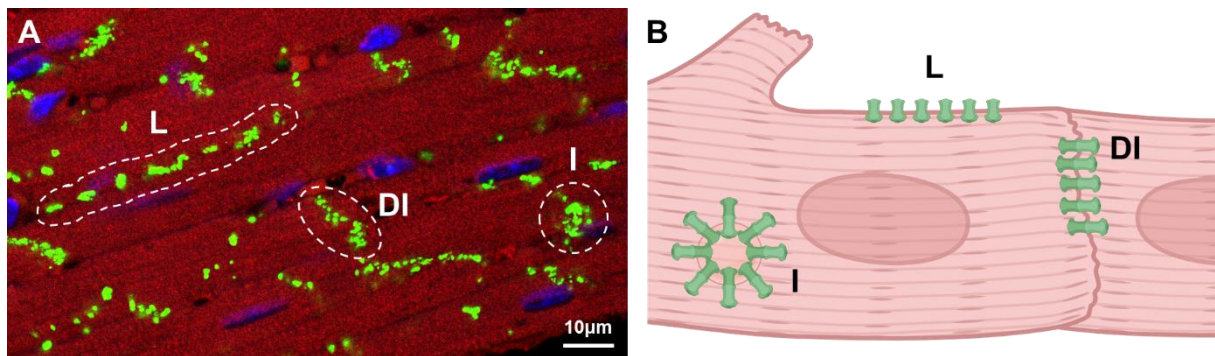


Figura 9. Topología subcelular de la proteína Cx43. A. Microfotografía representativa del Vi de ratón, destacando las tres localizaciones subcelulares de Cx43: en el disco intercalar (DI), internalizada (I) y lateralizada (L). B. Representación esquemática de estas localizaciones en el cardiomiocito. Microfotografía y esquema de autoría propia, creado a través de <https://BioRender.com>.

1.4. Las nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son partículas en escala nanométrica, es decir, entre 1 y 100 nanómetros (nm), que han atraído un gran interés industrial y científico. La característica más distintiva de las AuNPs son sus propiedades ópticas únicas, las cuales no se observan en el oro a escala macroscópica. Estas propiedades ópticas se deben al fenómeno de la resonancia de plasmón de superficie localizada (RPSL). La RPSL ocurre cuando los electrones libres en la superficie de una nanopartícula metálica oscilan colectivamente al interactuar con longitudes de onda específicas, lo que resulta en una intensa absorción y dispersión de la luz (Figura 10A) (Willets & Van Duyne, 2007).

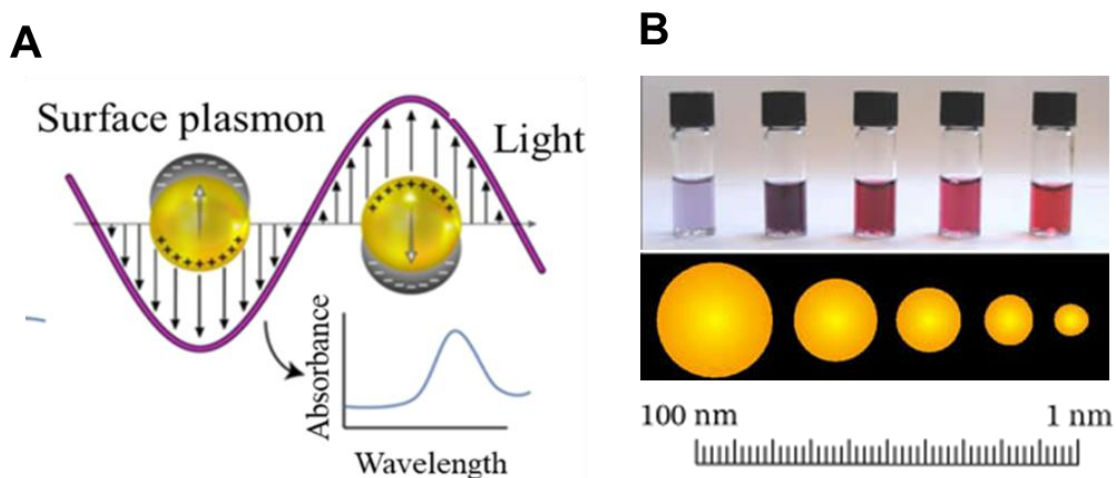


Figura 10. Propiedades de las AuNPs. A. Fenómeno RPSL en las nanopartículas metálicas. B. Efecto del tamaño de las AuNPs en el color de la solución coloidal. Imagen tomada de Indhu et al. (2023).

Una de las ventajas clave de las AuNPs es que la RPSL es fácilmente sintonizable, ya que depende directamente de las características fisicoquímicas de la nanopartícula: propiedades físicas, como el tamaño, la forma y la distancia entre nanopartículas, y

propiedades químicas, como la química de superficie de la nanopartícula, que alteran drásticamente la resonancia (Daniel & Astruc, 2004; Indhu et al., 2023). De esta manera, modificar las propiedades fisicoquímicas cambia las propiedades ópticas, lo que explica por qué suspensiones de AuNPs con diferente tamaño, forma y/o recubrimiento pueden presentar una gama de colores vivos, desde el rojo intenso hasta el azul o el púrpura (Figura 10B) (Daniel & Astruc, 2004).

1.4.1. Aplicaciones de las AuNPs

En los últimos años, la aplicación de las AuNPs se ha expandido en diferentes sectores industriales, logrando en 2024 un mercado mundial de 8,480 mil millones de dólares y un incremento estimado a una tasa de crecimiento anual compuesto del 10.7%, hasta alcanzar los 15,650 mil millones de dólares en 2030 (Grand View Research [GVR], 2024).

El sector biomédico representa la principal aplicación de las AuNPs, abarcando más de 50% del mercado mundial (GVR, 2024). En este campo, las AuNPs se emplean principalmente como agentes de contraste en imagenología, transportadores de fármacos y terapéuticos fototérmicos, lo que ha permitido proponer su uso para el diagnóstico temprano y tratamiento de diferentes enfermedades (Deadren et al., 2012; Pasparakis, 2022), entre las que destacan el cáncer (Yang et al., 2022) y las enfermedades cardíacas (Zang et al., 2018).

La industria electrónica representa la segunda mayor aplicación de las AuNPs (GVR, 2024). En este campo, las AuNPs se emplean principalmente por su alta conductividad y estabilidad para la formulación de tintas conductoras (Shariq et al., 2020) y la

fabricación de chips electrónicos (Dau et al., 2025). Estas propiedades han impulsado su uso en el desarrollo de la electrónica impresa, sensores de alta sensibilidad y en optoelectrónica (Shariq et al., 2020; Assad et al., 2025; Dau et al., 2025).

Una proporción menor de las AuNPs se destina a la fabricación de productos de consumo humano (GVR, 2024). Recientemente, la base de datos *The Nanodatabase* (<https://nanodb.dk/>) tiene un registro de 5,367 productos de venta libre con nanomateriales, de los cuales 85 reportan que contienen AuNPs. Las AuNPs se emplean en una amplia variedad de productos, abarcando categorías como cosméticos y cosmeceúticos (Gupta et al., 2022), textiles (Shan et al., 2022), suplementos alimenticios (Chaicherd et al., 2019) y productos de higiene personal (Saleh & Al-Samani, 2022). Adicionalmente, su reconocida actividad antimicrobiana asociada a su toxicidad ha motivado su investigación para el desarrollo de envases de alimentos (Dos Santos et al., 2020). Según la herramienta de evaluación TheNanoRiskCat (Hansen et al., 2011) implementada en la base de datos *The Nanodatabase*, la mayoría de estos productos se clasifica con un riesgo de exposición alto en los ámbitos "profesional", "consumidor" y "ambiental". La misma evaluación proyecta que sus efectos potenciales son de nivel medio para la salud "humana" y altos para el "ambiente".

1.4.2. Exposición humana y ambiental a las AuNPs

El incremento en la aplicación y, en consecuencia, en la producción de las AuNPs, conduce inevitablemente a su liberación al medio ambiente y a una mayor exposición humana. Las AuNPs, y cualquier otro nanomaterial, pueden ingresar a los organismos

vivos por inhalación, ingestión y penetración de la piel (De Matteis, 2017; Bundschuh et al., 2018). Adicionalmente, las AuNPs podrían ingresar a los ecosistemas a través de efluentes industriales y domésticos, mientras que la exposición humana podría ocurrir de forma intencional en aplicaciones biomédicas y no intencional a través de productos de consumo y del contacto ambiental (Figura 11). Hasta la fecha, la información es escasa respecto a la contaminación de AuNPs en el ambiente. Sin embargo, existe evidencia de que las AuNPs del suelo se pueden transferir a lo largo de la cadena trófica (Unrine et al., 2010; Judy et al., 2011; Unrine et al., 2012).

Este escenario es particularmente preocupante, dado que la industria nanotecnológica se ha desarrollado y crecido a un ritmo rápido, a menudo sin regulaciones específicas que gestionen los riesgos asociados a las nanopartículas ingenierizadas (Saldívar-Tanaka, 2019). Este vacío regulatorio persiste a pesar de que la liberación de AuNPs al ambiente se considera nociva para los ecosistemas y la salud humana (Gao et al., 2015; Kumah et al., 2023).

Hasta el momento, en México no se cuenta con una ley específica para la nanotecnología y la regulación se basa principalmente en Normas Mexicanas (NMX) de carácter voluntario, que siguen los lineamientos de estándares internacionales de la norma ISO/TC 229 (Saldívar-Tanaka, 2019). Aunque existen iniciativas importantes como la creación de un Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica (Sinanotox), la falta de un marco legal obligatorio y de un consenso entre los sectores industrial, científico y gubernamental evidencia la necesidad de desarrollar instrumentos normativos más robustos para asegurar el manejo seguro de los nanomateriales a nivel nacional (Vázquez, 2017; Saldívar-Tanaka, 2019).

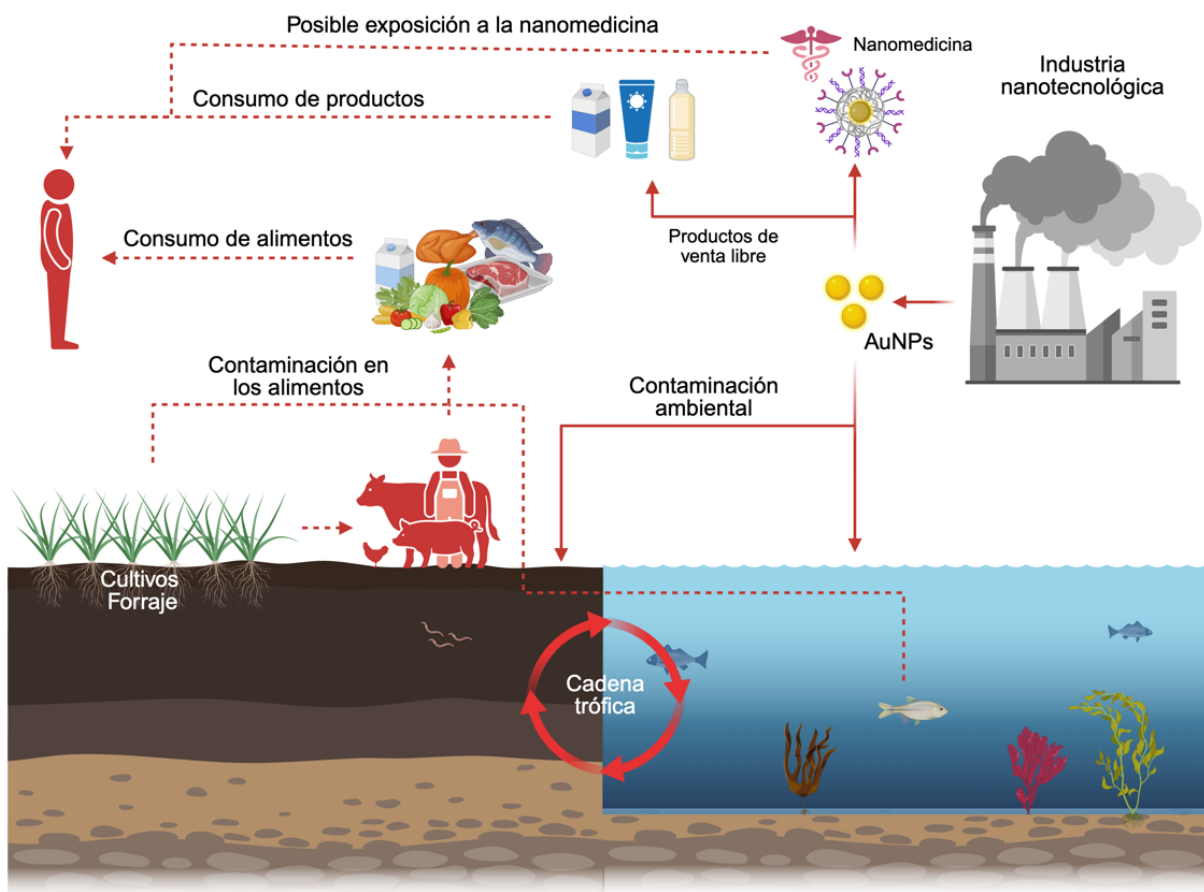


Figura 11. Posible exposición humana y ambiental a las AuNPs. Esquema de autoría propia, creado a través de <https://BioRender.com>.

1.4.3. Toxicidad de las AuNPs

La creciente popularidad de las AuNPs en diferentes industrias se debe a sus propiedades fisicoquímicas únicas: facilidad de síntesis, mayor reactividad superficial, amplia relación área-volumen, capacidad de funcionalización y notables propiedades ópticas (Adewale et al., 2019; Pasparakis, 2022). No obstante, esta misma reactividad intrínseca constituye un riesgo: las características que las hacen valiosas les permiten interactuar con fluidos biológicos, células y estructuras intracelulares, lo que influye

decisivamente en su bioacumulación y toxicidad (Chithrani, 2010; Pfeiffer et al., 2014; Ding et al., 2018).

En términos generales, el tamaño físico se ha identificado como un determinante crítico en la toxicidad de las AuNPs. Diversos estudios indican que las nanopartículas de menor diámetro poseen una mayor capacidad de penetración en barreras biológicas, bioacumulándose en una mayor variedad de órganos (De Jong et al., 2008; Sonavane et al., 2008). Sin embargo, la toxicidad de las AuNPs es un fenómeno multifactorial que depende de la forma, la funcionalización superficial y variables experimentales como la dosis, la vía y el tiempo de administración (Adewale et al., 2019).

Mecanísticamente, se ha demostrado que la superficie metálica expuesta de las AuNPs posee un potencial catalítico intrínseco capaz de generar especies reactivas de oxígeno (ROS), como el oxígeno singulete, incluso sin necesidad de degradación de la nanopartícula (Zhang et al., 2013). La producción de ROS puede inhibir antioxidantes y causar estrés oxidante, lo que podría provocar inflamación y daño a moléculas y membranas celulares (Duman et al., 2024).

1.5. Remodelaciones cardíacas en respuesta a agentes tóxicos

Desde una perspectiva toxicológica, el corazón es un órgano vulnerable a una lesión debido a la escasa capacidad proliferativa de los cardiomiocitos. En consecuencia, el tejido no se regenera, sino que responde mediante procesos de remodelación cardíaca, como la hipertrofia y fibrosis, que pueden comprometer la función del miocardio (Kang, 2019).

El término “remodelación cardíaca” se refiere a un grupo de factores moleculares, celulares e intersticiales que se manifiestan clínicamente como cambios en el tamaño, la forma y la función del corazón después de una lesión cardíaca, que resulta en un mal pronóstico debido a su asociación con disfunción cardíaca (Cohn et al., 2000). El cardiomiocito es la principal célula involucrada en el proceso de remodelación cardíaca, aunque otros componentes implicados son los fibroblastos y la vasculatura coronaria (Cohn et al., 2000).

En general, se ha establecido que la respuesta toxicológica del corazón se manifiesta a través de alteraciones como la hipertrofia maladaptativa, arritmias e insuficiencia cardíaca (Kang, 2009). Para comprender estas alteraciones, el infarto agudo de miocardio sirve como un modelo de daño tisular y, por tanto, del desarrollo de remodelaciones cardíacas (Sutton & Sharpe, 2000). En este evento, la obstrucción coronaria impide el aporte de oxígeno y nutrientes, provocando la muerte masiva de cardiomiocitos. En consecuencia, el tejido responde mediante una profunda remodelación: se induce la hipertrofia compensatoria de los cardiomiocitos sobrevivientes y la proliferación de fibroblastos, lo que deriva en fibrosis (cicatrización). Finalmente, esta reorganización estructural compromete la función cardíaca, favoreciendo el desarrollo de arritmias y la progresión hacia la insuficiencia cardíaca (Figura 15) (Sutton & Sharpe, 2000).

Si bien la hipertrofia maladaptativa, la arritmia y la insuficiencia cardíaca se consideran las principales manifestaciones de la cardiotoxicidad, a nivel celular y molecular la remodelación cardíaca es un proceso mucho más complejo. Se trata del resultado de una severa desregulación en las vías de señalización transcripcional, estructural y

electrofisiológica de los cardiomiocitos (Kang, 2009; Burchfield et al., 2013). Simultáneamente, se desencadena una respuesta tisular que incluye la proliferación de fibroblastos y el consecuente depósito de colágeno (fibrosis), y posiblemente la proliferación de células de músculo liso vascular, disfunción endotelial e inflamación (Burchfield et al., 2013).

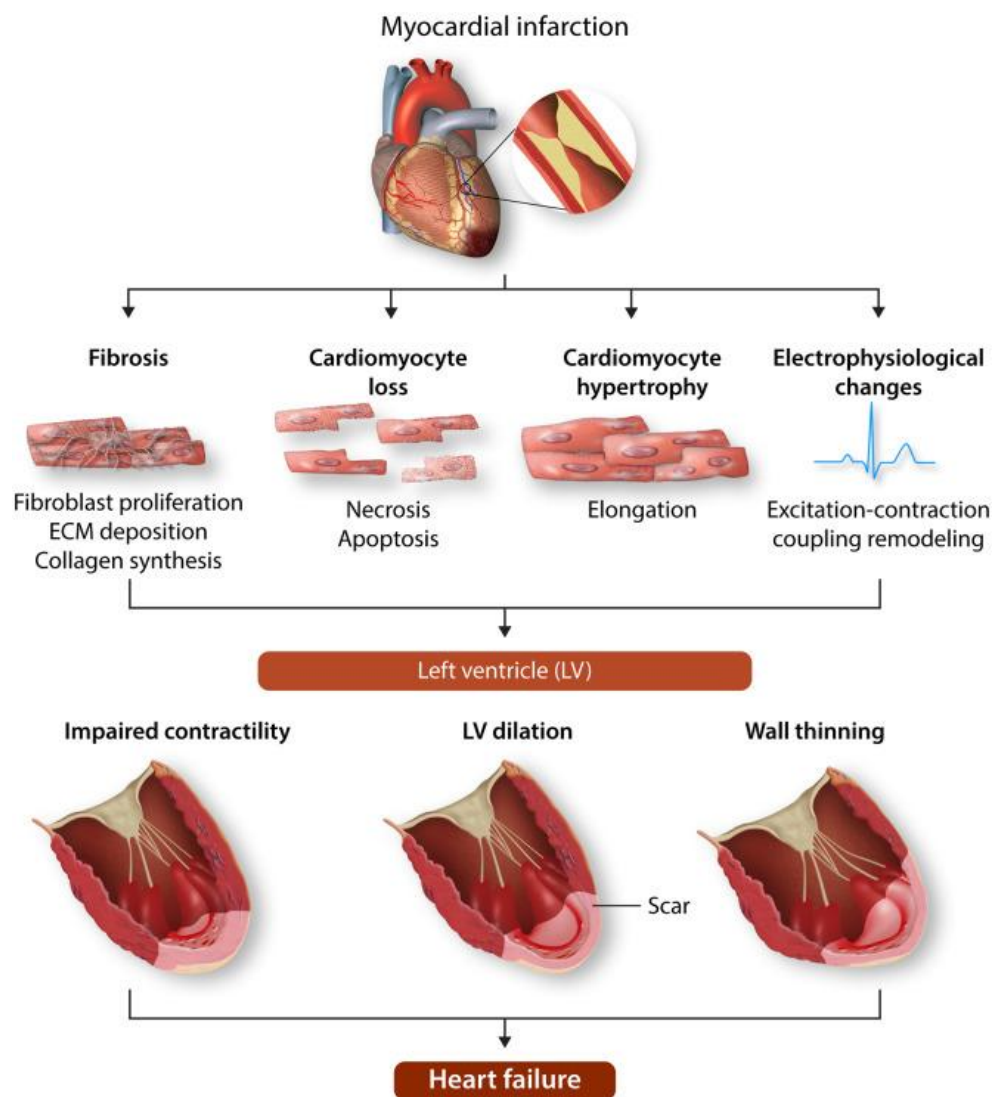


Figura 12. Remodelaciones cardíacas durante el infarto agudo de miocardio. Imagen tomada de Riddell et al. (2020).

II. Antecedentes

Hasta la fecha, la investigación sobre la cardiotoxicidad inducida por AuNPs se ha centrado principalmente en dos áreas: la bioacumulación y las alteraciones histológicas del tejido cardíaco.

En cuanto a la bioacumulación en el corazón, la literatura demuestra que este fenómeno es dependiente del tamaño y la dosis. De Jong y colaboradores (2008) observaron que, tras una única dosis intravenosa de 1 mL, solo las AuNPs más pequeñas de 10 nm (y no las de 50 a 250 nm) lograron distribuirse hacia el corazón. Por su parte, Sonavane y colaboradores (2008) reportaron hallazgos similares empleando una dosis intravenosa mayor (1 g/kg), donde las AuNPs de 15 nm mostraron la distribución cardíaca más amplia frente a tamaños de hasta 200 nm. Además, se ha comprobado que esta bioacumulación es persistente, ya que Fraga y colaboradores (2014) mostraron que una dosis única intravenosa de 0.7 mg/kg de AuNPs de 20 nm logra detectarse en los tejidos hasta 28 días después de su administración.

A nivel histológico, la administración de AuNPs induce varias remodelaciones cardíacas que comprometen al miocardio. El estudio pionero de Abdelhalim (2011a) fue determinante para establecer que la magnitud de este daño depende de las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas y del tiempo de exposición. Al evaluar el efecto de AuNPs de 10, 20 y 50 nm administradas por vía intraperitoneal a una dosis diaria de 100 µL durante periodos de 3 y 7 días, este autor reportó que las nanopartículas más pequeñas inducen lesiones más severas en comparación con las

de mayor tamaño. Además, demostró que la toxicidad es tiempo-dependiente, ya que las alteraciones estructurales del miocardio fueron notablemente más graves, extensas y generalizadas tras 7 días de administración en comparación con las observadas al día 3. En una caracterización histopatológica complementaria, Abdelhalim (2011b) evaluó el efecto de una dosis menor (50 μ L diarios por vía intraperitoneal) administrada igualmente durante 3 y 7 días, e identificó alteraciones vasculares significativas, como congestión y dilatación de los vasos sanguíneos, acompañadas de hemorragias por extravasación. A nivel celular, reportó la presencia de infiltrados inflamatorios y una marcada desorganización de las fibras musculares. Particularmente, destacó la presencia de vacuolización citoplasmática y degeneración vacuolar, señalando que estas alteraciones estructurales son indicativas de un fallo en la regulación del volumen celular y del inicio de procesos necróticos. Recientemente, Jarrar y colaboradores (2022) corroboraron y ampliaron este perfil cardiotóxico. Es importante destacar que, a pesar de utilizar una dosis distinta ajustada al peso corporal (2 mg/kg diarios por vía intraperitoneal durante 20 días), sus hallazgos confirmaron consistentemente que la administración a AuNPs de 10 nm provoca vasos sanguíneos dilatados y congestionados, miólisis cardíaca, infiltración de células inflamatorias, degeneración vacuolar y necrosis de los cardiomiocitos, así como desorganización y desorden de las fibras cardíacas. En conjunto, estos estudios demuestran que el corazón es un órgano blanco susceptible a la toxicidad por AuNPs, sufriendo un daño histológico que abarca desde la inflamación y el estrés hemodinámico hasta la degeneración vacuolar y la necrosis de los cardiomiocitos.

III. Justificación

Las ECV son la principal causa de muerte a nivel mundial (GBD 2021 Causes of Death Collaborators, 2024) y en México (INEGI, 2025). Aunque los factores de riesgo tradicionales son bien conocidos, la evidencia ha consolidado a la contaminación del aire como una causa determinante de la mortalidad cardiovascular (GBD 2019 Risk Factors Collaborators, 2020; Yusuf et al., 2020; Rajagopalan & Landrigan, 2021). El componente más tóxico de esta contaminación son las partículas incidentales (PM_{2.5} y UFP), cuya capacidad de translocarse a la circulación y causar daño sistémico está demostrada (Brook et al., 2010). La toxicidad comprobada de estas partículas plantea una interrogante urgente sobre la seguridad de las nanopartículas ingenierizadas, como las AuNPs. Esta celeridad se ve magnificada por el crecimiento exponencial de las aplicaciones y, por tanto, del mercado de las AuNPs (GVR, 2024). A pesar de esta exposición inminente, la investigación sobre la cardiotoxicidad de las AuNPs es incipiente y se limita a observaciones básicas. Además, existe un vacío de conocimiento fundamental a pesar de confirmar que las AuNPs se bioacumulan en el corazón (De Jong et al., 2008; Fraga et al., 2014) y que inducen daño histológico (Abdelhalim, 2011a; Abdelhalim, 2011b; Jarrar et al., 2022); sin embargo, su repercusión en la función cardíaca permanece desconocida. Esta investigación busca ir más allá del daño histológico descriptivo y proveer el primer análisis enfocado en cómo las AuNPs afectan la topología subcelular de la proteína Cx43, dado que el análisis de su expresión génica *in situ* es un indicador sensible del estado funcional del miocardio.

IV. Pregunta de Investigación

¿Cuál es el impacto de la administración aguda y crónica de AuNPs menores de 20 nm en el desarrollo de remodelaciones cardíacas, así como en las alteraciones de la expresión génica y reorganizaciones de la topología subcelular de la proteína Cx43?

V. Hipótesis

La administración aguda y crónica de AuNPs menores de 20 nm inducirá remodelaciones cardíacas, promoviendo alteraciones en la expresión génica y en la topología subcelular de la proteína Cx43. Ambos estímulos incrementarán a medida que aumenta el tiempo de administración y disminuya el tamaño de las nanopartículas.

VI. Objetivos

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración aguda y crónica de AuNPs menores de 20 nm en las remodelaciones cardíacas, así como en la expresión génica y la topología subcelular de la proteína Cx43 en el miocardio ventricular.

6.2. Objetivos específicos

1. Determinar las remodelaciones cardíacas desarrolladas a diferentes niveles.
2. Determinar las alteraciones en la expresión génica y reorganizaciones de la topología subcelular de la proteína Cx43.
3. Evaluar los cambios en la composición del disco intercalar de los cardiomiocitos ventriculares.

VII. Materiales y Métodos

7.1. Animales y diseño experimental

Se utilizaron 48 ratones macho de la cepa C57BL/6j de 8-10 semanas de edad, que fueron proporcionados por la Unidad de Manejo de Animales para la Docencia e Investigación de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I). Se formaron aleatoriamente seis grupos experimentales que se administraron con diferentes tamaños de AuNPs (5, 10 o 15 nm) en dos condiciones temporales: una administración aguda de 7 días (AuNP-A) y otra crónica de 28 días (AuNP-C), y los respectivos grupos control.

- **Grupo AuNP-5A y Grupo AuNP-5C.** Administración de AuNPs de 5 nm ($[\sim 5.5 \times 10^{13} \text{ AuNPs/mL PBS}]$, No. 752568, Sigma-Aldrich, EE. UU.) (6 ratones por grupo).
- **Grupo AuNP-10A y Grupo AuNP-10C.** Administración de AuNPs de 10 nm ($[\sim 6.0 \times 10^{12} \text{ AuNPs/mL PBS}]$, No. 752584, Sigma-Aldrich, EE. UU.) (6 ratones por grupo).
- **Grupo AuNP-15A y Grupo AuNP-15C.** Administración de AuNPs de 15 nm ($[\sim 1.64 \times 10^{12} \text{ AuNPs/mL PBS}]$, No. 777099, Sigma-Aldrich, EE. UU.) (6 ratones por grupo).
- **Grupo Control-A y Grupo Control-C.** Administración del vehículo (solución salina tamponada de fosfatos [PBS] 0.01 mM) (6 ratones por grupo).

A todos los grupos experimentales, se les administró 30 μ L/día de AuNPs esféricas desnudas intraperitonealmente (i.p), de acuerdo con las dosis reportadas en la literatura (Abdelhalim, 2011a; Abdelhalim, 2011b). Los grupos control fueron administrados con el vehículo (PBS 0.01 mM) por la misma vía y dosis. Durante el experimento, los animales fueron alojados en la Unidad de Manejo de Animales para la Docencia e Investigación de la UAM-I. Se mantuvieron en jaulas especiales para roedores bajo un ciclo de luz/oscuridad controlado de 12 horas. Todos los animales tuvieron acceso *ad libitum* a alimento (dieta estándar, LabDiet Rodent 5001) y agua potable.

El manejo, los experimentos y la eutanasia de los animales se realizaron conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”.

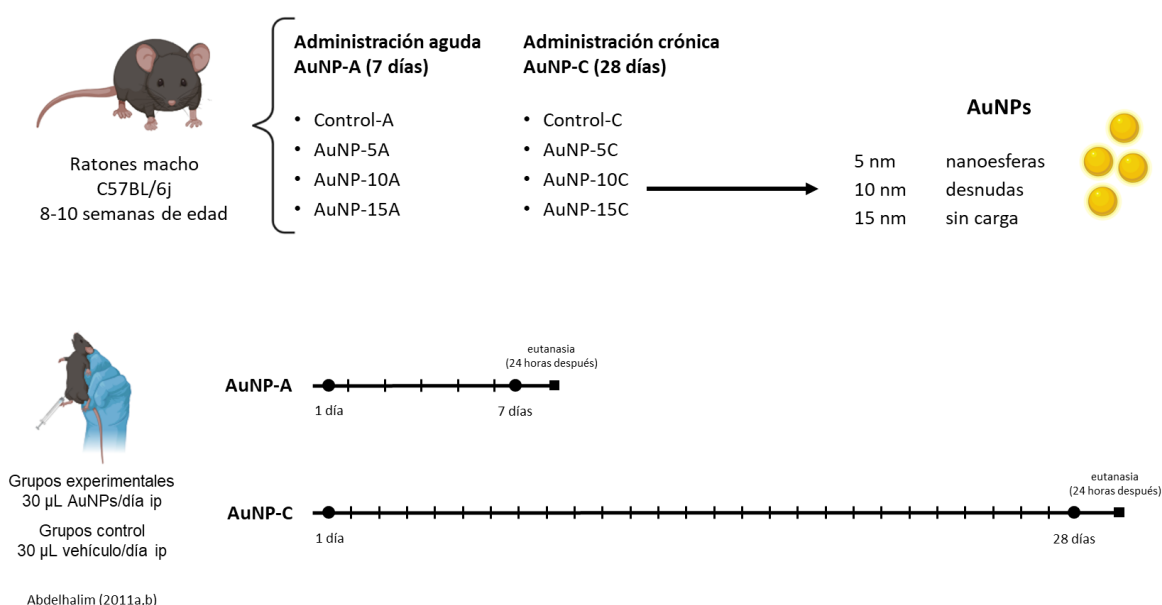


Figura 13. Resumen gráfico del diseño experimental. Esquema creado <https://BioRender.com>.

Al finalizar el experimento, se realizó eutanasia bajo narcosis con avertina (2,2,2-tribromoethanol al 2.5%, Sigma-Aldrich, EE. UU.) 24 horas después del último día de administración (Figura 13). Se colectó sangre de la vena cava inferior y se disecaron los corazones. Por un lado, la sangre colectada se dejó coagular a temperatura ambiente y, posteriormente, se centrifugó a 4,000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos a 4°C para obtener el suero sanguíneo. El suero se almacenó en crioviales a -70°C hasta su análisis. En tanto, los corazones se pasaron por toallas absorbentes para eliminar el exceso de líquidos, se pesaron, se lavaron con PBS y se tomaron fotografías de la anatomía de superficie con un microscopio estereoscópico acoplado a cámara fotográfica (AxioCam ERc 5s, ZEISS, Alemania). Después, tres corazones se fijaron con tampón de formalina neutra (NBF) al 10% para las técnicas de histología e inmunofluorescencia, mientras que los corazones restantes se almacenaron en crioviales a -80 °C para los ensayos de western blot.

7.2. Peso corporal y longitud de tibia

El peso corporal de los ratones se registró a lo largo del experimento: al inicio y al final de la administración aguda, y cada siete días durante la administración crónica. Adicionalmente, al final del experimento se midió la longitud de la tibia.

7.3. Perfil bioquímico sérico

Con la finalidad de determinar daño sistémico, los niveles séricos de la aspartato aminotransferasa (AST), la creatina cinasa (CK), el nitrógeno ureico (BUN), las proteínas totales (T-Prot) y el colesterol total (T-Cho) se midieron usando el suero

obtenido de todos los grupos experimentales (ver sección 7.1) a través de tiras reactivas SPOTCHEM li Heart-2 mediante el analizador automatizado SpotChem EZ SP-4430 (ARKRAY, Minneapolis, MN, EE. UU.).

7.4. Anatomía de superficie, índice de esfericidad y peso cardíaco

El análisis de la anatomía de superficie del corazón se realizó evaluando la silueta cardíaca, en particular la superficie ventral y los bordes del corazón con un microscopio estereoscópico acoplado a cámara fotográfica (AxioCam ERc 5s, ZEISS, Alemania). Adicionalmente, se determinó el índice de esfericidad para evaluar la geometría elipsoidal o esférica del corazón. Este parámetro se obtuvo midiendo, en la cara ventral del corazón, tanto el ancho máximo ventricular (longitud del eje corto) como la distancia desde la base hasta el ápex (longitud del eje largo). Posteriormente, el índice de esfericidad se calculó mediante la siguiente relación:

$$\text{Índice de esfericidad} = \frac{\text{Longitud del eje corto}}{\text{Longitud del eje largo}}$$

Para identificar cambios en el peso cardíaco asociados a alteraciones en la masa del corazón (hipertrofia o atrofia), se midió el peso cardíaco, el peso corporal y la longitud de la tibia. Posteriormente, se analizó tanto el peso cardíaco absoluto como su normalización, calculada mediante dos cocientes:

$$\text{Peso cardíaco} = \frac{\text{Peso cardíaco}}{\text{Peso corporal}} \quad \text{y} \quad \text{Peso cardíaco} = \frac{\text{Peso cardíaco}}{\text{Longitud de tibia}}$$

7.5. Histología

Tras 48 horas de fijación con NBF al 10%, los corazones disecados se usaron para evaluar las remodelaciones cardíacas internas y tisulares. Posteriormente, los tejidos fueron deshidratados con concentraciones ascendentes de etanol, aclarados con xileno (Sigma-Aldrich, EE. UU.) y embebidos en medio de inclusión de parafina (Tissue-Tek, EE. UU.). Se obtuvieron cortes histológicos coronales de 5 micrómetros (μm) de grosor mediante un microtomo (Leica Biosystems, Alemania), todos al nivel medio de la válvula aórtica. Los cortes se tiñeron mediante la técnica de hematoxilina y eosina (H&E) como tinción de rutina, y con Rojo Sirio para la cuantificación de depósitos de colágeno.

7.5.1. Análisis de microfotografías de histología

Se realizaron cálculos morfométricos del área ventricular, espesor de las paredes libres ventriculares y del TIV; todos los parámetros fueron normalizados respecto a la longitud de la tibia. Estas mediciones se determinaron a partir del análisis de microfotografías tomadas a un aumento de $8\times$, con una resolución de 2560×1920 píxeles, considerando que 230 píxeles equivalen a 1 mm. Adicionalmente, se determinó el diámetro transversal (o ancho) de los cardiomiocitos en las paredes ventriculares y TIV. Las mediciones se realizaron sobre microfotografías tomadas a un aumento de $400\times$, con una resolución de 2592×1944 , definiendo que 10.2 píxeles equivalen a $1 \mu\text{m}$.

Por su parte, la cuantificación de depósitos de colágeno se realizó en microfotografías del intersticio y la región perivascular de la arteria coronaria izquierda, tomadas a un

aumento de 400x con luz coherente láser de 568 nm mediante un microscopio confocal (LSM 780 NLO, Carl Zeiss, Alemania), con resolución de 1024 x 1024 píxeles, donde 4.8177 píxeles equivale a 1 μ m.

En todos los casos, se consideró una n de al menos tres animales, con cuatro microfotografías por animal. El procesamiento y la cuantificación de microfotografías se realizaron con el software Fiji/ImageJ.

Finalmente, el análisis histopatológico de las paredes libres ventriculares y la pared del TIV se realizó siguiendo los criterios establecidos para lesiones cardiovasculares en ratones, según lo reportado por Barritge y colaboradores (2016).

7.6. Western blot

Para conocer la expresión de la proteína de Cx43 en el corazón, se disgregaron 30 mg de tejido cardíaco ventricular con 500 μ L de solución amortiguadora de lisis (reactivo de extracción de proteínas T-PER™ [Thermo Scientific, EE. UU.] una pastilla inhibidora de proteasas cOmplete™ y una pastilla inhibidora de fosfatasas PhosSTOP™ [Roche, Suiza]), utilizando un homogeneizador Dounce. Las muestras homogenizadas se centrifugaron a 14,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C, y los sobrenadantes recuperados se alicuotaron y almacenaron a -70 °C hasta su análisis.

La cuantificación de la proteína total se realizó utilizando el kit comercial Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific, EE. UU.). Se emplearon 5 μ L de cada muestra por duplicado en una dilución 1:5 con 20 μ L de agua y, posteriormente, se incubaron a 37 °C por 30 minutos con 200 μ L del reactivo del BCA. De inmediato, se obtuvieron las absorbancias a 595 nm en un Multimode Detector (DTX880, Beckman Coulter, EE.

UU.) y se determinó la concentración de la proteína utilizando la curva estándar de albúmina sérica de bovino de 25 a 2000 µg/ml.

Se agregaron 60 µg de proteína total en solución amortiguadora de muestra Laemmli 2x (Bio-Rad Laboratories, EE. UU.) y, seguidamente, se desnaturalizaron a 93 °C durante 7 minutos. Las proteínas se separaron en geles de poliacrilamida al 10% mediante electroforesis a 120 milivolts (mV) durante 2 horas, utilizando una solución amortiguadora de corrida estándar. Las proteínas se transfirieron inmediatamente a una membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF) mediante electrotransferencia a 120 mV durante 2 horas a 4 °C. La membrana se bloqueó con leche descremada Blotto (Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) al 5 % en TBS-Tween 20 (TBS-T20) durante 60 minutos a temperatura ambiente y, posteriormente, se lavó con TBS-T20. Se incubaron los anticuerpos primarios para Cx43 y p^{S368}Cx43 (Tabla 1) toda la noche a 4 °C y agitación lenta. Tras lavados con TBS-T20, las membranas se incubaron con el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP), de acuerdo con la especie del anticuerpo primario (Tabla 2). Como control de carga se utilizó un anticuerpo monoclonal anti-β-actina. La inmunodetección se realizó mediante luminol y peróxido de hidrógeno al 3%, y los blots fueron visualizados y fotografiados en un sistema de documentación ChemiDoc Imaging System (Bio-Rad Laboratories, EE. UU.).

Se cuantificó la expresión de las proteínas de interés mediante densitometrías de bandas mediante el protocolo estándar del software Fiji/ImageJ, y la expresión de las proteínas se normalizó tanto con el control de carga (β-actina) como al control

experimental (Control-A y Control-C). El análisis se efectuó con una n de tres animales, con dos repeticiones técnicas por muestra.

7.7. Inmunofluorescencia

Para evaluar la expresión *in situ* de la proteína Cx43 y otras proteínas, se realizaron ensayos de inmunodetección de proteínas mediante microscopía confocal.

Inicialmente, se desparafinaron cortes histológicos en un horno a 60 °C y, posteriormente, con xileno. Después, se rehidrataron en gradiente descendente de etanol y se realizó recuperación antigénica con solución amortiguadora de citratos (Biogenex Laboratories, EE. UU.) en olla de presión eléctrica durante 10 minutos. Las muestras se permeabilizaron con PBS-Tween 20 (PBS-T20) al 0.01% y se incubaron con bloqueador universal de proteínas UltraCruz (sc-516214, Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) durante 10 minutos. Las muestras se incubaron durante toda la noche a 4 °C con los anticuerpos primarios Cx43, p^{S368}Cx43, p^{S262}Cx43 o PCNA (Tabla 1). Al día siguiente, se hicieron lavados con PBS-T20, se incubaron con los anticuerpos secundarios según la especie del anticuerpo primario (Tabla 2), durante 2 horas a temperatura ambiente en oscuridad. Para inmunodetección doble, las muestras se incubaron de manera secuencial con los anticuerpos primarios Cx43 y β -catenina (Tabla 1) y sus secundarios correspondientes (Tabla 2), durante 2 horas a temperatura ambiente en oscuridad, cada anticuerpo. En ambos casos, las muestras se lavaron con PBS-T20, los núcleos se tiñeron con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) a una dilución 1:1000, se montaron con PBS y se sellaron con barniz.

Las muestras se observaron y fotografiaron en un microscopio confocal LSM 780 NLO (Carl Zeiss, Alemania). Adicionalmente, se adquirieron secciones ópticas seriadas (Z-stack) para generar reconstrucciones tridimensionales y evaluar la distribución espacial conjunta de las proteínas Cx43 y β -catenina.

Tabla 1. Anticuerpos primarios para inmunodetectar proteínas de interés.

Anticuerpo	Número de catálogo	Dilución	Marca
connexin 43 (goat polyclonal)	sc-3560	IF 1:200	Santa Cruz Biotechnology
connexin 43 (mouse monoclonal)	sc-271837	WB 1:200	Santa Cruz Biotechnology
p ^{S368} connexin 43 (rabbit polyclonal)	sc-101660	IF 1:200 WB 1:250	Santa Cruz Biotechnology
p ^{S262} connexin (rabbit polyclonal)	sc-22267-R	IF 1:200	Santa Cruz Biotechnology
β -catenin (mouse monoclonal)	sc-7963	IF 1:200	Santa Cruz Biotechnology
PCNA (mouse monoclonal)	sc-56	IF 1:100	Santa Cruz Biotechnology
β -actina	A3854	WB 1:10,000 (control de carga)	Sigma-Aldrich

Abreviaturas: Inmunofluorescencia (IF), Western Blot (WB)

Tabla 2. Anticuerpos secundarios.

Anticuerpo	Número de catálogo	Dilución	Marca
Goat anti-Mouse IgG-Alexa Fluor™ 488	A11059	IF 1:300	Invitrogen
Rabbit Anti-Mouse IgG H&L (HRP)	AB6728	WB 1:10,000	Abcam
Goat anti-Rabbit IgG-Alexa Fluor™ 488	A11008	IF 1:300	Invitrogen
Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP)	AB6721	WB 1:10,000	Abcam
Donkey anti-goat IgG-R	sc-2094	IF 1:200	Santa Cruz Biotechnology

Abreviaturas: Inmunofluorescencia (IF), Western Blot (WB)

7.7.1. Análisis de microfotografías de inmunofluorescencia

Se cuantificó la inmunodetección de las proteínas como área de expresión *in situ* a partir del análisis de microfotografías a un aumento de 400× con resolución de 1024 × 1024 píxeles, donde 4.8177 píxeles equivalen a 1 µm.

Por otro lado, se calculó el índice de proliferación de fibroblastos cardíacos a través de la siguiente relación:

$$\text{Índice de proliferación} = \frac{\text{Número de células PCNA positivas}}{\text{Número total de células}}$$

De manera similar, el índice de co-localización de Cx43 y β-catenina se determinó de la siguiente manera:

$$\text{Índice de co-localización} = \frac{\text{Área de co-localización}}{\text{Área total de inmunodetección}}$$

Para el análisis de la proteína Cx43 total y la fracción fosforilada en el residuo S368 (p^{S368}Cx43), se usaron las clasificaciones propuesta por Kawamoto et al. (2014), Yukinobu et al. (2021) y Billur et al. (2022), con algunas modificaciones. Se categorizó la expresión de las proteínas según la localización subcelular en cardiomiocitos: inmersas en el disco intercalar, internalizadas en el citoplasma y lateralizadas en la membrana plasmática lateral del cardiomiocito. El porcentaje de cada categoría se calculó considerando el área de expresión subcelular respecto al área total de expresión *in situ*. Por otro lado, la fracción fosforilada en el residuo S262 (p^{S262}Cx43)

se analizó como la relación entre el área de fosforilación y el área nuclear total, en cardiomiocitos y fibroblastos.

En todos los casos, el procesamiento y la cuantificación de las microfotografías se realizaron con el software Fiji/ImageJ.

7.8. Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron con al menos tres animales por grupo. Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar (DE). Para el análisis estadístico, se evaluó la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con la prueba de Levene. Una vez establecida la normalidad y homocedasticidad, se empleó un ANOVA de una vía para comparar los grupos de administración aguda o crónica, y un ANOVA de dos vías para analizar las diferencias entre ambos tipos de administración. En caso de significancia estadística, se aplicó la prueba post hoc de Tukey-Kramer. El procesamiento de los datos se llevó a cabo utilizando los programas GraphPad Prism 9.4.1 (GraphPad Software, San Diego, California, EE. UU.) y NCSS Statistical Software 20.0.8 (NCSS, LLC, Kaysville, Utah, EE. UU.). Las diferencias se consideraron significativas con un valor de $p < 0.05$.

VIII. Resultados

Con el fin de estudiar el efecto de la administración aguda (7 días) y crónica (28 días) de AuNPs esféricas de diferentes tamaños (5, 10 y 15 nm) en el desarrollo de remodelaciones cardíacas, se evaluaron cambios a nivel sistémico, anatómico, tisular, celular y molecular del corazón. El análisis incluyó la evaluación de biomarcadores cardíacos, anatomía de superficie, morfometría e histopatología ventricular. Además, se investigaron cambios en la expresión total e *in situ* de la proteína Cx43, así como en dos sitios de fosforilación. En todos los casos, se consideraron las posibles variaciones dependientes del tamaño de las nanopartículas y del tiempo de administración.

8.1. Supervivencia y peso corporal durante la administración de AuNPs

Durante el experimento se registró un deceso en el grupo experimental AuNP-C al día 10 de administración (Figura 14A). El resto de los animales se mantuvo con comportamiento normal y sin evidencia de alteraciones en el pelaje o cambios de conducta durante todo el periodo experimental.

Ninguno de los grupos, tanto para AuNP-A y AuNP-C, presentaron cambios significativos en el peso corporal respecto a sus propios controles (Figura 14B). En conjunto, estos datos indican que la administración de AuNPs, independientemente del tamaño de la nanopartícula o del tiempo de administración, no tuvo un efecto adverso sobre el peso corporal de los animales.

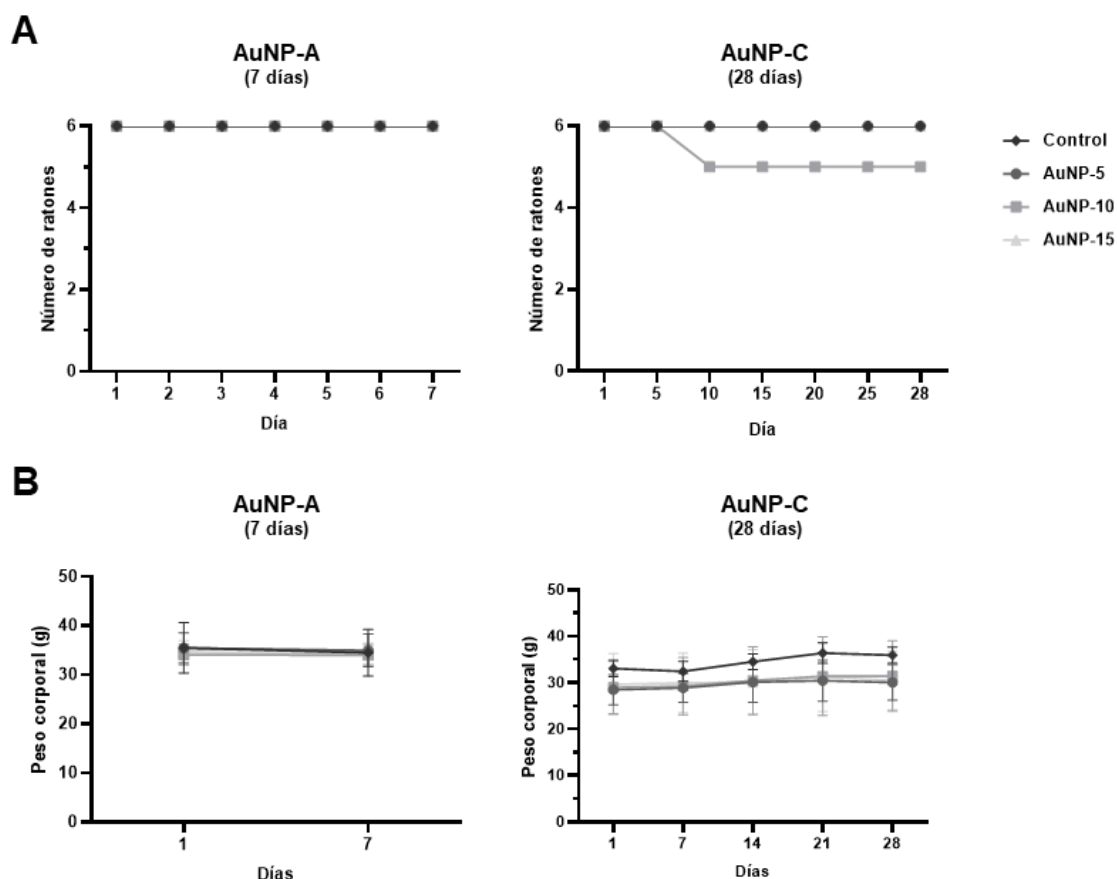


Figura 14. Efecto de la administración aguda y crónica de AuNPs en la supervivencia y el peso corporal de los animales. A. Supervivencia durante 7 y 28 días de administración; los símbolos representan el número de animales supervivientes en cada grupo. B. Peso corporal durante 7 y 28 días de administración; los valores corresponden a la media $\pm$ DE de 5-6 animales por grupo.

8.2. Evaluación del perfil sérico en animales administrados con AuNPs

Con el fin de explorar posibles alteraciones sistémicas asociadas a daño cardíaco, se evaluaron biomarcadores séricos en animales sometidos a la administración aguda y crónica de AuNPs. Los niveles de T-Cho, T-Prot, BUN y AST (Figura 15A-D) no mostraron diferencias significativas entre los grupos y se mantuvieron dentro de los

valores de referencia descritos para la cepa de ratones C57BL/6J (Mazzaccara et al., 2008; Silva-Santana et al., 2020).

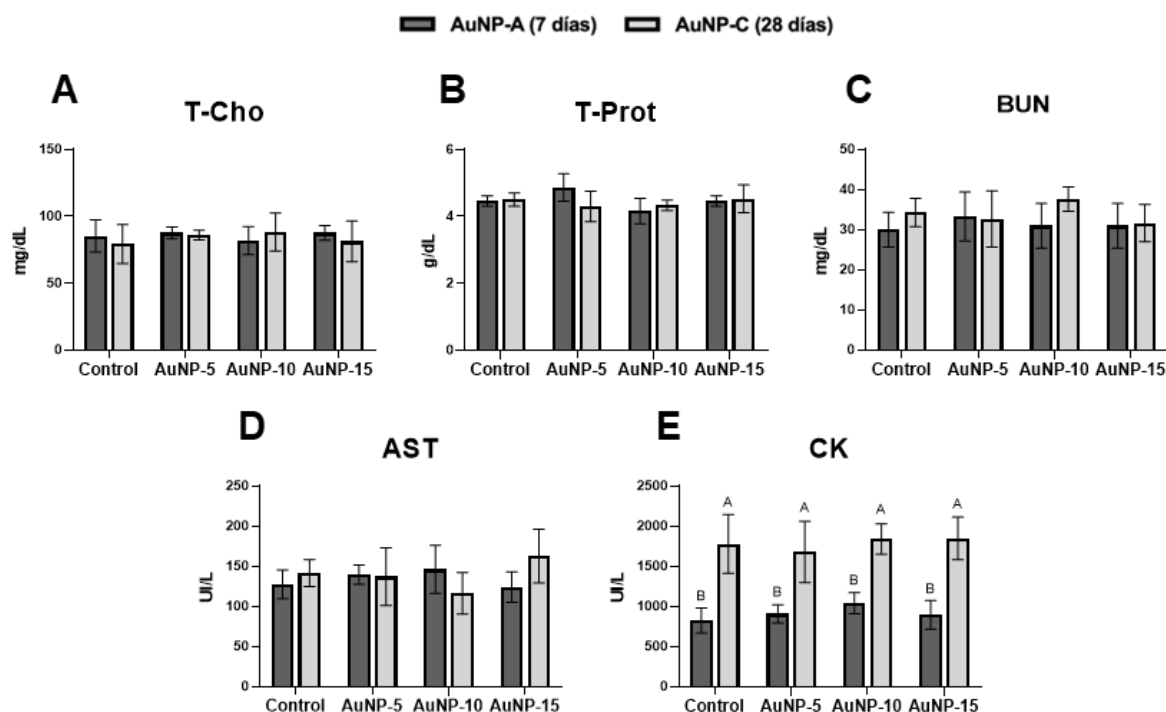


Figura 15. Perfil sérico cardíaco en animales administrados con AuNPs. A. Colesterol total (T-Cho). B. Proteínas totales (T-Prot). C. Nitrógeno ureico en sangre (BUN). D. Aspartato aminotransferasa (AST). E. Creatina cinasa (CK). Los valores corresponden a la media $\pm$ DE de 4 animales por grupo. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas: A $\neq$ B ($p < 0.05$).

En contraste, se observó un incremento en los niveles de CK en todos los grupos AuNP-C, incluido el grupo Control-C (Figura 15E). Este hallazgo sugiere que el aumento de CK no representa un efecto de toxicidad específico de las AuNPs. Por el contrario, este efecto podría ser una respuesta inflamatoria relacionada con la administración intraperitoneal crónica del vehículo.

8.3. Efecto de la administración de AuNPs en la anatomía del corazón

8.3.1. Peso cardíaco, índice de esfericidad y anatomía de superficie

Para evaluar cambios macroscópicos en el corazón, se midió el peso cardíaco para identificar hipertrofia o atrofia. También, se obtuvo el índice de esfericidad para evaluar la geometría del corazón. Por último, se realizó una evaluación de la anatomía de superficie.

En los grupos AuNP-A, el peso cardíaco no mostró cambios significativos en ninguno de los tres parámetros analizados: peso cardíaco absoluto (Figura 16A) y los cocientes normalizados por peso corporal (Figura 16B) o por longitud de la tibia (Figura 16C). Asimismo, el índice de esfericidad indicó que los grupos AuNP-A conservaron una morfología elipsoidal, similar a la del grupo Control-A (Figura 16D). La evaluación de la anatomía de superficie mostró que los corazones de los grupos AuNP-A no presentaron cambios en la silueta cardíaca ni en la cara ventral del corazón, ya que conservaron la anatomía de superficie de los corazones del grupo Control-A (Figura 16E).

En los grupos AuNP-C, el peso cardíaco tampoco mostró cambios significativos en ninguno de los parámetros analizados (Figura 17A-C). Sin embargo, el índice de esfericidad mostró un aumento significativo en los grupos AuNP-C, lo que indica una transición hacia una morfología esférica en contraste con la geometría elipsoidal del grupo Control-C. A su vez, los grupos AuNP-5C y AuNP-10C presentaron valores significativamente mayores que el grupo AuNP-15C, lo que sugiere que el remodelado geométrico es más evidente en estos grupos (Figura 17D).

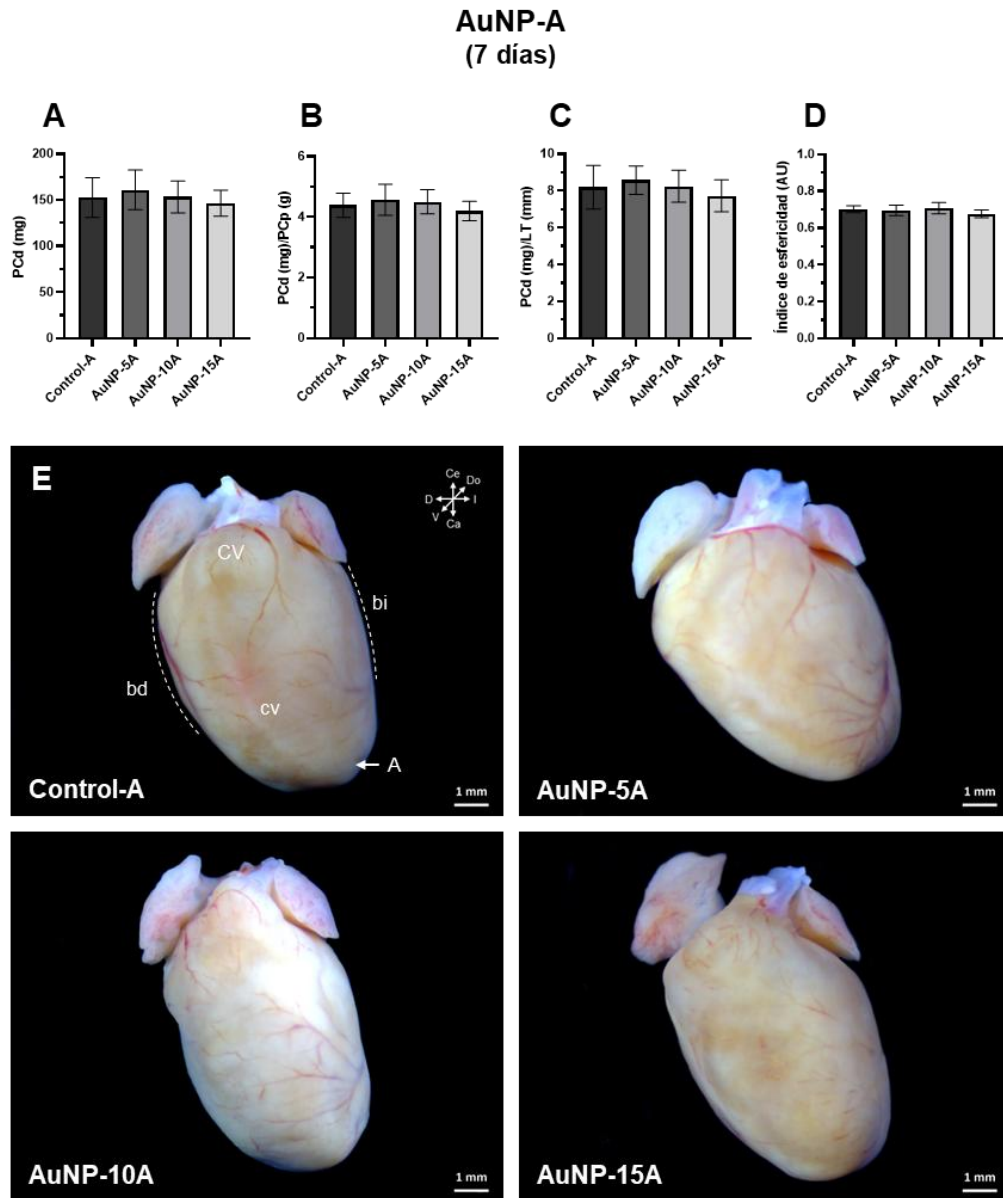


Figura 16. Efecto de la administración aguda de AuNPs en el peso cardíaco, el índice de esfericidad y la anatomía de superficie del corazón. A. Peso cardíaco (PCd) absoluto. B. Cociente entre el peso cardíaco (PCd) y el peso corporal (PCp). C. Cociente entre el peso cardíaco (PCd) y la longitud de la tibia (LT). D. Índice de esfericidad. En las gráficas, se representa la media $\pm$ DE de al menos 6 animales por grupo. E. Microfotografías representativas de corazones del grupo Control-A y los grupos AuNP-A. Aumento 10x. Abreviaturas: ápex (A), borde derecho (bd), borde izquierdo (bi), cono ventricular (CV), cara ventral (cv). Brújula: caudal (Ca), cefálico (Ce), derecha (D), izquierda (I), ventral (V), dorsal (Do).

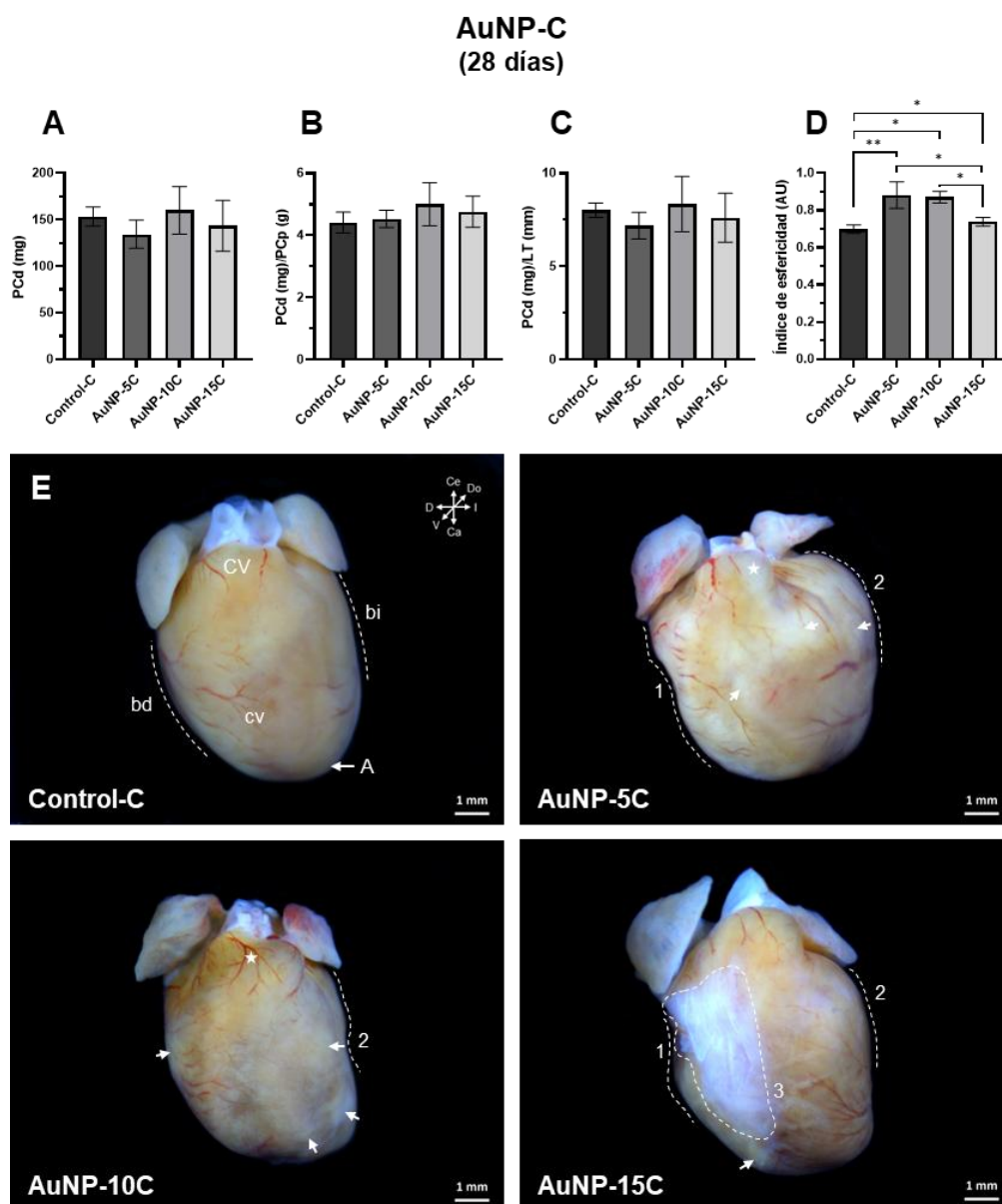


Figura 17. Efecto de la administración crónica de AuNPs en el peso cardíaco, el índice de esfericidad y la anatomía de superficie del corazón. A. Peso cardíaco (PCd) absoluto. B. Cociente entre el peso cardíaco (PCd) y el peso corporal (PCp). C. Cociente entre el peso cardíaco (PCd) y la longitud de la tibia (LT). D. Índice de esfericidad. En las gráficas, se representa la media $\pm$ DE de al menos 5-6 animales por grupo. E. Microfotografías representativas de corazones del grupo Control-C y los grupos AuNP-C. Aumento 10x. En los grupos AuNP-C se observaron deformidades en la silueta cardíaca, como pérdida de la simetría de los bordes derecho (1) e izquierdo (2) del corazón, deformidades del cono ventricular (★) y presencia de abultamientos en la pared ventral cardíaca (flechas). Además, en un ratón del grupo AuNP-15C se identificó de color blanco una posible zona de necrosis (3). Abreviaturas: ápex (A), borde derecho (bd), borde izquierdo (bi), cono ventricular (CV), cara ventral (cv). Brújula: caudal (Ca), cefálico (Ce), derecha (D), izquierda (I), ventral (V), dorsal (Do). * $p < 0.05$ y ** $p < 0.005$.

Adicionalmente, la evaluación de la anatomía de superficie reveló que los corazones de los grupos AuNP-C presentaron alteraciones en la silueta cardíaca, la cara ventral y el cono ventricular del corazón en comparación con el grupo Control-C. Específicamente, los grupos AuNP-5C y AuNP-15C mostraron una pérdida de simetría tanto en el borde derecho como en el borde izquierdo, mientras que en el grupo AuNP-10C esta alteración se limitó al borde izquierdo. En los grupos AuNP-5C y AuNP-10C, se observaron deformidades en la estructura del cono ventricular. Además, todos los grupos AuNP-C presentaron abultamientos en la cara ventral cardíaca. También, en un animal del grupo AuNP-15C se identificó una posible zona de necrosis de coloración blanquecina en la cara ventral del VD (Figura 17E).

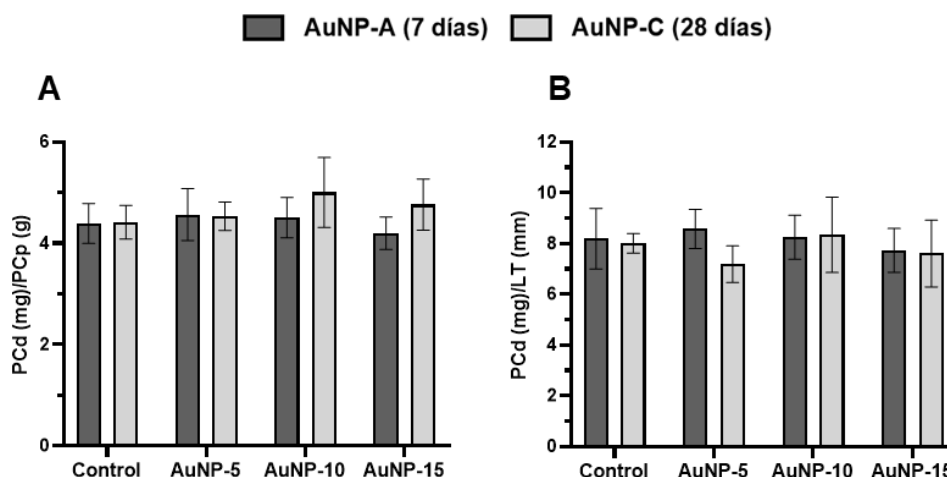


Figura 18. Efecto de la administración aguda y crónica de AuNPs en el peso del corazón. A. Cociente entre el peso cardíaco (PCd) y el peso corporal (PCp). B. Cociente entre el peso cardíaco (PCd) y la longitud de la tibia (LT).

Como se mencionó previamente, ninguno de los grupos AuNP-A y AuNP-C presentó cambios significativos en el peso cardíaco en función del tamaño de las nanopartículas. De igual forma, al analizar el cociente entre peso cardíaco y peso corporal (Figura 18A), así como el cociente entre peso cardíaco y la longitud de la extremidad posterior (Figura 18B), no se identificaron diferencias significativas atribuibles ni al tamaño de las nanopartículas ni al tiempo de administración.

8.3.2. Morfometría ventricular

Para evaluar los cambios anatómicos internos de corazón asociados al desarrollo de hipertrofia o atrofia, se realizó un análisis morfométrico del segmento ventricular.

En los grupos AuNP-A (Figura 19A), el análisis morfométrico no reveló cambios en el área ventricular, el espesor de las paredes libres ventriculares ni en el espesor del TIV con respecto al grupo Control-A (Figura 19B-E). En contraste, los corazones de los grupos AuNP-C mostraron remodelaciones ventriculares con respecto al Control-C (Figura 20A). Específicamente, los grupos AuNP-C presentaron una reducción significativa del área ventricular (Figura 20B). El espesor de la pared libre del Vi también disminuyó en todos los grupos AuNP-C (Figura 20C), mientras que la pared libre del Vd no presentó cambios en el espesor (Figura 20E). De manera similar, el espesor del TIV se redujo de manera significativa solo en los grupos AuNP-5C y AuNP-15C (Figura 20D).

Para determinar si la atrofia ventricular observada en los grupos AuNP-C era consecuencia de una reducción del tamaño celular, se cuantificó el diámetro transversal de los cardiomiocitos en la pared libre del Vi y el TIV.

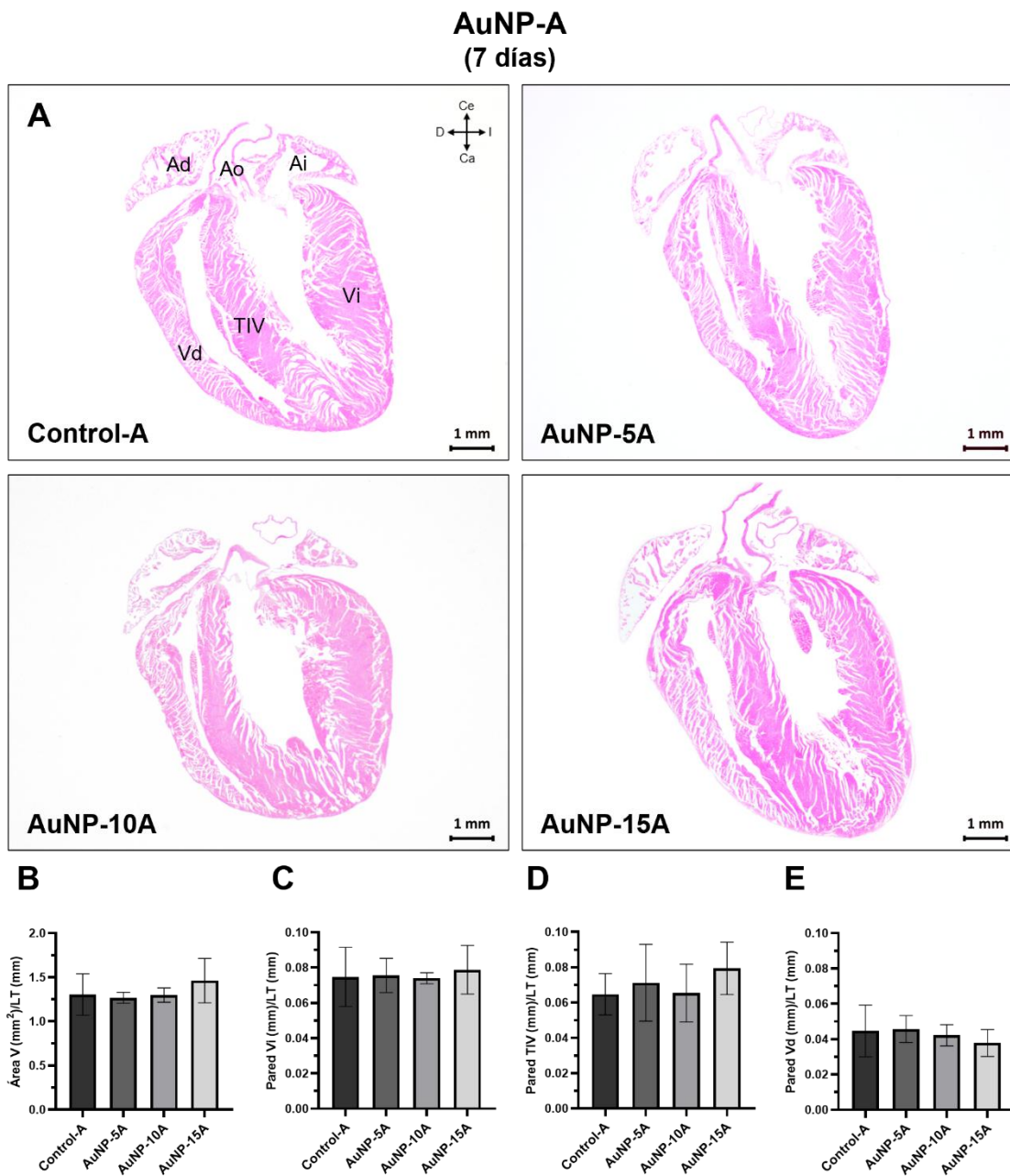


Figura 19. Efecto de la administración aguda de AuNPs en la morfometría ventricular. A. Microfotografías representativas de cortes histológicos coronales a nivel medio de la válvula aórtica de los corazones del grupo Control-A y los grupos AuNP-A (aumento 10x). B. Área ventricular. C. Espesor de la pared del Vi. D. Espesor del TIV. E. Espesor de la pared Vd. En las gráficas, se representa la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 4 cortes histológicos seriados por animal). Todas las mediciones están normalizadas a la longitud de la tibia (LT). Abreviaturas: atrio derecho (Ad), atrio izquierdo (Ai), aorta (Ao), tabique interventricular (TIV), ventrículo izquierdo (Vi) y ventrículo derecho (Vd) Brújula: caudal (Ca), cefálico (Ce), derecha (D), izquierda (I), ventral (V), dorsal (Do).

AuNP-C (28 días)

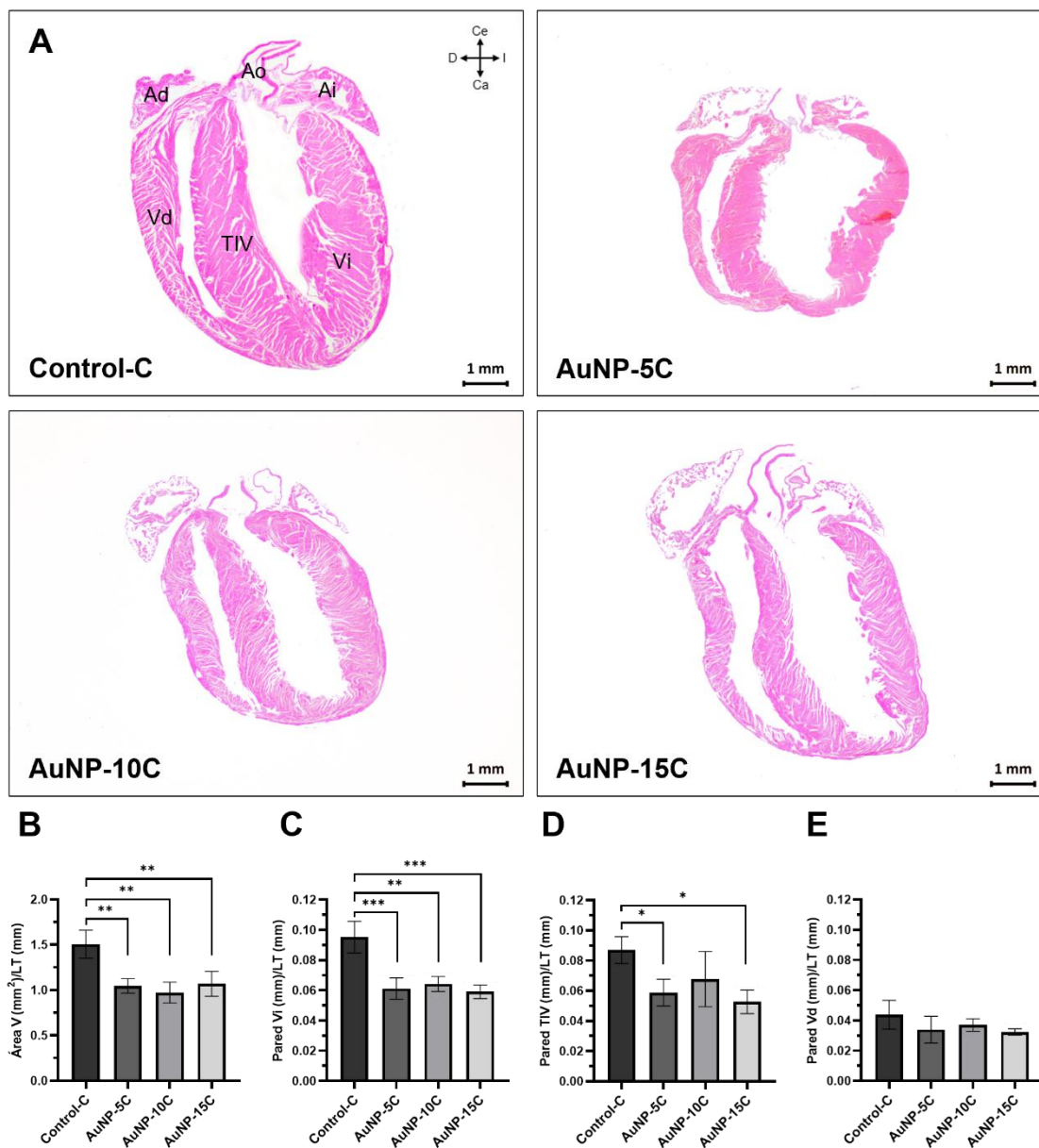


Figura 20. Efecto de la administración crónica de AuNPs en la morfometría ventricular. A. Microfotografías representativas de cortes histológicos coronales a nivel medio de la válvula aórtica de los corazones del grupo Control-C y los grupos AuNP-C (aumento 10x). B. Área ventricular. C. Espesor de la pared del Vi. D. Espesor del TIV. E. Espesor de a pared Vd. En las gráficas, se representa la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 4 cortes histológicos seriados por animal). Todas las mediciones están normalizadas a la longitud de la extremidad posterior (LEP). Abreviaturas: atrio derecho (Ad), atrio izquierdo (Ai), aorta (Ao), tabique interventricular (TIV), ventrículo izquierdo (Vi) y ventrículo derecho (Vd) Brújula: caudal (Ca), cefálico (Ce), derecha (D), izquierda (I), ventral (V), dorsal (Do). * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ y *** $p < 0.0005$.

Este análisis morfométrico confirmó un adelgazamiento celular significativo en todos los grupos AuNP-C, afectando tanto al Vi (Figura 21A) como al TIV (Figura 21B) en comparación con el grupo Control-C.

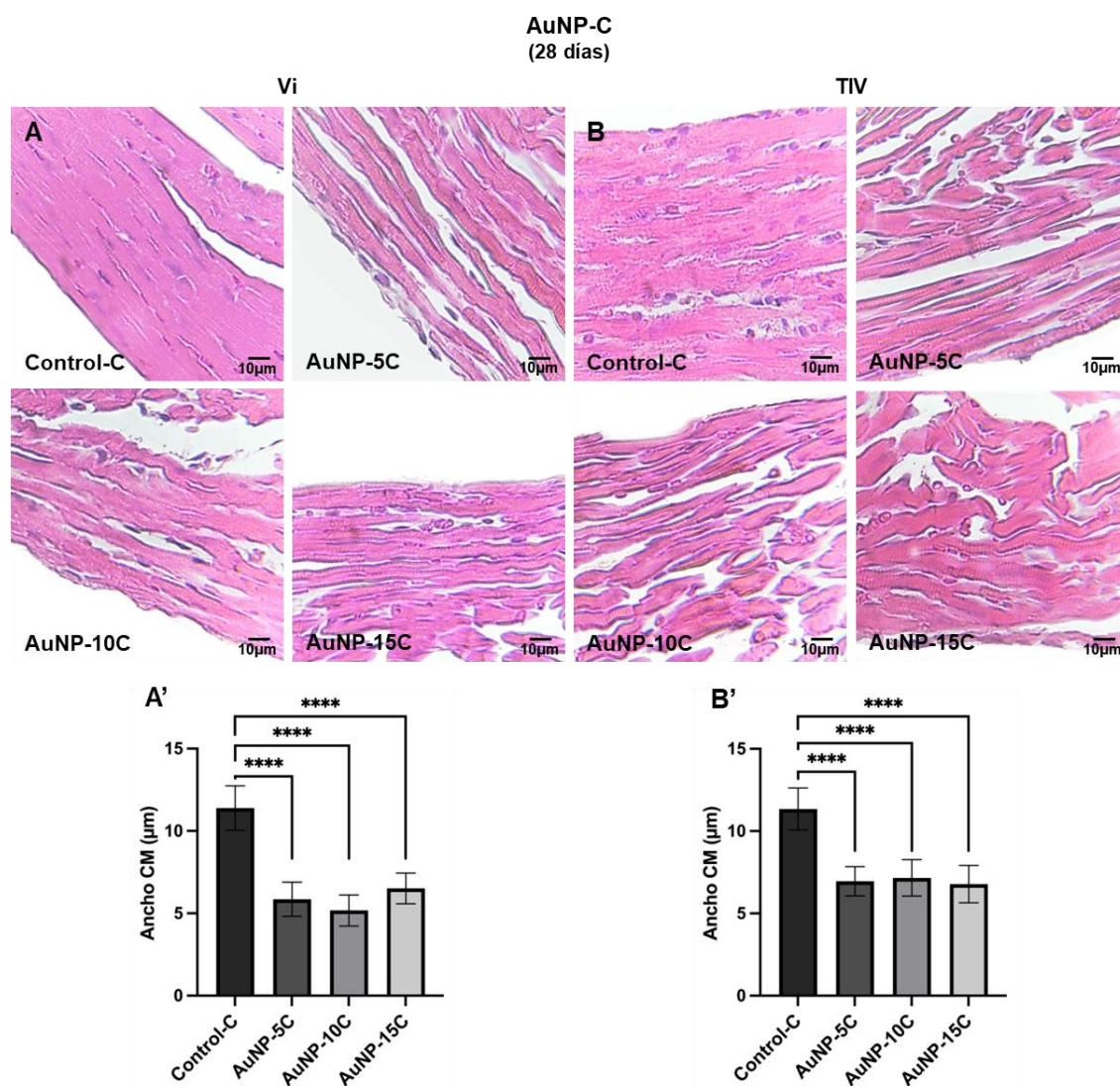


Figura 21. La administración crónica de AuNPs induce atrofia en los cardiomiocitos del Vi y TIV. A. Microfotografía de la pared libre del Vi. A'. Cuantificación del diámetro transversal de los cardiomiocitos del Vi. B. Microfotografía del TIV. B'. Cuantificación del diámetro transversal de los cardiomiocitos del TIV. Tinción H&E. Microfotografías a un aumento de 400x. Los datos cuantitativos se presentan como la media $\pm$ DE ($n = 4$ animales por grupo; 4 campos analizados por animal). **** $p < 0.00005$.

8.4. Efecto de la administración de AuNPs en la histología del miocardio

Para evaluar las alteraciones microscópicas inducidas por la administración aguda y crónica de AuNPs, se realizó un análisis histopatológico del miocardio ventricular.

8.4.1. Análisis histopatológico

El análisis histopatológico del miocardio ventricular reveló lesiones en los cardiomiocitos, tanto en la administración aguda (Figura 22) como en la administración crónica de AuNPs (Figura 23). Sin embargo, los grupos AuNP-C presentaron lesiones histológicas más extensas y variadas en comparación con los grupos AuNP-A.

El grupo Control-A presentó un miocardio con morfología conservada: las fibras musculares se observaron compactas y organizadas en secciones longitudinales y transversales, sin evidencia de lesiones celulares en ninguna de las paredes ventriculares (Figuras 22A–C). Por otro lado, en los grupos AuNP-A (Figura 22D–L), la lesión más frecuente fue la vacuolización citoplasmática, observada como pequeñas vesículas citoplasmáticas que no alteraban la morfología general del cardiomiocito. Identificamos esta lesión en el Vd y el TIV de los grupos AuNP-10A (Figuras 22G y 22H) y AuNP-15A (Figuras 22J y 22K), y solo en el TIV del grupo AuNP-5A (Figura 22E). Adicionalmente, identificamos degeneración vacuolar. A diferencia de la vacuolización citoplasmática, la degeneración vacuolar se caracteriza por alguna evidencia de deterioro en el cardiomiocito además de vesículas citoplasmáticas. En este caso, identificamos como degeneración vacuolar a pequeñas vesículas citoplasmáticas y una pérdida de la eosinofilia citoplasmática (hipoeosinofilia).

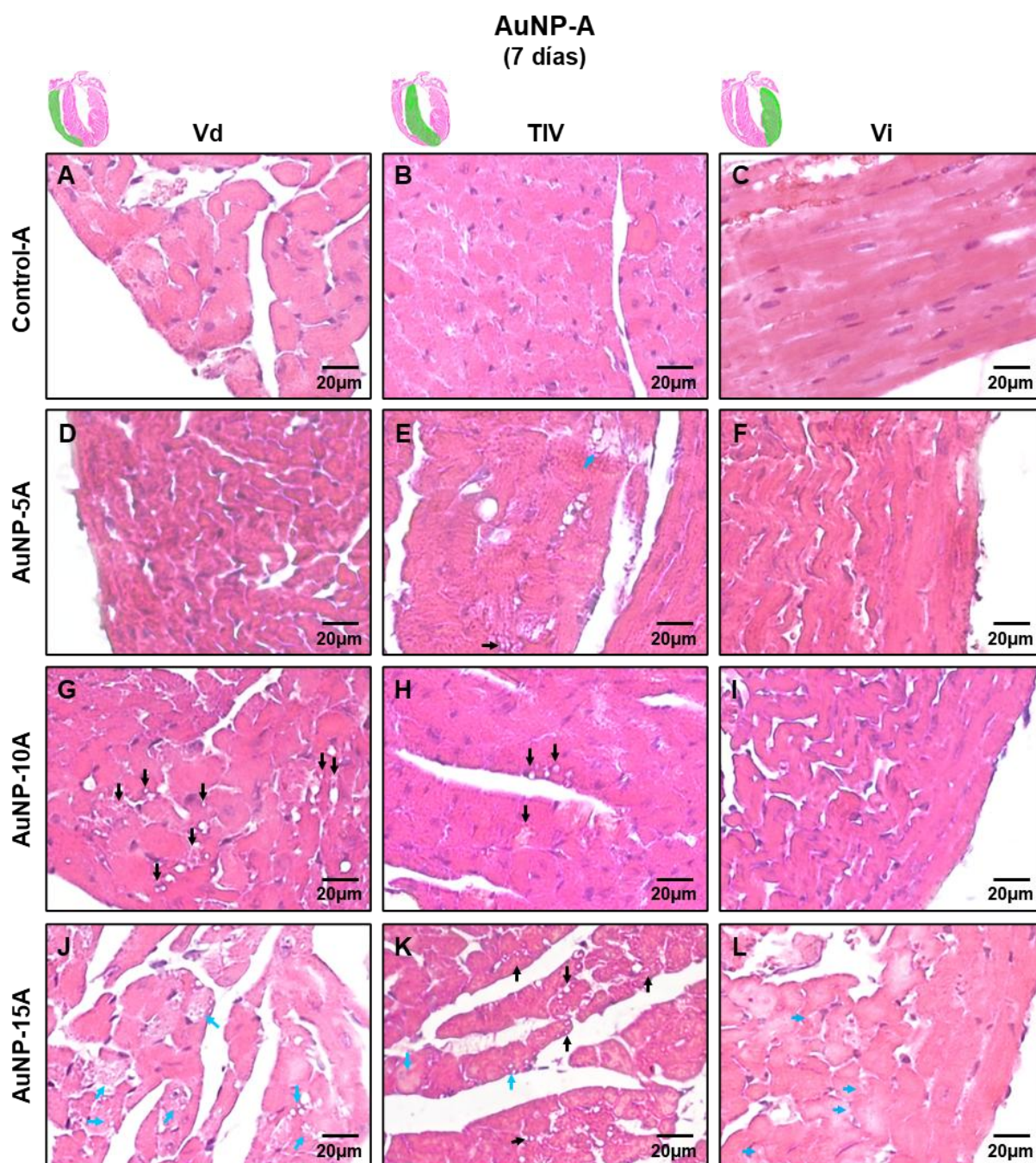


Figura 22. Efecto de la administración aguda de AuNPs en la histología del miocardio ventricular. A-C. Microfotografías representativas del grupo Control-A. D-E. Microfotografías representativas del grupo AuNP-5A. G-I. Microfotografías representativas del grupo AuNP-10A. J-L. Microfotografías representativas del grupo AuNP-15A. La flechas negras señalan vacuolización citoplasmática en el miocardio ventricular. Las flechas azules señalan degeneración vacuolar e hipoeosinofilia de la eosina. Tinción H&E. Microfotografías a un aumento de 400x.

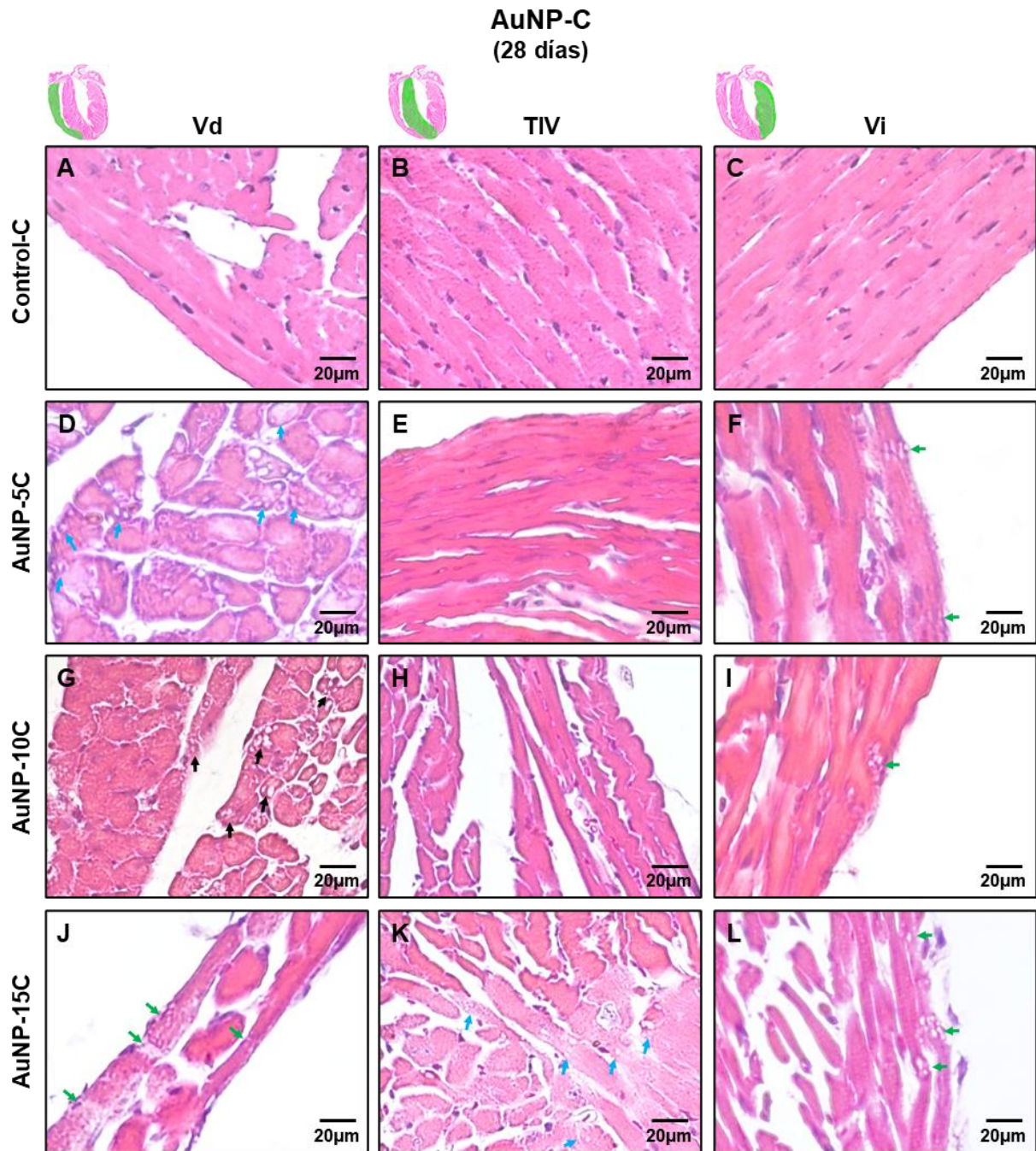


Figura 23. Efecto de la administración crónica de AuNPs en la histología del miocardio ventricular. A-C. Microfotografías representativas del grupo Control-C. D-E. Microfotografías representativas del grupo AuNP-5C. G-I. Microfotografías representativas del grupo AuNP-10C. J-L. Microfotografías representativas del grupo AuNP-15C. La flechas negras señalan vacuolización en el miocardio ventricular. Las flechas verdes señalan anomalías en los cardiomiocitos subepicárdicos. Las flechas azules señalan degeneración vacuolar e hipoeosinofilia de la eosina Tinción H&E. Microfotografías a un aumento de 400x.

Observamos esta lesión en el Vd, TIV y Vi del grupo AuNP-15A (Figuras 22L y 22K) y solo en el TIV del grupo AuNP-5A.

El grupo Control-C mantuvo una histología ventricular normal, con fibras ordenadas y sin evidencia de daño en los cardiomiocitos (Figuras 23A-C). En contraste, los grupos AuNP-C presentaron vacuolización citoplasmática y degeneración vacuolar con hipoeosinofilia. La vacuolización citoplasmática la identificamos en el Vd del grupo AuNP-10C (Figura 23G), mientras que la degeneración vacuolar con hipoeosinofilia la observamos en el Vd del grupos AuNP-5C (Figura 23D) y en el TIV del grupo AuNP-15C (Figura 23K). Además, observamos alteraciones en los cardiomiocitos subepicárdicos del Vi de todos los grupos AuNP-C (Figuras 23F, 23I y 23L), así como en el Vd del grupo AuNP-15C (Figura 23J). Estas lesiones se caracterizaron por una degeneración vacuolar con vesiculación citoplasmática particular, lo que resultó en una distorsión evidente de la morfología del cardiomiocito en el plano transversal.

8.4.2. Fibrosis y proliferación celular

La evaluación mediante tinción con rojo Sirio reveló la presencia de fibrosis intersticial (Figuras 24A y 24A) y perivascular (Figuras 24B y 25B) en los grupos AuNP-A y AuNP-C. En contraste, los grupos Control-A y Control-C exhibieron un depósito de colágeno basal significativamente menor.

A pesar de la presencia de fibrosis en los grupos AuNP-A y AuNP-C, no se encontró un aumento de la deposición de colágeno a lo largo del tiempo de administración. Lo anterior debido a que no encontramos diferencias significativas en la fibrosis intersticial

y perivascular entre los grupos AuNP-A y AuNP-C (Figura 26). Asimismo, el tamaño de las nanopartículas no influyó en la cuantificación de la fibrosis observada.

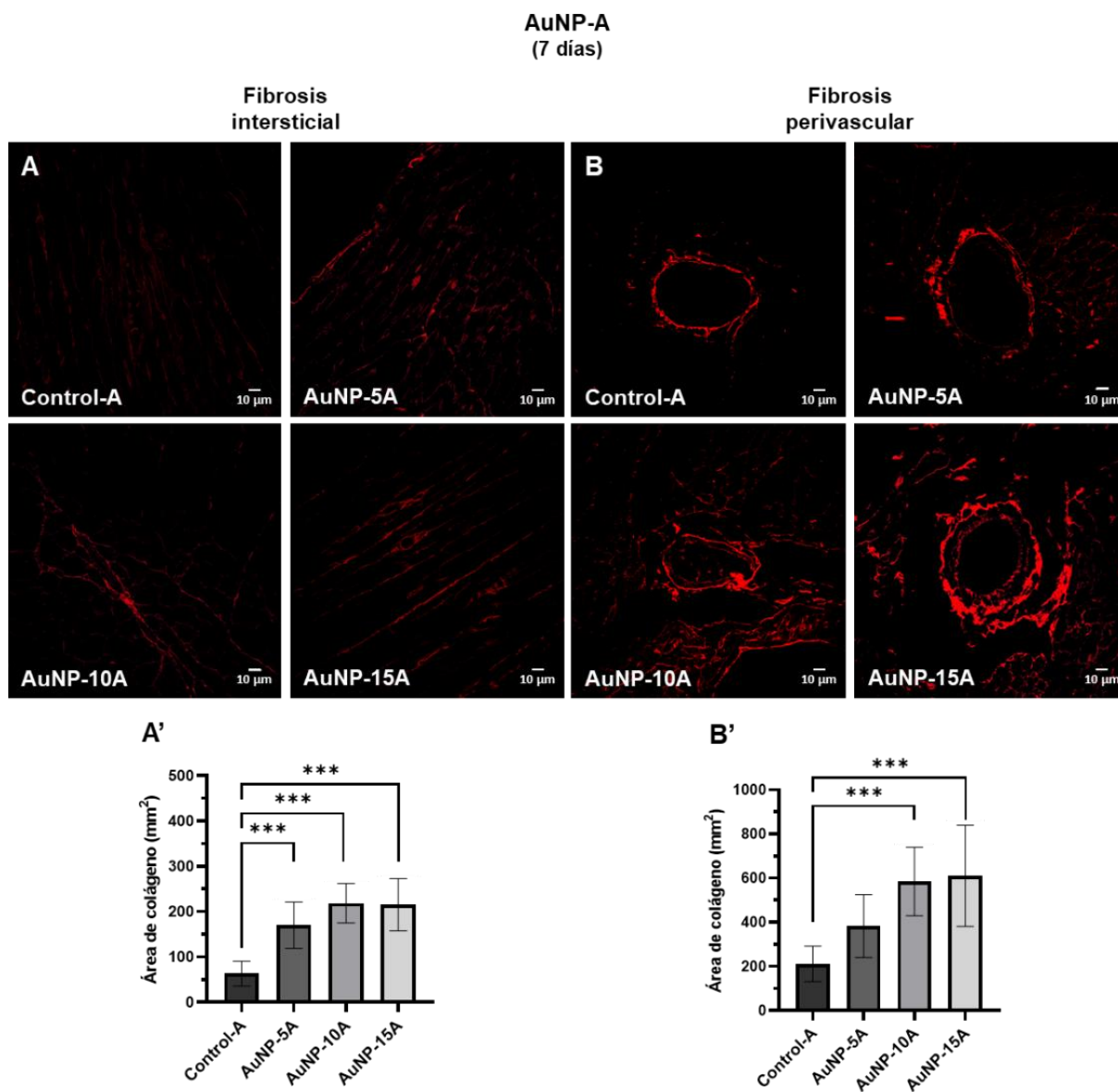


Figura 24. La administración aguda de AuNPs induce fibrosis intersticial y perivascular en el corazón. A y A'. Fibrosis intersticial en las paredes ventriculares y su correspondiente cuantificación. B y B'. Fibrosis perivascular alrededor de las arterias coronarias y su correspondiente cuantificación. Las microfotografías fueron adquiridas a un aumento de 400x. Tinción de Rojo Sirio. Los datos cuantitativos se presentan como la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 8 campos analizados por animal). *** $p < 0.0005$.

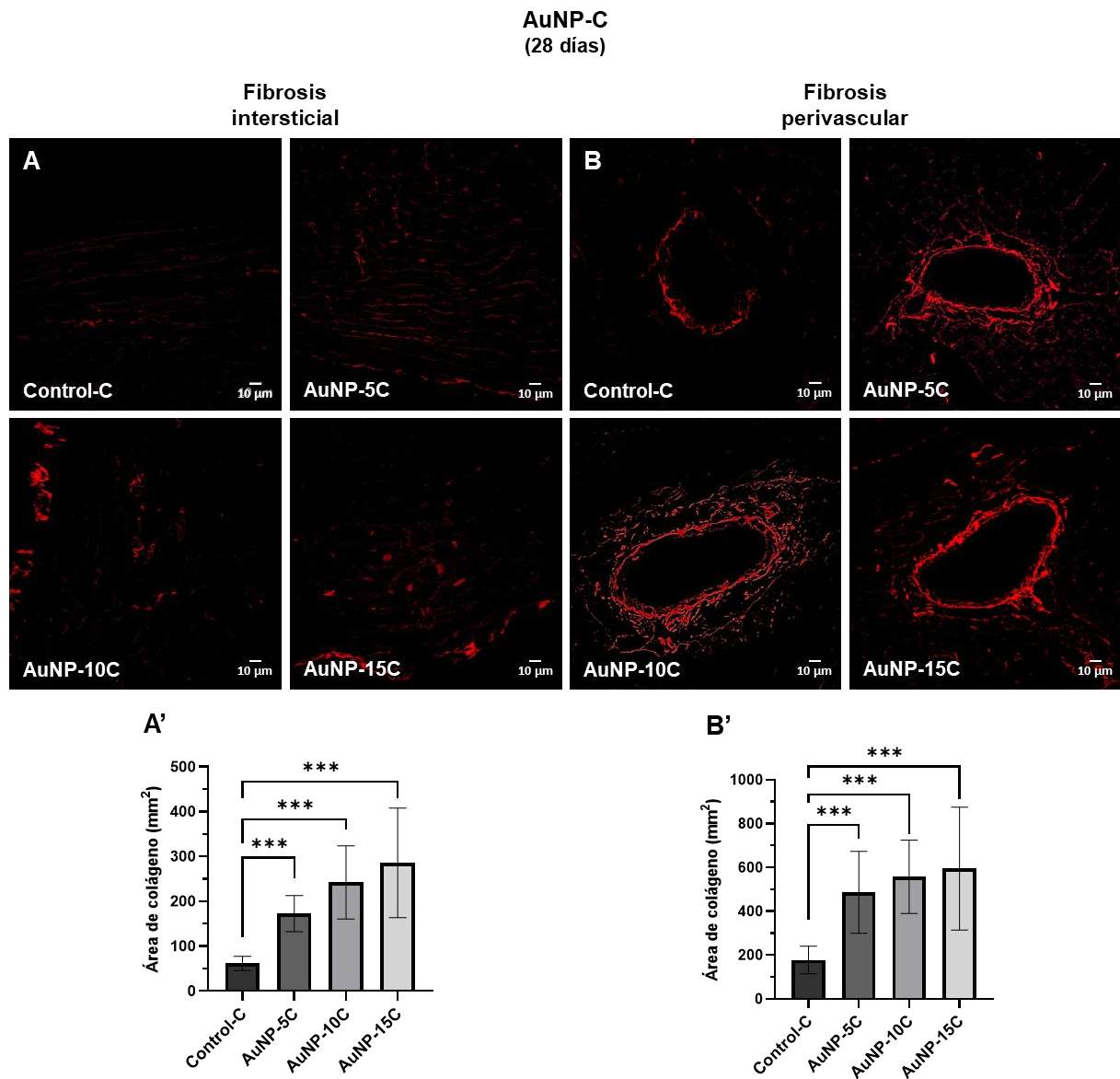


Figura 25. La administración crónica de AuNPs induce fibrosis intersticial y perivascular en el corazón. A y A'. Fibrosis intersticial en las paredes ventriculares y su correspondiente cuantificación. B y B'. Fibrosis perivascular alrededor de las arterias coronarias y su correspondiente cuantificación. Las microfotografías fueron adquiridas a un aumento de 400x. Tinción de Rojo Sirio. Los datos cuantitativos se presentan como la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 8 campos analizados por animal). *** $p < 0.0005$.

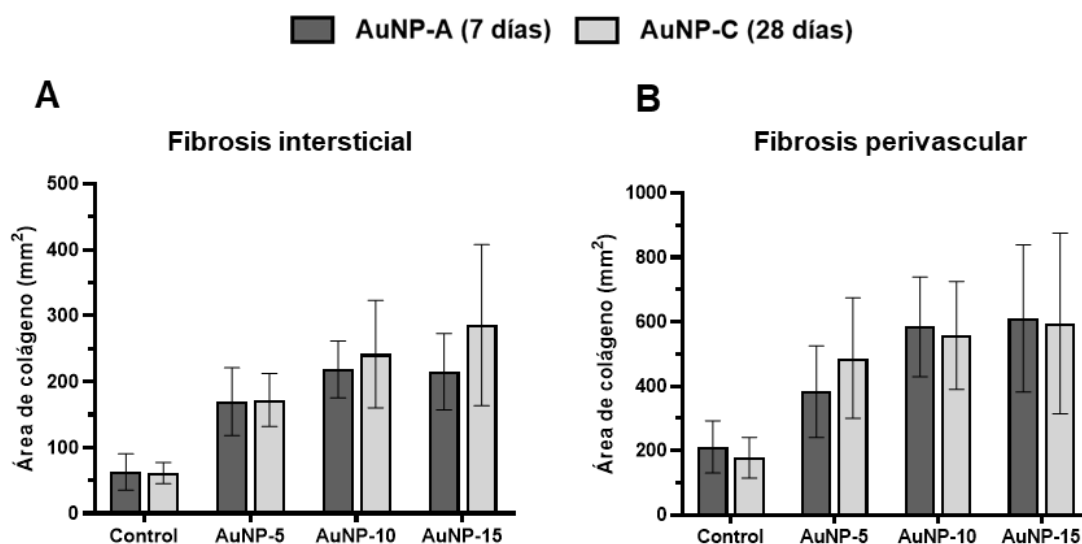


Figura 26. La fibrosis intersticial y perivascular no depende del tiempo de administración ni del tamaño de las AuNPs. Comparación entre grupos del área de fibrosis en el tejido ventricular. A. Análisis de la fibrosis intersticial. B. Análisis de la fibrosis perivascular. Los datos cuantitativos se presentan como la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 8 campos analizados por animal).

Para investigar si hay relación entre la fibrosis en los grupos experimentales y los fibroblastos cardíacos, se evaluó la proliferación de fibroblastos cardíacos mediante la inmunodetección de PCNA y, posteriormente, se calculó el índice de proliferación. En los grupos AuNP-A se detectó un aumento significativo en el número de fibroblastos cardíacos positivos a PCNA en comparación con el grupo Control-A (Figura 27), lo que indica una activa respuesta proliferativa ante una administración aguda de AuNPs. De manera interesante, observamos que la proliferación de los fibroblastos cardíacos fue transitoria debido a que el número de fibroblastos cardíacos PCNA-positivos retornó a niveles del grupo Control-C en los grupos AuNP-C (Figura 28).

En conjunto, los resultados de fibrosis y proliferación celular sugieren que la deposición de colágeno fue un evento temprano impulsado por la activa proliferación de fibroblastos cardíacos durante la administración aguda de AuNPs.

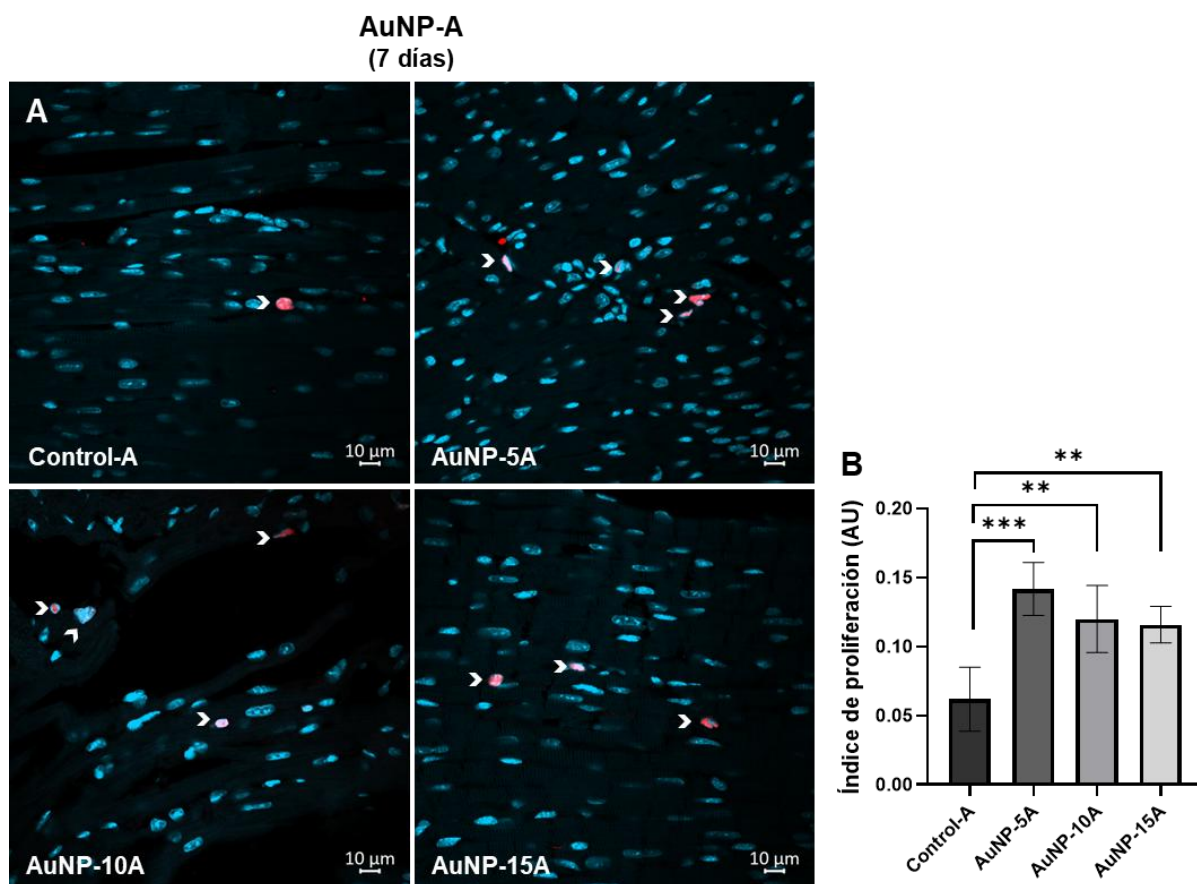


Figura 27. La administración aguda de AuNPs induce la proliferación celular en los fibroblastos cardíacos. A. Microfotografías de la inmunodetección de PCNA en el tejido ventricular. Las cabezas de flecha señalan a los núcleos de los fibroblastos en proliferación. Núcleos PCNA-positivos (rojo) y contratinción nuclear con DAPI (cian). B. Cuantificación del índice de proliferación celular. Las imágenes fueron tomadas a 400x de aumento. Los datos se expresan como la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 6 campos analizados por animal). ** $p < 0.005$ y *** $p < 0.0005$.

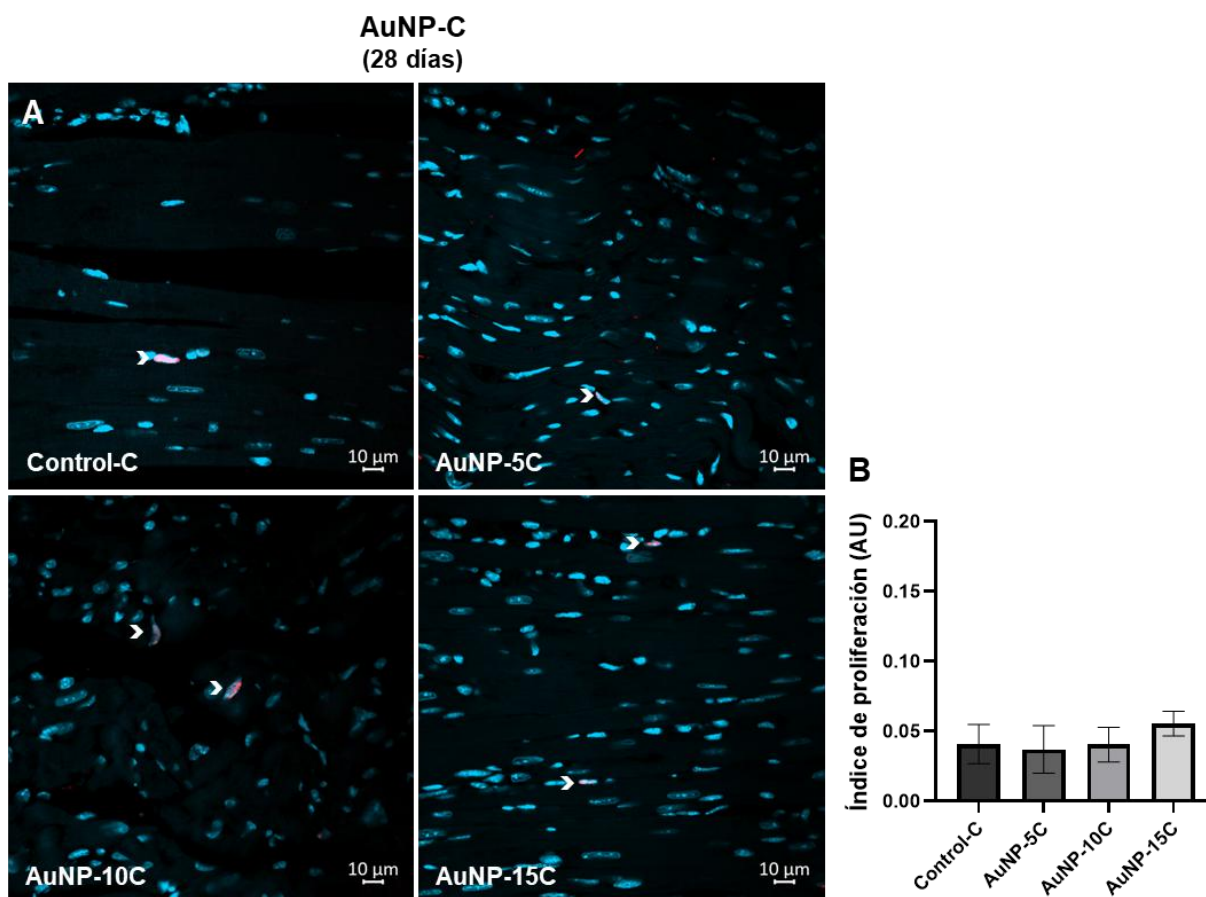


Figura 28. La administración crónica de AuNPs no induce la proliferación celular en los fibroblastos cardíacos. A. Microfotografías de la inmunodetección de PCNA en el tejido ventricular. Las cabezas de flecha señalan a los núcleos de los fibroblastos en proliferación. Núcleos PCNA-positivos (rojo) y contratinción nuclear con DAPI (cian). B. Cuantificación del índice de proliferación. Las imágenes fueron tomadas a 400x de aumento. Los datos se expresan como la media $\pm$ DE ($n = 3$ animales por grupo; 6 campos analizados por animal).

8.5. Cambios en la expresión de la proteína Cx43 después de la administración de AuNPs

Para evaluar el efecto de las AuNPs en la función del miocardio ventricular, se analizó la expresión total y la topología subcelular de la proteína Cx43, así como su fracción fosforilada en dos sitios. Adicionalmente, para determinar la relación de la Cx43 con

otros componentes del disco intercalar y del citoesqueleto, se evaluó su co-localización con β -catenina.

8.5.1. Expresión total y topología subcelular de la proteína Cx43

Inicialmente, se evaluó la expresión total de la proteína Cx43 mediante Western blot. El análisis de densitometría no reveló diferencias significativas en los niveles totales de la proteína Cx43 en los grupos AuNP-A (Figura 29A) y AuNP-C (Figura 30A), en comparación con los grupos Control-A y Control-C, respectivamente.

Posteriormente, se analizó la topología subcelular de la proteína Cx43 mediante inmunodetección y microscopía confocal. Para la cuantificación de la expresión *in situ*, la proteína Cx43 se categorizó en tres compartimentos subcelulares distintos: (1) la proporción localizada en el disco intercalar, (2) la proporción internalizada en el citoplasma y (3) la proporción lateralizada en el sarcolema lateral.

En los grupos Control-A (Figura 29B-C) y Control-C (Figura 30B-C), el análisis cuantitativo de la expresión *in situ* confirmó que la proteína Cx43 mantiene una topología subcelular fisiológica: la mayor proporción de la proteína se localizó en el disco intercalar (~65%), seguida por una cantidad menor en la proporción internalizada (~25%) y una presencia mínima en la proporción lateralizada (~10%). En contraste, en los grupos AuNP-A y AuNP-C, el análisis cuantitativo de la expresión *in situ* de la proteína Cx43 reveló alteraciones significativas en la topología subcelular con respecto a los grupos Control-A y Control-C, respectivamente.

En los grupos AuNP-A (Figuras 29B'-B''' y 29C), identificamos una reducción significativa de la proteína Cx43 en la proporción del disco intercalar, disminuyendo a

niveles cercanos al 40%. Esta pérdida de la proteína en el disco intercalar fue compensada por un aumento significativo en las proporciones no canónicas: internalización y lateralización. La proporción internalizada aumentó significativamente (~40%), alcanzando el mismo nivel que la proporción en el disco intercalar. Por su parte, la proporción lateralizada se duplicó (~20%) con respecto al Control-A, aun así se mantuvo significativamente inferior a las proporciones del disco intercalar e internalizada.

En los grupos AuNP-C (Figuras 30B'-B''' y 30C), también identificamos una reducción de la proporción de la proteína Cx43 en el disco intercalar, que alcanzó niveles de alrededor del 30%. La pérdida de la proteína dentro del disco intercalar se vio reflejada principalmente en un aumento predominante de la proporción internalizada, alcanzando niveles superiores al 50%. Por su parte, la proporción lateralizada también presentó un incremento significativo (~ 20%), manteniéndose estadísticamente similar a la proporción del disco intercalar e inferior a la proporción internalizada.

Cabe destacar que el patrón de alteración en la topología subcelular de la proteína Cx43 fue consistente en los grupos AuNP-A y AuNP-C. El análisis comparativo no reveló diferencias estadísticamente significativas atribuibles al tamaño de la nanopartícula ni a la duración de la administración (Figura 31).

En conjunto, estos resultados muestran un hallazgo importante: la administración de AuNPs no altera la expresión total de la proteína Cx43, pero sí induce su redistribución desde su sitio funcional dentro el disco intercalar hacia el citoplasma o el sarcolema lateral. Este remodelado topológico subcelular sugiere un compromiso en la comunicación intercelular.

AuNP-A (7 días)

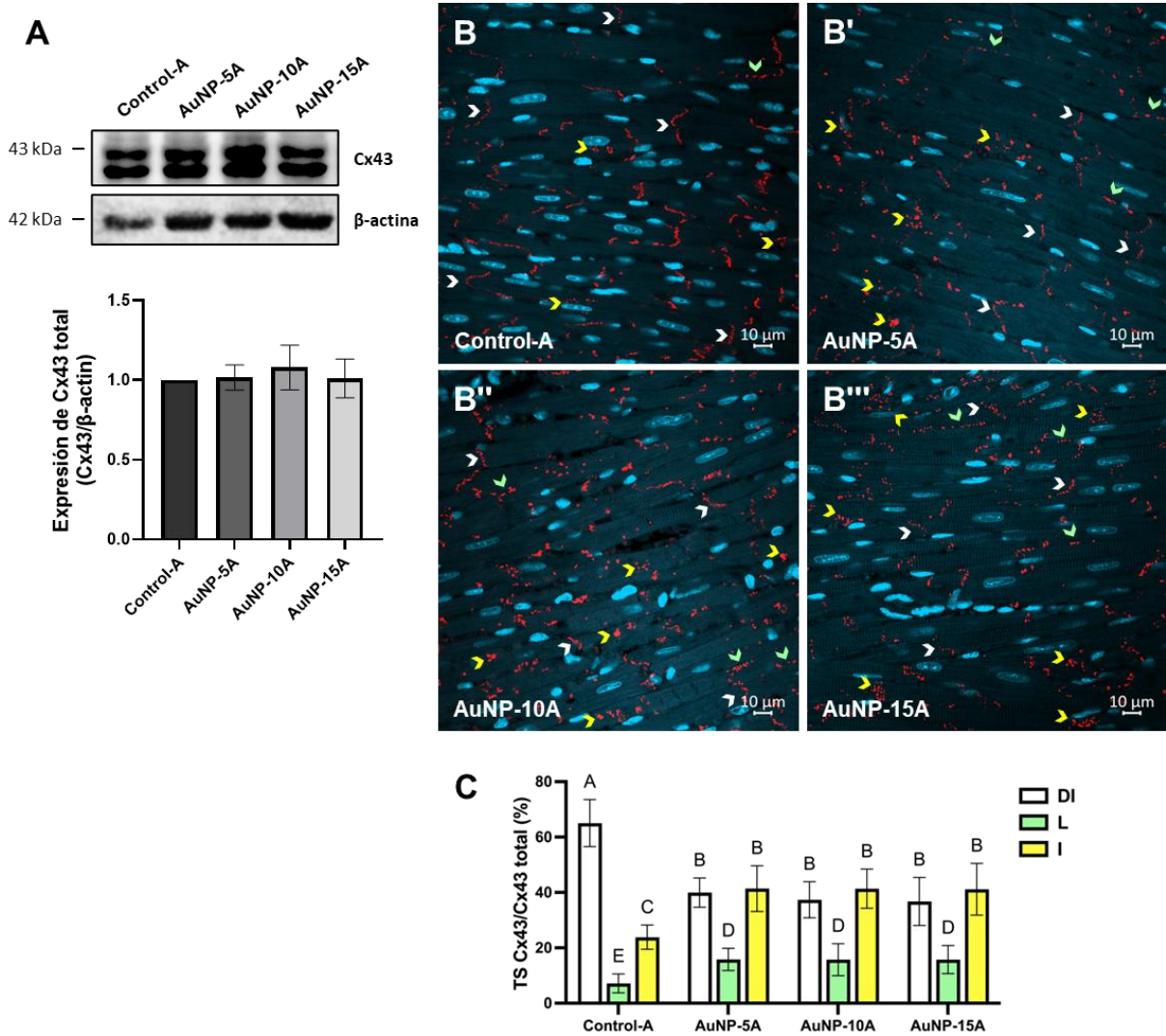


Figura 29. La administración aguda de AuNPs altera la topología subcelular de Cx43 sin afectar su expresión total. A. Western blot representativo (arriba) y su análisis de densitometría (abajo) que muestran niveles totales de Cx43 sin cambios significativos. B-B'''. Microfotografías que muestran a la inmunodetección de la proteína Cx43 (rojo) y los núcleos celulares teñidos con DAPI (cian). Topología subcelular: disco intercalary (DI, flechas blancas), internalizada (I, flechas amarillas) y lateralizada (L, flechas verdes). Las imágenes fueron tomadas a 400×. C. Gráfica de porcentaje de la topología subcelular de Cx43. Los datos cuantitativos se expresan como la media ± DE (western blot n = 3, con dos réplicas técnicas; inmunofluorescencia n = 3, con dos réplicas técnicas). Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (p < 0.05).

AuNP-C (28 días)

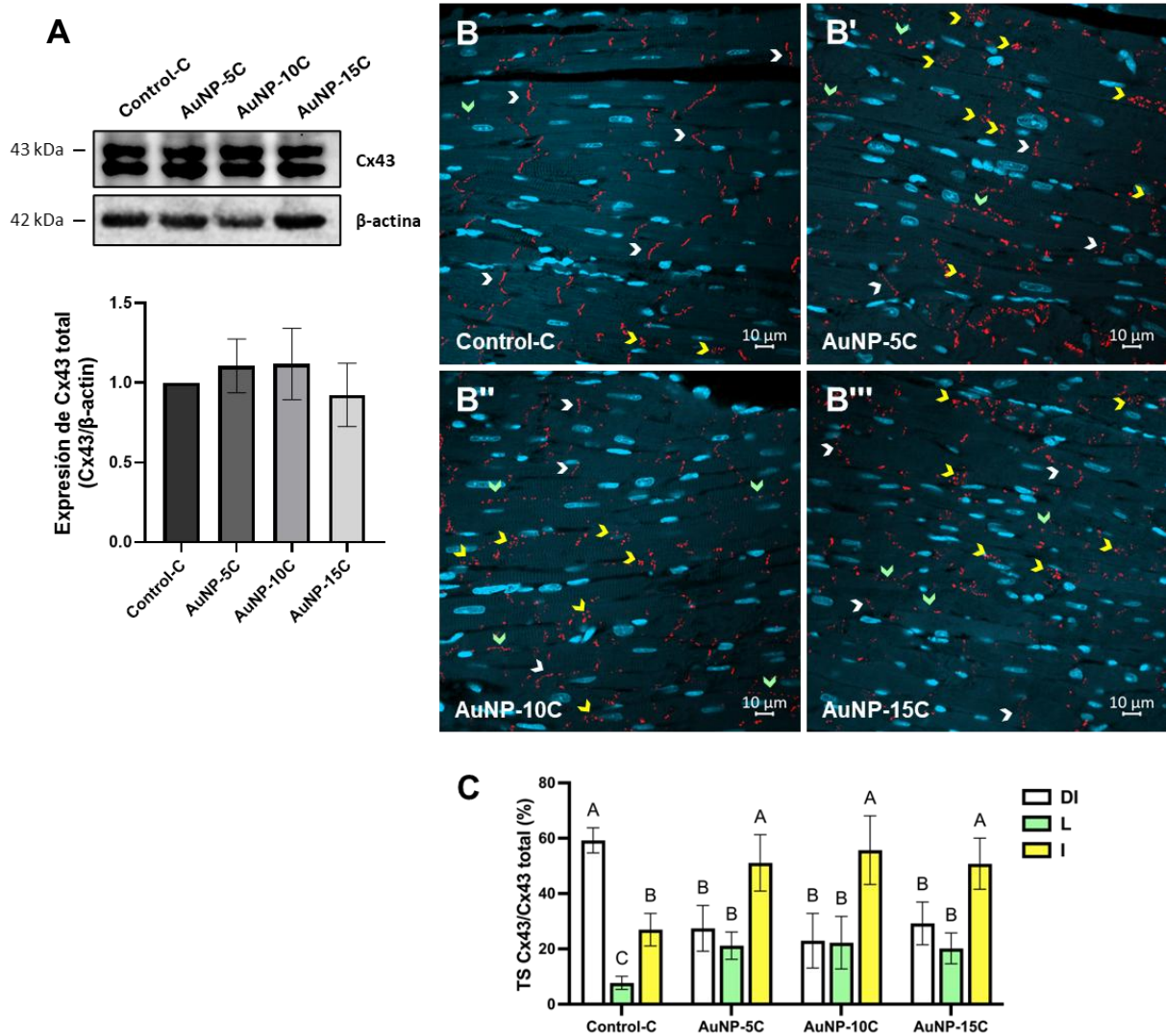


Figura 30. La administración crónica de AuNPs altera la topología subcelular de Cx43 sin afectar su expresión total. A. Western blot representativo (arriba) y su análisis de densitometría (abajo) que muestran niveles totales de Cx43 sin cambios significativos. B-B'''. Microfotografías que muestran la inmunodetección de la proteína Cx43 (rojo) y los núcleos celulares teñidos con DAPI (cian). Topología subcelular: disco intercalar (DI, flechas blancas), internalizada (I, flechas amarillas) y lateralizada (L, flechas verdes). Las imágenes fueron tomadas a 400×. C. Gráfica de porcentaje de la topología subcelular de Cx43. Los datos cuantitativos se expresan como la media $\pm$ DE (western blot $n = 3$, con dos réplicas técnicas; inmunofluorescencia $n = 3$, con dos réplicas técnicas). Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

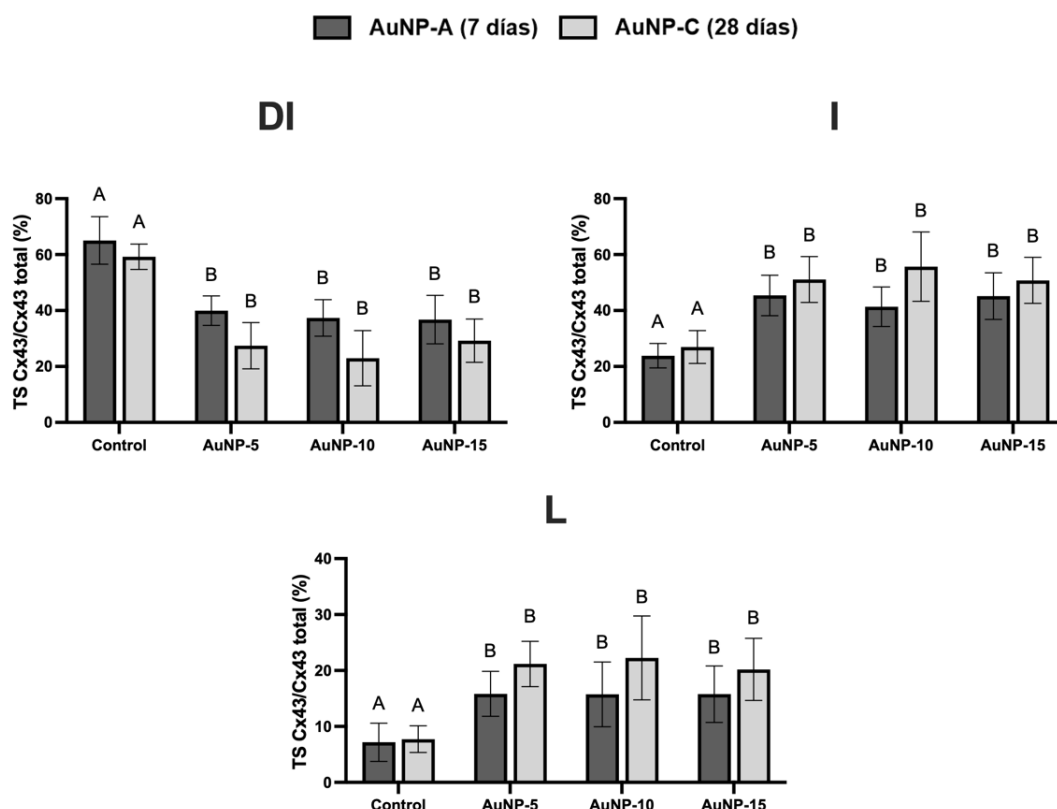


Figura 31. Remodelación de la topología subcelular de la proteína Cx43 inducida por la administración crónica y aguda de AuNPs. Cuantificación de la proteína Cx43 en las proporciones del disco intercalar (DI), internalizada (I) y lateralizada (L) en los grupos AuNP-A y AuNP-C, incluyendo a sus respectivos controles. Los datos representan la media $\pm$ DE. Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

8.5.2. Fosforilación de la proteína Cx43

La regulación de la proteína Cx43 mediante fosforilación es un mecanismo fundamental que determina la funcionalidad de las uniones comunicantes. Por consiguiente, se evaluó la fosforilación en dos residuos específicos asociados con la pérdida de función de la proteína: p^{S368} Cx43 y p^{S262} Cx43.

Analizamos la fracción de la fosforilación p^{S368} Cx43, que está asociada a la función y la estabilidad de la proteína Cx43 mediante la inducción de cambios conformacionales

que afectan la permeabilidad del canal o la promoción de la internalización y la degradación para reducir la comunicación intercelular entre cardiomiocitos (Pun et al., 2023).

Inicialmente, se evaluó la fosforilación total de $p^{S368}Cx43$ mediante Western blot. El análisis de densitometría no reveló diferencias significativas en los niveles de $p^{S368}Cx43$ entre los grupos AuNP-A (Figura 32A) y AuNP-C (Figura 33A) con respecto a sus respectivos controles.

Posteriormente, se analizó la topología subcelular de la fosforilación *in situ* de $p^{S368}Cx43$ mediante inmunodetección y microscopía confocal. En los grupos Control-A (Figura 32B-C) y Control-C (Figura 33B-C), el análisis cuantitativo confirmó que $p^{S368}Cx43$ mantiene una topología subcelular fisiológica, donde la mayor proporción de la proteína fosforilada se localizó en el disco intercalar (~68%), seguida por una cantidad menor en la proporción internalizada (~26%) y una presencia mínima en la proporción lateralizada (~6%). Por otro lado, el análisis cuantitativo mostró que los grupos AuNP-A y AuNP-C presentaron alteraciones significativas en la topología subcelular de $p^{S368}Cx43$ con respecto a los grupos Control-A y Control-C, respectivamente.

En los grupos AuNP-A (Figuras 32B'-B''' y 32C), observamos que la proporción del disco intercalar de $p^{S368}Cx43$ disminuyó significativamente, alcanzando niveles inferiores al 50%. Esta pérdida en la proporción del disco intercalar fue compensada por un aumento tanto en la proporción internalizada (~40%) como en la proporción lateralizada (~10%). No obstante, la proporción lateralizada no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo Control-A.

AuNP-A (7 días)

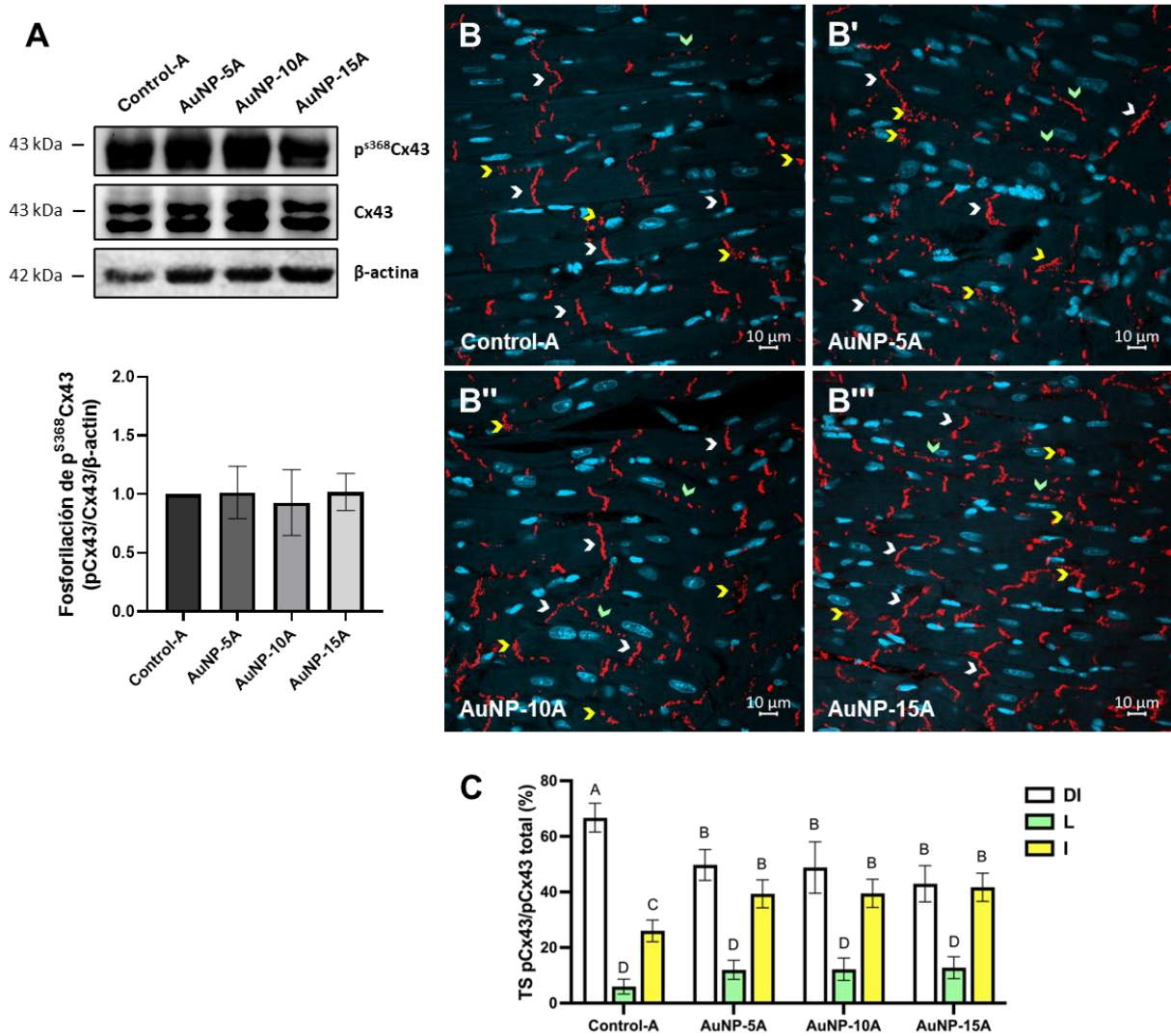


Figura 32. La administración aguda de AuNPs altera la fosforilación *in situ* de p^{S368}Cx43 sin modificar la fosforilación total. **A.** Western blot representativo (arriba) y su análisis de densitometría (abajo) que muestran niveles totales de p^{S368}Cx43 sin cambios significativos. **B-B''.** Microfotografías que muestran a la inmunodetección de p^{S368}Cx43 (rojo) y los núcleos celulares teñidos con DAPI (cian). Topología subcelular: disco intercalar (DI, flechas blancas), internalizada (I, flechas amarillas) y lateralizada (L, flechas verdes). Las imágenes fueron tomadas a 400×. **C.** Gráfica del porcentaje de la topología subcelular de p^{S368}Cx43. Los datos cuantitativos se expresan como la media ± DE (western blot *n* = 3, con dos réplicas técnicas; inmunofluorescencia *n* = 3, con dos réplicas técnicas). Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (*p* < 0.05).

AuNP-C (28 días)

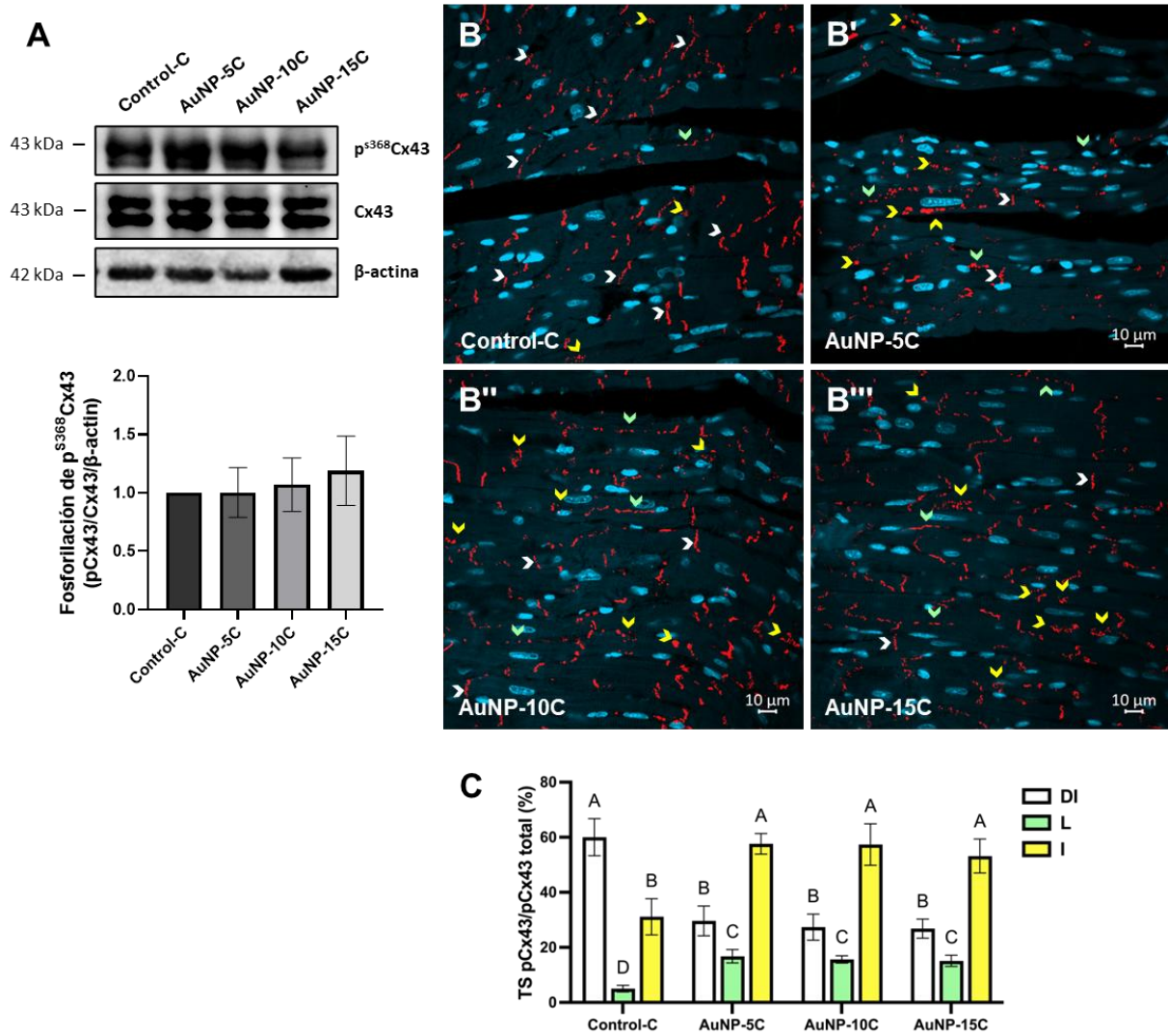


Figura 33. La administración crónica de AuNPs altera la fosforilación *in situ* de p^{S368}Cx43 sin modificar la fosforilación total. **A.** Western blot representativo (arriba) y su análisis de densitometría (abajo) que muestran niveles totales de p^{S368}Cx43 sin cambios significativos. **B-B''.** Microfotografías que muestran a la inmunodetección de p^{S368}Cx43 (rojo) y los núcleos celulares teñidos con DAPI (cian). Topología subcelular: disco intercalar (DI, flechas blancas), internalizada (I, flechas amarillas) y lateralizada (L, flechas verdes). Las imágenes fueron tomadas a 400×. **C.** Gráfica del porcentaje de la topología subcelular de p^{S368}Cx43. Los datos cuantitativos se expresan como la media ± DE (western blot *n* = 3, con dos réplicas técnicas; inmunofluorescencia *n* = 3, con dos réplicas técnicas). Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (*p* < 0.05).

En los grupos AuNP-C (Figuras 33B'-B''' y 33C), el análisis cuantitativo mostró que la reducción de $p^{S368}Cx43$ en la proporción del disco intercalar alcanzó niveles por debajo del 30%. Esta disminución se compensó principalmente por un aumento predominante de la proporción lateralizada, que alcanzó niveles cercanos al 60%. Por su parte, la proporción lateralizada también mostró un incremento significativo, registrando niveles de alrededor del 15%, aun así, se mantuvo inferior a las proporciones lateralizada e internalizada.

También, estudiamos la fracción de la fosforilación de $p^{S262}Cx43$, la cual se asocia con disminución de la unión comunicante y eventos de síntesis de ADN (Doble et al., 2014). En este caso, evaluamos la fosforilación *in situ* de $p^{S262}Cx43$ mediante inmunodetección y microscopía confocal. De manera interesante, identificamos la presencia de $p^{S262}Cx43$ a nivel nuclear, tanto en cardiomiocitos como en fibroblastos cardíacos (Figuras 34A y 35A).

La cuantificación de la señal nuclear mostró que la proporción de $p^{S262}Cx43$ fue significativamente mayor en los cardiomiocitos en comparación con los fibroblastos cardíacos, un patrón que se mantuvo constante en todos los grupos experimentales (AuNP-A y AuNP-C) y sus respectivos controles. Respecto a la administración de AuNPs, encontramos una disminución de la cantidad de $p^{S262}Cx43$ en ambos tipos celulares en los grupos AuNP-A y AuNP-C con respecto a sus grupos control. Sin embargo, al comparar ambos tiempos de administración, encontramos que la cantidad de $p^{S262}Cx43$ fue significativamente menor en los grupos AuNP-C, incluyendo al grupo Control-C (Figura 36).

AuNP-A (7 días)

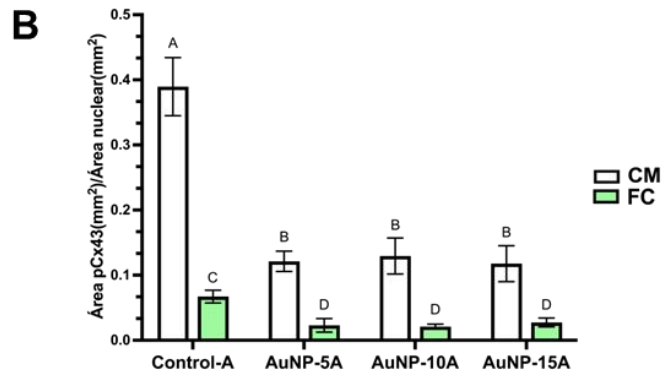
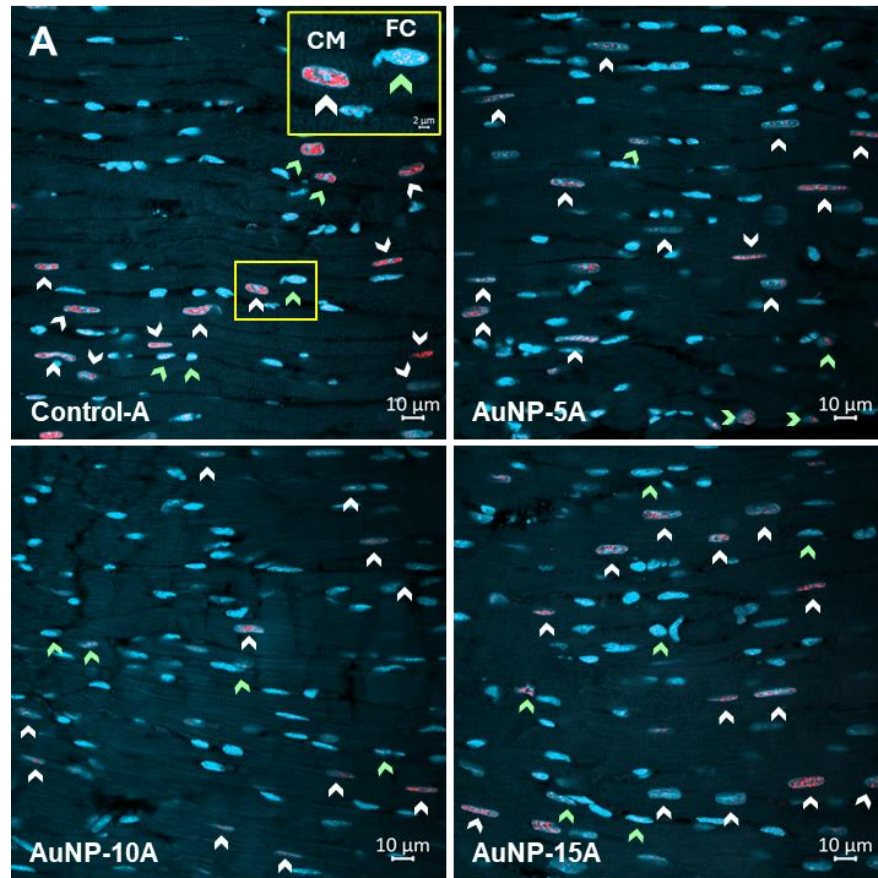


Figura 34. La administración aguda de AuNPs disminuye la fosforilación *in situ* de $p^{S262}Cx43$ en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos. A. Microfotografías que muestran a la inmunodetección de $p^{S262}Cx43$ (rojo) y los núcleos celulares teñidos con DAPI (cian). Las flechas blancas señalan a los cardiomiocitos (CM) y las flechas verdes señalan a los fibroblastos cardíacos (FC) $p^{S262}Cx43$ -positivos. Las imágenes fueron tomadas a 400×. B. Gráfica del área de fosforilación de $p^{S262}Cx43$. Los datos cuantitativos se expresan como la media $\pm$ DE ($n = 3$, con dos réplicas técnicas). Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

AuNP-C (28 días)

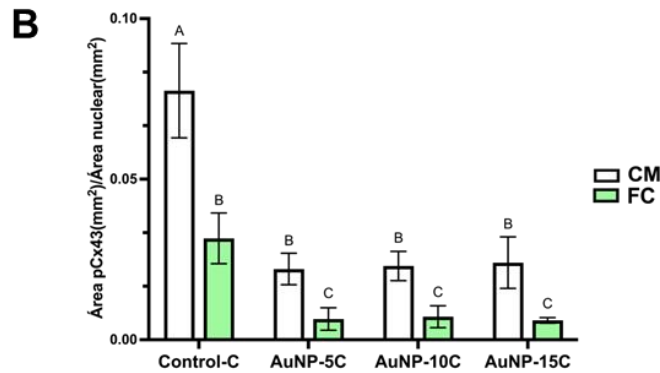
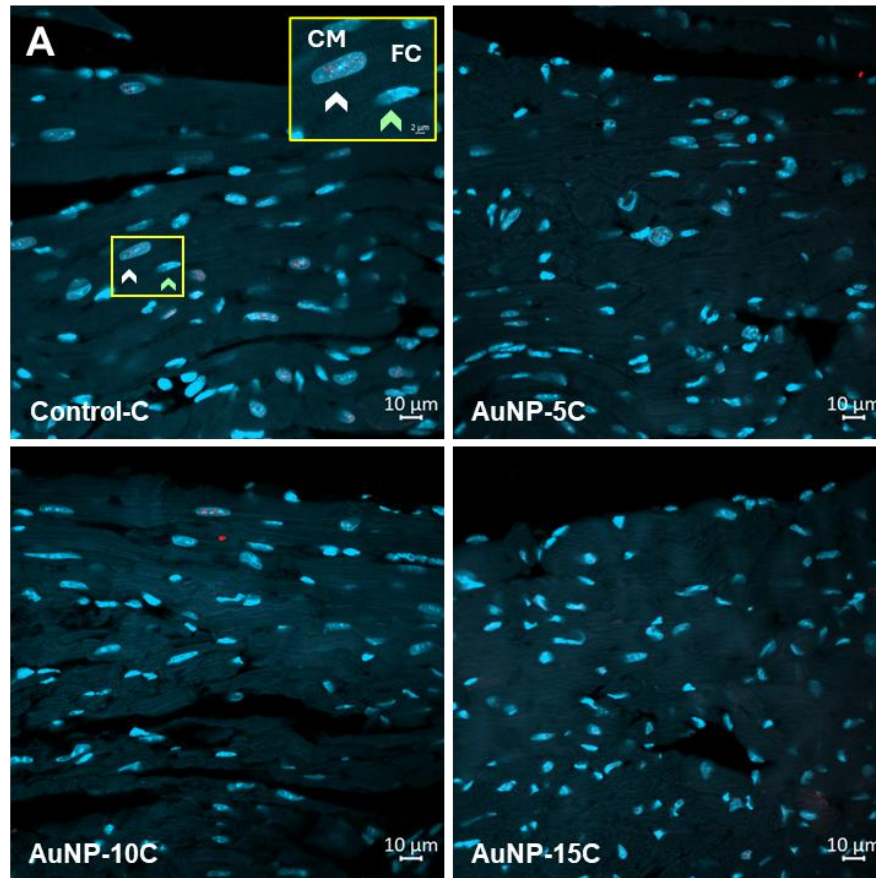


Figura 35. La administración crónica de AuNPs disminuye la fosforilación in situ de $p^{S262}Cx43$ en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos. A. Microfotografías que muestran a la inmunodetección de $p^{S262}Cx43$ (rojo) y los núcleos celulares teñidos con DAPI (cian). Las flechas blancas señalan a los cardiomiocitos (CM) y las flechas verdes señalan a los fibroblastos cardíacos (FC) $p^{S262}Cx43$ -positivos. Las imágenes fueron tomadas a 400 $\times$. B. Gráfica del área de fosforilación de $p^{S262}Cx43$. Los datos cuantitativos se expresan como la media $\pm$ DE ($n = 3$, con dos réplicas técnicas). Las barras con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

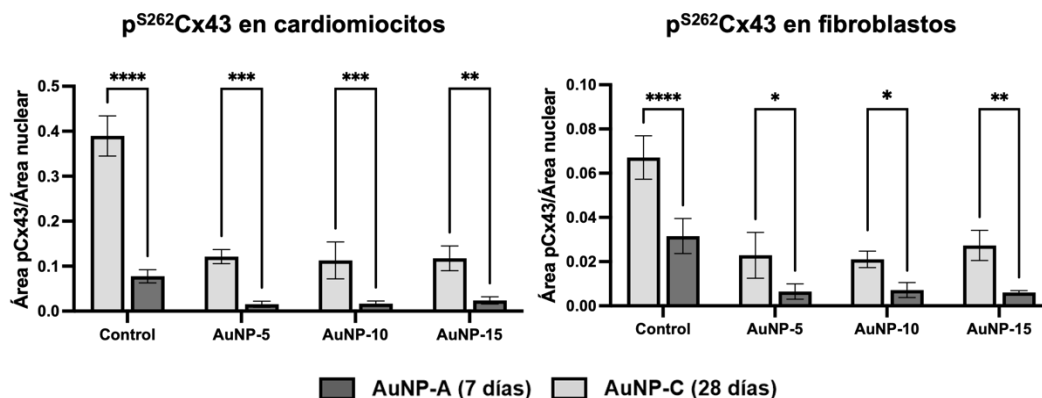


Figura 36. Fosforilación p^{S262}Cx43 en cardiomiocitos y fibroblastos cardíacos después de la administración aguda y crónica de AuNPs. Análisis cuantitativo de los niveles de p^{S262}Cx43 normalizados al área nuclear. (A) Niveles de fosforilación en cardiomiocitos. (B) Niveles de fosforilación en fibroblastos cardíacos. **** $p < 0.00005$, *** $p < 0.0005$, ** $p < 0.005$ y * $p < 0.05$.

8.5.3. Co-localización de las proteínas Cx43 y β -catenina

Finalmente evaluamos la integridad estructural del disco intercalar después de la administración de AuNPs. Se analizó la co-localización de la proteína Cx43 y β -catenina mediante inmunodetección doble y, posteriormente, se obtuvieron modelos tridimensionales y se calculó el índice de co-localización entre estas proteínas.

El análisis cuantitativo de la co-localización entre Cx43 y β -catenina no reveló diferencias significativas en los grupos AuNP-A (Figura 37A) y AuNP-C (Figura 38A) en comparación con sus respectivos controles, lo que indica que la interacción espacial entre ambas proteínas se conserva después de la administración de AuNPs. Adicionalmente, el análisis cualitativo realizado mediante modelos tridimensionales confirmó que, durante los procesos de lateralización e internalización de la proteína Cx43 observados en los grupos AuNP-A (Figura 37B-C) y AuNP-C (Figura 38B-C), la proteína β -catenina permanece asociada a la proteína Cx43.

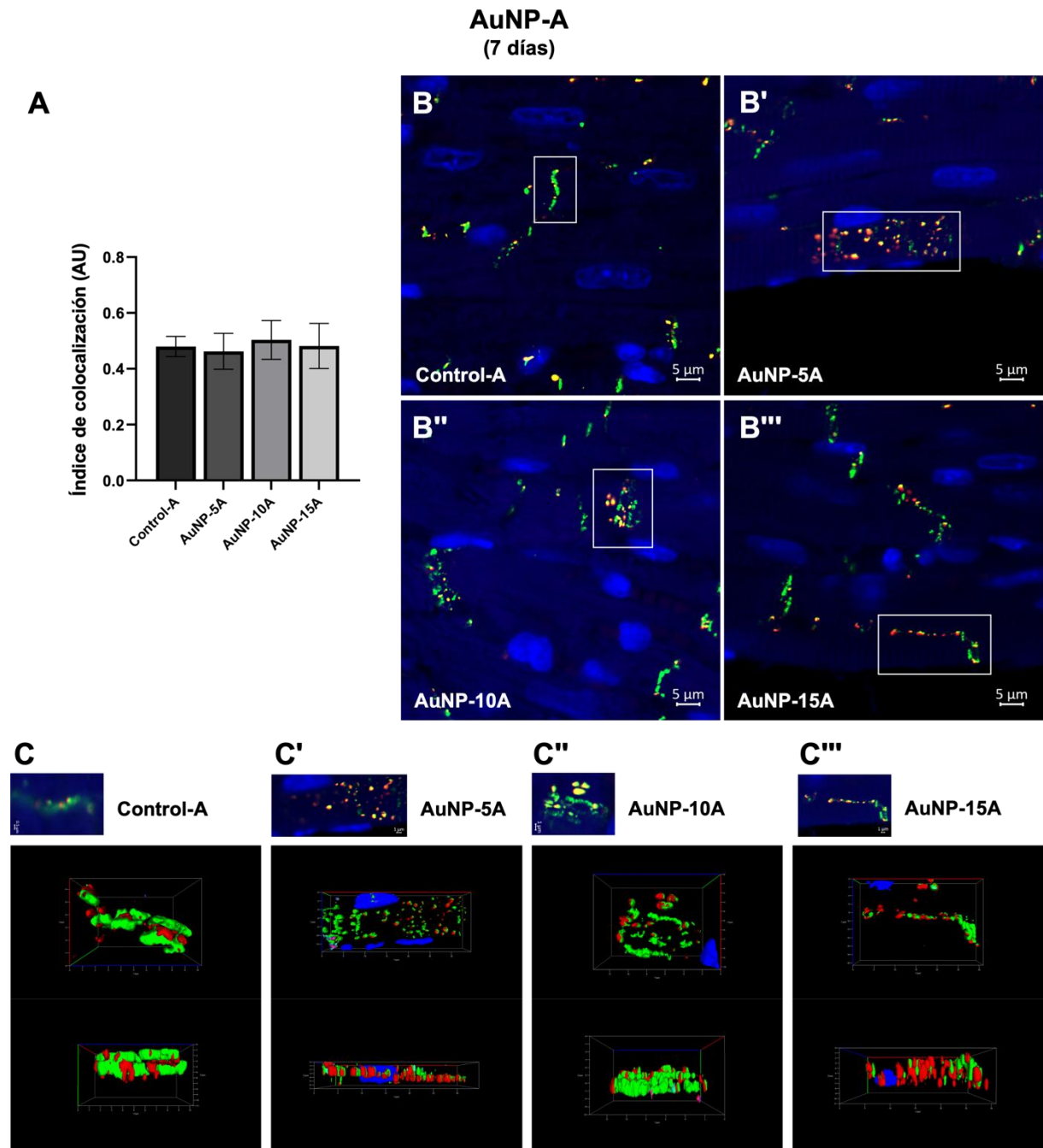


Figura 37. La administración aguda de AuNPs no altera la co-localización entre las proteínas Cx43 y β -catenina. Análisis de la co-localización entre Cx43 (rojo) y β -catenina (verde) en tejido ventricular mediante inmunofluorescencia y reconstrucción 3D. A. Cuantificación del índice de co-localización. B-B'''. Microfotografías representativas que muestran la distribución de ambas proteínas (aumento 630 $\times$). Los recuadros indican la región del disco intercalar que fue reconstruida en 3D. Los núcleos fueron teñidos con DAPI (azul). C-C'''. Modelos de reconstrucción tridimensional, mostrando la superposición espacial de Cx43 y β -catenina. Eje X (arriba) y Eje Y (abajo).

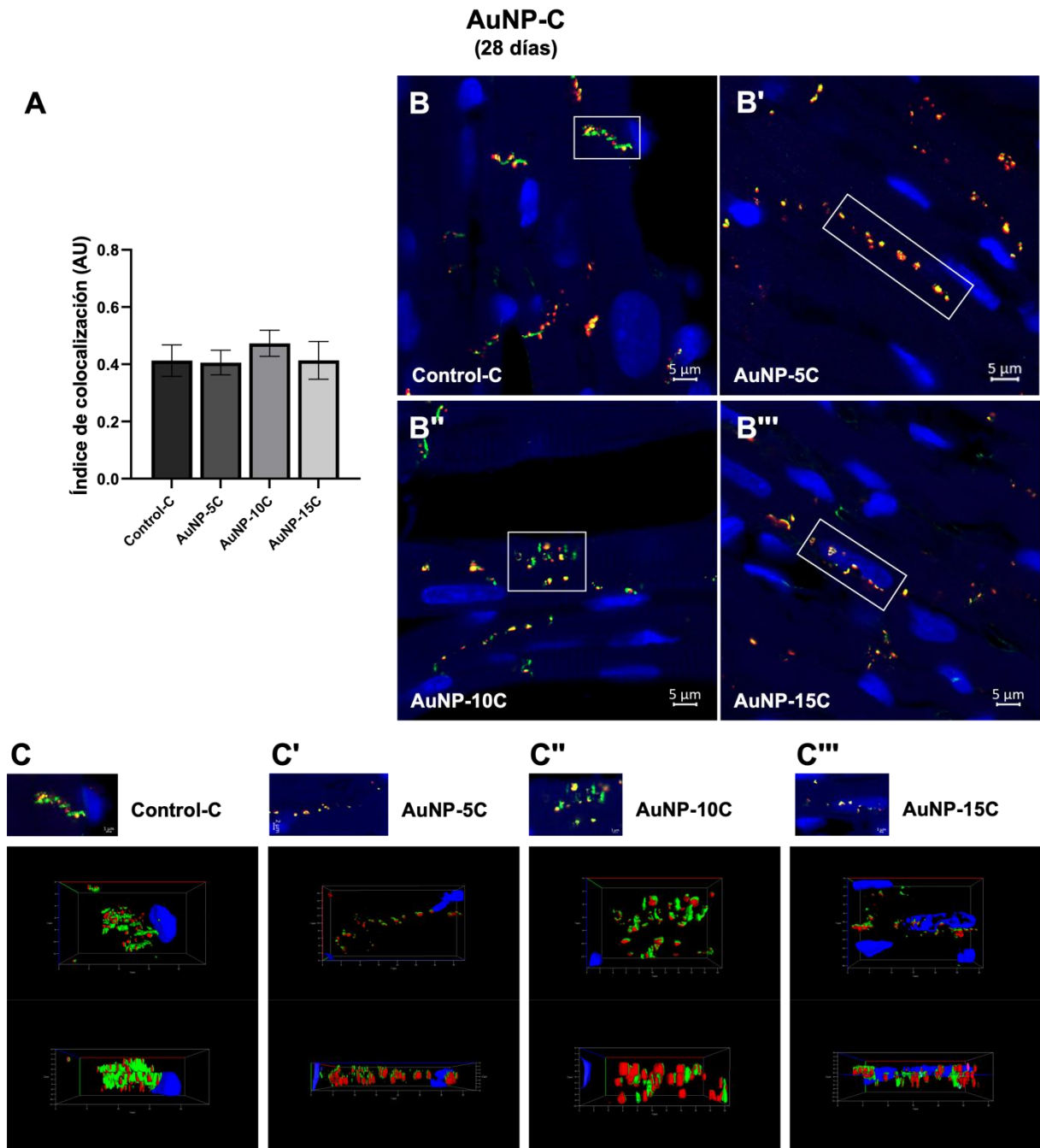


Figura 38. La administración crónica de AuNPs no altera la co-localización entre las proteínas Cx43 y β -catenina. Análisis de la co-localización entre Cx43 (rojo) y β -catenina (verde) en tejido ventricular mediante inmunofluorescencia y reconstrucción 3D. A. Cuantificación del índice de co-localización. B-B'''. Microfotografías representativas que muestran la distribución de ambas proteínas (aumento 630 $\times$). Los recuadros indican la región del disco intercalar que fue reconstruida en 3D. Los núcleos fueron teñidos con DAPI (azul). C-C'''. Modelos de reconstrucción tridimensional, mostrando la superposición espacial de Cx43 y β -catenina. Eje X (arriba) y Eje Y (abajo).

Este hallazgo sugiere que la alteración de la topología subcelular de la proteína Cx43 no es un evento aislado, por el contrario, indica que las proteínas de las uniones celulares se desplazan conjuntamente como un complejo durante los eventos de internalización y lateralización.

IX. Discusión

El crecimiento acelerado de la industria nanotecnológica ha impulsado la producción de AuNPs en los últimos años (GVR, 2024), un fenómeno que ocurre a pesar de la regulación limitada (Shariq et al., 2020) y la evidencia existente de su toxicidad en diversos modelos (Adelawe et al., 2019). Esta situación es preocupante al considerar que la mortalidad cardiovascular asociada a la contaminación del aire es alarmante (Brook et al., 2010; GBD 2019 Risk Factors Collaborators, 2020). Dado que este fenómeno se atribuye principalmente a las nanopartículas incidentales (Brook et al., 2010), resulta urgente investigar si las nanopartículas ingenierizadas, como las AuNPs, presentan un riesgo similar para el medio ambiente y los humanos.

Hasta el momento, la mayor parte de las investigaciones sobre la cardiotoxicidad inducida por AuNPs se han limitado a estudiar la bioacumulación (De Jong et al., 2008; Sonavane et al., 2008; Fraga et al., 2014) y las remodelaciones cardíacas a nivel histológico (Abdelhalim, 2011a; 2011b; Jarrar et al., 2022). Por lo tanto, el impacto de las AuNPs en la función cardíaca permanece desconocido. Para empezar a abordar este vacío de conocimiento, nos propusimos analizar la expresión génica total e *in situ* de la proteína Cx43 en el miocardio ventricular, dado el papel indispensable de esta proteína en el acoplamiento eléctrico cardiomiocito-cardiomiocito que permite la contracción coordinada del miocardio. Por lo anterior, evaluamos el efecto de la administración aguda y crónica de AuNPs menores de 20 nm, diseñando una estrategia integral para evaluar cambios sistémicos, anatómicos, tisulares, celulares y moleculares.

9.1. Las AuNPs no inducen toxicidad manifiesta ni alteraciones en el perfil sérico

Inicialmente, evaluamos parámetros de toxicidad manifiesta, incluyendo la supervivencia y el peso corporal. A pesar de que se registró un deceso en el grupo AuNP-10C durante la administración crónica, el panorama general indicó una baja toxicidad en ambos esquemas de administración. Esta conclusión inicial se fundamenta en la ausencia de cambios en el peso corporal de los animales a lo largo del experimento, independientemente del tamaño de nanopartícula o del tiempo de administración.

La medición del perfil sérico constató que los biomarcadores T-Cho, T-Prot, BUN y AST se mantuvieron dentro de los valores de referencia descritos para la cepa de ratones C57BL/6J (Mazzaccara et al., 2008; Silva-Santana et al., 2020), lo que sugiere ausencia de daño sistémico evidente o alteraciones metabólicas asociadas al riesgo cardíaco. No obstante, se observó un incremento en los niveles de CK en los grupos AuNP-C, pero también en el grupo Control-C. Lo anterior podría sugerir que este resultado no se atribuye a un efecto específico de las AuNPs, sino que se relaciona con la administración intraperitoneal crónica del vehículo.

9.2. Las administración crónica de AuNPs provoca atrofia y esfericidad ventricular

La evaluación anatómica se centró en identificar las remodelaciones cardíacas asociadas a toxicidad, buscando indicios de hipertrofia maladaptativa. Con este fin, analizamos el peso cardíaco, el índice de esfericidad y la morfometría ventricular en cortes histológicos coronales.

Respecto al peso cardíaco, no encontramos cambios significativos en ninguno de los grupos experimentales. La ausencia de hipertrofia maladaptativa evidente podría atribuirse inicialmente a que este proceso requiere un tiempo prolongado para manifestarse, al involucrar muerte celular, crecimiento compensatorio y depósito de colágeno (Kang, 2019). Sin embargo, la morfometría ventricular reveló un escenario distinto y más complejo: la administración crónica de AuNPs indujo atrofia, independientemente del peso cardíaco.

La atrofia fue evidente debido a que se redujo el área ventricular y el adelgazamiento de la pared libre del Vi y del TIV. Si bien la literatura clásica suele enfatizar la hipertrofia maladaptativa como respuesta primaria a la cardiotoxicidad (Almuti et al., 2014; Kang, 2019), la atrofia ha emergido recientemente como una remodelación deletérea capaz de desencadenar insuficiencia cardíaca. Este fenómeno es prevalente en la cardiotoxicidad por doxorrubicina (Lipshultz et al., 2005; Neilan et al., 2012; Ferreira et al., 2018), donde se ha sugerido que la atrofia del Vi resulta de un desequilibrio entre la degradación y la síntesis proteica, que puede derivar en el desarrollo de una cardiomiopatía dilatada o restrictiva, progresando hacia la insuficiencia cardíaca congestiva como fase final de la toxicidad (Chen et al., 2022).

La atrofia que observamos fue consistente con las alteraciones encontradas en la anatomía de superficie y el índice de esfericidad. En los grupos AuNP-C, la alteración de los bordes derecho e izquierdo, así como las deformidades en la cara ventral y el cono ventricular, demuestran la transición de la morfología elíptica hacia una más esférica. La remodelación geométrica constituye un cambio grave, ya que la adopción de una geometría esférica es un marcador clínico directo de disfunción ventricular

(Cohn et al., 2000) y característico de pacientes post-infarto de miocardio (Martínez-Lucio et al., 2024).

De particular relevancia fue la presencia de abultamientos en la cara ventral y la deformación del cono ventricular, observadas en los grupos AuNP-C. Estos hallazgos son mecánicamente concordantes con la atrofia de la pared libre del VI y del TIV, así como con el cambio en la geometría del corazón. Es probable que el debilitamiento estructural del miocardio atrófico comprometa su capacidad para soportar la tensión parietal ventricular, resultando en las deformaciones observadas. Este fenómeno biomecánico es similar a lo que sucede en la expansión del infarto descrita después de la lesión de los cardiomiocitos de un infarto agudo de miocardio (Warren et al., 1998). En la expansión del infarto, el adelgazamiento de la pared incrementa exponencialmente la tensión parietal ventricular, lo que obliga al tejido a distenderse y deformarse hacia afuera para compensar esta carga mecánica excesiva (Hutchins & Bulkley, 1978; Weisman & Healy, 1987; Sutton & Sharpe, 2000).

Adicionalmente, la identificación de una posible área focal de necrosis sugiere que, más allá de la atrofia y remodelado ventricular, las AuNPs poseen un potencial de citotoxicidad capaz de inducir daño tisular irreversible, incluso si este es focal y no altera el peso del corazón.

9.3. La vacuolización citoplasmática, la degeneración vacuolar y la atrofia del cardiomiocito sugieren un fallo bioenergético y una respuesta autofágica maladaptativa

El análisis histopatológico mostró vacuolización citoplasmática y degeneración vacuolar con hipoeosinofilia en los grupos AuNP-A y AuNP-C. Estos hallazgos son consistentes con las observaciones pioneras de Abdelhalim (2011a; 2011b), quien reportó que la administración intraperitoneal de AuNPs (10, 20 y 50 nm) induce alteraciones histológicas dependientes del tamaño y el tiempo de administración, que incluyen desde la vacuolización citoplasmática y desorganización de fibras musculares, hasta congestión vascular e infiltración inflamatoria. Recientemente, Jarrar y colaboradores (2022) corroboraron el efecto cardiotóxico de las AuNPs de 10 nm, ya que describieron un patrón de daño similar que abarca la degeneración vacuolar y hialina, así como la desorganización de fibras musculares.

Fisiopatológicamente, la vacuolización citoplasmática sugiere una alteración en la homeostasis celular, que puede corresponder a una acumulación de lípidos o a la distensión hidrópica de organelos, como el retículo sarcoplásmico y las mitocondrias (Berridge et al., 2016). En contraste, la degeneración vacuolar podría implicar un daño celular más severo en el cardiomiocito, ya que se considera una característica de lesión irreversible asociada a muerte celular (Berridge et al., 2016).

Mecanísticamente, es posible que la vacuolización citoplasmática y, sobre todo, la degeneración vacuolar, sean consecuencia de alteraciones bioenergéticas. Se ha demostrado ampliamente que las AuNPs desnudas inducen un aumento en la producción de ROS (Li et al., 2010; Patlolla et al., 2019; Ozcicek et al., 2021) y daño

mitocondrial (Jarrar et al., 2022). Además, Zhang y colaboradores (2013) mostraron que las AuNPs desnudas poseen un potencial catalítico intrínseco capaz de generar oxígeno singulete (1O_2). Esto demuestra que la generación de ROS no requiere necesariamente la degradación de la nanopartícula o la liberación de iones, sino que la superficie metálica actúa como un catalizador plasmónico reactivo (Zhang et al., 2013). Por lo anterior, es posible que el estrés oxidante y la consecuente disfunción mitocondrial comprometan la producción de ATP, provocando fallas en bombas iónicas dependientes de energía. El desequilibrio osmótico resultante podría permitir la entrada masiva de agua, causando la distensión hidrópica de los organelos que histológicamente se manifiesta como vacuolización citoplasmática (Berridge et al., 2016).

Aunado al desequilibrio osmótico, la posible persistencia del estrés oxidante y el daño mitocondrial durante la administración crónica de AuNPs parecen desencadenar un estado catabólico severo, evidenciado histológicamente por la atrofia de los cardiomiocitos y la degeneración vacuolar con hipoeosinofilia. La hipoeosinofilia citoplasmática observada sugiere una reducción en la densidad de las miofibrillas, dado que la eosina es un colorante ácido y aniónico con afinidad por los grupos amino básicos de las proteínas citoplasmáticas, como la actina y la miosina (Bancroft & Layton, 2019). La posible reducción en la densidad de las miofibrillas explicaría directamente la disminución en el tamaño de los cardiomiocitos y, por ende, el adelgazamiento de las paredes del Vi y el TIV (atrofia). La coexistencia de vacuolización y atrofia en los cardiomiocitos sugiere la activación de mecanismos de degradación celular, en particular la autofagia. Si bien la autofagia es un mecanismo

de supervivencia para reciclar organelos dañados, su activación excesiva conduce al consumo de la propia maquinaria celular (Sciarretta et al., 2018). Este mecanismo es consistente con lo reportado por Li y colaboradores (2010), quienes mostraron que las AuNPs inducen estrés oxidante y promueven la acumulación de autofagosomas.

Estos hallazgos sugieren que los cardiomiocitos podrían activar una respuesta autofágica como mecanismo de defensa para eliminar los organelos dañados por el estrés oxidante inducido por las AuNPs. Sin embargo, ante la persistencia del estímulo, esta respuesta se podría tornar maladaptativa, causando una posible degradación de proteínas estructurales de las miofibrillas y la acumulación de vacuolas en el citoplasma, un proceso catabólico que culmina inevitablemente en la atrofia y, posiblemente, muerte celular.

9.4. Las AuNPs promueven un evento temprano de proliferación de fibroblastos cardíacos y fibrosis

La cuantificación de colágeno mostró fibrosis intersticial y perivascular en el miocardio ventricular de los grupos AuNP-A y AuNP-C. Sin embargo, no observamos que la fibrosis incrementara con el tiempo de administración a pesar de que el daño histológico en los cardiomiocitos empeoró crónicamente. Lo anterior sugiere un proceso de fibrosis reparativa como respuesta temprana a la administración de AuNPs, lo que se confirma con los resultados de proliferación celular: un incremento de proliferación de fibroblastos cardíacos en los grupos AuNP-A, seguido de un retorno a niveles basales en los grupos AuNP-C. De acuerdo con Prabhu y Frangogiannis (2016) y Travers y colaboradores (2016), la fibrosis reparativa es un evento temprano y

autolimitado, diseñado para preservar la integridad estructural de los tejidos tras una lesión, a diferencia de la fibrosis reactiva progresiva. De hecho, tras la fase activa de reparación, la mayoría de los fibroblastos activados (miofibroblastos) sufren apoptosis, dejando una cicatriz fibrótica madura compuesta por colágeno y otros componentes de la matriz extracelular (Hinz & Lagares, 2020).

Lo anterior sugiere un modelo de cardiotoxicidad en dos etapas: una etapa reparativa, donde la exposición inicial a AuNPs provoca una señal que promueve la rápida proliferación de fibroblastos cardíacos y la presencia de depósitos de colágeno para estabilizar el tejido; y una etapa estacionaria, donde, aunque la administración de AuNP continúa y sigue estresando a los cardiomiocitos, la señal proliferativa para los fibroblastos disminuye una vez establecida la cicatriz. De esta manera, es posible que el miocardio alcance un nuevo estado de equilibrio caracterizado por una cicatriz fibrótica persistente que no se expande activamente, coexistiendo con un daño degenerativo continuo en los cardiomiocitos.

9.5. Las AuNPs inducen remodelado de la topología subcelular de la proteína Cx43 mediado por fosforilación sin alterar su expresión total

Un hallazgo importante fue que encontramos cambios topológicos subcelulares de la proteína Cx43 a pesar de que la expresión total de la proteína se mantuvo sin cambios en todos nuestros grupos experimentales. Los análisis de Western blot mostraron que la administración aguda y crónica de AuNPs no altera los niveles totales de la proteína, lo que sugiere que las AuNPs no interfieren con la expresión del gen constitutivo *GJA1* ni provocan una degradación masiva de la proteína. Sin embargo, el análisis de

expresión *in situ* mediante inmunodetección reveló un escenario de remodelación cardíaca en los grupos administrados con AuNPs: la proteína Cx43 está presente, pero funcionalmente comprometida debido a su localización aberrante.

En condiciones fisiológicas, la proteína Cx43 mayormente se localiza formando las uniones comunicantes del disco intercalar de los cardiomiocitos (Beyer et al., 1989), una disposición crítica para garantizar el acoplamiento eléctrico longitudinal y la propagación anisotrópica del potencial de acción. Nuestros resultados mostraron que los grupos administrados con AuNPs presentan una reducción de la proteína Cx43 en el disco intercalar y, en consecuencia, un aumento en sus proporciones no funcionales: lateralización e internalización.

El incremento de los procesos de lateralización de la proteína Cx43 se reconoce como una característica de las enfermedades cardíacas donde la conducción eléctrica está comprometida (Severs et al., 2008). La remodelación patológica de la proteína Cx43 ha sido ampliamente reportada en enfermedades cardíacas, como la insuficiencia cardíaca (Wang y Gerdes, 1999), la isquemia cardíaca aguda (Lampe et al., 2006) y las miocardiopatías hipertróficas y dilatadas (Kostin et al., 2004; Ito et al., 2021). Incluso este tipo de remodelación se ha reportado en enfermedades sistémicas, como la diabetes mellitus tipo 1 y 2 (Olsen et al., 2013; Lin et al., 2016; Billur et al., 2022), y el envejecimiento (Bonda et al., 2016; Billur et al., 2022). Además, factores ambientales y conductuales, como la exposición al ruido de baja frecuencia (Antunes et al., 2013) o una dieta alta en grasas (Aubin et al., 2010), se han asociado con remodelaciones anómalas de la proteína Cx43. Esto sugiere que la lateralización es una respuesta del

miocardio ante el estrés, y que las AuNPs actúan como un estímulo capaz de activar esta remodelación cardíaca maladaptiva.

Mecanísticamente, la lateralización es un proceso complejo y no totalmente dilucidado que puede variar según el modelo patológico. Sin embargo, se ha propuesto que fallos en el transporte dirigido o en la inserción de la proteína Cx43 en la placa comunicante, posiblemente mediados por modificaciones postraduccionales, permiten que los conexones se movilicen al sarcolema lateral (Nielsen et al., 2023). Sin embargo, se ha reportado que los conexones lateralizados son inherentemente inestables y, como consecuencia, sufren una internalización acelerada para su posterior degradación (Hesketh et al., 2010). Lo anterior podría explicar por qué en nuestra investigación el aumento de la porción lateralizada de la proteína Cx43 fue acompañado, y eventualmente superado, por la porción de la proteína Cx43 internalizada en el citoplasma. De hecho, se ha demostrado que estructuras internalizadas de la proteína Cx43 son dirigidas específicamente a la vía de degradación autofágica-lisosomal (Hesketh et al., 2010).

Lo anterior nos permite proponer un vínculo directo con el daño tisular observado: es posible que el aumento de la porción de Cx43 internalizada, ya sea desde el disco intercalar o desde el sarcolema lateral, sature la maquinaria de degradación celular, resultando en la acumulación de autofagosomas no procesados. Esta acumulación fue manifestada posiblemente como la vacuolización citoplasmática y la degeneración vacuolar reportada en nuestro análisis histopatológico, un fenómeno consistente con la toxicidad de las AuNPs descrita por Li y colaboradores (2010), quienes reportaron

que las AuNPs inducen estrés oxidante y promueven la acumulación de autofagosomas.

El análisis de la fracción fosforilada $p^{S368}Cx43$ nos reveló una topología subcelular similar a la de la proteína Cx43 total. Se conoce que la fosforilación en el residuo S368 induce un cambio conformacional en el canal de la unión comunicante, el cual se asocia con la disminución de la permeabilidad y marca a la proteína para su internalización (Pun et al., 2023). Por lo tanto, el aumento de la $p^{S368}Cx43$ en las localizaciones subcelulares no funcionales, lateralización e internalización, sugiere que las AuNPs activan vías de señalización que promueven activamente el cierre y la internalización de las uniones comunicantes. De esta manera, nuestros resultados nos permiten proponer que el remodelado topológico subcelular de la proteína Cx43 podría estar dirigido por mecanismos de fosforilación específicos.

9.6. La co-translocación de las proteínas Cx43 y β -catenina sugiere el desmantelamiento de unidad estructural del disco intercalar después de la administración de AuNPs

Investigamos si la remodelación de la proteína Cx43 implicaba otras proteínas del disco intercalar, por lo que, analizamos su co-localización con la proteína β -catenina. El análisis de co-localización reveló un evento de co-translocación: a pesar de las alteraciones en la topología subcelular de la proteína Cx43, su unión con la proteína β -catenina se mantuvo. Este hallazgo es importante porque nos muestra la naturaleza compleja del disco intercalar, donde todas las uniones celulares interactúan físicamente de manera estrecha (Nielsen et al., 2023).

El hecho de que la proteína β -catenina permanezca asociada a la proteína Cx43 durante la remodelación de su topología subcelular sugiere que las AuNPs provocan el desmantelamiento y, posterior, lateralización o internalización de bloques enteros de membrana citoplasmática y sus uniones celulares. Esto implica que el daño cardíaco no se limita al desacoplamiento eléctrico, sino también compromete la estabilidad mecánica del tejido, ya que la interacción directa entre el extremo C-terminal de la proteína Cx43 y proteína β -catenina es esencial para estabilizar la unión comunicante (Spagnol et al., 2018). La pérdida simultánea de estos elementos en el disco intercalar debilita la cohesión cardiomiocito-cardiomiocito, lo cual mecánicamente podría tener relación con las deformaciones ventriculares que discutimos en la sección de anatomía.

9.7. La reducción de la fosforilación nuclear p^{S262} Cx43 sugiere una desregulación del crecimiento celular

De manera interesante encontramos a la fracción fosforilada p^{S262} Cx43 localizada en el núcleo celular, tanto en cardiomiocitos como en fibroblastos cardíacos.

Si bien la fosforilación de la proteína Cx43 en el residuo S262 no se ha descrito a nivel nuclear, existe evidencia en otros modelos biológicos sobre la presencia de fragmentos C-terminales de la proteína en este compartimento, donde se ha propuesto que actúan como reguladores de la transcripción. Kotini y colaboradores (2018) mostraron que el dominio C-terminal de la proteína Cx43 puede translocarse al núcleo y unirse directamente a promotores génicos para regular la transcripción de la proteína N-

cadherina durante la migración de las células de la cresta neural. Asimismo, Smyth & Shaw (2013) han descrito la existencia de isoformas truncadas endógenas, como la GJA1-20k, que poseen una localización nuclear preferencial y funciones autorreguladoras del tráfico de la proteína Cx43.

Respecto a la fosforilación en el residuo S262, Doble y colaboradores (2004) establecieron que esta fosforilación funciona como un regulador negativo del crecimiento celular, inhibiendo la síntesis de ADN y manteniendo al cardiomiocito en un estado de quiescencia. Bajo este marco teórico, nuestros resultados revelan dos escenarios distintos de respuesta celular ante el estrés por AuNPs.

En el caso de los fibroblastos cardíacos, observamos una disminución significativa de los niveles nucleares de $p^{S262}Cx43$ en los grupos AuNP-A. Esta disminución de la fosforilación coincidió con el aumento de la proliferación de los fibroblastos cardíacos que también reportamos en los grupos AuNP-A. Por otro lado, en los grupos AuNP-C, aunque los niveles de $p^{S262}Cx43$ descendieron aún más que en los grupos AuNP-A, la proliferación celular disminuyó. Esto sugiere que la baja fosforilación en el residuo S262 de la proteína Cx43 podría estar involucrada en la proliferación celular de los fibroblastos cardíacos. Es probable que, tras la etapa de fibrosis reparativa, se activen otros mecanismos de control, como la maduración de la cicatriz fibrótica, que imponen la quiescencia a pesar de los bajos niveles de fosforilación de Cx43 en el residuo de S262.

Respecto a los cardiomiocitos, la disminución de la señal nuclear de $p^{S262}Cx43$ en los grupos administrados con AuNPs plantea una paradoja biológica interesante. Si bien la reducción de fosforilación debería teóricamente promover crecimiento celular

(hipertrofia) o la síntesis de ADN como intento de reparación, el fenotipo final observado fue la atrofia. Esto sugiere que, aunque las AuNPs activan una señalización molecular que intenta liberar el freno al crecimiento (disminuyendo $p^{S262}Cx43$), el cardiomiocito es incapaz de ejecutar esta respuesta anabólica. Sin embargo, se requieren investigaciones más exhaustivas para confirmar esta hipótesis y comprender a fondo los mecanismos moleculares subyacentes que regulan la función nuclear de la $p^{S262}Cx43$ bajo condiciones de estrés inducidas por la administración de AuNPs.

9.8. Influencia del tamaño de nanopartícula y tiempo de administración en la cardiotoxicidad inducida por AuNPs

Finalmente, integramos nuestros hallazgos para determinar si la toxicidad de las AuNPs en el corazón depende de su tamaño o de tiempo de administración. Respecto al tamaño de nanopartícula, nuestros resultados revelaron un perfil toxicológico homogéneo para las AuNPs de 5, 10 y 15 nm. No observamos diferencias significativas en nuestros resultados entre los diferentes tamaños de nanopartícula evaluados, lo que contrasta con la premisa clásica de nanotoxicología que menciona que las nanopartículas más pequeñas son más tóxicas debido al incremento en la relación superficie-volumen (Oberdörster et al., 2005; De Jong et al., 2008). Esto sugiere que, dentro del rango estrecho de 5 a 15 nm, las AuNPs actúan mediante un efecto de clase o umbral: una vez que las nanopartículas son lo suficientemente pequeñas para atravesar las barreras biológicas y bioacumularse en los tejidos, desencadenan la misma respuesta de daño celular.

Por el contrario, el tiempo de administración desempeñó un papel determinante en el desarrollo de un mayor daño en el miocardio. Identificamos dos etapas distintas de cardiotoxicidad. Inicialmente, una etapa aguda caracterizada por la remodelación subcelular de la proteína Cx43 y una respuesta activa de proliferación de fibroblastos cardíacos que generó fibrosis reparativa. Posteriormente, en la etapa crónica, las remodelaciones subcelulares de la proteína Cx43 se acentuaron, la proliferación de fibroblastos cardíacos regresó a un nivel basal y, por lo tanto, la fibrosis no aumentó respecto a la etapa aguda. Además, observamos atrofia ventricular en esta etapa.

X. Conclusiones

La presente investigación mostró que la administración intraperitoneal de AuNPs menores de 20 nm induce cardiotoxicidad, caracterizada por un remodelado cardíaco a diferentes niveles: orgánico, tisular, celular y molecular. Este remodelado se manifestó mediante un patrón de respuesta dependiente del tiempo de administración, pero independiente del tamaño de la nanopartícula.

La administración aguda de AuNPs se caracterizó por la ausencia de remodelado a nivel orgánico, ya que no se encontraron alteraciones en el peso cardíaco, la anatomía de superficie ni la morfometría ventricular. En cambio, se observaron alteraciones a nivel histológico, tales como vacuolización citoplasmática y degeneración vacuolar. Asimismo, se detectó fibrosis intersticial y perivascular, acompañada de un aumento en la proliferación de fibroblastos cardíacos, lo que sugirió una etapa reparativa temprana. Por último, se evidenció una remodelación en la topología de la proteína Cx43, con un aumento de las lateralizaciones y, predominantemente, de las internalizaciones, sin cambios en su expresión total.

La administración crónica de AuNPs se distinguió por la presencia de remodelado cardíaco a nivel orgánico. Aunque el peso del corazón no varió, sí se registraron alteraciones significativas en la anatomía de superficie y la morfometría ventricular. Particularmente, encontramos atrofia en la pared libre del Vi y en el TIV, acompañada de anomalías en los bordes del corazón y la cara ventral, así como la adopción de una geometría cardíaca más esférica. A nivel histológico, confirmamos la atrofia en los cardiomiocitos, junto con un mayor daño tisular. No obstante, no se observó un

aumento en la fibrosis con respecto a la administración aguda de AuNPs. Este hallazgo que se asoció con el retorno de la proliferación de fibroblastos cardíacos a niveles basales, sugiriendo el establecimiento de una etapa estacionaria. Respecto a la topología subcelular, las internalizaciones y lateralizaciones se acentuaron, manteniéndose la expresión total de Cx43 sin cambios.

En ambos tipos de administración, el objetivo principal fue analizar la expresión total e *in situ* de la proteína Cx43. Los resultados indicaron que la administración de AuNPs no altera la expresión total de la proteína, pero sí compromete severamente su topología subcelular. Nuestros hallazgos sugirieron que esta alteración topológica subcelular está mediada por la fosforilación en el residuo S368 de la proteína Cx43. Además, esta deslocalización afectó a otras proteínas del disco intercalar, como la β -catenina, lo que sugiere un daño que también afecta a las demás uniones celulares. Se identificó la fosforilación del residuo S262 de la proteína Cx43 en el núcleo celular, lo que indica un posible mecanismo de regulación transcripcional ante el estrés causado por la administración de AuNPs. En fibroblastos cardíacos, la reducción de esta fosforilación se vinculó con una proliferación reparadora durante la exposición aguda a AuNPs. Sin embargo, en los cardiomiocitos, esto mostró un fenotipo de reparación incompleta: aunque la disminución nuclear de la fosforilación en S262 indica un intento molecular de promover el crecimiento para reparar el daño, la incapacidad de las células para completar esta respuesta anabólica llevó a la atrofia ventricular observada.

Estos hallazgos tienen importantes implicaciones ambientales y de salud pública. Nuestros resultados indican que las AuNPs no son materiales biológicamente inertes,

sino que poseen un potencial cardiotóxico. Al demostrar que las AuNPs pueden inducir daño cardíaco —evidenciado por atrofia, alteraciones en los cardiomiocitos y posible desacoplamiento eléctrico—, este estudio subraya la urgencia de establecer regulaciones más estrictas sobre su aplicación industrial y controlar su liberación al medio ambiente, con el fin de prevenir un nuevo factor de riesgo cardiovascular emergente.

XI. Referencias

- Abdelhalim M. A. (2011a). Exposure to gold nanoparticles produces cardiac tissue damage that depends on the size and duration of exposure. *Lipids in health and disease*, 10, 205. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-205>
- Abdelhalim M. A. (2011b). Gold nanoparticles administration induces disarray of heart muscle, hemorrhagic, chronic inflammatory cells infiltrated by small lymphocytes, cytoplasmic vacuolization and congested and dilated blood vessels. *Lipids in health and disease*, 10, 233. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-233>
- Adewale, O. B., Davids, H., Cairncross, L., & Roux, S. (2019). Toxicological Behavior of Gold Nanoparticles on Various Models: Influence of Physicochemical Properties and Other Factors. *International journal of toxicology*, 38(5), 357–384. <https://doi.org/10.1177/1091581819863130>
- Ai, Z., Fischer, A., Spray, D. C., Brown, A. M., & Fishman, G. I. (2000). Wnt-1 regulation of connexin43 in cardiac myocytes. *The Journal of clinical investigation*, 105(2), 161–171. <https://doi.org/10.1172/JCI7798>
- Almuti, K., Rahman, S. & Acosta, D. (2014). Pathophysiology and Toxicology of the Heart. En A. W. Hayes & C. LI Kruger (Eds.). *Hayes' Principles and Methods of Toxicology* (6th ed.). CRC Press.
- Ambrosi, C., Ren, C., Spagnol, G., Cavin, G., Cone, A., Grintsevich, E. E., Sosinsky, G. E., & Sorgen, P. L. (2016). Connexin43 Forms Supramolecular Complexes through Non-Overlapping Binding Sites for Drebrin, Tubulin, and ZO-1. *PloS one*, 11(6), e0157073. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157073>

- Andelova, K., Egan Benova, T., Szeiffova Bacova, B., Sykora, M., Prado, N. J., Diez, E. R., Hlivak, P., & Tribulova, N. (2020). Cardiac Connexin-43 Hemichannels and Pannexin1 Channels: Provocative Antiarrhythmic Targets. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 260. <https://doi.org/10.3390/ijms22010260>
- Anderson, R. H., Yanni, J., Boyett, M. R., Chandler, N. J., & Dobrzynski, H. (2009). The anatomy of the cardiac conduction system. *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*, 22(1), 99–113. <https://doi.org/10.1002/ca.20700>
- Antunes, E., Borrecho, G., Oliveira, P., Brito, J., Águas, A., & Martins dos Santos, J. (2013). Immunohistochemical evaluation of cardiac connexin43 in rats exposed to low-frequency noise. *International journal of clinical and experimental pathology*, 6(9), 1874–1879.
- Assad, H., Fatma, I., Sharma, P. K., Berdimurodov, E., Kumar, A., & Kumar, A. (2025). Gold nanoparticles in electronic and photonic applications. En S. K. Khadheer Pasha, K. Deshmukh, & C. M. Hussain (Eds.), *Gold nanoparticles, nanomaterials and nanocomposites* (pp. 415–448). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15897-1.00005-4>
- Aubin, M. C., Cardin, S., Comtois, P., Clément, R., Gosselin, H., Gillis, M. A., Le Quang, K., Nattel, S., Perrault, L. P., & Calderone, A. (2010). A high-fat diet increases risk of ventricular arrhythmia in female rats: enhanced arrhythmic risk in the absence of obesity or hyperlipidemia. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 108(4), 933–940. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01281.2009>

- Bancroft, J. D., & Layton, C. (2019). The hematoxylin and eosin. En S. K. Suvarna, C. Layton, & J. D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (8.^a ed., pp. 126–138). Elsevier.
- Barbuti, A., & DiFrancesco, D. (2008). Control of cardiac rate by "funny" channels in health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1123, 213–223. <https://doi.org/10.1196/annals.1420.024>
- Beardslee, M. A., Laing, J. G., Beyer, E. C., & Saffitz, J. E. (1998). Rapid turnover of connexin43 in the adult rat heart. *Circulation research*, 83(6), 629–635. <https://doi.org/10.1161/01.res.83.6.629>
- Berridge, B. R., Mowat, V., Nagai, H., Nyska, A., Okazaki, Y., Clements, P. J., Rinke, M., Snyder, P. W., Boyle, M. C., & Wells, M. Y. (2016). Non-proliferative and Proliferative Lesions of the Cardiovascular System of the Rat and Mouse. *Journal of toxicologic pathology*, 29(3 Suppl), 1S–47S. <https://doi.org/10.1293/tox.29.3S-1>
- Beyer, E. C., & Berthoud, V. M. (2018). Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*, 1860(1), 5–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.016>
- Beyer, E. C., Kistler, J., Paul, D. L., & Goodenough, D. A. (1989). Antisera directed against connexin43 peptides react with a 43-kD protein localized to gap junctions in myocardium and other tissues. *The Journal of cell biology*, 108(2), 595–605. <https://doi.org/10.1083/jcb.108.2.595>

- Beyer, E. C., Paul, D. L., & Goodenough, D. A. (1987). Connexin43: a protein from rat heart homologous to a gap junction protein from liver. *The Journal of cell biology*, 105(6 Pt 1), 2621–2629. <https://doi.org/10.1083/jcb.105.6.2621>
- Billur, D., Olgar, Y., & Turan, B. (2022). Intracellular Redistribution of Left Ventricular Connexin 43 Contributes to the Remodeling of Electrical Properties of the Heart in Insulin-resistant Elderly Rats. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 70(6), 447–462. <https://doi.org/10.1369/00221554221101661>
- Bonda, T. A., Szynaka, B., Sokołowska, M., Dziemidowicz, M., Winnicka, M. M., Chyczewski, L., & Kamiński, K. A. (2016). Remodeling of the intercalated disc related to aging in the mouse heart. *Journal of cardiology*, 68(3), 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2015.10.001>
- Brook, R. D., Rajagopalan, S., Pope, C. A., III, Brook, J. R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A. V., Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R. V., Mittleman, M. A., Peters, A., Siscovick, D., Smith, S. C., Jr., Whitsel, L., & Kaufman, J. D. (2010). Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 121(21), 2331–2378. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e3181dbee1>
- Bundschuh, M., Filser, J., Lüderwald, S., McKee, M. S., Metreveli, G., Schaumann, G. E., Schulz, R., & Wagner, S. (2018). Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to?. *Environmental sciences Europe*, 30(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>

- Burchfield, J. S., Xie, M., & Hill, J. A. (2013). Pathological ventricular remodeling: mechanisms: part 1 of 2. *Circulation*, 128(4), 388–400. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001878>
- Chaicherd, S., Killingsworth, M. C., & Pissuwan, D. (2019). Toxicity of gold nanoparticles in a commercial dietary supplement drink on connective tissue fibroblast cells. *SN Applied Sciences*, 1(4), 312. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0354-2>
- Chen, D. S., Yan, J., & Yang, P. Z. (2022). Cardiomyocyte Atrophy, an Underestimated Contributor in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 9, 812578. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.812578>
- Chithrani D. B. (2010). Intracellular uptake, transport, and processing of gold nanostructures. *Molecular membrane biology*, 27(7), 299–311. <https://doi.org/10.3109/09687688.2010.507787>
- Cohn, J. N., Ferrari, R., & Sharpe, N. (2000). Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(3), 569–582. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(99\)00630-0](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(99)00630-0)
- Coppen, S. R., Dupont, E., Rothery, S., & Severs, N. J. (1998). Connexin45 expression is preferentially associated with the ventricular conduction system in mouse and rat heart. *Circulation research*, 82(2), 232–243. <https://doi.org/10.1161/01.res.82.2.232>

- Coppen, S. R., Kodama, I., Boyett, M. R., Dobrzynski, H., Takagishi, Y., Honjo, H., Yeh, H. I., & Severs, N. J. (1999). Connexin45, a major connexin of the rabbit sinoatrial node, is co-expressed with connexin43 in a restricted zone at the nodal-crista terminalis border. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 47(7), 907–918. <https://doi.org/10.1177/002215549904700708>
- Daniel, M. C., & Astruc, D. (2004). Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical reviews*, 104(1), 293–346. <https://doi.org/10.1021/cr030698+>
- Dau, H. G., Dang, M. A., Van, N. L., Nguy, T. P., Ukita, Y. & Truong L. (2025). Gold nanoparticles enhanced color stability in sweat glucose wearable colorimetric sensor based on automated microfluidic chip. *Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol*, 16, 025002. DOI 10.1088/2043-6262/adb564
- de Bont, J., Jaganathan, S., Dahlquist, M., Persson, Å., Stafoggia, M., & Ljungman, P. (2022). Ambient air pollution and cardiovascular diseases: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Journal of internal medicine*, 291(6), 779–800. <https://doi.org/10.1111/joim.13467>
- De Jong, W. H., Hagens, W. I., Krystek, P., Burger, M. C., Sips, A. J., & Geertsma, R. E. (2008). Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials*, 29(12), 1912–1919. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.12.037>

- De Matteis V. (2017). Exposure to Inorganic Nanoparticles: Routes of Entry, Immune Response, Biodistribution and In Vitro/In Vivo Toxicity Evaluation. *Toxics*, 5(4), 29. <https://doi.org/10.3390/toxics5040029>
- DiFrancesco D. (2010). The role of the funny current in pacemaker activity. *Circulation research*, 106(3), 434–446. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.208041>
- Ding, L., Yao, C., Yin, X., Li, C., Huang, Y., Wu, M., Wang, B., Guo, X., Wang, Y., & Wu, M. (2018). Size, Shape, and Protein Corona Determine Cellular Uptake and Removal Mechanisms of Gold Nanoparticles. *Small*, 14(42), e1801451. <https://doi.org/10.1002/sml.201801451>
- Doble, B. W., Dang, X., Ping, P., Fandrich, R. R., Nickel, B. E., Jin, Y., Cattini, P. A., & Kardami, E. (2004). Phosphorylation of serine 262 in the gap junction protein connexin-43 regulates DNA synthesis in cell-cell contact forming cardiomyocytes. *Journal of cell science*, 117(Pt 3), 507–514. <https://doi.org/10.1242/jcs.00889>
- Dos Santos, C. A., Ingle, A. P., & Rai, M. (2020). The emerging role of metallic nanoparticles in food. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(6), 2373–2383. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10372-x>
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., & El-Sayed, M. A. (2012). The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society reviews*, 41(7), 2740–2779. <https://doi.org/10.1039/c1cs15237h>
- Duman, H., Akdaşçı, E., Eker, F., Bechelany, M., & Karav, S. (2024). Gold Nanoparticles: Multifunctional Properties, Synthesis, and Future Prospects. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 14(22), 1805. <https://doi.org/10.3390/nano14221805>

- Fawcett, D. W., & McNutt, N. S. (1969). The ultrastructure of the cat myocardium. I. Ventricular papillary muscle. *The Journal of cell biology*, 42(1), 1–45. <https://doi.org/10.1083/jcb.42.1.1>
- Ferreira de Souza, T., Quinaglia A C Silva, T., Osorio Costa, F., Shah, R., Neilan, T. G., Velloso, L., Nadruz, W., Brenelli, F., Sposito, A. C., Matos-Souza, J. R., Cendes, F., Coelho, O. R., Jerosch-Herold, M., & Coelho-Filho, O. R. (2018). Anthracycline Therapy Is Associated With Cardiomyocyte Atrophy and Preclinical Manifestations of Heart Disease. *JACC. Cardiovascular imaging*, 11(8), 1045–1055. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2018.05.012>
- Fontes, M. S., van Veen, T. A., de Bakker, J. M., & van Rijen, H. V. (2012). Functional consequences of abnormal Cx43 expression in the heart. *Biochimica et biophysica acta*, 1818(8), 2020–2029. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.039>
- Fraga, S., Brandão, A., Soares, M. E., Morais, T., Duarte, J. A., Pereira, L., Soares, L., Neves, C., Pereira, E., Bastos, M.deL., & Carmo, H. (2014). Short- and long-term distribution and toxicity of gold nanoparticles in the rat after a single-dose intravenous administration. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 10(8), 1757–1766. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.06.005>
- Gaietta, G., Deerinck, T. J., Adams, S. R., Bouwer, J., Tour, O., Laird, D. W., Sosinsky, G. E., Tsien, R. Y., & Ellisman, M. H. (2002). Multicolor and electron microscopic imaging of connexin trafficking. *Science (New York, N.Y.)*, 296(5567), 503–507. <https://doi.org/10.1126/science.1068793>

- Gao, Y., Yang, T., & Jin, J. (2015). Nanoparticle pollution and associated increasing potential risks on environment and human health: a case study of China. *Environmental science and pollution research international*, 22(23), 19297–19306. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5497-0>
- GBD 2019 Risk Factors Collaborators (2020). Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)*, 396(10258), 1223–1249. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2)
- GBD 2021 Causes of Death Collaborators (2024). Global burden of 288 causes of death and life expectancy decomposition in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990-2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet (London, England)*, 403(10440), 2100–2132. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)00367-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)00367-2)
- Giepmans, B. N., Verlaan, I., & Moolenaar, W. H. (2001). Connexin-43 interactions with ZO-1 and alpha- and beta-tubulin. *Cell communication & adhesion*, 8(4-6), 219–223. <https://doi.org/10.3109/15419060109080727>
- Giessmann, D., Theiss, C., Breipohl, W. y Meller, K. (2005). Disminución de la comunicación de la unión gap en las células epiteliales del cristalino microinyectadas con neurobiotina después del tratamiento con taxol. *Anatomía y embriología*, 209(5), 391–400. <https://doi.org/10.1007/s00429-005-0456-z>
- Goodenough, D. A., & Paul, D. L. (2009). Gap junctions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 1(1), a002576. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002576>

- Grand View Research (GVR). (2024). *Gold Nanoparticles Market (2024 - 2030). Size, Share & Trends Analysis Report By End-use (Medical & Dentistry, Electronics, Catalysis, Others) By Region (North America, Europe, Asia Pacific), And Segment Forecasts.* <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/gold-nanoparticles-industry>
- Gros, D., Jarry-Guichard, T., Ten Velde, I., de Maziere, A., van Kempen, M. J., Davoust, J., Briand, J. P., Moorman, A. F., & Jongsma, H. J. (1994). Restricted distribution of connexin40, a gap junctional protein, in mammalian heart. *Circulation research*, 74(5), 839–851. <https://doi.org/10.1161/01.res.74.5.839>
- Gupta, V., Mohapatra, S., Mishra, H., Farooq, U., Kumar, K., Ansari, M. J., Aldawsari, M. F., Alalaiwe, A. S., Mirza, M. A., & Iqbal, Z. (2022). Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals-A Review of Latest Advancements. *Gels (Basel, Switzerland)*, 8(3), 173. <https://doi.org/10.3390/gels8030173>
- Hansen, S. F., Baun, A., & Jensen, K. A. (2011). *NanoRiskCat - A conceptual decision support tool for nanomaterials*. Danish Ministry of the Environment Protection Agency.
- Hesketh, G. G., Shah, M. H., Halperin, V. L., Cooke, C. A., Akar, F. G., Yen, T. E., Kass, D. A., Machamer, C. E., Van Eyk, J. E., & Tomaselli, G. F. (2010). Ultrastructure and regulation of lateralized connexin43 in the failing heart. *Circulation research*, 106(6), 1153–1163. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.182147>

- Hinz, B., & Lagares, D. (2020). Evasion of apoptosis by myofibroblasts: a hallmark of fibrotic diseases. *Nature reviews. Rheumatology*, 16(1), 11–31. <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0324-5>
- Hunter, A. W., Barker, R. J., Zhu, C., & Gourdie, R. G. (2005). Zonula occludens-1 alters connexin43 gap junction size and organization by influencing channel accretion. *Molecular biology of the cell*, 16(12), 5686–5698. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-08-0737>
- Hutchins, G. M., & Bulkley, B. H. (1978). Infarct expansion versus extension: two different complications of acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*, 41(7), 1127–1132. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(78\)90869-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(78)90869-x)
- Indhu, A. R., Keerthana, L., & Dharmalingam, G. (2023). Plasmonic nanotechnology for photothermal applications - an evaluation. *Beilstein journal of nanotechnology*, 14, 380–419. <https://doi.org/10.3762/bjnano.14.33>
- Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). (2023). *GBD Compare* [Herramienta interactiva en línea]. Recuperado el 24 de octubre de 2025, de <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2025, 08 de agosto). *Estadísticas de defunciones registradas (EDR) 2024 (cifras preliminares)*. Recuperado el 23 de octubre de 2025, de <https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/?p=3358>
- Ito, Y., Yoshida, M., Masuda, H., Maeda, D., Kudo-Asabe, Y., Umakoshi, M., Nanjo, H., & Goto, A. (2021). Disorganization of intercalated discs in dilated cardiomyopathy. *Scientific reports*, 11(1), 11852. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90502-1>

- Jarrar, Q., Al-Doaiss, A., Jarrar, B. M., & Alshehri, M. (2022). On the toxicity of gold nanoparticles: Histological, histochemical and ultrastructural alterations. *Toxicology and industrial health*, 38(12), 789–800. <https://doi.org/10.1177/07482337221133881>
- Judy, J. D., Unrine, J. M., & Bertsch, P. M. (2011). Evidence for biomagnification of gold nanoparticles within a terrestrial food chain. *Environmental science & technology*, 45(2), 776–781. <https://doi.org/10.1021/es103031a>
- Kang, Y. J. (2019). Toxic responses of the heart and vascular system. En C. D. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons* (9^a ed., pp. 699-739). McGraw-Hill Education.
- Kanter, H. L., Laing, J. G., Beau, S. L., Beyer, E. C., & Saffitz, J. E. (1993). Distinct patterns of connexin expression in canine Purkinje fibers and ventricular muscle. *Circulation research*, 72(5), 1124–1131. <https://doi.org/10.1161/01.res.72.5.1124>
- Kawamoto, O., Michiue, T., Ishikawa, T., & Maeda, H. (2014). Immunohistochemistry of connexin43 and zonula occludens-1 in the myocardium as markers of early ischemia in autopsy material. *Histology and histopathology*, 29(6), 767–775. <https://doi.org/10.14670/HH-29.767>
- Kieken, F., Mutsaers, N., Dolmatova, E., Virgil, K., Wit, A. L., Kellezi, A., Hirst-Jensen, B. J., Duffy, H. S., & Sorgen, P. L. (2009). Structural and molecular mechanisms of gap junction remodeling in epicardial border zone myocytes following myocardial infarction. *Circulation research*, 104(9), 1103–1112. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.190454>

- Kostin, S., Dammer, S., Hein, S., Klovekorn, W. P., Bauer, E. P., & Schaper, J. (2004). Connexin 43 expression and distribution in compensated and decompensated cardiac hypertrophy in patients with aortic stenosis. *Cardiovascular research*, 62(2), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.12.010>
- Kotini, M., Barriga, E. H., Leslie, J., Gentzel, M., Rauschenberger, V., Schambony, A., & Mayor, R. (2018). Gap junction protein Connexin-43 is a direct transcriptional regulator of N-cadherin in vivo. *Nature communications*, 9(1), 3846. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06368-x>
- Kumah, E. A., Fopa, R. D., Harati, S., Boadu, P., Zohoori, F. V., & Pak, T. (2023). Human and environmental impacts of nanoparticles: a scoping review of the current literature. *BMC public health*, 23(1), 1059. <https://doi.org/10.1186/s12889-023-15958-4>
- Laing, J. G., Tadros, P. N., Westphale, E. M., & Beyer, E. C. (1997). Degradation of connexin43 gap junctions involves both the proteasome and the lysosome. *Experimental cell research*, 236(2), 482–492. <https://doi.org/10.1006/excr.1997.3747>
- Laird, D. W., Puranam, K. L., & Revel, J. P. (1991). Turnover and phosphorylation dynamics of connexin43 gap junction protein in cultured cardiac myocytes. *The Biochemical journal*, 273(Pt 1)(Pt 1), 67–72. <https://doi.org/10.1042/bj2730067>
- Lampe, P. D., Cooper, C. D., King, T. J., & Burt, J. M. (2006). Analysis of Connexin43 phosphorylated at S325, S328 and S330 in normoxic and ischemic heart. *Journal of cell science*, 119(Pt 16), 3435–3442. <https://doi.org/10.1242/jcs.03089>

- Leykauf, K., Salek, M., Bomke, J., Frech, M., Lehmann, W. D., Dürst, M., & Alonso, A. (2006). Ubiquitin protein ligase Nedd4 binds to connexin43 by a phosphorylation-modulated process. *Journal of cell science*, 119(Pt 17), 3634–3642. <https://doi.org/10.1242/jcs.03149>
- Li, J. J., Hartono, D., Ong, C. N., Bay, B. H., & Yung, L. Y. (2010). Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles. *Biomaterials*, 31(23), 5996–6003. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.014>
- Lin, H., Ogawa, K., Imanaga, I., & Tribulova, N. (2006). Alterations of connexin 43 in the diabetic rat heart. *Advances in cardiology*, 42, 243–254. <https://doi.org/10.1159/000092573>
- Lipshultz, S. E., Lipsitz, S. R., Sallan, S. E., Dalton, V. M., Mone, S. M., Gelber, R. D., & Colan, S. D. (2005). Chronic progressive cardiac dysfunction years after doxorubicin therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 23(12), 2629–2636. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.12.121>
- Majoul, I. V., Onichtchouk, D., Butkevich, E., Wenzel, D., Chailakhyan, L. M., & Duden, R. (2009). Limiting transport steps and novel interactions of Connexin-43 along the secretory pathway. *Histochemistry and cell biology*, 132(3), 263–280. <https://doi.org/10.1007/s00418-009-0617-x>
- Martínez-Lucio, T. S., Alexánder-Rosas, E., Carvajal-Juárez, I., Mendoza-Ibáñez, A. K., Mendoza-Ibáñez, O. I., Monroy-Gonzalez, A. G., Peterson, B. W., Tsoumpas, C., & Slart, R. H. J. A. (2024). Left ventricular shape index and eccentricity index with ECG-gated Nitrogen-13 ammonia PET/CT in patients with

- myocardial infarction, ischemia, and normal perfusion. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*, 36, 101862. <https://doi.org/10.1016/j.nuclcard.2024.101862>
- Mazzaccara, C., Labruna, G., Cito, G., Scarfò, M., De Felice, M., Pastore, L., & Sacchetti, L. (2008). Age-Related Reference Intervals of the Main Biochemical and Hematological Parameters in C57BL/6J, 129SV/EV and C3H/HeJ Mouse Strains. *PloS one*, 3(11), e3772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003772>
- Musil, L. S., & Goodenough, D. A. (1993). Multisubunit assembly of an integral plasma membrane channel protein, gap junction connexin43, occurs after exit from the ER. *Cell*, 74(6), 1065–1077. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90728-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90728-9)
- Neilan, T. G., Coelho-Filho, O. R., Pena-Herrera, D., Shah, R. V., Jerosch-Herold, M., Francis, S. A., Moslehi, J., & Kwong, R. Y. (2012). Left ventricular mass in patients with a cardiomyopathy after treatment with anthracyclines. *The American journal of cardiology*, 110(11), 1679–1686. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.07.040>
- Nielsen, M. S., Axelsen, L. N., Sorgen, P. L., Verma, V., Delmar, M., & Holstein-Rathlou, N. H. (2012). Gap junctions. *Comprehensive Physiology*, 2(3), 1981–2035. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110051>
- Nielsen, M. S., van Opbergen, C. J. M., van Veen, T. A. B., & Delmar, M. (2023). The intercalated disc: a unique organelle for electromechanical synchrony in cardiomyocytes. *Physiological reviews*, 103(3), 2271–2319. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2022>

- Nimlamool, W., Andrews, R. M., & Falk, M. M. (2015). Connexin43 phosphorylation by PKC and MAPK signals VEGF-mediated gap junction internalization. *Molecular biology of the cell*, 26(15), 2755–2768. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-06-1105>
- North, B. J., & Sinclair, D. A. (2012). The intersection between aging and cardiovascular disease. *Circulation research*, 110(8), 1097–1108. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.246876>
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823–839. <https://doi.org/10.1289/ehp.7339>
- Olsen, K. B., Axelsen, L. N., Braunstein, T. H., Sørensen, C. M., Andersen, C. B., Ploug, T., Holstein-Rathlou, N. H., & Nielsen, M. S. (2013). Myocardial impulse propagation is impaired in right ventricular tissue of Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. *Cardiovascular diabetology*, 12, 19. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-12-19>
- Ozcicek, I., Aysit, N., Cakici, C., & Aydeger, A. (2021). The effects of surface functionality and size of gold nanoparticles on neuronal toxicity, apoptosis, ROS production and cellular/suborgan biodistribution. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 128, 112308. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112308>
- Pasparakis G. (2022). Recent developments in the use of gold and silver nanoparticles in biomedicine. Wiley interdisciplinary reviews. *Nanomedicine and nanobiotechnology*, 14(5), e1817. <https://doi.org/10.1002/wnan.1817>

- Patlolla, A. K., Kumari, S. A., & Tchounwou, P. B. (2019). A comparison of poly-ethylene-glycol-coated and uncoated gold nanoparticle-mediated hepatotoxicity and oxidative stress in Sprague Dawley rats. *International journal of nanomedicine*, 14, 639–647. <https://doi.org/10.2147/IJN.S185574>
- Pfeiffer, C., Rehbock, C., Hühn, D., Carrillo-Carrion, C., de Aberasturi, D. J., Merk, V., Barcikowski, S., & Parak, W. J. (2014). Interaction of colloidal nanoparticles with their local environment: the (ionic) nanoenvironment around nanoparticles is different from bulk and determines the physico-chemical properties of the nanoparticles. *Journal of the Royal Society, Interface*, 11(96), 20130931. <https://doi.org/10.1098/rsif.2013.0931>
- Pinto, A. R., Ilinykh, A., Ivey, M. J., Kuwabara, J. T., D'Antoni, M. L., Debuque, R., Chandran, A., Wang, L., Arora, K., Rosenthal, N. A., & Tallquist, M. D. (2016). Revisiting Cardiac Cellular Composition. *Circulation research*, 118(3), 400–409. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.307778>
- Porter, K. E., & Turner, N. A. (2009). Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling. *Pharmacology & therapeutics*, 123(2), 255–278. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.05.002>
- Prabhu, S. D., & Frangogiannis, N. G. (2016). The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis. *Circulation research*, 119(1), 91–112. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303577>
- Pun, R., Kim, M. H., & North, B. J. (2023). Role of Connexin 43 phosphorylation on Serine-368 by PKC in cardiac function and disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 9, 1080131. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1080131>

- Rajagopalan, S., & Landrigan, P. J. (2021). Pollution and the Heart. *The New England journal of medicine*, 385(20), 1881–1892. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2030281>
- Rhett, J. M., Jourdan, J., & Gourdie, R. G. (2011). Connexin 43 connexon to gap junction transition is regulated by zonula occludens-1. *Molecular biology of the cell*, 22(9), 1516–1528. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-06-0548>
- Riddell, A., McBride, M., Braun, T., Nicklin, S. A., Cameron, E., Loughrey, C. M., & Martin, T. P. (2020). RUNX1: an emerging therapeutic target for cardiovascular disease. *Cardiovascular research*, 116(8), 1410–1423. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa034>
- Rodgers, J. L., Jones, J., Bolleddu, S. I., Vanthenapalli, S., Rodgers, L. E., Shah, K., Karia, K., & Panguluri, S. K. (2019). Cardiovascular Risks Associated with Gender and Aging. *Journal of cardiovascular development and disease*, 6(2), 19. <https://doi.org/10.3390/jcdd6020019>
- Rodríguez-Sinovas, A., Sánchez, J. A., Valls-Lacalle, L., Consegal, M., & Ferreira-González, I. (2021). Connexins in the Heart: Regulation, Function and Involvement in Cardiac Disease. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4413. <https://doi.org/10.3390/ijms22094413>
- Saldívar-Tanaka, L. (2019). Regulando la nanotecnología. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 12(22). Epub 15 de junio de 2020. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.63140>

- Saleh, T. A., & Al-Samani, M. A. (2022). Nanoparticles in cosmetics, what we don't know about safety and hidden risks. A mini review. *Global NEST Journal*, 24(5), 714-720. <https://doi.org/10.30955/gnj.004304>
- Salem, T., Frankman, Z., & Churko, J. M. (2022). Tissue Engineering Techniques for Induced Pluripotent Stem Cell Derived Three-Dimensional Cardiac Constructs. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 28(4), 891–911. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2021.0088>
- Sciarretta, S., Maejima, Y., Zablocki, D., & Sadoshima, J. (2018). The Role of Autophagy in the Heart. *Annual review of physiology*, 80, 1–26. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021317-121427>
- Severs, N. J., Bruce, A. F., Dupont, E., & Rothery, S. (2008). Remodelling of gap junctions and connexin expression in diseased myocardium. *Cardiovascular research*, 80(1), 9–19. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn133>
- Shah, M. A., Pirzada, B. M., Price, G., Shibiru, A. L., & Qurashi, A. (2022). Applications of nanotechnology in smart textile industry: A critical review. *Journal of advanced research*, 38, 55–75. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.01.008>
- Shariq, M., Chattopadhyaya, S., Rudolf, R. & Dixit, A. R. (2020). Characterization of AuNPs based ink for inkjet printing of low-cost paper-based sensors. *Materials Letters*, 264, 127332. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.127332>
- Silva-Santana, G., Bax, J. C., Fernandes, D. C. S., Bacellar, D. T. L., Hooper, C., Dias, A. A. S. O., Silva, C. B., de Souza, A. M., Ramos, S., Santos, R. A., Pinto, T. R., Ramão, M. A., & Mattos-Guaraldi, A. L. (2020). Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 Mus

- musculus. *Animal models and experimental medicine*, 3(4), 304–315.
<https://doi.org/10.1002/ame2.12139>
- Smyth, J. W., & Shaw, R. M. (2013). Autoregulation of connexin43 gap junction formation by internally translated isoforms. *Cell reports*, 5(3), 611–618.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.10.009>
- Sonavane, G., Tomoda, K., & Makino, K. (2008). Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 66(2), 274–280.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.07.004>
- Sorgen, P. L., Duffy, H. S., Sahoo, P., Coombs, W., Delmar, M., & Spray, D. C. (2004). Structural changes in the carboxyl terminus of the gap junction protein connexin43 indicates signaling between binding domains for c-Src and zonula occludens-1. *The Journal of biological chemistry*, 279(52), 54695–54701.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M409552200>
- Sorgen, P. L., Duffy, H. S., Sahoo, P., Coombs, W., Delmar, M., & Spray, D. C. (2004). Structural changes in the carboxyl terminus of the gap junction protein connexin43 indicates signaling between binding domains for c-Src and zonula occludens-1. *The Journal of biological chemistry*, 279(52), 54695–54701.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M409552200>
- Sorgen, P. L., Trease, A. J., Spagnol, G., Delmar, M., & Nielsen, M. S. (2018). Protein-Protein Interactions with Connexin 43: Regulation and Function. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1428.
<https://doi.org/10.3390/ijms19051428>

- Sosinsky, G. E., & Nicholson, B. J. (2005). Structural organization of gap junction channels. *Biochimica et biophysica acta*, 1711(2), 99–125. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2005.04.001>
- Spagnol, G., Trease, A. J., Zheng, L., Gutierrez, M., Basu, I., Sarmiento, C., Moore, G., Cervantes, M., & Sorgen, P. L. (2018). Connexin43 Carboxyl-Terminal Domain Directly Interacts with β -Catenin. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1562. <https://doi.org/10.3390/ijms19061562>
- Standring, S. (Ed.). (2020). *Gray's Anatomy: The anatomical basis of clinical practice* (42nd ed.). Elsevier.
- Sutton, M. G., & Sharpe, N. (2000). Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*, 101(25), 2981–2988. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.25.2981>
- Temple, I. P., Inada, S., Dobrzynski, H., & Boyett, M. R. (2013). Connexins and the atrioventricular node. *Heart rhythm*, 10(2), 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2012.10.020>
- Teunissen, B. E., Jongsma, H. J., & Bierhuizen, M. F. (2004). Regulation of myocardial connexins during hypertrophic remodelling. *European heart journal*, 25(22), 1979–1989. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2004.08.007>
- Tortora G. J. & Derrickson B. (2017). *Principles of anatomy and physiology* (15th ed.). Wiley.
- Travers, J. G., Kamal, F. A., Robbins, J., Yutzey, K. E., & Blaxall, B. C. (2016). Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. *Circulation research*, 118(6), 1021–1040. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306565>

- Unrine, J. M., Hunyadi, S. E., Tsyusko, O. V., Rao, W., Shoults-Wilson, W. A., & Bertsch, P. M. (2010). Evidence for bioavailability of Au nanoparticles from soil and biodistribution within earthworms (*Eisenia fetida*). *Environmental science & technology*, 44(21), 8308–8313. <https://doi.org/10.1021/es101885w>
- Unrine, J. M., Shoults-Wilson, W. A., Zhurbich, O., Bertsch, P. M., & Tsyusko, O. V. (2012). Trophic transfer of Au nanoparticles from soil along a simulated terrestrial food chain. *Environmental science & technology*, 46(17), 9753–9760. <https://doi.org/10.1021/es3025325>
- van Kempen, M. J., Fromaget, C., Gros, D., Moorman, A. F., & Lamers, W. H. (1991). Spatial distribution of connexin43, the major cardiac gap junction protein, in the developing and adult rat heart. *Circulation research*, 68(6), 1638–1651. <https://doi.org/10.1161/01.res.68.6.1638>
- Vázquez, R. (2017). SINANOTOX, a National System of Toxicological Evaluation of nanomaterials. (talk) IUPAC Workshop on Safety of Engineered Nanomaterials. 28 y 29 Sept. CENAM, Querétaro, México.
- Veenstra, R. D., Wang, H. Z., Beblo, D. A., Chilton, M. G., Harris, A. L., Beyer, E. C., & Brink, P. R. (1995). Selectivity of connexin-specific gap junctions does not correlate with channel conductance. *Circulation research*, 77(6), 1156–1165. <https://doi.org/10.1161/01.res.77.6.1156>
- Wang, X., & Gerdes, A. M. (1999). Chronic pressure overload cardiac hypertrophy and failure in guinea pigs: III. Intercalated disc remodeling. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 31(2), 333–343. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0886>

- Warren, S. E., Royal, H. D., Markis, J. E., Grossman, W., & McKay, R. G. (1988). Time course of left ventricular dilation after myocardial infarction: influence of infarct-related artery and success of coronary thrombolysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 11(1), 12–19. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(88\)90159-3](https://doi.org/10.1016/0735-1097(88)90159-3)
- Weisman, H. F., & Healy, B. (1987). Myocardial infarct expansion, infarct extension, and reinfarction: pathophysiologic concepts. *Progress in cardiovascular diseases*, 30(2), 73–110. [https://doi.org/10.1016/0033-0620\(87\)90004-1](https://doi.org/10.1016/0033-0620(87)90004-1)
- Willems, K. A., & Van Duyne, R. P. (2007). Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annual review of physical chemistry*, 58, 267–297. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607>
- Xu, M., Soliman, M. G., Sun, X., Pelaz, B., Feliu, N., Parak, W. J., & Liu, S. (2018). How Entanglement of Different Physicochemical Properties Complicates the Prediction of in Vitro and in Vivo Interactions of Gold Nanoparticles. *ACS nano*, 12(10), 10104–10113. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b04906>
- Yang, Y., Zheng, X., Chen, L., Gong, X., Yang, H., Duan, X., & Zhu, Y. (2022). Multifunctional gold nanoparticles in cancer diagnosis and treatment. *International journal of nanomedicine*, 17, 2041–2067. <https://doi.org/10.2147/IJN.S355142>
- Younis, N. K., Ghoubaire, J. A., Bassil, E. P., Tantawi, H. N., & Eid, A. H. (2021). Metal-based nanoparticles: Promising tools for the management of cardiovascular diseases. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 36, 102433. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2021.102433>

- Yusuf, S., Joseph, P., Rangarajan, S., Islam, S., Mente, A., Hystad, P., Brauer, M., et al. (2020). Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395(10226), 795–808. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32008-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32008-2)
- Zhang, J., Ma, A., & Shang, L. (2018). Conjugating existing clinical drugs with gold nanoparticles for better treatment of heart diseases. *Frontiers in physiology*, 9, 642. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00642>
- Zhang, M., Wang, Z. Z., & Chen, N. H. (2023). Connexin 43 Phosphorylation: Implications in Multiple Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(13), 4914. <https://doi.org/10.3390/molecules28134914>
- Zhang, W., Li, Y., Niu, J., & Chen, Y. (2013). Photogeneration of reactive oxygen species on uncoated silver, gold, nickel, and silicon nanoparticles and their antibacterial effects. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 29(15), 4647–4651. <https://doi.org/10.1021/la400500t>

Anexo

1. Productos de trabajo

1.1. Participación en eventos especializados

1.1.1. 2nd International Symposium on Experimental and Translational Medicine



1.1.2. XXX Congreso Nacional de Anatomía



La Sociedad Mexicana de Anatomía
Otorga la presente constancia al siguiente trabajo:

Evaluación de las uniones comunicantes en
testículos de ratones expuestos a nanopartículas
de oro de 5 y 15 nanómetros

a:

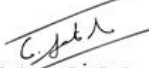
Brenda Guadalupe Romero Flores
Ramos-Rojas, Belem; González-Vadillo, Lorena; Lazzarini-Lechuga,
Roberto Carlos

Por su participación en la disciplina Histología en la categoría
Investigación básica y clínica en la modalidad de Presentación oral
(presencial)

*Entregado en la ciudad de Boca del Río, Veracruz México, durante el mes de Septiembre de 2024
en el marco del XXX Congreso Nacional de Anatomía.*


Dr. Eduardo Agustín Godínez
Secretario de la Sociedad Mexicana
de Anatomía A.C.


Dr. Francisco Raúl Barrero Villafuerte
Presidente de la Sociedad Mexicana
de Anatomía A.C.


Dr. Antonio Soto Paulino
Tesorero de la Sociedad Mexicana
de Anatomía A.C.



1.1.3. XVI Congreso Colombiano de Morfología



LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE MORFOLOGÍA

Hace constar que el trabajo científico titulado:

La exposición a nanopartículas de oro compromete la función cardíaca: análisis de la expresión in situ de la proteína conexina 43 en el miocardio ventricular

Realizado por los autores **Brenda Romero Flores, Lorena González Vadillo, Luis E. Gómez Quiroz, Roberto Lazzarini**, fue presentado en modalidad **conferencia** en el XVI Congreso Colombiano de Morfología realizado en la Pontificia Universidad Javeriana Cali, los días 31 de octubre, 1 y 2 de noviembre del año 2024.

Prof. Guillermo Adrián Rivera Cardona
Presidente
Asociación Colombiana de Morfología

1.2. Artículo de divulgación

Estructura y función de la proteína de unión comunicante conexina 43 en el corazón

Brenda Romero Flores¹, Lorena González Vadillo², Roberto Lazzarini Lechuga^{2*}

1. Posgrado en Biología Experimental, Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, C.P. 09310, Ciudad de México, México.
2. Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, C.P. 09310, Ciudad de México, México.

*** Autor de correspondencia:**

Roberto Lazzarini Lechuga
Tel. +52 55 5804 4600 (ext. 3382)
lazzarini@xanum.uam.mx

RESUMEN

El corazón depende de señales eléctricas para su función contráctil, las cuales se propagan entre los cardiomiocitos a través de uniones comunicantes formadas por conexinas, especialmente la conexina 43 (Cx43). Esta proteína, predominante en el miocardio ventricular y localizada en los discos intercalares, facilita el paso de iones y pequeñas moléculas, coordinando así la actividad cardíaca. En condiciones patológicas o de estrés, la distribución subcelular de la proteína Cx43 se altera, lo que compromete la comunicación célula a célula. Comprender la estructura y función de Cx43 es esencial para entender su papel en la fisiopatología cardíaca.

Palabras clave: Conexina 43, Corazón, Disco intercalar, Función cardíaca, Unión comunicante.

ABSTRACT

The heart depends on electrical signals for its contractile function, which propagates between cardiomyocytes through gap junctions formed by connexins, especially connexin 43 (Cx43). This protein, predominant in the ventricular myocardium and located at intercalated discs, facilitates the passage of ions and small molecules, thus coordinating cardiac activity. In pathological or stressful conditions, the subcellular distribution of Cx43 protein is altered, compromising cell-to-cell communication. Understanding the structure and function of Cx43 is essential for understanding its role in cardiac pathophysiology.

Keywords: Cardiac function, Connexin 43, Gap junction, Heart, Intercalated disc.

1.3. Formación de capital humano

1.3.1. Dirección de Servicio Social, nivel licenciatura



CONSTANCIA DE ASESORIA DE SERVICIO
20/03/2025

A QUIEN CORRESPONDA:

La División de Ciencias Biológicas y de la Salud, a través de la instancia de Servicio Social, hace constar que la **BIOL. BRENDA GUADALUPE ROMERO FLORES** asesoró a la siguiente alumna durante la prestación de su Servicio Social en el Proyecto: **"Remodelaciones testiculares y hepáticas después de la administración aguda de nanopartículas de oro menores de 15 nanómetros"**.

MATRICULA LICENCIATURA DEPENDENCIA	NOMBRE DE ALUMNO	F E C H A S	
		INICIO ACREDITACIÓN	TERMINO
1 2203052075	ROJAS RAMOS BELEM	08/04/2024 20/03/2025	08/10/2024
BIOLOGIA EXPERIMENTAL UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA			

Se expide la presente para los usos legales correspondientes.

Atentamente
Casa abierta al tiempo


DRA. MARIA DEL CARMEN FAJARDO ORTIZ
SECRETARÍA ACADEMICA

Avenida Ferrocarril San Rafael Atlixco, número 186, Colonia Leyes de Reforma 1a.
Sección, Alcaldía Iztapalapa, Código Postal 09310, Ciudad de México.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00273

Matrícula: 2233804005

Efecto de la administración aguda y crónica de nanopartículas de oro menores de 20 nm en la expresión génica y topología subcelular de la proteína conexina 43 en el miocardio ventricular.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 27 del mes de marzo del año 2026 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. ROBERTO CARLOS LAZZARINI LECHUGA
MTRA. LAURA VILLAVICENCIO GUZMAN
DR. ALEJANDRO SILVA PALACIOS
DRA. MARIA ISABEL GARCIA PELAEZ



BREND GUADALUPE ROMERO FLORES
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

DE: BRENDA GUADALUPE ROMERO FLORES

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH ARENAS RIOS

PRESIDENTE

DR. ROBERTO CARLOS LAZZARINI LECHUGA

VOCAL

MTRA. LAURA VILLAVICENCIO GUZMAN

VOCAL

DR. ALEJANDRO SILVA PALACIOS

SECRETARIA

DRA. MARIA ISABEL GARCIA PELAEZ