



ISSN: 2448-8461



# FRONTERA BIOTECNOLÓGICA



## XXX Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología

8, 9 y 10 de octubre de 2025  
Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México.

# Anexo Memorias

Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala



### **Comité Organizador**

Dra. María Myrna Solís Oba,  
Coordinadora General del Programa de Doctorado

Dr. Manuel Gaspar Parra Bracamonte  
gparra@ipn.mx, Coordinadora sede CBG

Dra. Martha Guadalupe Sosa Macías  
msosam@ipn.mx, Coordinador sede CIIDIR Durango

Dra. Claudia Castro Martínez  
clcastro@ipn.mx, Coordinador sede CIIDIR Sinaloa

Dra. Flor de Fátima Rosas Cárdenas  
frosasc@ipn.mx, Coordinador sede CIBA

Dra. Tania Raymundo Ojeda  
traymundoo@ipn.mx, Coordinadora sede ENCB

Dr. Jorge Cornejo Garrido  
dcb.enmh@ipn.mx, Coordinadora sede ENMH

### **Cuerpo Académico del Doctorado CIBA-Tlaxcala Unidad Organizadora**

Dr. Aarón Mendieta Moctezuma  
Dr. Abdú Orduña Díaz  
Dra. Diana Verónica Cortés Espinosa  
Dra. Fabiola Eloísa Jiménez Montejo  
Dra. Flor de Fátima Rosas Cárdenas

Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez.  
Dr. Miguel Ángel Villalobos López  
Dr. Raúl Jacobo Delgado Macuil  
Dr. Rigoberto Castro Rivera  
Dr. Silvia Luna Suárez  
Dr. Valentín López Gayou  
Dr. Víctor Eric López y López

## **Mensaje Editorial de las XXX Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología**

El Instituto Politécnico Nacional a través del Comité Académico del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, convocó a la comunidad académica y estudiantil que forma parte de las seis sedes participantes en el Doctorado en Ciencias en Biotecnología (DCB), a participar en las XXX Jornadas Académicas del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, que se llevaron a cabo el 8, 9, y 10 de Octubre del 2025 en Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala donde se encuentra la sede del CIBA-IPN. Este evento es un foro que se organiza para la presentación y el debate crítico sobre las nuevas tendencias y avances de la biotecnología, así como conocer y evaluar los avances de los estudiantes de los diferentes semestres. En este espacio se promovió el intercambio de experiencias entre investigadores y alumnos de este posgrado multisede. Además, se fomentó el intercambio de ideas, se realizaron propuestas de colaboración y se socializaron los proyectos de investigación entre los asistentes.

Cabe resaltar que además de las presentaciones de los alumnos de doctorado se realizaron en dos ponencias magistrales, la primera de la primera mujer en ganar el galardón de Premio Nacional de Ciencias y Artes de Ciencias Duras en México e investigadora nacional emérita la Dra. Mayra de la Torre Martínez con la charla “Horizonte abierto: mujer, ingeniera y científica”. La segunda ponencia, a cargo de la Dra. María Cristina Cortinas Durán llevó por título “Perspectiva de género en la gestión de sustancias tóxicas y residuos en una economía circular comunitaria”. Ambas desde su perspectiva nos ilustraron de cómo el reto que tuvieron y que siguen teniendo desde su perspectiva en el desarrollo de los temas en los que se especializan, dígame de paso, son las que abrieron el camino para muchas mujeres científicas y que siguen tan vigentes como hace más de 30 años. Estas charlas complementan la formación de nuestros estudiantes de doctorado, orientándolos, impulsándolos, inspirándolos en continuar en este apasionante camino de la ciencia.

En este documento, conoceremos 57 trabajos en extenso, todos de nuestros futuros investigadores que les apuesto amigos míos siempre tratarán de poner...

“La Técnica al Servicio de la Patria”

Dr. Víctor Eric López y López  
Editor en Jefe Frontera Biotecnológica  
Miembro del Cuerpo Académico del DCB  
CIBA-Tlaxcala

## Índice

ISOFLAVONAS FUNCIONALIZADAS Y SU POTENCIAL ANTIDIABÉTICO COMO INHIBIDORES MULTIDIANA .....	104
CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL GEN PLAC9 Y SU ASOCIACIÓN CON EL DESARROLLO DE PREECLAMPSIA .....	107
INTERACCIÓN ENTRE BIOESTIMULANTES A BASE DE QUITOSANO, <i>Trichoderma</i> , <i>Bacillus</i> Y EXTRACTOS DE ALGAS EN CULTIVO DE TOMATE ( <i>Solanum lycopersicum</i> ). .....	110
CO-PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN (2G) Y XILITOL EMPLEANDO OLOTE DE MAÍZ A PARTIR DE LEVADURAS Y ENZIMAS AUTÓCTONAS .....	114
EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS DE INTERÉS CON CULTIVO DE MICROALGAS A PARTIR DE MEDIOS NO CONVENCIONALES ...	118
APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS PARA DISMINUIR LA CARGA DEL VIRUS DE LA NECROSIS INFECCIOSA HIPODÉRMICA Y HEMATOPOYÉTICA (IHHNV) DE CAMARONES ( <i>Penaeus vannamei</i> ) .....	122
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MODELO <i>IN-SILICO</i> PARA EVALUAR LA SUSCEPTIBILIDAD A LA PREECLAMPSIA .....	126
DISEÑO IN SILICO, SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE UN DERIVADO DE PEREZONA.....	130
ANÁLISIS DEL PERFIL TRANSCRIPTÓMICO DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES Nes <sup>+</sup> AISLADAS DE PULMÓN DE RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS .....	134
CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y GENÓMICA DE NUEVAS CEPAS BACTERIANAS DEPREDAADORAS AISLADAS DE MÉXICO Y SU EFECTO PROTECTOR ANTE INFECCIONES POR <i>Flavobacterium</i> sp. EN TILAPIA .....	138
ESTUDIO MULTI-ÓMICO DE BACTERIAS EXTREMÓFILAS PARA LA IDENTIFICACIÓN Y PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CON POTENCIAL FARMACÉUTICO .....	142
CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LNCRNAS EN LA DIFERENCIACIÓN DE SUBTIPOS DE CÁNCER DE MAMA .....	146
CARACTERIZACIÓN DE LA RESINA ARI PRODUCIDA POR <i>Tachardiella fulgens</i> Y SU INTERACCIÓN EN LA SIERRA TARAHUMARA .....	150
PROPORCIÓN SEXUAL OPERACIONAL Y PATERNIDAD MÚLTIPLE DE CRÍAS DE LA POBLACIÓN DE TORTUGA NEGRA ( <i>Chelonia mydas agassizii</i> ) EN MICHOACÁN. ....	153

GENERACIÓN DE BIOSENSORES COLOIDALES PARA LA DETECCIÓN DE <i>Helicobacter pylori</i> EN MUESTRAS DE PACIENTES. ....	157
AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE METABOLITOS MAYORITARIOS DE <i>Roldana</i> spp. Y EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE PROTEÍNAS FOSFATASA DE TIROSINA ASOCIADAS A CÁNCER .....	161
DESARROLLO DE BIOSENSOR PARA LA MEDICIÓN DE NIVELES DE CORTISOL EN SALIVA EN TIEMPO REAL.....	165
DESARROLLO DE AMARANTO BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO .....	169
INTERACCIÓN FRIJOL- <i>Macrophomina phaseolina</i> : SUPLEMENTACIÓN CON PREPARADOS BIODINÁMICOS, PRODUCTIVIDAD Y RESPUESTA DE LA PLANTA .....	173
OBESIDAD Y SU EFECTO SOBRE LA BIODISPONIBILIDAD DEL ÁCIDO ELÁGICO Y SU PRODUCCIÓN EN CULTIVO DE TEJIDOS.....	177
REDIRECCIÓN DEL METABOLISMO DE <i>Fusarium fujikuroi</i> PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO Y OTROS METABOLITOS .....	181
EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA, FITOQUÍMICA, GENÉTICA Y PROPAGACIÓN <i>IN VITRO</i> DE PLANTAS MEDICINALES DE LA MESETA PURÉPECHA.....	185
BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNp's) Y NANOENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS DE CAFÉ ( <i>Coffea arabica</i> L.) PARA LA INHIBICIÓN DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	189
PREDICCIONES MEDIANTE MODELADO MOLECULAR PARA IDENTIFICAR INHIBIDORES DE CATEPSINA B.....	193
IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES EN EL GEN <i>CYP2D6</i> PREDICTORAS DEL FENOTIPO DE DEXTROMETORFANO EN POBLACIÓN INDÍGENA MEXICANA	197
ESTUDIO FUNCIONAL DE PROPIEDADES BIOACTIVAS DE GLUCANOS DE SETAS SILVESTRES DE LA REGION DE TEOLOCHOLCO, TLAXCALA .....	201
IDENTIFICATION OF PROTEIN TARGETS INVOLVED IN ANTIBIOTIC-INDUCED OTOTOXICITY AND SEARCH FOR OTOPROTECTORS .....	205
BÚSQUEDA DE LIGANDOS DIRIGIDOS A LAS PROTEÍNAS HUMANAS BAK, Mcl-1 y gp130 CON POTENCIAL ANTITUMORAL .....	209
IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS FUNCIONAL DE GENES CODIFICANTES DE MIEMBROS DE LA FAMILIA AP2 DE FACTORES TRANSCRIPCIONALES INVOLUCRADOS EN LA RESPUESTA A ÁCIDO ABSCÍSICO DEL MUSGO TOLERANTE A DESECACIÓN <i>Pseudocrossidium replicatum</i> .....	213
EFFECTO PROTECTOR DE <i>Pediococcus pentosaceus</i> Y <i>Bacillus licheniformis</i> EN <i>Penaeus vannamei</i> RETADO CON <i>Vibrio parahaemolyticus</i> IPNGS16.....	217

EVALUACIÓN DE LIGANDOS DIRIGIDOS CONTRA LA PROTEÍNA HUMANA EGFR (Her1) PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO .....	221
ANÁLISIS METAGENÓMICO DEL RESISTOMA BACTERIANO EN RÍOS Y ÁREAS COSTERAS DE TAMAULIPAS.....	225
ANÁLISIS DE LA RESPUESTA MOLECULAR INDUCIDA EN EL PROCESO DE INTERACCIÓN DE LOS HONGOS <i>Pleurotus ostreatus</i> Y <i>Aspergillus flavus</i> .....	229
EFFECTO DE PROBIÓTICOS MICROENCAPSULADOS EN EL CRECIMIENTO, MICROBIOTA INTESTINAL, COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y SISTEMA INMUNE DE LA JAIBA CAFÉ <i>Callinectes bellicosus</i> RETADO CON <i>Vibrio harveyi</i> VCBIPN 2016 .....	233
IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES NUCLEOTÍDICAS EN LOS GENES <i>ABCC</i> Y <i>CEP72</i> Y SU POSIBLE ASOCIACIÓN CON LA FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL DE VINCRISTINA Y SU NEUROTOXICIDAD EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.....	237
EVALUACIÓN MOLECULAR Y BIOQUÍMICA DEL EFECTO DEL BIOPRIMING DE SEMILLAS DE MAÍZ ( <i>Zea may</i> L.) CON CEPAS DEL HONGO BIOCONTROLADOR <i>Trichoderma</i> spp.....	241
EVALUACIÓN POLIFÁSICA DE <i>Laetiporus sulphureus</i> PARA LA FORMULACIÓN DE MICROENCAPSULADOS CON UN ALTO VALOR PROTÉICO.....	245
DESARROLLO DE BIOSENSORES TATUADOS PARA EL MONITOREO DE DIABETES TIPO 2 EN UN MODELO EN RATÓN.....	249
GENÓMICA COMPARATIVA PARA IDENTIFICAR BLANCOS FARMACOLÓGICOS EN BACTERIAS PATÓGENAS HUMANAS .....	253
ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS MicroRNAs mir160 Y mir397 EN LA RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO EN AMARANTO Y SU IMPACTO FISIOLÓGICO PARA SU POSIBLE APLICACIÓN AGROBIOTECNOLÓGICA .....	257
COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA PULPA DEL CAFÉ CON EFECTO ANTIHIPERTENSIVO: PROPUESTA PARA REVALORIZAR DESECHOS AGROINDUSTRIALES .....	261
DERIVADOS DE PIRANOXANTONAS Y SU EVALUACIÓN COMO INHIBIDORES DE ENZIMAS RELACIONADAS CON LA DIABETES MELLITUS .....	265
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS DEGRADADORES DE XENOBIÓTICOS CON CAPACIDAD DE PRODUCIR MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO.....	268
IDENTIFICACIÓN DE MODULADORES GENÉTICOS QUE REGULAN LA DINÁMICA DE INTERCAMBIO DE HIERRO Y NITRÓGENO DE MAÍZ CRIOLLO CULTIVADO BAJO EL SISTEMA MILPA EN EL NORTE DE SINALOA. ....	272

RESISTENCIA A INSECTICIDAS Y CONTROL BIOTECNOLÓGICO DE <i>Aedes aegypti</i> EN CIUDAD JUÁREZ, CHIHUAHUA. ....	276
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE HARINAS DE CHAPULINES ( <i>Sphenarium spp.</i> ) ALIMENTADOS CON MAÍZ.....	280
DESARROLLO DE MICROENCAPSULADOS PARA LA ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD SIMILAR A LA INSULINA PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2. ....	283
PREDICCIÓN DEL COMPORTAMIENTO BIOMECÁNICO Y EVALUACIÓN CLÍNICA/MOLECULAR DE LA OSTEointegración EN IMPLANTES DENTALES MEDIANTE EL MÉTODO DEL ELEMENTO FINITO .....	287
EFFECTO DE FLUOXETINA SOBRE LA EXPRESIÓN PLACENTARIA DE MARCADORES INVOLUCRADOS EN LA HOMEOSTASIS DE SEROTONINA EN UN MODELO ANIMAL. ....	290
EFFECTO DEL USO DE HOJAS DE AGAVE Y MEZCLA DE CONCENTRADOS DE PROTEÍNA EN ALIMENTOS FORMULADOS PARA JUVENILES DE CAMARÓN BLANCO <i>Penaeus vannamei</i> .....	294
EVALUACIÓN DEL EFFECTO DE EXTRACTOS DE LAS ALGAS <i>Laurencia johnstonii</i> y <i>Sargassum lapazeanum</i> SOBRE ADIPOCITOS Y SU IMPACTO EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA.....	297
DETERMINACIÓN DEL MECANISMO DE SORCIÓN DE PLOMO Y CADMIO EN MODELOS DE AGUA UTILIZANDO ASTILLAS DE MADERA MODIFICADAS ...	301
IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE RIESGO ONCOLÓGICO EN PACIENTES CON VPH E INFECCIONES CONCOMITANTES.....	305
EFFECTO ESTIMULANTE DE UN EXTRACTO FENÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y VARIABILIDAD EPIGENÉTICA DE PLÁNTULAS DE <i>Agave durangensis</i> SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO .....	309
EFFECTO DE QUERCETINA EN LA MODULACIÓN DEL CYP450 Y ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO DE RATAS OBESAS .....	313
EVALUACIÓN DEL EFFECTO DE TIRAPAZAMINA EN UN MODELO DE AMEBIASIS EXPERIMENTAL .....	317
EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN POR VÍAS ENTERAL Y PARENTERAL DE LEPTINA BCH2 Y W100E EN EL METABOLISMO DE GLUCOSA Y LÍPIDOS EN EL CONTEXTO DE OBESIDAD .....	321

## ISOFLAVONAS FUNCIONALIZADAS Y SU POTENCIAL ANTIDIABÉTICO COMO INHIBIDORES MULTIDIANA

Oscar Antonio Aguilar Paredes<sup>1</sup>, Aarón Mendieta Moctezuma<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIBA-Tlaxcala, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5 Tlaxcala C.P. 90700, México.

[amendietam@ipn.mx](mailto:amendietam@ipn.mx)

### Resumen

Las isoflavonas, como heterociclos oxigenados, poseen gran potencial en el tratamiento de la diabetes tipo 2. La funcionalización de su núcleo benzopirano favorece la interacción con enzimas clave en el control de la glucosa, lo que respalda su relevancia en química medicinal. La inhibición multidiana, dirigida a  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y DPP-4, representa una estrategia prometedora. La síntesis y evaluación de nuevos derivados busca obtener inhibidores más eficaces, con mejores propiedades farmacocinéticas y mayor seguridad.

**Palabras clave:** Isoflavonas funcionalizadas, Diabetes mellitus tipo 2, Inhibidores enzimáticos, Docking molecular.

### Introducción

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por hiperglucemia persistente, que combina resistencia a la insulina y disfunción progresiva de las células  $\beta$  pancreáticas. Representa el 90–95% de los casos de diabetes y se asocia con factores de estilo de vida, obesidad, envejecimiento y predisposición genética (De Fronzo *et al.*, 2015).

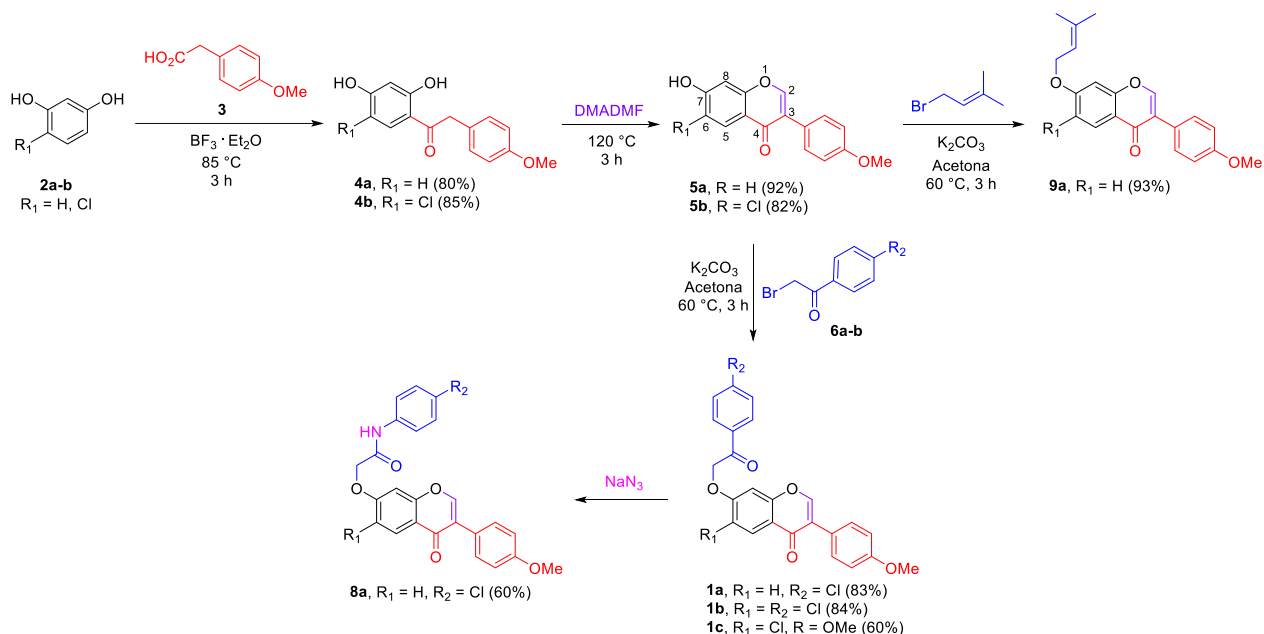
El tratamiento convencional incluye cambios en el estilo de vida y fármacos como metformina, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa, inhibidores de DPP-4, agonistas de GLP-1, inhibidores de SGLT2 y sulfonilureas. Aunque eficaces, pueden generar efectos adversos y requieren combinaciones terapéuticas que dificultan la adherencia (Marín-Peñalver *et al.*, 2016).

Esto ha impulsado la búsqueda de compuestos naturales con actividad antidiabética. Entre ellos, las isoflavonas destacan por inhibir múltiples dianas enzimáticas y actuar como antioxidantes, antiinflamatorios y agentes antiobesidad (Liu *et al.*, 2023). Su núcleo benzopirano constituye un andamio privilegiado para diseñar nuevos derivados que puedan incrementar su afinidad a blancos terapéuticos respaldado por estudios de docking y SAR (Srivastava & Kapoor, 2020).

### Metodología

Se prepararon los derivados alcoxi-isoflavonas **1a-c**, partiendo de los resorcinolos **2a-b**, los cuales en presencia del agente acilante (**3**) y eterato de trifloruro de boro como catalizador generaron las *orto*-hidroxiaril cetonas **4a-b**. Estos compuestos se sometieron a una reacción de ciclación intermolecular utilizando DMADMF a 120 °C durante 12 h, obteniendo las correspondientes 7-hidroxi-isoflavonas **5a-b**. Posteriormente, una alquilación de Williamson empleando los derivados  $\alpha$ -haloarilsustituídos (**6a-b**) formaron la serie de alcoxi-isoflavonas **1a-c**. La alcoxi-isoflavona **8a** se obtuvo mediante reacción de **1a** en presencia de azida de sodio en medio ácido dando lugar a la amida-isoflavona **8a**. La isoflavona **5a** se hizo reaccionar con bromuro de prenilo para generar la isoflavona prenilada **9a** (Esquema 1).





**Esquema 1.** Síntesis de alcoxi-isoflavonas **1a-c**, **8a** y **9a**.

### Ensayo de inhibición de DPP-4

Se evaluó la actividad de DPP-4 con el kit BML-AK499 (Enzo Life Sciences) en formato de microplacas de 96 pocillos. Se empleó el sustrato fluorogénico H-Gly-Pro-AMC diluido 1/50. La lectura se realizó a Ex 380 nm / Em 460 nm y el análisis se basó en la pendiente (RFU/min) en el tramo lineal (5–15 min). La enzima recombinante se preparó a 17.3  $\mu\text{U}/\mu\text{L}$  y se distribuyeron 26 mU/pozo (blanco sin enzima, control con enzima, control con inhibidor del kit P32/98 y muestras).

### Resultados

Se sintetizaron los compuestos **1a-c**, **8a** y **9a** empleando las 7-hidroxi-isoflavonas **5a-b** con buenos rendimientos. El efecto inhibitorio de estos compuestos sobre la enzima DPP4 se presenta en la Tabla 1, donde los derivados **1b-c** presentaron inhibición entre 24-29% a 100  $\mu\text{M}$ . La amida-isoflavona **8a** mostró débil inhibición con 18% a 100  $\mu\text{M}$  para DPP-4 y buen efecto inhibitorio con 40% a 100  $\mu\text{M}$  para  $\alpha$ -glucosidasa. La isoflavona prenilada **9a** no mostró inhibición significativa para DPP-4 a 100  $\mu\text{M}$ .

**Tabla 1.** Efecto inhibitorio de alcoxi-isoflavonas **1a-c**, **8a** y **9a** sobre DPP-4 y enzimas glucohidrolíticas.

Compuesto	DPP-4	$\alpha$ -Glucosidasa	$\alpha$ -Amilasa
	% inhibición (100 $\mu\text{M}$ )	CI <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	CI <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
<b>1a</b>	– <sup>a</sup>	6.3	ND
<b>1b</b>	24.4	ND	ND
<b>1c</b>	29.3	ND	ND
<b>8a</b>	18.40	40.36 <sup>b</sup>	ND
<b>9a</b>	4.61	60.5	85.1

<sup>a</sup> Compuestos sin inhibición a 100  $\mu\text{M}$ ; <sup>b</sup> Porcentaje de inhibición a 100  $\mu\text{M}$ ; ND = No evaluado.

## Discusión

El análisis estructura-actividad sugiere que la funcionalización del andamio de isoflavona muestra mayor inhibición sobre las enzimas digestivas  $\alpha$  glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa, mientras que el efecto inhibitorio sobre DPP-4 no es significativo.

La adición de un fragmento etoxiaril cetona (**1a**) y un grupo prenilo lineal al núcleo benzopirano en C-7 favorecen la inhibición sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa. El efecto inhibitorio disminuye con la presencia de un fragmento etoxiaril amida. Por otra parte, las isoflavonas **1b-c** mostraron efecto inhibitorio moderado sobre DPP-4, lo que sugiere que un halógeno en C-6 del núcleo benzopirano podría favorecer la actividad inhibitoria.

Estos datos muestran que grupos aromáticos y el grupo prenilo lineal aporta cobertura dual inhibitoria. Un análisis de cribado sobre moléculas inhibitoras de DPP-4 con características estructurales similares a isoflavonas serán un soporte importante para el diseño de nuevas moléculas con efecto inhibitorio en estas dianas.

## Conclusión

Los derivados alcoxi-isoflavonas con el fragmento etoxiaril cetona en C-7 favorecen significativamente la inhibición sobre  $\alpha$ -glucosidasa y el grupo prenilo favorece la inhibición dual sobre  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa. El fragmento etoxiaril amida exhibió débil a moderada actividad inhibitoria sobre  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y DPP-4.

## Agradecimientos

A la secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación SECIHTI por otorgar la beca para la realización del posgrado.

## Referencias

- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Zimmet, P., & Alberti, G. (2015). *International Textbook of Diabetes Mellitus* (4th ed.). Wiley-Blackwell.
- Marín-Peñalver, J. J., Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., & del Cañizo-Gómez, F. J. (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 7(17), 354–395. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.354>
- Liu, Q., Wang, Y., & Yang, M. (2023). Recent advances in flavonoids and xanthenes as potential antidiabetic agents: a systematic review. *Phytochemistry Reviews*, 22, 789–815. <https://doi.org/10.1007/s11101-023-09870-6>
- Srivastava, S., & Kapoor, R. (2020). Molecular docking and in vitro studies on xanthone derivatives as antidiabetic agents. *Bioorganic Chemistry*, 99, 103811. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103811>
- guila-Muñoz D G, Cervantes-Espinoza E, Escalante C H, Gutiérrez R U, Cruz-López M C, Jiménez-Montejo F E, Villa-Ruano N, Gómez-García O, Tamariz J, Mendieta-Moctezuma A (2022) Synthesis of alkoxy-isoflavones as potential  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research* 31:1298–1312. <https://doi.org/10.1007/s00044-022-02910-1>
- Pan J, Zhang Q, Zhang C, Yang W, Liu H, Lv Z, Liu J, Jiao Z (2022). *Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 by Flavonoids: Structure-Activity Relationship, Kinetics and Interaction Mechanism*. *Frontiers in Nutrition* 9:892426. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.892426>
- Altenhofen D, da Luz G, Frederico MJS, Venzke D, Brich M, Vigil S, Fröde TS, Blanco Linares CE, Pizzolatti MG, Mena Barreto Silva FR (2017). *Bis-Pyrano Prenyl Isoflavone Improves Glucose Homeostasis by Inhibiting Dipeptidyl Peptidase-4 in Hyperglycemic Rats*. *Journal of Cellular Biochemistry* 118(1):92–103. <https://doi.org/10.1002/jcb.25614>

## CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL GEN PLAC9 Y SU ASOCIACIÓN CON EL DESARROLLO DE PREECLAMPSIA

Hilda Mariela Alvarado Retana<sup>1</sup>, Carlos Galaviz Hernandez<sup>1</sup>, Jaime Gutierrez<sup>2</sup>, Martha Sosa Macias<sup>1</sup>, Laurence Marchat<sup>3</sup>, Absalom Zamorano<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Durango, México. <sup>2</sup> Universidad San Sebastián, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional, ENMH, CDMX, México

\*halvarador2300@alumno.ipn.mx

### Resumen

La preeclampsia (PE) es una enfermedad multisistémica grave del embarazo, caracterizada por hipertensión de inicio súbito después de la semana 20 y complicaciones como proteinuria o disfunción orgánica. Se caracteriza por una vascularización y ramificación inadecuadas en etapas tempranas. Existe un componente genético, evidenciado por antecedentes familiares, y se han identificado genes específicos de la placenta, dentro de los cuales se encuentra PLAC9, implicado en etapas iniciales del desarrollo placentario. Aunque este se expresa al inicio del embarazo no existen estudios que hayan evaluado su expresión y comportamiento en células trofoblásticas y si las alteraciones en estas pueden desencadenar patologías del embarazo como PE. Llevamos a cabo un análisis in silico utilizando diversas plataformas bioinformáticas, entre ellas: GeneMANIA para identificar interacciones genéticas, STRING para explorar interacciones proteicas, SWISS-PROT para determinar las características de las proteínas. También se desarrollaron ensayos funcionales para estudiar el comportamiento de células trofoblásticas como; migración celular y procesos de diferenciación celular con distintos niveles de PLAC9. Dentro del análisis in silico observamos que PLAC9 tiene interacciones con genes y proteínas relacionados a procesos del embarazo y PE. En los análisis funcionales observamos que la sobreexpresión de PLAC9 genera alteraciones en la angiogénesis y en la migración celular.

### Introducción

La preeclampsia es una enfermedad multisistémica compleja, caracterizada por hipertensión de inicio repentino después de las 20 semanas de gestación y al menos otra complicación, como proteinuria, disfunción orgánica materna o disfunción uteroplacentaria (Poon et al. 2019).

La placenta desempeña un papel fundamental en la preeclampsia: una función placentaria saludable depende de la ramificación extensa y adecuada de las vellosidades placentarias y de la vascularización durante las primeras etapas del embarazo (Dimitriadis et al. 2023).

La preeclampsia es una de las complicaciones más graves del embarazo y una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y perinatal. Dentro de los factores de riesgo se encuentran los genéticos (Dimitriadis et al. 2023). El hecho de que la preeclampsia se reporte con frecuencia en madres, hermanas e hijas sugiere un componente genético; sin embargo, aún no se ha identificado ningún gen de alto riesgo. Existen antecedentes de que ser portadora de preeclampsia representa un mayor riesgo para presentar nuevamente la enfermedad (Quispe., et al.2024). Existen genes conocidos como genes placenta específicos entre los que se encuentran *PLAC1*, *PLAC5*, *PLAC8* y *PLAC9*. Anteriormente *PLAC8* se ha asociado con PE (Barragán-Zúñiga et al. 2022). Por otra parte, *PLAC9*, que se identificó por

primera vez en etapas tempranas de la placenta de ratón, podría estar involucrado en los procesos tempranos de embarazo como diferenciación trofoblástica e implantación placentaria (Galaviz-Hernandez et al. 2003). Alteraciones en la expresión de este gen se han asociado con el arresto del ciclo celular (Ouyang et al. 2018).

## **Materiales y métodos**

**Análisis bioinformático:** Se utilizaron diversas plataformas bioinformáticas, entre ellas: GeneMANIA para identificar interacciones genéticas. STRING para explorar interacciones proteína-proteína. SWISS-PROT para determinar las características de las proteínas.

**Análisis In Vitro:** Se cultivaron dos líneas celulares de trofoblasto extraveloso (TEV) del primer trimestre: El diseño incluyó: Un vector de sobreexpresión y un vector de silenciamiento.

**Ensayo de invasión celular:** La invasión celular se evaluó mediante un ensayo de invasión transwell. El potencial invasivo se determinó contando las células que migraron e invadieron a través de microporos y cámaras transwell recubiertas con Matrigel.

Las células migradas en la cara inferior de los insertos se fotografiaron con un microscopio invertido de contraste de fases convencional.

**Diferenciación del fenotipo endotelial de células HTR8/SVneo:** Se evaluó el papel de la sobreexpresión y el silenciamiento de *PLAC9* en la transición al fenotipo de tipo endotelial. Esta diferenciación se demostró mediante la capacidad de las células para formar estructuras tubulares en Matrigel polimerizado. El número de estructuras tubulares se cuantificó con el software ImageJ. La expresión de *PLAC9* se evaluó mediante PCR en tiempo real.

## **Resultados**

En nuestro análisis in silico con la plataforma Swiss-Model, obtuvimos la estructura terciaria de la proteína *PLAC9*, compuesta por 97 aminoácidos. Contiene un péptido señal del aminoácido 1 al 23, lo que sugiere que podría ser una proteína secretada.

*PLAC9* tiene interacciones físicas con RNF213 que juega un papel clave en la regulación de los procesos de señalización y la modulación de la respuesta inflamatoria y RAPGEF5 asociado con la regulación de la migración celular.

Se descubrió que *PLAC9* se coexpresaba con genes como MMP28, TWIST2, SCARA5, PI16, PODN y FGF10.

Se identificaron interacciones entre la proteína *PLAC9* y EMC, ANAX11, EMILIN1, DUXA, DUXB y TMEM254, lo que sugiere un posible papel multifacético en diversos procesos celulares.

Se evaluó la sobreexpresión y el silenciamiento del gen *PLAC9* a través de transducción con lentivirus. El potencial invasivo de los trofoblastos que sobreexpresan y subexpresan *PLAC9* se determinó por la cantidad de células que migraron e invadieron a través de los microporos y Matrigel hasta el fondo de los pocillos en las cámaras Transwell. El ensayo de invasión de Matrigel reveló que las células en el grupo de sobreexpresión modificaron el comportamiento de la migración celular. La diferenciación a fenotipo endotelial se evidenció mediante la capacidad de las células para formar estructuras tubulares en Matrigel polimerizado. Observamos que la sobreexpresión de *PLAC9* generó alteraciones en el proceso de ramificación vascular.

## **Discusión**

Las interacciones de *PLAC9* con genes y proteínas nos indica que podría desempeñar un papel en procesos biológicos esenciales para un embarazo normal. Dado que la preeclampsia

se caracteriza por una función placentaria alterada y una remodelación vascular defectuosa, estas interacciones y patrones de coexpresión podrían indicar que PLAC9 desempeña un papel importante en la patogénesis de la enfermedad.

Según nuestros resultados, la sobreexpresión de PLAC9 modificó los procesos de diferenciación celular. El deterioro de la angiogénesis placentaria durante el desarrollo placentario se ha relacionado con la patogénesis de la preeclampsia. También observamos que la sobreexpresión modificó procesos de diferenciación celular. Que coincide por lo reportado por CongOuyan y colaboradores donde reportaron que la sobreexpresión de Plac9 inhibió la proliferación celular y la formación de colonias. (Ouyang, C et al.,2018)

## Conclusiones

Debido a la limitada información disponible sobre PLAC9, el análisis in vitro nos permitió identificar características importantes del gen que sugieren su posible relación con procesos tempranos del embarazo. Además, con base en los resultados de nuestro ensayo funcional, observamos que PLAC9 modifica procesos de migración celular y angiogénesis temprana.

## Agradecimientos

Este proyecto es financiado por SECIHTI.

## Referencias bibliográficas

- Barragán-Zúñiga, L. J., Marchat, L. A., Carrasco-Wong, I., Blanco-Castaneda, R., Salas-Pacheco, J. M., Simental-Mendia, L. E., ... & Galaviz-Hernandez, C. (2022). Evaluation of the PLAC8 gene in Mexican women with and without preeclampsia and obesity. *Frontiers in Medicine*, 9, 795309.
- Dimitriadis, E., Rolnik, D. L., Zhou, W., Estrada-Gutierrez, G., Koga, K., Francisco, R. P., ... & Menkhorst, E. (2023). Pre-eclampsia. *Nature reviews Disease primers*, 9(1), 8.
- Galaviz-Hernandez, C., Stagg, C., De Ridder, G., Tanaka, T. S., Ko, M. S., Schlessinger, D., & Nagaraja, R. (2003). Plac8 and Plac9, novel placental-enriched genes identified through microarray analysis. *Gene*, 309(2), 81–89.
- Harris, L. K. (2011). IFPA Gabor Than Award lecture: Transformation of the spiral arteries in human pregnancy: Key events in the remodelling timeline. *Placenta*, 32(Suppl. 2), S154–S158.
- Ouyang, C., Pu, Y. Z., Qin, X. H., Shen, J., Liu, Q. H., Ma, L., & Xue, L. (2018). Placenta-specific 9, a putative secretory protein, induces G2/M arrest and inhibits the proliferation of human embryonic hepatic cells. *Bioscience reports*, 38(6), BSR20180820.
- Poon, L. C., Shennan, A., Hyett, J. A., Kapur, A., Hadar, E., Divakar, H., ... & Hod, M. (2019). The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on preeclampsia (PE): a pragmatic guide for first trimester screening and prevention. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 145(1), 1–3.
- Quispe, J. M. A., & De la Torre, R. J. M. (2024). Factores Socioeconómicos y Obstétricos Asociados a la Preeclampsia en Gestantes Altoandinas, 2020–2021. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(5), 13813-13827.



## INTERACCIÓN ENTRE BIOESTIMULANTES A BASE DE QUITOSANO, *Trichoderma*, *Bacillus* Y EXTRACTOS DE ALGAS EN CULTIVO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*).

Daniel Alejandro Anaya Castro<sup>1</sup>, Escobedo Bonilla Cesar Marcial<sup>1</sup>, Armenta Bojórquez Adolfo Dagoberto<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Col. San Joachin, en Guasave, Sinaloa, México.

\*dac150@hotmail.com

### Resumen

El trabajo evaluó el efecto individual de bioestimulantes sobre el crecimiento y desarrollo de tomate considerando variables morfológicas. Se evaluaron extractos de algas (*Sargassum* y *Ascophyllum nodosum*) obtenidas en laboratorio y se compararon con un producto comercial, se comparó el efecto de diferentes pesos moleculares de quitosano (bajo, medio y alto) en tres dosis diferentes sobre el crecimiento de la planta. También se aislaron 10 cepas de *Trichoderma* y 8 de *Bacillus* del norte de Sinaloa que fueron evaluadas para conocer su potencial como bioestimulantes. Los resultados mostraron un buen potencial en el crecimiento y desarrollo de las variables evaluadas.

**Palabras clave:** *Bacillus*, *Trichoderma*, Quitosano, bioestimulantes.

### Introducción

En México, el cultivo de tomate representa una fuente significativa de ingresos y empleo, con una producción que alcanzó 3.5 millones de toneladas en 2023 (SIAP 2024). En la actualidad, su producción enfrenta a múltiples desafíos relacionados con el aumento de la demanda, la escasez de recursos naturales, reducir el uso de productos químicos sintéticos y la necesidad de utilizar insumos más amigables con el medio ambiente. Los bioestimulantes son sustancias o microorganismos que cuando se aplican a las plantas o al suelo, estimulan procesos naturales que benefician la absorción de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico y la calidad del cultivo (Du, 2015). *Trichoderma* es un género de hongos benéfico y es bien conocido por su capacidad de biocontrol de patógenos y su promoción del crecimiento vegetal mediante la producción de compuestos bioactivos. Por otro lado, *Bacillus* es un género de bacterias crucial en la promoción del crecimiento, la protección de las plantas a través de la producción de antibióticos, la inducción de resistencia sistémica y la producción de fitohormonas promotoras del crecimiento. Los extractos de algas son ricos en fitohormonas y nutrientes. El quitosano se ha utilizado en los últimos años como bioestimulante demostrando efectos positivos en la resistencia a enfermedades y la promoción del crecimiento vegetal (Hadrami, 2010).

### Materiales y métodos

Los experimentos se realizaron a cabo en invernadero y posteriormente llevar a campo experimental del CIIDIR-Sinaloa. Primeramente, se realizan experimentos en invernadero de cada bioestimulante por separado, una vez evaluados se harán interacciones nuevamente en

invernadero de los mejores tratamientos de cada bioestimulante para posteriormente probar las mejores interacciones en campo.

Se evaluaron 3 diferentes extractos de algas, uno comercial (Seaeagle) y dos obtenidos en laboratorio con las algas *Ascophyllum Nodosum* spp. y otra del alga *Sargassum* spp., el método de extracción utilizado fue el de Rama Rao (1991). Posteriormente cada uno de ellos se evaluaron a tres dosis.

Se utilizaron quitosano de tres diferentes pesos moleculares bajo, medio y alto a tres concentraciones y fueron obtenido de manera comercial adquirido de la empresa Tokyo Chemical Industry (TCI, Tokio, Japón), probando tres diferentes dosis 200, 350 y 500ppm en 200ml.

Para el aislamiento de *Bacillus* y *Trichoderma* se realizaron 63 muestreos en rizosferas de cultivos del norte de Sinaloa, para el aislamiento de cepas de *Trichoderma* se utilizó la técnica de Papavizas (Papavizas y Daver. 1959) y para el aislamiento de *Bacillus* la técnica de Ohba y Aizawa (Claus et al. 1986), una vez aisladas y reproducidas se aplicaron 3 veces durante los experimentos a los 15, 25 y 40 días después de la siembra aplicando 1ml de las cepas a una concentración de  $1 \times 10^7$  esporas/ml para *Trichoderma* y  $1 \times 10^7$  UFC/ml para *Bacillus*.

Los tratamientos de cada bioestimulante consistieron en 4 repeticiones, se tenían 2 plantas de tomate por maceta de 3L, los experimentos tuvieron una duración de 50 días, las variables evaluadas para los experimentos en invernadero fueron peso seco de follaje (PSF), peso seco de raíz (PSR), altura de planta (AP), grosor de tallo (GT), volumen de raíz (VR), y análisis nutrimental del follaje.

## Resultados

### Extractos de algas

Los resultados muestran un mayor desarrollo de las plantas al aplicarse los extractos de algas. El tratamiento con mayor desarrollo fue el extracto comercial Seaeagle en dosis alta alcanzando el mayor PSF y un buen desarrollo en el PSR el cual no presento diferencia estadística con el extracto de *Sargassum* en dosis alta en el PSF ni en el PSR, superando significativamente al testigo agua lo que indica una muy buena bioestimulación.

### Quitosano

La aplicación de quitosano en las plantas de tomate mostro efectos positivos en el desarrollo de esta comparadas con el testigo, sin embargo, los resultados muestran que el efecto puede variar dependiendo de la concentración aplicada e incluso del peso molecular cuando se aplica en una misma concentración. El tratamiento con mayor de peso total de planta fue el quitosano de alto PM al aplicar 200 ppm, otro de los tratamientos que tuvo mayor desarrollo fue el de bajo peso molecular con en el PSF el cual no presento diferencia estadística con el anterior y siendo este el que presento mayor desarrollo de raíz.

### *Bacillus*

De los muestreos realizados se aislaron 9 cepas de *Bacillus* las cuales se probaron como promotoras de crecimiento, teniendo como resultado que la cepa 4B y 6B presentaron un mejoramiento en desarrollo de las plantas, la cepa 4B alcanzo el mayor PSF el cual no presento diferencia estadística con el testigo nitrógeno en el PSF y la 6B fue la que tuvo un mayor desarrollo en PSF y en PSR, por otro lado, en algunas cepas como la 3B y 5B se tuvo una inhibición en el crecimiento comparadas con el testigo agua.

### *Trichoderma*

Se aislaron 10 cepas de *Trichoderma* las cuales al probarse como promotoras de crecimiento la mayoría presento un mejoramiento en el crecimiento comparados con el testigo agua teniendo a la cepa 10T con un mayor desarrollo de PSF la cual no tuvo diferencia estadística con el testigo nitrógeno.

### **Discusión**

Rama Rao (1991) reporto que la utilización de un extracto obtenido al aplicar temperatura y presión a las algas para obtener sus compuestos en alga de *Sargassum* aumento el crecimiento y la producción de frutos en planta de tomate lo cual coincide con los resultados obtenidos en nuestro experimento.

El crecimiento de los tratamientos con quitosano coincide con lo reportado por Lakshari *et al.* (2023) encontrado un aumento del peso seco de la planta de hasta un 120% comparado con un control (agua) al aplicar quitosano en diferentes etapas del cultivo, además, Tender *et al.*, (2020) reporto que la aplicación de quitosano en tomate induce la producción de fitohormonas relacionadas con el crecimiento de esta.

Gupta (2021) reporto que una de las formas en que diferentes cepas de *Trichoderma* promueven el crecimiento vegetal es a través la producción de fitohormonas entre ellas el ácido indolacético (AIA) la cual está relacionada con el crecimiento radicular por lo que posiblemente esta la principal causa del mayor desarrollo al aplicarse las cepas aisladas.

### **Conclusiones**

Se selecciono el extracto de alga de *Sargassum* obtenido por el método más sencillo y económico que fue a temperatura y presión en laboratorio en la dosis alta como mejor extracto de alga. El quitosano de alto PM en su dosis de 200ppm fue seleccionado ya que fue el presento un mayor desarrollo de la plántula. De las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* aisladas se seleccionó a la cepa 10T y 4B como las cepas con mayor capacidad bioestimulante bajo las condiciones en el norte de Sinaloa para el crecimiento en tomate.

### **Agradecimientos**

A SECIHTI por mi beca de doctorado (4036301). Al IPN por el financiamiento de los proyectos SIP 20250081 y SIP 20250821, a mis directores de tesis el Dr. Escobedo Bonilla Cesar Marcial y Dr. Armenta Bojórquez Adolfo Dagoberto.

### **Referencias bibliográficas**

- Claus, D., y Berkeley, R. C. W., 1986, Genus *Bacillus* Cohn 1872, in: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2 (P. H. A. Sneath, ed.), *Bergey's Manual Trust*, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1105–1139.
- De Tender, C., Mesuere, B., Haegeman, A., Ruttink, T., & Vandecasteele, B. (2020). Chitosan induces plant hormones and defenses in tomato root exudates. *Frontiers in Plant Science*, 11, 572087. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.572087>
- Du Jardin, P. (2015) *Plants Biostimulants: Definition, Concept, Main Categories and Regulations*. *Scientia Horticultura*, 196, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine drugs*, 8(4), 968–987. <https://doi.org/10.3390/md8040968>
- Gupta, N. (2021). *Trichoderma as Biostimulant: Factors Responsible for Plant Growth Promotion*. In *Trichoderma: Agricultural Applications and Beyond* (pp. 287-309). Cham: Springer International Publishing.



- Lakshari, W. A. I., Sukanya, M., & Hewavitharan, K. H. I. K. (2023). Effect of different concentrations of foliar application of chitosan on growth development of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar grown in Sri Lanka. *Journal of research technology and engineering*, 4(3), 01-08
- Rama Rao, K. (1991). Effect of seaweed extract on *Zizyphus mauritiana* Lamk. *Journal of the Indian Botanical Society*, 71, 19–21
- SIAP. (2024). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Panorama agroalimentario. Available from <https://panorama.agricultura.gob.mx/vista/panorama-agroalimentario.php>

## CO-PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN (2G) Y XILITOL EMPLEANDO OLOTE DE MAÍZ A PARTIR DE LEVADURAS Y ENZIMAS AUTÓCTONAS

Rebeca Astorga Trejo<sup>1\*</sup>, Claudia Castro Martinez<sup>1</sup>, María Guadalupe Aguilar Uscanga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa (CIIDIR Sinaloa). Laboratorio de Bioenergéticos. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Colonia San Joachin, 81101 Guasave, Sinaloa.

<sup>2</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz UNIDA, Laboratorio de Bioingeniería y Planta Piloto. Av. Miguel Ángel de Quevedo 2779, Formando Hogar, 91897 Veracruz, Veracruz.

[\\*rastorgat2000@alumno.ipn.mx](mailto:*rastorgat2000@alumno.ipn.mx)

### Resumen

El xilitol es un polialcohol de creciente interés por sus propiedades funcionales y su potencial en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. La producción biotecnológica de este compuesto se considera una alternativa sostenible frente a los procesos convencionales por su menor impacto ambiental. En este trabajo se evaluó la capacidad de la levadura nativa *Candida tropicalis* BEO12 para producir xilitol a partir de xilosa como única fuente de carbono en medio sintético. El objetivo principal fue identificar las condiciones de fermentación óptimas mediante la aplicación de un diseño experimental Box-Behnken, considerando como variables independientes la temperatura, el pH y la velocidad de agitación, mientras que la eficiencia metabólica fue la variable de respuesta. Los resultados obtenidos mostraron que los datos se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden con un alto coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.978$ ), lo que reflejó un ajuste adecuado del modelo propuesto. La temperatura y la agitación ejercieron un efecto significativo sobre la síntesis de xilitol, mientras que el pH no resultó significativo. En conclusión, *C. tropicalis* BEO12 demostró ser una cepa prometedora para la obtención de xilitol, estableciendo bases para su aplicación en bioprocesos a mayor escala.

**Palabras clave:** Xilosa, Xilitol, Bioproceso, Fermentación, Optimización

### Introducción

El xilitol es un polialcohol que ha despertado gran interés en los últimos años por sus múltiples aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. Sus propiedades anticariogénicas, bajo índice glucémico y poder endulzante equivalente a los valores de la sacarosa lo que convierten en un producto con alto valor comercial y creciente demanda a nivel mundial (Deng et al., 2024). A diferencia de otros compuestos, el xilitol se produce a partir de biomasa lignocelulósica y no tiene alternativa de origen fósil (Shaji et al., 2022). La producción industrial de xilitol se lleva a cabo principalmente mediante la hidrogenación catalítica de xilosa. Si bien este proceso ha demostrado ser eficiente, presenta limitaciones asociadas al elevado consumo energético, el empleo de catalizadores metálicos y las rigurosas condiciones de presión y temperatura que requiere, lo que restringe su sostenibilidad (Bonfiglio et al., 2024, Lu et al., 2025). Los bioprocesos representan una alternativa prometedora, ya que permiten la obtención de xilitol a través de la fermentación microbiana en condiciones de operación moderadas (Queiroz et al., 2022). Diversas especies

de levaduras, entre ellas *Candida tropicalis* (Jain y Ghosh, 2024), *Meyerozyma guilliermondii* (da Silveira et al., 2020) y *Kluyveromyces marxianus* (Manaf et al., 2022), han demostrado un notable potencial para la síntesis de este polialcohol a partir de xilosa.

La productividad y el rendimiento de este bioproceso dependen en gran medida de factores como la temperatura, el pH y la disponibilidad de oxígeno (Manaf et al., 2022), los cuales influyen directamente en la actividad enzimática y en el metabolismo de las levaduras. La aplicación de herramientas estadísticas como los diseños experimentales constituyen una estrategia esencial para identificar las condiciones óptimas de fermentación. En este contexto, el objetivo de este trabajo es identificar las condiciones de fermentación óptimas para maximizar la producción de xilitol por una levadura nativa del estado de Sinaloa utilizando la metodología de superficie de respuesta.

### **Materiales y métodos**

Se realizaron fermentaciones en matraz con el objetivo de identificar las condiciones óptimas para la síntesis de xilitol por la levadura *C. tropicalis* BEO12 (Laboratorio de bioenergéticos, CIIDIR Sinaloa), para ello se empleó un diseño de experimentos Box-Behnken utilizando medio de cultivo sintético. Las fermentaciones se llevaron a cabo en medio de cultivo compuesto de (en %): 0.2 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.5 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.04 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0.1 extracto de levadura y 2 xilosa; el pH de 4.5 (Ortiz-Zamora et al., 2009), las levaduras fueron incubadas durante 72 horas. Se tomaron muestras periódicas para cuantificar el crecimiento de las levaduras, el consumo de sustrato y la producción de metabolitos mediante HPLC. El diseño experimental se realizó utilizando el software Design Expert V 23.1 (STAT-EASE Inc., Minneapolis, USA), el análisis de datos se llevó a cabo mediante una prueba ANOVA. Las variables independientes del estudio fueron la temperatura, el pH y la velocidad de agitación; la eficiencia metabólica fue considerada como variables de respuesta.

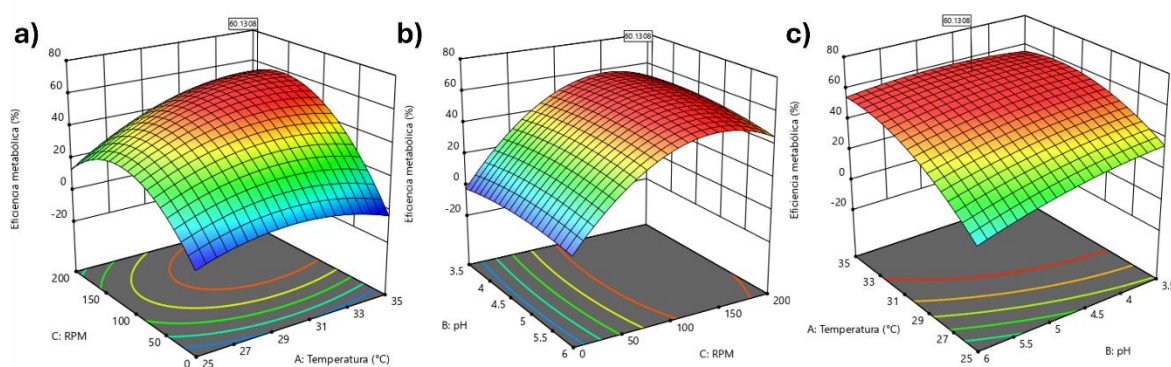
### **Resultados**

Para analizar el efecto de la temperatura, el pH y la velocidad de agitación en la producción de xilitol se realizó un diseño de experimento de tipo Box-Behnken de tres niveles con la eficiencia metabólica del proceso como variable de respuesta. Los valores de eficiencia metabólica obtenidos experimentalmente se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden con un coeficiente de determinación R<sup>2</sup> de 0.978 y R<sup>2</sup> ajustada de 0.940 lo que refleja el buen ajuste del modelo. De acuerdo con el análisis de varianza, los factores lineales de temperatura y velocidad de agitación, así como la interacción y los términos cuadráticos de los mismos resultaron significativos (p < 0.05). El factor pH no mostró efecto significativo.

La Figura 1 muestra los gráficos de superficie de respuesta de la eficiencia metabólica en función de la temperatura, la velocidad de agitación y el pH; el mínimo efecto que muestra el pH en la variable de respuesta puede observarse en las superficies planas de los ejes de pH en las Figuras 1b y 1c en contraste con la curvatura observada en los ejes de temperatura y velocidad de agitación.

El efecto de la velocidad de agitación y la temperatura en la eficiencia metabólica es evidente al observar la Figura 1a, la forma de domo de la figura indica una clara interacción entre las variables y demuestra que existe un óptimo combinado para maximizar la eficiencia, la cual disminuye drásticamente a 0% en condiciones de agitación nula o superior a 170 rpm, así como en temperaturas menores a 27 °C o mayores a 34 °C. La curvatura más profunda en el

eje de agitación confirma que esta variable ejerce un efecto mayor que la temperatura, lo que resalta la necesidad de un control preciso de la misma.



**Figura 1.** Gráficas de superficie de respuesta de la eficiencia metabólica de obtención de xilitol, interacciones entre: a) Agitación vs temperatura, b) pH vs agitación y c) Temperatura vs pH.

## Discusión

Los resultados obtenidos indican que la velocidad de agitación y la temperatura son los factores con efecto significativo en la productividad y eficiencia metabólica del proceso fermentativo estudiado, estudios previos destacan que la aireación es un factor determinante en la producción de xilitol por levaduras ya que juega un papel importante en la actividad enzimática necesaria para la conversión de xilosa a xilitol (Manaf et al. , 2022).

La mayor sensibilidad del sistema a la agitación respecto a la temperatura es notable en los resultados obtenidos, lo que indica que el control preciso de esta variable es esencial para asegurar altos rendimientos y eficiencias, lo anterior coincide con lo reportado por Deng et al. (2024) y Singh et al. (2024) quienes observaron que incrementos en la agitación favorecen inicialmente la producción de xilitol, pero que las velocidades de agitación muy elevadas propician una disminución en la acumulación de xilitol. En el caso del pH, el efecto cuadrático significativo en la productividad sugiere un efecto indirecto en el sistema, el pH tiene influencia sobre la actividad enzimática y el equilibrio redox intracelular; el rango de pH reportado como óptimo para el desarrollo de levaduras es de 4.5 o 6. Sin embargo, el pH óptimo específico varía con cada especie (Reddy y Reddy, 2011).

## Conclusiones

Los resultados obtenidos demostraron que la levadura *Candida tropicalis* BEO12 tiene la capacidad de producir xilitol en fermentaciones con medio sintético. El diseño Box-Behnken permitió identificar el efecto de la temperatura, el pH y la velocidad de agitación sobre la productividad y eficiencia metabólica del proceso, estableciendo las combinaciones de parámetros que favorecen la síntesis de xilitol. Estos resultados generan una base sólida para estudios futuros en hidrolizados de biomásas lignocelulósicas y en fermentaciones a mayor escala.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento de este proyecto (SIP20250108 y SIP20250313), a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, tecnología e innovación (SECIHTI) por la beca de doctorado (No. 763827) otorgada a R.A.T.

## Referencias bibliográficas

- Bonfiglio F, Cagno M, Nuñez L, Castro R, Botto E, Rodríguez P. Xylitol production by a *Wickerhamomyces anomalus* strain adapted for enhanced tolerance to sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate with high content of fermentation inhibitors. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2024;71:37-46.
- da Silveira FA, Fernandes TAR, Bragança CRS, Balbino TR, Diniz RHS, Passos FML, et al. Isolation of xylose-assimilating yeasts and optimization of xylitol production by a new *Meyerozyma guilliermondii* strain. *International Microbiology*. 2020;23(2):325-34.
- Deng Y, Luo X, Wang H, Li S, Liang J, Pang Z. Xylitol fermentation characteristics with a newly isolated yeast *Wickerhamomyces anomalus* WA. *Fungal Biology*. 2024;128(2):1657-63.
- Jain V, Ghosh S. Xylitol biosynthesis enhancement by *Candida tropicalis* via medium, process parameter optimization, and co-substrate supplementation. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2024;54(2):207-17.
- Lu X, Chang M, Li X, Cao W, Zhuang Z, Wu Q, et al. Metabolic engineering for sustainable xylitol production from diverse carbon sources in *Pichia pastoris*. *Microbial Cell Factories*. 2025;24(1):59.
- Manaf SFA, Luthfi AAI, Tan JP, Abdul PM, Jamali NS. Kinetic study and model of fermentation parameters affected growth and xylitol production in bioreactor by *Kluyveromyces marxianus* ATCC 36,907. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2022:1-17.
- Ortiz-Zamora O, Cortes-Garcia R, Ramírez-Lepe M, Gómez-Rodríguez J, Aguilar-Uscanga M. Isolation and selection of ethanol-resistant and osmotolerant yeasts from regional agricultural sources in Mexico. *Journal of food process engineering*. 2009;32(5):775-86.
- Queiroz SS, Jofre FM, Mussatto SI, Felipe MdGA. Scaling up xylitol bioproduction: Challenges to achieve a profitable bioprocess. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2022;154:111789.
- Reddy L, Reddy O. Effect of fermentation conditions on yeast growth and volatile composition of wine produced from mango (*Mangifera indica* L.) fruit juice. *Food and bioproducts processing*. 2011;89(4):487-91.
- Shaji A, Shastri Y, Kumar V, Ranade VV, Hindle N. Sugarcane bagasse valorization to xylitol: Techno-economic and life cycle assessment. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2022;16(5):1214-26.
- Singh S, Arya SK, Krishania M. Bioprocess optimization for enhanced xylitol synthesis by new isolate *Meyerozyma caribbica* CP02 using rice straw. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2024;17(1):31.



## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS DE INTERÉS CON CULTIVO DE MICROALGAS A PARTIR DE MEDIOS NO CONVENCIONALES

Brenda Yanin Azcárraga-Salinas<sup>1\*</sup>, María Myrna Solís-Oba<sup>1</sup>, Luis Carlos Fernández-Linares<sup>2</sup>, José Agustín Pacheco-Ortiz<sup>1</sup>, Annette Arisbeth Jiménez-Córdoba<sup>1</sup>, Andres Castro-Sierra<sup>1</sup> y Javier Ruiz-Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en biotecnología Aplicada (CIBA), Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala, Tlaxcala, México. <sup>2</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI), Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México

\*bazcarragas1900@alumno.ipn.mx

### Resumen

La obtención de pigmentos naturales de una forma más sustentable es de suma importancia. El cultivo de microalgas en medios de cultivo orgánicos a base de residuos ofrece una alternativa para la obtención sustentable de estos pigmentos, debido a que estos contienen nutrientes y fitohormonas necesarias para el crecimiento microalgal. Las fitohormonas tienen efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las microalgas. En este trabajo se evaluó el efecto de la adición conjunta de dos fitohormonas, el ácido indol acético (IAA) y ácido abscísico (ABA) en medio bold basal modificado (BBM), en concentraciones de 0, 10 y 20 mg/L. La aplicación de diferentes combinaciones de las fitohormonas tuvo efecto en la producción de biomasa y pigmentos. Los tratamientos de IAA en combinación con la mayor adición de ABA (20 mg/L), tuvieron mayor producción de biomasa. Los tratamientos combinados de IAA con la adición de 10 mg/L de ABA mostraron la menor producción de biomasa, pero mayor producción de clorofilas a y b.

**Palabras clave:** fitohormonas, microalgas, biomasa, pigmentos.

### Introducción

El desarrollo de procesos sostenibles para la producción de pigmentos naturales es un reto clave en la biotecnología moderna. Estos pigmentos, ampliamente utilizados en las industrias alimentaria, cosmética, farmacéutica y textil, han suscitado un interés creciente debido a su seguridad y beneficios para la salud, en comparación con los colorantes sintéticos, que conllevan riesgos ambientales y sanitarios (Balasubramaniam et al. 2021). A medida que aumenta la demanda por soluciones más ecológicas, las microalgas emergen como una fuente renovable para la obtención de una variedad de compuestos bioactivos, incluidos carotenoides, ficobiliproteínas y clorofilas, que presentan aplicaciones industriales significativas debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, y terapéuticas, además de su capacidad como colorantes naturales (Khavari et al. 2021). La clorofila, uno de los pigmentos más estudiados, no solo tiene aplicaciones como colorante natural en productos alimenticios y cosméticos, sino que también posee beneficios para la salud humana, como efectos antiinflamatorios y propiedades antitumorales. Sin embargo, la producción de pigmentos de alta calidad en microalgas sigue siendo un desafío debido a los costos asociados con los medios de cultivo convencionales y las condiciones de crecimiento controladas.

Con el fin de reducir estos costos y mejorar la eficiencia de la producción, la investigación reciente ha explorado el uso de medios de cultivo alternativos, como los digestatos que son fuentes ricas en nutrientes y fitohormonas. Estos medios no solo aportan nutrientes esenciales para el crecimiento microbiano, sino que también contienen fitohormonas como el ácido indol-3-acético (IAA), el ácido giberélico (AG) y la kinetina (KN) (Castro-Sierra et al. 2024). El IAA es una fitohormona que puede estimular la división celular, lo que resulta en un incremento significativo en la producción de biomasa y pigmentos como la clorofila (Dao et al. 2018). Por otro lado, el ácido abscísico (ABA), conocido por su participación en las respuestas al estrés abiótico, favorece la acumulación de lípidos en las microalgas, lo que podría tener implicaciones tanto para la producción de pigmentos como para la valorización de la biomasa residual (Wu et al. 2018). El objetivo del presente trabajo fue evaluar qué efecto tienen en el crecimiento de biomasa y producción de pigmentos en un cultivo de *Scenedesmus obliquus*, alimentado con mezclas de IAA y ABA adicionados al medio Bold basal modificado (BBM), en comparación con el medio BBM sin adición de fitohormonas.

### **Materiales y métodos**

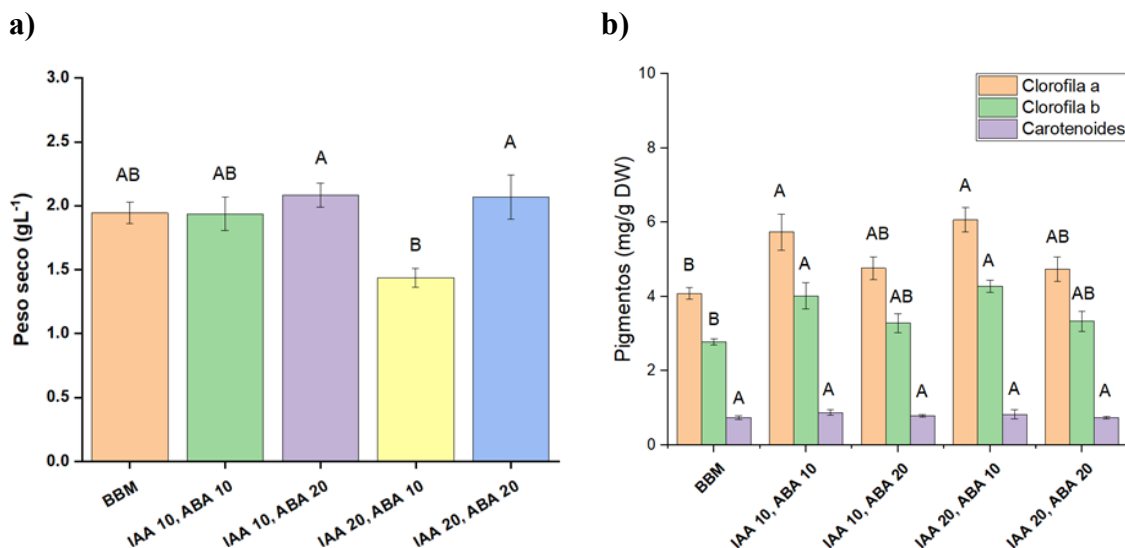
Las fitohormonas utilizadas fueron ácido indol acético (IAA) con 98% de pureza, marca Sigma-Aldrich, ácido abscísico (ABA), 98% de pureza, marca Sigma-Aldrich. El medio de cultivo Bold basal modificado (BBM) fue preparado y ajustado al pH de acuerdo con metodologías características (Sangapillai & Marimuthu 2019).

La microalga *Scenedesmus obliquus* fue donada por el Laboratorio de Bioprocesos de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. El cultivo se llevó a cabo con fotoperiodo luz: oscuridad (14:10), temperatura (25°C), intensidad luminosa (3000 luxes) durante 15 días. El pre-inóculo fue del 10% del volumen total del medio de cultivo, ajustado a una densidad óptica de 0.8. Las fitohormonas se adicionaron a 0, 10 y 20 mg/L en mezclas considerando todas las combinaciones posibles. A los 15 días de cultivo se analizó la producción de biomasa en peso seco, el contenido de clorofilas a, b y carotenoides.

Para la determinación de biomasa se toman 20 mL del cultivo. En el caso de la cuantificación de pigmentos, se centrifuga 1 mL de cultivo de microalgas a 13,000 rpm durante 5 minutos y se resuspende la pastilla celular con 1 mL de metanol, se coloca en baño maría a 60°C durante 10 minutos y se almacena por 24 h a 4°C en oscuridad, se centrifuga a 13,000 rpm durante 5 minutos y se lee la absorbancia del extracto a 3 longitudes de onda: 470, 653 y 666 nm utilizando metanol como blanco (Wellburn 1994).

### **Resultados**

La producción de biomasa en peso seco se vio influenciada principalmente por la adición de ambos fitoreguladores, principalmente aquellos con la mayor concentración de ABA (20 mg/L) en combinación con 10 y 20 mg/L de IAA. Los tratamientos con adición de 10 mg/L de ABA, no tuvieron diferencias estadísticas con BBM o fueron menores a este. Lo que sugiere que la adición de ABA a una mayor concentración fue la que determinó una mayor producción de biomasa en peso seco (Figura 1a).



**Figura 1.** a) Producción de biomasa de *Scenedesmus obliquus* crecida en medio bold basal modificado (BBM) adicionado con la combinación de diferentes concentraciones (10 y 20 mg/L) de las fitohormonas: ácido indol acético (IAA) y ácido abscísico (ABA). b) Producción de pigmentos de *Scenedesmus obliquus*. Las medias con literales iguales en las barras verticales no presentan diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $P < 0,05$ ). Barras de error (SE).

La producción de pigmentos fue en orden de mayor a menor producción: clorofila a > clorofila b > carotenoides. Contrariamente a la producción de biomasa, la producción de clorofila a y b se vio favorecida en las mezclas de fitoreguladores con la menor adición de ABA (10 mg/L), seguidos los tratamientos de mayor adición de ABA (20 mg/L), indicando que una adición menor de ABA contribuye a una mayor producción de estos pigmentos. La producción de carotenoides no tuvo diferencias estadísticas en los tratamientos (Figura 1b).

## Discusión

En el presente trabajo, los resultados demuestran que la adición de mezclas de fitohormonas con la mayor concentración probada de ABA (20 mg/L) influyeron en una mayor producción de biomasa. Esto es consistente con otros trabajos reportados, por ejemplo, la adición de 2  $\mu\text{M}$  de ABA en la microalga *Scenedesmus quadricauda* posterior a 48 horas de cultivo, incrementó hasta 2.1 veces más la cantidad de biomasa producida (Hirose et al. 2008). Por otro lado, los tratamientos con combinaciones con la menor concentración de ABA (10 mg/L), tuvieron mayor producción de clorofila a y b. Kozlova et al. (2023) reportaron que en la microalga *C. zoofingensis* la adición exógena de ABA en un experimento por lotes no aséptico estimuló la división celular, la producción de biomasa, la biosíntesis de clorofila, carotenoides y lípidos.

## Conclusiones

La adición de tratamientos combinados de fitohormonas favorece el crecimiento microalgal y la producción de pigmentos. Tratamientos combinados con una alta adición de ABA (20 mg/L), favorecen la producción de biomasa, mientras que dosis bajas (10 mg/L) favorecen la producción de clorofilas a y b.



## Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada 1003544. A la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento para el desarrollo del presente proyecto.

## Referencias bibliográficas

- Balasubramaniam V, Gunasegavan RDN, Mustar S, Lee JC, Mohd NMF (2021) Isolation of industrial important bioactive compounds from microalgae. *Molecules*. 26:4.
- Castro-Sierra A, Espinosa-Solares T, Houbbron E, Castro-Rivera R, Azcárraga-Salinas BY, Solís-Oba MM (2024) Production of phytochemicals during anaerobic digestion of bovine and swine manures. *Rev. Mex. Ing. Quím.* 23:3
- Dao GH, Wu GX, Wang XX, Zhuang LL, Zhang TY, Hu HY (2018) Enhanced growth and fatty acid accumulation of microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by two types of auxin. *Bioresour. Technol.* 247:561-567.
- Hirose N, Takei K, Kuroha T, Kamada-Nobusada T, Hayashi H, Sakakibara H (2008) Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *J. Exp. Bot.*, 59:75-83.
- Khavari F, Saidijam M, Taheri M, Nouri F (2021) Microalgae: Therapeutic potentials and applications. *Mol. Biol. Rep.* 48:4757-4765.
- Kozlova TA, Kartashov AV, Zadneprovskaya E, Krapivina A, Zaytsev P, Chivkunova OB, Solovchenko AE (2023) Effect of abscisic acid on growth, fatty acid profile, and pigment composition of the *Chlorophyte Chlorella (Chromochloris) zofingiensis* and its co-culture microbiome. *Life*, 13:2.
- Sangapillai K & Marimuthu T (2019) Isolation and selection of growth medium for freshwater microalgae *Asterarcys quadricellulare* for maximum biomass production. *Water Sci. Technol.* 80: 2027-2036.
- Wellburn AR (1994) Determinación espectral de clorofilas a y b, así como carotenoides totales, usando varios disolventes con espectrofotómetros de diferente. *J. Plant Physiol.* 144: 307-313.
- Wu G, Gao Z, Du H, Lin B, Yan Y, Li G, Guo Y, Fu S, Wei G, Wang M, Cui M, Meng C (2018) The effects of abscisic acid, salicylic acid and jasmonic acid on lipid accumulation in two freshwater *Chlorella* strains. *jGAM* 64: 42-49.

## APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS PARA DISMINUIR LA CARGA DEL VIRUS DE LA NECROSIS INFECCIOSA HIPODÉRMICA Y HEMATOPOYÉTICA (IHHNV) DE CAMARONES (*Penaeus vannamei*)

Diana Laura Báez Moreno<sup>1</sup>, Gabriela López Cervantes<sup>1</sup>, Píndaro Álvarez Ruiz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Col. San Joachin, Guasave, Sinaloa, México.

\*pindaroalvarez@hotmail.com

### Resumen

El camarón blanco (*Penaeus vannamei*) es la especie de crustáceo más cultivada en el mundo, derivado de su demanda, la producción aumenta año con año. Las enfermedades virales son una amenaza para la camaronicultura ya que causan mortalidad y baja calidad de los organismos. El virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHNV), aunque no es letal en *P. vannamei*, causa deformidades y retrasa el crecimiento, provocando pérdidas de hasta el 50% en los cultivos. Además, el IHHNV se puede transmitir a la progenie de manera vertical. Los métodos de control para minimizar su efecto no han logrado erradicarlo de los laboratorios de producción de postlarvas. Debido a esto, es una demanda de los productores de postlarvas el diseño de una estrategia biotecnológica para disminuir la carga del virus de los reproductores, y obtener lotes de postlarvas libres de IHHNV. El objetivo del presente estudio es la aplicación de herramientas biotecnológicas como proteínas recombinantes y silenciamiento de genes mediante RNA de interferencia, combinadas con la manipulación de la temperatura y salinidad, para erradicar al IHHNV de camarones reproductores infectados y obtener lotes de postlarvas libres del virus.

**Palabras clave:** *Penaeus vannamei*, IHHNV, dsRNA, proteínas recombinantes

### Introducción

La acuicultura del camarón produce ganancias por su comercio nacional e internacional. Además, genera empleos para miles de personas (Dhar et al., 2019). En México se produjeron 104,560 toneladas de camarón cultivado en 2024, con valor de 7, 823 MDP (CONAPESCA, 2024). El camarón blanco del pacífico (*P. vannamei*) es una de las especies más cultivadas en el mundo (Zeng et al., 2017). Sin embargo, se ha visto afectado por diversas enfermedades virales, incluyendo el virus *Penstyldensovirus 1* de *Penaeus stylirostris* (PstDV1) que también es conocido como virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHNV). Este virus afecta a diferentes especies de camarones cultivados y silvestres, como a *P. stylirostris*, *P. vannamei* y *P. monodon* (Vega-Heredia et al., 2012). El IHHNV en *P. monodon* y *P. vannamei* causa el síndrome de deformidad y enanismo (SDE), el cual es considerado como una enfermedad crónica no letal que retrasa el y produce malformaciones. Los organismos afectados pueden presentar deformidades del rostro, antenas, áreas torácica y abdominal (Hou et al., 2023; Hsu et al., 2022; D. V. Lightner, 2011). El SDE disminuye el valor del camarón llegando a representar el 50% de pérdidas (D. V. Lightner, 2011). El impacto económico atribuido a IHHNV está relacionado con el crecimiento deficiente y las malformaciones, derivando en la disparidad de tallas, lo que implica gastos adicionales para clasificar los camarones según su tamaño y comercializarlos en diferentes rangos de precio.

Actualmente, los métodos para disminuir el efecto de IHHNV han sido insuficientes, por lo que es necesario buscar alternativas para combatirlo. El presente trabajo pretende disminuir la carga viral en camarones reproductores portadores de IHHNV mediante la aplicación de herramientas biotecnológicas como proteínas recombinantes y silenciamiento de genes virales, en combinación de la manipulación de temperatura y salinidad del agua, con el objetivo de obtener crías de camarones libres del virus.

## **Materiales y métodos**

### **Producción de proteínas recombinantes de IHHNV**

Se amplificó mediante PCR la secuencia del ORF 3 que codifica la proteína de la cápside de IHHNV con primers específicos en sentido y antisentido, cada uno flanqueado en el extremo 5' por los sitios de restricción correspondientes a las endonucleasas SgfI y PmeI respectivamente.

El fragmento de DNA fue clonado en un vector de expresión HaloTag diseñado para sobreexpresar el gen y producir proteínas recombinantes [pFN18A HaloTag® T7 Flexi® Vector (Promega)]. Posteriormente se transformaron células competentes de *E. coli* del aislado KRX (Promega).

### **Producción de RNA de doble cadena**

Par construir los RNA de doble cadena de cada gen de IHHNV, se amplificarán las secuencias de los ORFs 2 y 3 mediante PCR, utilizando primers específicos con la secuencia del promotor T7 unida al extremo 5' de cada primer. Como templado se utilizará el DNA de organismos positivos y posteriormente los fragmentos serán clonados en el plásmido pGEM®-T Easy (Promega). Se realizará una PCR con el DNA clonado como templado y se transcribirán las cadenas de RNA mediante una reacción de transcripción con la enzima T7-RNA polimerasa (Kit de ARNi MEGAscript-Ambion) utilizando el producto de PCR como molde.

### **Extracción de hemolinfa**

La hemolinfa se extraerá con jeringas de 1cm<sup>3</sup> para tuberculina. Para evitar la coagulación, las jeringas se cargarán con 50 µl de PBS 1X con 5% de oxalato de potasio. La hemolinfa se centrifugará a 3,000 xg por 10 min a 4°C, se eliminará el plasma y se realizará la extracción del RNA o DNA total en el saco celular.

### **Extracción de RNA en hemocitos de camarón**

La extracción de RNA de los hemocitos se realizará con TRIzol, siguiendo el protocolo del fabricante.

### **Extracción de DNA**

La extracción de DNA se realizará con DNAzol, siguiendo el protocolo del fabricante.

### **Construcción de cDNA**

La construcción del DNA complementario (cDNA) se realizará con un kit comercial [(ImProm-II Reverse Transcriptase (Promega)], siguiendo las instrucciones del fabricante.

### **Expresión de genes de respuesta inmune**

Para evaluar la expresión de genes de respuesta inmune en camarones se analizarán las muestras de cDNA, por medio de PCR cuantitativo (qPCR). La expresión será normalizada y transformada a expresión relativa analizando factor de elongación alfa (EF $\alpha$ ) como gen de referencia. Las reacciones de qPCR se llevarán a cabo en un termociclador BIO-RAD®T1000, los datos de Cq que sean obtenidos serán transformados a expresión relativa mediante el método  $\Delta\Delta C_t$ .

### **Cuantificación de IHHNV mediante PCR cuantitativo**

La cuantificación de la carga viral se realizará en hemocitos siguiendo la metodología de Tang y Lightner 2001. Se utilizarán dos primers específicos y una Sonda TaqMan.

La curva de calibración se realizará con un fragmento de DNA clonado en el plásmido pGEM®-T Easy (Promega).

### **Resultados**

Hasta el momento dentro de los avances se ha trabajado en la producción de la proteína recombinante correspondiente al ORF 3 de IHHNV. El producto de PCR correspondiente al gen que codifica para la cápside del virus fue visualizado en un gel de agarosa al 1%. Posteriormente fue clonado en un vector pGEM®-T Easy de promega®, una vez con el vector recombinante se transformaron células *E. coli* KRX promega®, se realizó la extracción de DNA plasmídico y finalmente se confirmó el tamaño del fragmento mediante PCR y electroforesis. Después se llevó a cabo una subclonación, para ello, se extrajo DNA plasmídico (de las células anteriormente transformadas) para ligarse ahora con el vector de expresión HaloTag promega® y una vez más se transformaron *E. coli* KRX, finalmente se confirmó el tamaño mediante PCR en un gel de agarosa al 1%.

Por otro lado, se estandarizó la metodología para cuantificar al IHHNV mediante qPCR, para lo cual, se clonó un fragmento de la secuencia del virus (siguiendo el mismo procedimiento que se describe arriba), después de confirmar el fragmento, se calculó el número de copias virales/ $\mu$ L y se procedió a hacer diluciones desde 50 millones hasta 5 copias del plásmido por reacción. Se construyó una curva de calibración, la cual será utilizada para determinar la carga viral en cada uno de los bioensayos que se realizarán a lo largo del proyecto.

### **Discusión**

De acuerdo con la producción de la proteína, se han realizado pruebas de inducción con ramnosa a una temperatura de 25°C en medio Luria-Bertani broth (LB). De acuerdo con (Rosano & Ceccarelli, 2014) el medio LB es adecuado para la producción de proteínas, sin embargo no logra cultivos de alta densidad, en cambio el Terrific broth ha demostrado alcanzar densidades superiores en comparación con el LB. Respecto a la temperatura, señalan que la síntesis de proteínas recombinantes entre 15-25 °C evita problemas como aglomerados insolubles dentro de las células como *E. coli*, a pesar de eso, trabajar con un rango de temperatura bajo puede resultar en rendimientos proteicos bajos.

Por otro lado, la curva de calibración para la cuantificación (Tang & Lightner, 2001) indican que la PCR de tiempo real es adecuada para cuantificar IHHNV en *P. vannamei* respecto a otros métodos utilizados, como análisis histológico. No obstante, en otras especies como *P. monodon*, (Cowley et al., 2018), señalan pruebas de qPCR altamente específicas y sensibles combinando dos juegos de primers que diseñaron en su investigación, los cuales infieren resultan útiles para selección y mantenimiento de reproductores de *P. monodon* libres del patógeno específico de IHHNV.

### **Conclusiones**

Con la producción y aplicación de la proteína se espera un efecto inmunoestimulante en los organismos experimentales infectados con IHHNV. La curva de calibración podrá indicar de manera más precisa las copias de IHHNV dada su especificidad por la sonda Taqman.

## Referencias bibliográficas

- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (2024) Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2024 [online]. Disponible en: <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuacultura-y-pesca>
- Cowley J A, Rao M, Coman G J (2018) Real-time PCR tests to specifically detect IHHNV lineages and an IHHNV EVE integrated in the genome of *Penaeus monodon*. *Dis Aquat Organ*, 129(2), 145-158.
- Dhar A K, Cruz-Flores R, Caro L F A, Siewiora H M, Jory D (2019) Diversity of single-stranded DNA containing viruses in shrimp. *Virusdisease*, 30(1), 43-57.
- Hou Z-H, Gao Y, Wang J, Chen C Y, Chang L R, Li T, Si L J, Li F, Yan D C (2023) Study of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) infection in different organs of *Penaeus vannamei*. *J Invertebr Pathol*, 199, 107952.
- Hsu J C, Huang H T, Lin H J, Chou H Y, Huang P Y, Prachumwat A, Chen L (2022) Applying Modified VP53A Recombinant Protein as an Anti-White Spot Syndrome Virus Biological Agent in *Litopenaeus vannamei* Farming. *Viruses*, 14(7).
- Lightner D V (2011) Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): A review. *J Invertebr Pathol*, 106(1), 110-130.
- Rosano G L, Ceccarelli E A (2014) Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. *Front Microbiol*, 5, 172.
- Tang K F, Lightner D V (2001) Detection and quantification of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus in penaeid shrimp by real-time PCR. *Dis Aquat Organ*, 44(2), 79-85.
- Vega-Heredia S, Mendoza-Cano F, Sánchez-Paz A (2012) The infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus: a brief review of what we do and do not know. *Transbound Emerg Dis*, 59(2), 95-105.
- Zeng S, Huang Z, Hou D, Liu J, Weng S, He J (2017) Composition, diversity and function of intestinal microbiota in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at different culture stages. *PeerJ*, 5, e3986.

## DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MODELO *IN-SILICO* PARA EVALUAR LA SUSCEPTIBILIDAD A LA PREECLAMPSIA

Jessica Barragán-Zúñiga<sup>1</sup>, Martha Sosa-Macías<sup>1</sup>, Guadalupe Estrada-Gutiérrez<sup>2</sup>, David Guillermo Pérez-Ishiwara<sup>3</sup>, María del Consuelo Gómez-García<sup>3</sup>, Carlos Galaviz-Hernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional - Unidad Durango, Sigma 119, 20 de Noviembre II, 34220 Durango, Dgo.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Perinatología. Instituto Nacional de Perinatología (INPer), C. Montes Urales 800, Lomas - Virreyes, Lomas de Chapultepec IV Secc, Miguel Hidalgo, 11000 Ciudad de México, CDMX. <sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía. Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México, CDMX.

\*carlosgalavizhernandez55@gmail.com

### Resumen

La preeclampsia continúa siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y perinatal a nivel global, con especial impacto en países de ingresos medios y bajos. En México, la incidencia alcanza 47.3 casos por cada mil nacimientos, manifestando la necesidad de estrategias predictivas tempranas y contextualizadas. Este estudio propone el desarrollo y validación de un modelo *in-silico* basado en aprendizaje automático para evaluar la susceptibilidad a la preeclampsia, integrando variables sociodemográficas y clínicas de mujeres mexicanas. Para ello, se analizaron 637 registros clínicos de mujeres embarazadas, se aplicaron pruebas estadísticas como paso preliminar para la evaluación de características relevantes. En el caso de la adolescencia, el aumento de >11.85 kg podría ser un umbral clínico de riesgo, aunque se requiere validación en muestras de mayor tamaño. Estos resultados indican la necesidad de criterios claros y de un seguimiento más estrecho de los embarazos adolescentes. El siguiente paso será entrenar algoritmos de inteligencia artificial (redes neuronales, bosques aleatorios, regresión logística) y validar su desempeño en contextos prospectivos, con la perspectiva de implementar una aplicación clínica. La propuesta busca generar una herramienta accesible y contextualizada para la predicción temprana de preeclampsia en poblaciones latinoamericanas.

**Palabras clave:** *Predicción temprana de la preeclampsia, aprendizaje automático, preeclampsia.*

### Introducción

En América Latina y el Caribe, los trastornos hipertensivos explican alrededor del 26 % de las muertes maternas, siendo la preeclampsia una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y perinatal (Poon et al., 2019). A nivel global, representa entre el 2 % y el 8 % de las complicaciones gestacionales y se asocia con hasta 900,000 muertes infantiles anuales (Jhee et al., 2019). Según la Secretaría de Salud, en 2024, en México, la incidencia alcanza 47.3 casos por cada mil nacimientos, contribuyendo a cerca de 4,000 muertes maternas y 20,000 neonatales por año. La detección temprana y el manejo oportuno mejoran los desenlaces maternos y neonatales; sin embargo, la predicción de la preeclampsia sigue



siendo limitada incluso en entornos con sistemas de salud avanzados (Marić et al., 2020). Esto ha motivado el desarrollo de métodos predictivos basados en biomarcadores y modelos clínicos. En años recientes, la inteligencia artificial y el aprendizaje automático han demostrado su capacidad para integrar múltiples variables clínicas y sociodemográficas, seleccionando de forma automática aquellas con mayor poder predictivo (Boujarzadeh et al., 2023). El objetivo de este estudio es desarrollar y validar de un modelo *in-silico* para evaluar la susceptibilidad a la preeclampsia.

## Materiales y Métodos

La muestra estuvo conformada por 637 mujeres embarazadas, de las cuales 107 (16.8%) presentaron preeclampsia y 530 (83.2%) no presentaron preeclampsia. Adicionalmente, se compararon los perfiles asociados con la preeclampsia entre cohortes de mujeres adolescentes y adultas ( $\geq 20$  años). Se utilizó un diseño retrospectivo de tipo casos y controles. En fases posteriores se realizará el desarrollo de modelos de aprendizaje automático y se evaluarán prospectivamente el (los) modelo(s) elegido(s) para desarrollar una aplicación móvil o plataforma. Para la comparación de variables cuantitativas se emplearon la prueba t de Student o la prueba U de Mann-Whitney, mientras que las variables categóricas se analizaron mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo en Python 3.11.12. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo.

## Resultados

El embarazo en adolescentes y la condición de primigesta fueron los factores con mayor peso estadístico en la asociación con preeclampsia. También se observaron relaciones con la ganancia de peso, el número total de gestas y los antecedentes de cesáreas, niveles de glucosa, triglicéridos, insulina y HbA1c (Tabla 1, Figuras 1a y 1b). Al comprar por subgrupos etarios, en el grupo adolescente, la mayoría de los casos de preeclampsia se presentaron en primigestas (82.4%). En las adultas se observó un patrón en “U”, con mayor porcentaje en primigestas, menor entre 2–4 gestas y nuevamente mayor después de la quinta, lo que sugiere que los extremos de la paridad podrían asociarse con incremento en el riesgo de preeclampsia. Las adolescentes iniciaron su embarazo con un peso notablemente inferior al de las mujeres mayores de 20 años, no obstante, en el subgrupo con preeclampsia presentaron una ganancia de peso mayor ( $17.7 \pm 7.2$  vs  $10 \pm 6.2$  kg;  $p < 0.001$ ; Figuras 1c y 1d). En el subanálisis exclusivo de adolescentes ( $n=39$ ), la ganancia de peso gestacional demostró una adecuada capacidad discriminativa para preeclampsia (AUC=0.883; IC95%: 0.746–1.000;  $p=0.001$ ). El punto de corte óptimo fue de 11.85 kg, con una sensibilidad de 85.7% y una especificidad de 85.7%. Las adolescentes que superaron este umbral presentaron un riesgo diez veces mayor de desarrollar preeclampsia (OR=10.6; IC95%: 1.9–58.6;  $p=0.003$ ; Figura 1e).

**Tabla 1.** Comparación de características maternas entre casos de preeclampsia y controles

Tratamiento	Casos	Controles	p
Edad materna	$26.80 \pm 6.53$ (n=106)	$29.53 \pm 5.51$ (n=526)	<0.001
Peso materno pregestacional	$69.57 \pm 16.76$ (n=100)	$67.17 \pm 13.98$ (n=518)	0.151
Ganancia de peso	$10.79 \pm 7.25$ (n=85)	$8.28 \pm 5.29$ (n=389)	0.005

Los valores se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (DE), con el número de casos indicado entre paréntesis.





de interés clínico, relacionado con un mayor riesgo de preeclampsia. No obstante, este hallazgo debe ser interpretado con precaución, dado el tamaño muestral limitado. Estos hallazgos subrayan la relevancia de establecer criterios claros y realizar un seguimiento más estrecho de las adolescentes embarazadas.

### **Agradecimientos**

Se agradece a la Secretaría de Innovación, Ciencia y Tecnología (SECIHTI) por el apoyo otorgado mediante beca de estudios y al COCYTED.

### **Referencias**

- Boujarzadeh B, Ranjbar A, Banihashemi F, Mehrnoush V, Darsareh F, Saffari M. (2023). Machine learning approach to predict postpartum haemorrhage: A systematic review protocol. *BMJ Open*. 13(1):e067661.
- Boulanger H, Bounan S, Mahdhi A, Drouin D, Ahriz-Saksi S, Guimiot F, Rouas-Freiss N. (2024). Immunologic aspects of preeclampsia. *AJOG Glob Rep*. 9;4(1):100321.
- Flores-Mendoza, H., Basurto-Díaz, D., Hernández-Nieto, C., Durán-Moreno, A., Cisneros-Rivera, F., & Durán-Luna, A. (2017). Differences Between Pregnant Adolescent and Adult Patients Presenting With Preeclampsia/Eclampsia. *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* 30(2), 306.
- Jhee JH, Lee S, Park Y, Lee SE, Kim YA, Kang SW, et al. (2019). Prediction model development of late-onset preeclampsia using machine learning-based methods. *PLoS One*. 14(8):e0221202.
- Kawakita T, Wilson K, Grantz KL, Landy HJ, Huang C-C, Gomez-Lobo V. (2015). Adverse maternal and neonatal outcomes in adolescent pregnancy, *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* 29(2):130-6
- Marić I, Tsur A, Aghaeepour N, Montanari A, Stevenson DK, Shaw GM, et al. (2020). Early prediction of preeclampsia via machine learning. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2(2):100100.
- Oviedo-Mendoza MA, Del Pilar Calsín Alvarado MA, Rubín-De-Celis VE. (2024). Complicaciones maternas y embarazo adolescente en América Latina: Revisión sistemática y metaanálisis. *Rev Fac Med Hum*. 24(2):108-118.
- Poon LC, Shennan A, Hyett JA, Kapur A, Hadar E, Divakar H, et al. (2019). The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet*. (Suppl 1):1-33.
- Scholl TO, Hediger ML, Schall JI. (1997). Maternal growth and fetal growth: pregnancy course and outcome in the Camden study. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 81:292e301.
- Wallace JM, Luther JS, Milne JS, Aitken RP, Redmer DA, Reynolds LP, Hay WW Jr. (2006). Nutritional modulation of adolescent pregnancy outcome -- a review. *Placenta*. Apr 27 Suppl A:S61-8. Epub 2006 Jan 25. PMID: 16442614.

## DISEÑO IN SILICO, SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE UN DERIVADO DE PEREZONA

Alfredo Amaury Bautista Solano<sup>1</sup>, María Guadalupe Hernández Linares<sup>2</sup> Gloria Dávila Ortiz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Campus Zacatenco, Avenida Wilfrido Massieu 399, colonia Nueva Industrial Vallejo, Zacatenco, Alcaldía Gustavo A. Madero, Ciudad de México, C.P. 07728, México, <sup>2</sup>Benemerita Universidad Autónoma de Puebla, Centro de Química, Instituto de Ciencias, Avenida San Claudio s/n, colonia Jardines de San Manuel, Puebla, C.P. 72570, México.

\*Gdavidao@ipn.mx

### Resumen

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad. Uno de los tipos de cáncer del sistema nervioso central más agresivos es el glioblastoma, debido a que los tratamientos actuales presentan una eficacia limitada y efectos secundarios se han desarrollado estrategias basadas en focalización molecular. Uno de estos objetivos es la enzima PARP-1, responsable de la reparación del ADN, cuya sobreexpresión en tumores sugiere que su inhibición puede inducir apoptosis. En este contexto, los compuestos de origen vegetal representan una alternativa, debido a sus propiedades antineoplásicas. Un ejemplo es la perezona, una *p*-benzoquinona sesquiterpénica que ha demostrado actividad antitumoral. El presente trabajo tiene como objetivo diseñar, sintetizar y caracterizar un derivado de perezona. Se realizó el acoplamiento molecular y se seleccionó el derivado con mayor afinidad. La perezona fue extraída a partir de la raíz de *Acourtia cordata* y se analizó por resonancia magnética nuclear (RMN). Posteriormente, se plantea la síntesis del derivado seleccionado y su elucidación. La actividad biológica será evaluada en la línea celular U373 mediante ensayos de citotoxicidad e inhibición de PARP-1. El acoplamiento molecular indicó que derivado presentó mayor afinidad hacia PARP-1. Se logró además la purificación de perezona, confirmado por RMN <sup>1</sup>H.

**Palabras clave:** Perezona, PARP-1, Glioblastoma, Cáncer, Cerebro.

### Introducción

El cáncer es una de las mayores causas de mortalidad en el mundo. Esta enfermedad se caracteriza por alteraciones genéticas, lo que resulta en una división celular descontrolada. El cáncer es responsable de 10 millones de muertes por año, representando el 17% de todas las muertes globales. El rango espectral de tipos de cáncer supera los 100 diferentes debido a esto, se clasifican de acuerdo por el tipo de célula del tejido en el que se originó. En esta clasificación encontramos los tumores del sistema nervioso central, que Incluyen distintos tipos de tumores que afectan al cerebro como por ejemplo el glioblastoma. El glioblastoma es uno de los tumores más agresivos y frecuentes. La esperanza de vida de los pacientes con glioblastoma es de 14-15 meses. Actualmente se cuentan con tratamientos como la resección quirúrgica, radioterapia y quimioterapia. No obstante, estos tratamientos tienen efectos secundarios y una tasa de éxito limitada. Esto se debe a las interacciones del glioblastoma con el microambiente inmunosupresor y obstáculos como la barrera hematoencefálica.

Debido a lo anterior se requieren nuevos enfoques para el tratamiento del glioblastoma utilizando terapias de focalización molecular. Uno de los objetivos anticancerígenos más prometedores es la enzima poli [ADP-ribosa] polimerasa 1 (PARP-1). PARP-1 se divide funcionalmente en tres dominios y estructuralmente en seis dominios cada uno con funciones específicas. Esta enzima es un miembro fundamental de la maquinaria de reparación del ADN celular del que dependen las células cancerosas altamente proliferativas para mantener su integridad genómica. Se ha demostrado que los crecimientos gliales tienen una elevada expresión de PARP-1. Esto constituye una base para la terapia mediante la inhibición de PARP-1 evitando que el ADN se repare y se induzca la muerte de células cancerosas (Bisht et al. 2022). Las plantas producen especies químicas llamados metabolitos secundarios. Estos metabolitos son estructuralmente diversos y pueden tener una distribución restringida entre grupos específicos de plantas teniendo propiedades biológicas para tratar el cáncer. Dentro de los metabolitos secundarios encontramos a la perezona. La perezona ( $C_{15}H_{20}O_3$ ) es una *p*-benzoquinona extraída de las raíces del género *Acourtia*. La perezona destaca por su estructura química, contiene grupos carbonilos y olefinas con gran densidad electrónica que tienen un efecto directo en su química redox (Hernández et al. 2022). La perezona y análogos de esta, han demostrado actividad antineoplásica por la inhibición de PARP-1. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es sintetizar derivados de perezona que sean candidatos prometedores para inhibir PARP-1.

### **Materiales y métodos**

Se realizaron estudios de acoplamiento molecular de la perezona y de los derivados. Las estructuras se dibujaron utilizando el software ChemDraw Professional (Versión 16.0) y Chem 3D (Version 16.0). Para la optimización de las estructuras se utilizó Avogadro (Version 1.2.0.) El dominio catalítico de PARP-1 se obtuvo del Protein Data Bank (PDB ID: 5DS3). Los estudios de acoplamiento molecular se realizaron utilizando AutoDock (Version 4.2) (Hernández et al. 2022).

Para la extracción de perezona se tomaron 50 g de raíz previamente seca y triturada y se adicionaron 400 mL de n-hexano y se puso a reflujo por 3 horas. Posteriormente se empaco en una columna cromatográfica con elución en gradiente utilizando un sistema n-hexano-Acetato de etilo (Escobedo et al. 2019). Los espectros de Resonancia magnética Nuclear se obtuvieron empleando un equipo Bruker Advance de 500 MHz empleando experimentos de 1D ( $^1H$ ). Se utilizó cloroformo deuterado ( $CDCl_3$ ) con tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se expresan ppm ( $\delta$ ), las constantes de acoplamiento (J) están indicadas en Hertz (Hz).

Se utilizará el ensayo MTT para la evaluación de la viabilidad celular. Se sembrarán  $5 \times 10^4$  células y se añadirán concentraciones crecientes de perezona y el derivado incubándose por 48 horas. Se añadirán 20  $\mu L$  de MTT y se incubará por 3.5 horas adicionales. Se retirará el formazan producido por las células y se añadirá 50  $\mu L$  de DMSO. La absorbancia se medirá en un lector de microplacas UV/vis a 540 nm. Para determinar la inhibición de PARP-1 Se utilizará Olaparib como control en concentraciones crecientes (0.00005, 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.005 y 0.01  $\mu M$ ). El derivado de perezona será evaluado en concentraciones (0.5, 1, 5, 50 y 10  $\mu M$ ). Las absorbancias se obtendrán a 450 nm utilizando un lector de microplacas UV/vis (Hernández et al. 2022).

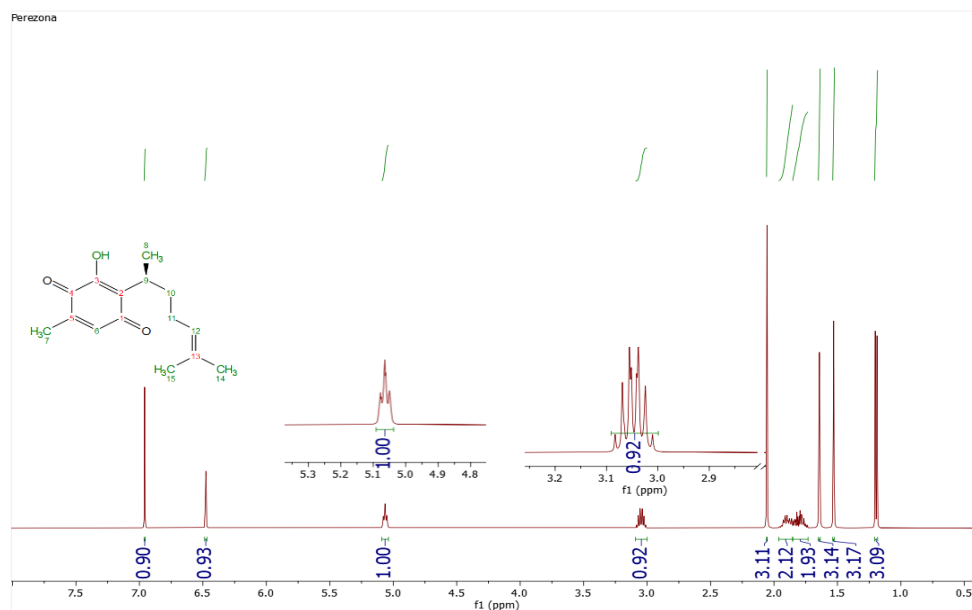
## Resultados

Se obtuvieron las conformaciones con la energía libre de unión ( $\Delta G$ ) más baja de cada estructura y su desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés, Root Mean Square Deviation) (tabla 1).

**Tabla 1.** Resultados del acoplamiento molecular de la perezona y derivados.

Estructura	Energía libre de Unión [Kcal/mol]	RMSD
Perezona	-7.94	0.46
Derivado 1	-9.48	0.61
Derivado 2	-8.23	1.36
Derivado 3	-7.62	0.59
Derivado 4	-9.44	0.49
Derivado 5	-9.76	0.65

Se obtuvo el siguiente espectro de RMN  $^1\text{H}$  el cual se procesó utilizando el software MestReNova (versión 15.0.) en donde se pueden observar las señales características de la perezona, acompañado de sus integrales y la multiplicidad (Figura 1).



**Figura 1.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz de la perezona. RMN  $^1\text{H}$   $\delta$ : 6.96 (s, 1H), 6.48 (q,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 5.06 (ddq,  $J = 8.5, 5.8, 1.4$  Hz, 1H), 3.05 (dp,  $J = 8.4, 7.0$  Hz, 1H), 2.06 (d,  $J = 1.5$  Hz, 4H), 1.96 – 1.85 (m, 1H), 1.85 – 1.73 (m, 1H), 1.64 (q,  $J = 1.3$  Hz, 3H), 1.53 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3H), 1.20 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

## Discusión

Los resultados del acoplamiento molecular indican que el quinto derivado presenta la energía libre de unión más baja, esto sugiere una mayor estabilidad y afinidad hacia el sitio activo de PARP-1. Desde un punto de vista sintético este derivado se obtiene a través de una

condensación de alcoholes en medio ácido, así como a través de una síntesis de indoles de Fischer, dado que la perezona posee una estructura de dicetonas  $\alpha,\beta$  insaturadas que facilita su transformación hacia derivados indólicos. Estos resultados pueden relacionarse con la naturaleza indólica del derivado, ya que este tipo de estructuras favorece interacciones ( $\pi-\pi$ ) entre grupos fenólicos de inhibidores de PARP-1 y el residuo de tirosina 907 de la enzima. Adicionalmente, otros inhibidores de referencia como NU1085 que contiene indoles en una orientación favorable, esto permite establecer puentes de hidrogeno con el residuo de glicina 863 (Spiegel et al. 2021). Por otra parte, se corrobora que el método convencional de extracción de perezona mediante reflujo, resulta eficaz para su obtención. Esto se sustenta por su análisis en RMN  $^1\text{H}$  en donde se observan señales características de la perezona, como la del protón hidroxilo, el proton de la posición 9 así como protones diasterotópicos en las posiciones 10 y 11 (Hernández et al. 2022). La presencia de estas señales coincide con los espectros previamente reportados, esto permite confirmar su purificación estableciendo una base confiable para su posterior uso en la síntesis del derivado.

### Conclusiones

El análisis comparativo de los derivados, permitiendo indicar que el quinto derivado exhibe la energía libre más baja. Esto sugiere una mayor estabilidad y afinidad hacia PARP-1 en comparación con la perezona. Se comprobó que la perezona puede obtenerse mediante el método convencional de extracción, asegurando la disponibilidad de la molécula base para la síntesis del derivado. Los resultados ofrecen una base para continuar con la evaluación biológica y refuerzan la viabilidad de la perezona como punto de partida para el diseño de compuestos con actividad terapéutica.

### Agradecimientos

Agradecemos a la Secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), México por haber otorgado la beca para estudios de posgrado.

### Referencias bibliográficas

- Bisht P, Kumar VU, Pandey R, Velayutham R, Kumar N (2022) Role of PARP Inhibitors in Glioblastoma and Perceiving Challenges as Well as Strategies for Successful Clinical Development. *Front. Pharmacol.* 13: 1-19.
- Hernandez M, Mendoza P, Macías ME, Rosales E, Mera E, Aceves M, Nicolas M, Miranda R (2022) Invitro and computational studies of natural products related to perezona as anti-neoplastic agents. *Biochimie*, 171: 158-169.
- Spiegel J, Van Houten, B, Durrant J (2021) PARP-1: Structural Insights and Pharmacological Targets for Inhibition. *DNA Repair (Amst)*. 103:103-125.

## ANÁLISIS DEL PERFIL TRANSCRIPTÓMICO DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES Nes+ AISLADAS DE PULMÓN DE RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS

Doris Atenea Cerecedo Mercado<sup>1</sup>, Ivette Martínez Vieyra<sup>1</sup>, Amanda Isabel Borrego Díaz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional-ENMH Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México, CDMX.

\* aborregod2200@alumno.ipn.mx

### Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial, y la hipertensión arterial representa un factor de riesgo relevante. En México, afecta a cerca del 50% de la población adulta. Las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) es el modelo animal más utilizado para el estudio de la hipertensión esencial. Estudios previos han evidenciado un incremento de la proteína nestina en el pulmón de SHR de 5 semanas de edad, marcador característico de células troncales mesenquimales (MSC), las cuales participan en procesos de regeneración, angiogénesis y soporte a la megacariopoyesis. Sin embargo, la caracterización transcripcional de MSC pulmonares en hipertensión es escasa, especialmente en la fase prehipertensa. Este trabajo propone analizar el perfil transcriptómico de MSC Nes+ aisladas del pulmón de SHR y compararlas con ratas normotensas (WKY) mediante RNA-seq. La metodología incluye el aislamiento celular por FACS, extracción y evaluación del ARN celular, preparación de bibliotecas para la secuenciación, el posterior análisis bioinformático y la validación de la expresión de genes específicos por RT-PCR. Se pretende identificar genes y vías de señalización diferencialmente expresadas, aportando información sobre los mecanismos moleculares de la remodelación vascular y la fisiopatología de la hipertensión. Los resultados podrían orientar el desarrollo de terapias más eficaces y personalizadas para prevenir y tratar el daño pulmonar asociado a esta enfermedad.

**Palabras clave:** Hipertensión, FACS, RNA-seq, transcriptoma

### Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) encabezan la lista de las principales causas de muerte en la actualidad (OMS, 2025). La hipertensión es un estado de presión arterial elevada sostenida. Uno de cada cuatro adultos tiene hipertensión y, en consecuencia, tiene un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (OMS, 2023). La incidencia de la hipertensión en México es alarmante. En 2021, aproximadamente el 50% de los adultos mexicanos vivían con hipertensión, lo que equivale a más de 30 millones de personas (Instituto Nacional de Salud Pública, 2024). Las SHR es el modelo animal más estudiado de hipertensión humana. Estas muestran la misma progresión de la hipertensión que la hipertensión esencial humana. Es conocido que las SHR presentan variaciones celulares durante la fase prehipertensa en médula ósea y pulmón (Kokubo, M. et al., 2005). Una de las modificaciones observadas en pulmón de las ratas SHR de 5 semanas de edad en comparación con ratas normotensas es el aumento de la proteína nestina, un marcador típico de células mesenquimales. Varios estudios realizados en animales y seres humanos han demostrado que la nestina (Nes) es un marcador importante para las células troncales



mesenquimales (MSC). Las células Nes<sup>+</sup> pueden tener potencial para la angiogénesis en diversos tejidos, especialmente donde se necesita la formación de nuevos vasos sanguíneos entre los que se encuentran el sistema nervioso central, el músculo esquelético, tejido cardíaco y médula ósea (Jiang, Li et al. 2015). Las MSC son una parte fundamental del tejido conectivo, ya que ofrecen soporte tanto estructural como funcional a las células parenquimatosas presentes en diversos órganos. Una de las principales funciones de MSC en la médula ósea es crear un nicho para la HSC para brindar soporte a la megacariopoyesis (Sinclair, Yerkovich et al. 2013). Los megacariocitos son células grandes responsables de la producción de plaquetas. Basado en varios estudios, el pulmón ha sido reconocido como uno de los sitios biogénicos importantes de las plaquetas además de la médula ósea (Machlus et al, 2019). Existen varios genes clave que están implicados en la regulación de la megacariopoyesis. Entre los genes más importantes que han demostrado tener un papel relevante en este proceso se encuentran: TPO, CXCL12, HGF, IL-6 y IL-12. La interacción entre estos genes y sus productos en el contexto de las células mesenquimales subraya su rol en la regulación de la megacariopoyesis, ya que crean un entorno adecuado para la diferenciación y maduración de megacariocitos (Méndez-Ferrer et al., 2010).

### **Materiales y métodos**

Se trabajarán con dos grupos experimentales compuestos por 6 ratas normotensas y 6 ratas SHR, para un tamaño total de muestra N=12. Se realizará la Eutanasia del animal según las normas de ética correspondientes, se extraerán y triturarán ambos pulmones que se pondrán en contacto con una mezcla enzimática que contiene Colagenasa tipo I y DNasa I. Posteriormente se recolectará la suspensión celular y será sometida por FACS (del inglés, Fluorescence-Activated Cell Sorting) para aislar las células de interés. Los marcadores positivos que se utilizarán serán CD90<sup>+</sup>, CD 73<sup>+</sup> y Nes<sup>+</sup> y los marcadores negativos serán CD34 y CD45. Una vez obtenidas las células de interés se procederá a extraer su material genómico mediante un Kit de la marca Quiagen que permite obtener RNA de alta calidad. Una vez lista las muestras se realizará la preparación de las bibliotecas de secuenciación. La secuenciación se realizará posteriormente con un número de lecturas de 40M lecturas x muestra. Se realizará el análisis de los datos obtenidos en varios niveles lo que permitirá pasar de datos crudos a conclusiones biológicas útiles de manera organizada y estructurada. Para validar la expresión diferencial de genes seleccionados en ratas hipertensas y normotensas se utilizará la técnica de RT-PCR en tiempo real. Esto permitirá cuantificar de manera precisa los niveles de expresión génica, corroborando las diferencias observadas entre ambos grupos y fortaleciendo la evidencia obtenida sobre los mecanismos moleculares implicados en la hipertensión.

### **Resultados**

Como parte de los resultados preliminares se estudió el ambiente celular presente en el tejido pulmonar de los animales por lo que se realizó una tinción de hematoxilina-eosina a muestras de pulmón de ratas enfermas y sanas, lo cual se muestra en la figura 1. Para corroborar la información obtenida anteriormente se realizó inmunohistoquímica en el tejido pulmonar de las ratas enfermas y sanas utilizando la nestina como marcador (Figura 2) y se evidencia nuevamente el aumento de la expresión de esta proteína en las ratas enfermas en comparación con las ratas sanas, pudiendo así validar los resultados anteriores.

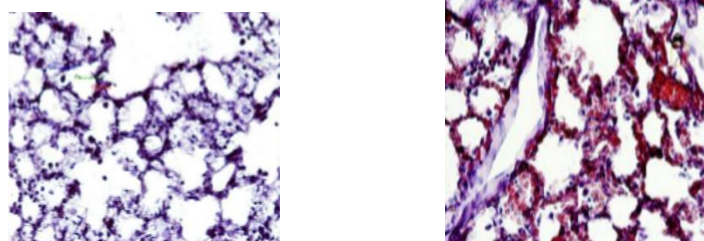


Figura 1. Tinción con Hematoxilina-Eosina de muestras de tejido de pulmón de ratas WKY y SHR. a las 5 semanas de edad. (20X).



Figura 2. Imágenes de Microscopía Confocal de pulmón de ratas WKY (A) y SHR (B) a las 5 semanas de edad.

## Discusión

En la figura 1, se muestra el pulmón de la rata sana, se observan espacios alveolares bien definidos, paredes alveolares delgadas compuestas por neumocitos tipo I y II en proporciones normales, y una vasculatura con lumen amplio indicativo de un tejido funcional y sin inflamación. El pulmón de la rata hipertensa presenta signos de remodelación tisular evidente, con engrosamiento de las paredes alveolares y vasculares, proliferación de fibroblastos y células musculares lisas hipertrofiadas, acompañado de reducción de los espacios alveolares y posible daño endotelial. Además, se evidencian signos de hemorragia como se refleja en esta área. Todo esto refleja una respuesta inflamatoria crónica y cambios estructurales patológicos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Golmart en el 2014 donde demostraron que el grosor de la arteria pulmonar se encuentra aumentado en SHR en comparación con las ratas control. Este estudio de Golmart del 2014 se realizó en ratas de 10 semanas de edad, lo cual es muy común en la literatura revisada, estudiar la patología cuando ya el animal está declarado hipertenso con valores altos de presión arterial, sin embargo, hay muy poca información de la fase prehipertensa donde se evidencia claramente en nuestras tinciones que ya en esta etapa hay engrosamiento de las arterias pulmonares. Además, para corroborar la información obtenida anteriormente por parte del equipo del Laboratorio se realizó una inmunohistoquímica de tejido pulmonar de las ratas enfermas y sanas utilizando la Nestina como marcador y se evidencia nuevamente el aumento de la expresión de esta proteína en las ratas enfermas en comparación con las ratas sanas, pudiendo así validar los resultados anteriores.

## Conclusiones

El presente trabajo permitió observar que en la fase prehipertensa de las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) ya se presentan alteraciones estructurales y moleculares



en el tejido pulmonar, lo cual confirma que los cambios asociados a la hipertensión arterial no se limitan únicamente a etapas avanzadas de la enfermedad. Los análisis histológicos mostraron un engrosamiento de las paredes alveolares y vasculares, así como signos de remodelación tisular, lo que sugiere un proceso temprano de daño estructural. Adicionalmente, la tinción inmunohistoquímica con nestina evidenció un aumento en la expresión de este marcador en comparación con ratas normotensas, lo que respalda el papel de las células troncales mesenquimales en la fisiopatología pulmonar asociada a la hipertensión. Estos hallazgos subrayan la relevancia de caracterizar el perfil transcriptómico de las MSC pulmonares Nes<sup>+</sup> mediante RNA-seq, ya que la identificación de genes diferencialmente expresados permitirá comprender con mayor detalle los mecanismos moleculares implicados en la remodelación vascular. Asimismo, el conocimiento generado podría contribuir al diseño de nuevas estrategias terapéuticas más eficaces y personalizadas para prevenir el daño tisular. En conclusión, este trabajo aporta evidencia de que la hipertensión arterial desencadena alteraciones tempranas a nivel celular y molecular en el pulmón, abriendo nuevas perspectivas para su estudio y tratamiento.

### Referencias bibliográficas

- Alt, E., Y. Yan, S. Gehmert, Y. H. Song, A. Altman, S. Gehmert, D. Vykoukal and X. J. B. o. t. C. Bai (2011). "Fibroblasts share mesenchymal phenotypes with stem cells, but lack their differentiation and colony-forming potential." 103(4): 197-208.
- Gomart et al.: Pulmonary vasoreactivity in spontaneously hypertensive rats - Effects of endothelin-1 and leptin. *Respiratory Research*. 2014 15:12
- Jia, L., M. F. Young, J. Powell, L. Yang, N. C. Ho, R. Hotchkiss, P. G. Robey and C. A. J. G. Francomano (2002). "Gene expression profile of human bone marrow stromal cells: high-throughput expressed sequence tag sequencing analysis." 79(1): 7-17.
- Jiang, M. H., G. Li, J. Liu, L. Liu, B. Wu, W. Huang, W. He, C. Deng, D. Wang and C. J. B. Li (2015). "Nestin<sup>+</sup> kidney resident mesenchymal stem cells for the treatment of acute kidney ischemia injury." 50: 56-66.
- Kinnaird, T., E. Stabile, M. Burnett, C. Lee, S. Barr, S. Fuchs and S. J. C. r. Epstein (2004). "Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms." 94(5): 678-685.
- Kokubo, M., Uemura, A., Matsubara, T. et al. Noninvasive Evaluation of the Time Course of Change in Cardiac Function in Spontaneously Hypertensive Rats by Echocardiography. *Hypertens Res* 28, 601–609 (2005). <https://doi.org/10.1291/hypres.28.601>
- Machlus, K. R. and J. E. Italiano Jr (2019). *Megakaryocyte development and platelet formation*. Platelets, Elsevier: 25-46.
- Méndez-Ferrer, S., Michurina, T. V., Ferraro, F., Mazloom, A. R., MacArthur, B. D., Lira, S. A., ... & Frenette, P. S. (2010). Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature*, 466(7308), 829–834. <https://doi.org/10.1038/nature09262>
- Rolandsson Enes. et al. MSC from fetal and adult lungs possess lung-specific properties compared to bone marrow-derived MSC. *Sci. Rep.* 6, 29160; doi: 10.1038/srep29160 (2016).

## CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y GENÓMICA DE NUEVAS CEPAS BACTERIANAS DEPREDAADORAS AISLADAS DE MÉXICO Y SU EFECTO PROTECTOR ANTE INFECCIONES POR *Flavobacterium* sp. EN TILAPIA

Maria Camacho Rodriguez<sup>1</sup>, Antonio Luna Gonzalez<sup>2</sup>, Xianwu Guo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica, Bulevar del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamaulipas, <sup>2</sup> Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Col. San Joachin, en Guasave, Sinaloa, México.

\*xguo@ipn.mx

### Resumen

La tilapia (*Oreochromis niloticus*) es una de las especies más cultivadas en México, pero su producción intensiva ha favorecido el brote de enfermedades bacterianas como la columnariosis, causada por *Flavobacterium* sp. Esta investigación tuvo como objetivo aislar y caracterizar cepas bacterianas depredadoras del grupo BALOS, evaluando su potencial terapéutico contra dicha infección. Se recolectaron muestras ambientales de diversos nichos ecológicos, co-cultivadas con *Flavobacterium* sp. para detectar actividad lítica mediante la observación de detritos celulares. Las muestras positivas fueron confirmadas por PCR con primers específicos para BALOS y purificadas mediante la técnica de ensayo de placa de doble capa. Se obtuvieron tres cepas identificadas como *Bdellovibrio bacteriovorus* mediante secuenciación parcial del gen 16S rRNA. Cada cepa fue confrontada con *Flavobacterium* sp., seleccionándose la más eficaz para su evaluación en tilapias infectadas. Los resultados indican que BALOS podrían ser una alternativa biotecnológica viable para mejorar la sanidad en acuicultura y reducir el uso de antimicrobianos.

**Palabras clave:** enfermedades bacterianas, bacterias depredadoras, BALOS.

### Introducción

La tilapia (*Oreochromis* y *Tilapia*) es conocida comúnmente como “mojarra”, proviene de África y Asia, es el cuarto pez de agua dulce más cultivado en el mundo después de las carpas (FAO 2020; Abwao et al., 2021). Actualmente, México es el segundo mercado internacional más grande para productos de tilapia, y las 228,000 t equivalentes de peso vivo de sus importaciones de tilapia en 2018 fueron superiores a su producción nacional (FAO, 2021). La acuicultura de tilapia se practica ampliamente en nuestro país, siendo los estados de Chiapas con 28,782.03 t, Jalisco con 27,739.13 t, Michoacán con 9,663.14 t, Veracruz con 8,62.11 t, Sinaloa, con 8,285 t los mayores productores (SADER 2023). Entre sus características potenciales, destacan sus propiedades nutricionales, como la presencia de ácidos grasos Omega-3, su aporte de vitaminas B, D y E, también tiene fósforo y calcio (Guzmán et al., 2021); es accesible de conseguir y fácil de preparar, lo que lo hace uno de los platillos favoritos de los comensales mexicanos (Hicab et al., 2016; Martínez et al., 2021). Sin embargo, la producción de tilapia se enfrenta a ciertas limitantes ajenas al tipo de producción (Kandel et al., 2014; Yue et al., 2016), ninguno queda exento al aumento intensivo de la producción, lo cual facilita el brote de enfermedades, ocasionando la mortalidad significativa de la tilapia o daños en los parámetros productivos (El-Sayed 2020).

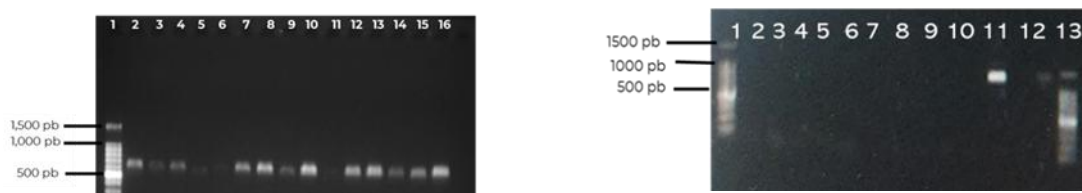
Las enfermedades en el cultivo de tilapia pueden ser causadas por agentes fisiológicos como alteraciones en los parámetros que afectan la calidad del agua, por ejemplo, la reducción de oxígeno disuelto, altas concentraciones de materia orgánica, nitritos, nitratos, amonio, cambios bruscos de temperatura, o por agentes patológicos infecciosos como bacterias, virus, hongos y parásitos, entre otros. Las infecciones parasitarias y fúngicas afectan a alevines y tilapia juvenil, mientras las bacterias afectan durante todo el ciclo reproductivo (Cotrina, 2023). Actualmente los acuicultores intentan y tratan de prevenir enfermedades utilizando métodos tradicionales para el control de patógenos, control de parámetros para mantener la calidad del agua, medidas de sanitización del cultivo, sacrificando y desechando los peces enfermos, así como también el uso de químicos y antimicrobianos, los cuales posteriormente pueden acumularse en los peces y provocar resistencia a los antimicrobianos y afectar negativamente al medio ambiente acuático (Li et al., 2016). Una de las enfermedades conocidas producidas por infección bacteriana es la “Columnarios”, conocida también como “podredumbre de las aletas” producida por *Flavobacterium columnare*, la cual es de especial relevancia, puesto que afecta incluso donde se tienen los cuidados necesarios para el transporte, clasificación y vacunación de tilapia (Prieto et al., 2018; Alcántara et al., 2022). Es por ello, la importancia de aislar cepas depredadoras con potencial para atacar a especies de *Flavobacterium* causantes de enfermedades infecciosas. En este trabajo, el objetivo es aislar e identificar nuevas cepas depredadoras de BALOS, y evaluar su potencial terapéutico contra las infecciones ocasionadas por *Flavobacterium* en tilapia.

### **Materiales y métodos**

Se recolectaron un total de 80 muestras entre suelo y agua (dulce y salada) procedentes de diferentes nichos ecológicos de México, posteriormente se trataron según el Manual de Jurkevitch 2012. Se prepararon co-cultivos de cada muestra para el aislamiento. La detección molecular en co-cultivos para corroborar presencia de bacterias depredadoras, se realizó utilizando los cebadores específicos para BALO. Para las muestras positivas, la purificación se llevó a cabo mediante la técnica de doble capa en placa (DLA). Consistió en preparar una capa inferior de agar con la bacteria presa como sustrato, sobre la cual se añadió una capa superior de agar blando inoculada con la muestra que contenía *Bdellovibrio* (Zhao et al., 2024). Tras la incubación, se observaron zonas de lisis claras (placas), indicativas de la actividad depredadora. Las placas individuales fueron recolectadas y sembradas en nuevas placas con bacterias presa frescas, permitiendo así la obtención de cultivos más puros del organismo depredador. Una vez puro el depredador, se utilizó el Kit Wizard para la extracción total de gDNA y llevar a cabo la secuenciación parcial. Las cepas depredadoras fueron identificadas y se realizó la caracterización biológica mediante DLA. La cepa con mejor eficiencia de depredación fue seleccionada y aplicada en acuicultura.

### **Resultados**

Los resultados se organizan en función de los objetivos específicos del trabajo. Durante el desarrollo de los co-cultivos entre las presuntas bacterias depredadoras y las bacterias presa, se observó una formación progresiva de detritos celulares, especialmente a partir de las 72 horas de incubación. Dichas muestras, fueron identificadas molecularmente por Reacción en Cadena de la Polimerasa con oligonucleótidos específicos del gen 16S del rRNA para BALOS.



**Figura 1.** Identificación molecular (sin purificación de BALO) por Reacción en Cadena de la Polimerasa con oligonucleótidos específicos del gen 16S del rRNA para BALOS.

Las muestras que resultaron positivas en la prueba de PCR fueron sometidas a la técnica de doble capa en placa para su purificación y aislamiento definitivo. Como resultado, se obtuvieron tres cepas depredadoras con capacidad lítica frente a *Flavobacterium sp.* La cepa que mostró la mayor capacidad lítica fue seleccionada e identificada como *Bdellovibrio bacteriovorus* para su evaluación en condiciones de cultivo acuícola, con el objetivo de determinar su eficacia terapéutica en tilapia.

### Discusión

Los resultados confirman el potencial terapéutico de cepas BALOS contra *Flavobacterium sp.*, un patógeno relevante en la acuicultura de tilapia. La baja recuperación de cepas viables, pese a la alta positividad por PCR, sugiere que muchas podrían encontrarse en estado VBNC, lo cual limita su cultivo. Este fenómeno ha sido documentado por Jurkevitch (2007) y Chen et al. (2024) como común en ambientes acuáticos, especialmente bajo condiciones subóptimas. La actividad lítica observada en las cepas recuperadas coincide con estudios como el de Kandel et al. (2014), que destacan la eficacia de BALOS como agentes biocontroladores. Estos hallazgos refuerzan su valor biotecnológico y la necesidad de optimizar métodos de cultivo para mejorar su aplicación en sistemas acuícolas.

### Conclusiones

El uso de BALOS representa una alternativa más sostenible frente al uso de antimicrobianos convencionales, alineándose con propuestas recientes para reducir la resistencia bacteriana en acuicultura. Este trabajo contribuye al conocimiento sobre el aislamiento y aplicación de bacterias depredadoras en ambientes acuáticos, y refuerza la necesidad de optimizar métodos de cultivo para recuperar cepas con alto valor terapéutico.

### Agradecimientos

Agradezco profundamente el apoyo brindado por CONAHCYT, el Centro de Biotecnología Genómica del IPN y el CIIDIR Sinaloa, instituciones que hicieron posible el desarrollo de esta investigación.

### Referencias bibliográficas

Abwao, J., Munguti, J.M., Orina, P.S., Kyule, D.N., & Opiyo, M.A. (2021). Estado de la acuicultura de tilapia y potencial de expansión en Kenia. *Aquaculture Reports*, 19, 100568.

Alcántara-Jauregui, F.M., Valladares-Carranza, B., & Ortega, S.C. (2022). Enfermedades bacterianas y bacterias obtenidas en peces cultivados de México. *Revista MVZ Córdoba*, 27(2), e2387.

- Chen, Y.H., Hong, Q.M., Yuan, K., Zhang, M.E., Yang, X.R., Xu, S.W., Qian, S.X., Miao, Y.T., & Zhu, Z.M. (2024). Aislamiento y caracterización de *Bdellovibrio bacteriovorus* en agua de estanque de peces. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1479942.
- Cotrina, M. (2023). Evaluación de la biodiversidad parasitaria en tilapia cultivada en el Valle del Mezquital. *Pathogens*, 11(10), 1076.
- El-Sayed, A.F.M. (2020). Cultivo de tilapia (2ª ed.). Academic Press, Cambridge, EE. UU.
- FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020: La sostenibilidad en acción. FAO, Roma.
- FAO. (2021). Acuicultura de tilapia en México: Evaluación con enfoque en el desempeño social y económico. Circular de Pesca y Acuicultura de la FAO No. 1219, 1–56.
- Guzmán, C., Martínez-Porchas, M., & Vargas-Albores, F. (2021). Valor nutricional y beneficios para la salud de la tilapia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 12(1), 1–15.
- Hicab, A., Salazar, R., & Gómez, J. (2016). Preferencias de consumo de tilapia en México. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 4(2), 45–52.
- Jurkevitch, E. (2007). Comportamientos depredadores en comunidades bacterianas: *Bdellovibrio* y organismos similares como sistemas modelo. En Dworkin, M. et al. (Eds.), *The Prokaryotes*. Springer, Nueva York.
- Jurkevitch, E. (2012). Manual de aislamiento y cultivo de BALOS. La Universidad Hebrea de Jerusalén.
- Kandel, P.P., Pasternak, Z., van Rijn, J., & Jurkevitch, E. (2014). Abundancia, diversidad y dinámica estacional de bacterias depredadoras en sistemas acuícolas de recirculación. *FEMS Microbiology Ecology*, 89(1), 149–161.
- Kumar, G., & Engle, C.R. (2016). Avances tecnológicos que impulsaron el crecimiento del cultivo de camarón, salmón y tilapia. *Revista de Ciencias Pesqueras y Acuícolas*, 24(2), 136–152.
- Li-Oon, C., Effarizah, M.E., Goni, A.M., & Rusul, G. (2016). Aplicación de antibióticos y aparición de resistencia múltiple en la acuicultura global de bagre. *Informes actuales sobre salud ambiental*, 3(2), 118–127.
- Martínez-Cordero, F.J., Delgadillo, T.S., Sánchez-Zazueta, E., & Cai, J. (2021). Acuicultura de tilapia en México: Evaluación con enfoque en el desempeño social y económico. Circular de Pesca y Acuicultura de la FAO No. 1219, 1–56.
- Prieto, Z., Salirrosas, D., Arqueros, M., & Sánchez-Tuesta, L. (2018). El extracto de *Caesalpinia spinosa* inhibe la infección in vivo de *Flavobacterium columnare* en tilapia. *Scientia Agropecuaria*, 9(2), 215–221.
- SADER. (2023). Producción acuícola nacional por especie y entidad federativa. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, México.
- Yue, X., Li, X., & Wang, Y. (2016). Riesgos de enfermedades y limitaciones en el cultivo intensivo de tilapia. *Investigación en acuicultura*, 47(3), 685–694.
- Zhao, Q., Xu, J., Song, M., & Zhu, K. (2024). Método eficiente para visualizar placas de *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Archivos de Microbiología*, 207, 13.



## ESTUDIO MULTI-ÓMICO DE BACTERIAS EXTREMÓFILAS PARA LA IDENTIFICACIÓN Y PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CON POTENCIAL FARMACÉUTICO

José Antonio Chávez Gómez<sup>1\*</sup>, Diana Verónica Cortés Espinosa<sup>1</sup>, Karina Gabriela Gutiérrez García<sup>2</sup>, María del Carmen Cruz López<sup>1</sup>, Miguel Ángel Plascencia Espinosa<sup>1</sup>, Ulises Carrasco Navarro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIBA-Tlaxcala. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal, Km 1.5, 90700 Santa Inés Tecuexcomac, Tlax., <sup>2</sup> Carnegie Science, 5241 Broad Branch Rd. NW, Washington, DC 20015, <sup>3</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Dpto. de Biotecnología, CDMX, 09310.

\* jchavezg2401@alumno.ipn.mx

### Resumen

La creciente resistencia a antimicrobianos y la alta prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles demandan la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas. Las bacterias extremófilas, son una fuente promisoría de metabolitos secundarios (MS) estables y estructuralmente novedosos. Este estudio emplea un enfoque multi-ómico para investigar bacterias halófilas y termófilas aisladas de ambientes salinos y geotermales en México. Los objetivos incluyen el aislar y realizar un screening biotecnológico para la optimización de la producción de MS y la caracterización de su actividad biológica que incluye: a) el aislamiento en medios selectivos; b) caracterización fenotípica; c) análisis ómicos; d) extracción, identificación y caracterización de MS. Los resultados preliminares confirmaron el aislamiento de 40 cepas halófilas y 23 termófilas, con predominio de bacilos Gram negativos y Gram positivos, respectivamente, y la caracterización fisicoquímica mostró colonias naranjas, amarillas y blanquecinas; bacilos y cocos Gram positivos y Gram negativos. La integración de datos ómicos permitirá elucidar las rutas biosintéticas y correlacionarlas con la producción de MS, contribuyendo al descubrimiento de candidatos terapéuticos innovadores.

**Palabras clave:** Bioprospección, Microorganismos Extremófilos, Metabolitos Secundarios

### Introducción

La salud pública global enfrenta desafíos sin precedentes debido al aumento de las enfermedades como el cáncer, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares, sumado a la crisis de resistencia a antimicrobianos (Segura et al. 2024). Esta situación hace imperante la búsqueda de nuevas moléculas con actividad farmacológica. Los metabolitos secundarios (MS) microbianos han sido la fuente más prolífica de antibióticos y medicamentos anticancerígenos (Newman & Cragg 2020). No obstante, el redescubrimiento de compuestos conocidos a partir de microorganismos mesófilos y neutrófilos ha impulsado la exploración de fuentes no convencionales (Atanasov et al. 2021). En este contexto, los microorganismos extremófilos (ME) han emergido como una fuente invaluable de moléculas con potencial bioactivo (Rothschild & Mancinelli 2001). En particular, las bacterias halófilas y termófilas tienen vías metabólicas que resultan en la producción de MS estables y funcionales en condiciones extremas (Rawat et al. 2024), dichos MS incluyen policétidos (PKS), péptidos



no ribosomales (NRPS), ribosomales (RiPPs) y polifenoles, con potencial biotecnológico y farmacéutico (Maghembe et al. 2020). Por otro lado, las tecnologías ómicas permiten estudiar con mayor amplitud el potencial biotecnológico de los ME y sus MS, superando las limitaciones de los enfoques basados solo en el cultivo (van der Helm et al. 2018). El objetivo de este estudio es integrar técnicas multi-ómicas para aislar, caracterizar y explotar el potencial farmacéutico de los MS producidos por bacterias halófilas y termófilas aisladas de ambientes extremos de México.

**Materiales y métodos**

El muestreo se realizó en noviembre de 2024 en las salinas de Zapotitlán Salinas, Puebla (18° 26' 00" N, 97° 39' 06" O), y en marzo de 2025 en un géiser de Tecozautla, Hidalgo (20°32'03" N, 99°38'00" O), colectándose 20 muestras de agua, suelo y sedimento por sitio. Las muestras del géiser se manejaron con condiciones especiales de temperatura siguiendo el protocolo de Trujillo et al. (2023). Se hizo la determinación de las características fisicoquímicas de agua, suelo y sedimento de las salinas y de muestras de agua del géiser. Para el aislamiento de las bacterias halófilas se utilizaron los medios líquidos LB y caldo nutritivo suplementados con agua salina al 12.5% y 100%. Para las bacterias termófilas, se usaron los mismos medios líquidos y el medio sólido TSA, incubando a 65, 70 y 85 °C. Los aislamientos se caracterizaron morfológica (forma, borde, textura, pigmentación) y microscópicamente (tinción de Gram) (Valenzuela et al. 2024).

**Resultados**

Los análisis revelaron que las salinas de Zapotitlán presentan condiciones de alta alcalinidad (pH 8.82 - 10.30) y salinidad (CE 2.43 - 4.43 dS/m en suelo y sedimento; 2268 - 3910 µS/cm³ en agua), con bajo contenido de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico. Las muestras del géiser en Hidalgo mostraron temperaturas extremas (65-95 °C), con un suelo ácido (pH 6.4) y agua ligeramente alcalina (pH 8.6), y una conductividad eléctrica moderada en el agua (2542 µS/cm³). Se aislaron un total de 40 bacterias halófilas y 23 termófilas. Su caracterización morfofenológica (Tabla 1) mostró que, entre las halófilas, predominaron las colonias de forma puntiforme, textura cremosa y bacilos Gram negativos. Las termófilas mostraron principalmente forma irregular y circular, textura cremosa y fueron predominantemente bacilos Gram positivos.

**Tabla 1.** Características macroscópicas y microscópicas de las bacterias extremófilas.

			Halófilas	Termófilas
Característica	Categoría		n = 40	n = 23
Forma	Irregular		-	10
	Puntiforme		26	4
	Circular		14	9
Borde	Entero		40	12
	Irregular		-	11
Textura	Cremosa		36	22
	Elástica		2	
Clasificación Gram	Bacilo	Positivo	4	15
		Negativo	17	2
	Coco	Positivo	3	4
		Negativo	16	2

## Discusión

El número de aislamientos bacterianos en este trabajo valida las estrategias de cultivo empleadas, que buscaban simular las condiciones ambientales originales (12.5% AS para halófilas y altas temperaturas para termófilas). La predominancia de morfologías puntiformes y cremosas en halófilos, e irregulares en termófilos, coincide con reportes de la literatura que asocian estas características con la minimización de la pérdida de agua y la formación de biopelículas protectoras, respectivamente (Ali et al. 2024; Rawat et al. 2024; Valenzuela et al. 2024).

## Conclusiones

La caracterización de las muestras ambientales demostró que los sitios tienen nichos ecológicos microbianos con parámetros extremos, desde alta salinidad hasta altas temperaturas que son hostiles para la mayoría de los organismos. Se aislaron 40 bacterias halófilas y 23 termófilas con adaptaciones fenotípicas al estrés osmótico y térmico. Lo anterior permite sugerir el significativo potencial biotecnológico de las bacterias. Estos resultados establecen las bases generales para las siguientes fases de integración ómica dirigida a descubrir metabolitos secundarios novedosos con actividad farmacéutica.

## Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada con CVU de alumno 859679. A la Secretaria de Investigación y Posgrado del IPN por el financiamiento al proyecto SIP2025.

## Referencias bibliográficas

- Ali AM, Abdel-Rahman TMA, Farahat MG (2024) Bioprospecting of Culturable Halophilic Bacteria Isolated from Mediterranean Solar Saltern for Extracellular Halotolerant Enzymes. *Microb & Biotech Let* 52:76–87.
- Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM, et al (2021) Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Disc* 20:200–216.
- Maghembe R, Damian D, Makaranga A (2020) Omics for Bioprospecting and Drug Discovery from Bacteria and Microalgae. *Antibio* 9:1–25.
- Newman DJ, Cragg GM (2020) Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod* 83:770–803
- Rawat M, Chauhan M, Pandey A (2024) Extremophiles and their expanding biotechnological applications. *Arch Microbiol* 206:1–15.
- Rothschild LJ, Mancinelli RL (2001) Life in extreme environments. *Nat* 409:1092–1101.
- Segura Chico M, León Barrera J, González Pérez B, Aguiñaga Martínez N (2024) Las enfermedades crónicas no transmisibles y su impacto en el sistema sanitario mexicano. *Arch Med Fam* 26:247–253.
- Shu WS, Huang LN (2022) Microbial diversity in extreme environments. *Nature Reviews Microbiology* 20:219–235
- Torrego N, Ibáñez A (2020) Biofilm formation and motility of halophilic bacteria from solar salterns. *Aquatic Biosystems* 16:1–12
- Trujillo MN, Hidalgo ME, Batista RA, Camacho RM (2023). Manual de métodos para el estudio de extremófilos. In *Manual de métodos para el estudio de extremófilos*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Valenzuela B, Solís-Cornejo F, Araya R, Zamorano P (2024) Isolation of Thermophilic Bacteria from Extreme Environments in Northern Chile. *Microorg* 12:1–15.

van der Helm E, Genee HJ, Sommer MOA (2018) The evolving interface between synthetic biology and functional metagenomics. *Nat Chem Biol* 14:752–759.

## CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LNCRNAs EN LA DIFERENCIACIÓN DE SUBTIPOS DE CÁNCER DE MAMA

Manuel Misael Coca Gonzalez<sup>1</sup>, Flor de Fátima Rosas Cardenas<sup>2</sup>, María Olivia Flores Medel<sup>1</sup>, Yazmin Montserrat Flores Martinez<sup>1</sup>, David Guillermo Pérez Ishiwara<sup>1</sup>, María del Consuelo Gómez García<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Instituto Politécnico Nacional. Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Escalera, Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México, CDMX. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal, Km 1.5, 90700 Santa Inés Tecuexcomac, Tlaxcala.

\* cgomezg@ipn.mx

### Resumen

El cáncer de mama representa uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial debido a su elevada incidencia, mortalidad y heterogeneidad biológica. Esta heterogeneidad se refleja en la clasificación en subtipos moleculares, como los definidos por PAM50, que muestran diferencias clínicas y de respuesta terapéutica. En los últimos años, los lncRNAs han cobrado relevancia por su capacidad para modular la expresión génica y participar en procesos clave del desarrollo tumoral, lo que los convierte en potenciales biomarcadores y blancos terapéuticos. En este proyecto se evaluó la expresión diferencial de lncRNAs en los subtipos de cáncer de mama. Nuestros análisis identificaron dos lncRNAs con sobreexpresión en el subtipo triple negativo, lo cual se evidenció mediante un heatmap de perfiles globales. Al comparar tejidos tumorales con normales, ambos mostraron un aumento en las muestras tumorales. Además, al analizar su comportamiento en los subtipos PAM50, se observaron diferencias consistentes en los niveles de expresión entre los distintos grupos. Finalmente, las curvas de Kaplan-Meier demostraron que una alta expresión de estos lncRNAs se relaciona con la supervivencia de las pacientes, lo que respalda su potencial como biomarcadores pronósticos y candidatos para futuras investigaciones funcionales.

**Palabras clave:** lncRNA, cáncer de mama, biomarcador.

### Introducción

El cáncer de mama es la neoplasia más común en mujeres y representa una de las principales causas de muerte a nivel mundial (Giaquinto, A. N. et al. 2022). Su importancia radica no solo en la alta incidencia, sino también en la heterogeneidad clínica, histológica y molecular que caracteriza a esta enfermedad. Con base en los avances en transcriptómica, se ha establecido la clasificación en subtipos moleculares, entre los que destacan Luminal A, Luminal B, HER2 enriquecido y Triple Negativo, definidos principalmente a través de la firma de expresión génica PAM50 (Turova, P. et al. 2025). Cada uno de estos subtipos presenta diferencias significativas en cuanto a agresividad, pronóstico y respuesta a tratamientos, lo que resalta la necesidad de identificar nuevos biomarcadores que permitan mejorar la estratificación de pacientes y el diseño de terapias más precisas.

En este sentido, los RNA largos no codificantes (lncRNAs) han cobrado relevancia como reguladores clave de la expresión génica y la organización de la cromatina (Wang, Y. et al.

2024). Aunque no codifican proteínas, participan en procesos fundamentales como la proliferación, apoptosis, invasión, migración y respuesta a estrés celular. Estudios recientes han demostrado que la desregulación de ciertos lncRNAs está asociada con la progresión tumoral, la resistencia a terapias y la definición de subtipos específicos de cáncer de mama, particularmente en el subtipo triple negativo, que carece de receptores hormonales y HER2, lo que limita las opciones terapéuticas y se asocia con un mal pronóstico (Wang, Y. et al. 2024).

Dado lo anterior, se vuelve indispensable explorar el papel de los lncRNAs como biomarcadores pronósticos y potenciales blancos terapéuticos (Asberger, J. et al. 2025). En este proyecto nos enfocamos en la caracterización funcional de lncRNAs en la diferenciación de subtipos de cáncer de mama a nivel bioinformático, evaluando sus perfiles de expresión en tejido normal y tumoral, así como en los distintos subtipos moleculares definidos por PAM50. De igual manera, analizamos la asociación entre los niveles de expresión y la supervivencia de las pacientes, con la finalidad de aportar evidencia que respalde su relevancia biológica y clínica.

### **Materiales y métodos**

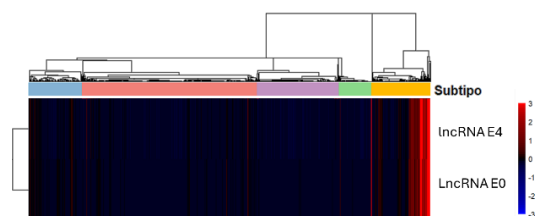
Se obtuvieron matrices de expresión de RNA de pacientes con cáncer de mama y sus datos clínicos asociados a partir de The Cancer Genome Atlas (TCGA-BRCA) mediante el portal GDC (<https://portal.gdc.cancer.gov/>). Los datos descargados fueron normalizados (FPKM log2-transformado), y emplearon directamente para los análisis posteriores.

El análisis de expresión diferencial entre subtipos moleculares de cáncer de mama se realizó en R (v4.3.2) utilizando DESeq2 (v1.42.0), considerando como significativos un ajuste de p-value (FDR) < 0.05 y un log2 fold change  $\geq 1$ . Los resultados se visualizaron mediante heatmaps (ComplexHeatmap, v2.16.0).

Finalmente, los análisis de supervivencia y expresión se realizaron con GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>), generando curvas de Kaplan–Meier y aplicando pruebas de log-rank. La estratificación de pacientes en grupos de alta y baja expresión se realizó de acuerdo con la mediana de expresión de cada lncRNA candidato.

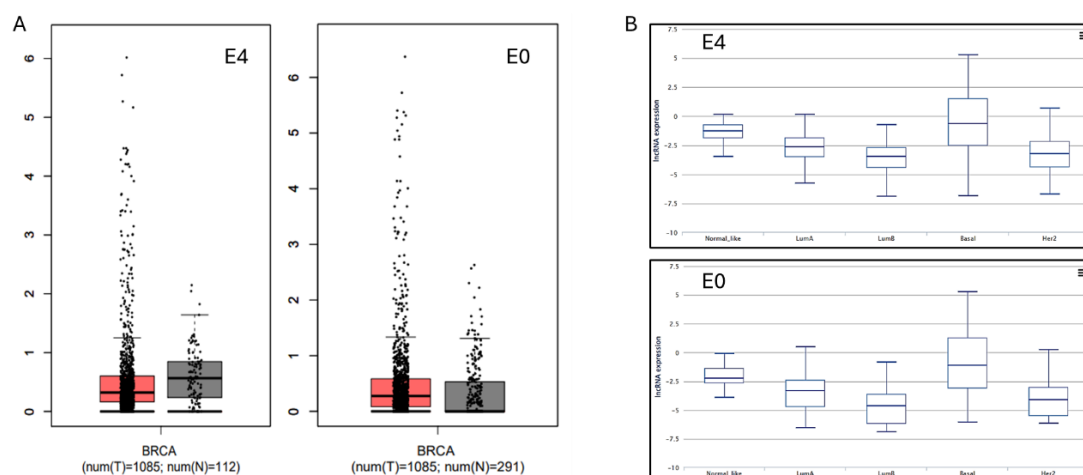
### **Resultados**

A partir del transcriptoma de 1109 pacientes con cáncer de mama (TCGA) y 113 pacientes normales (TCGA) se realizó el análisis de expresión diferencial entre los subtipos moleculares Luminal A, Luminal B, HER2+ y Triple Negativo reveló que dos lncRNAs presentaron una expresión significativamente aumentada en el subtipo triple negativo (FDR < 0.05; log2FC  $\geq 1$ ). Estos resultados se representaron mediante un heatmap (Fig.1), el cual permitió visualizar de manera clara la segregación de los subtipos en función de los niveles de expresión de los lncRNAs candidatos.



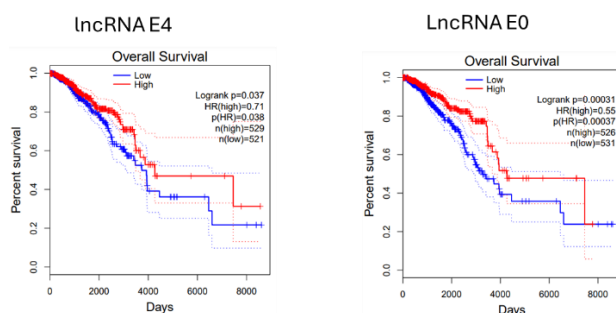
**Figura 1.** Heatmap de expresión de lncRNAs diferencially expresados por subtipo de cáncer de mama.

Al comparar la expresión entre tejidos normales y tumorales, ambos lncRNAs mostraron una sobreexpresión marcada en el tejido tumoral, lo que sugiere un posible papel en la progresión de la enfermedad. Posteriormente, el análisis de los subtipos definidos por PAM50 mostró que los niveles de expresión de estos lncRNAs varían significativamente entre los distintos grupos, reforzando la idea de su participación en la definición de subtipos moleculares (Fig.2).



**Figura 2.** Expresión de lncRNAs en muestra de tejidos. A. Expresión en muestra de Tumor (Rojo) y tejido normal (Gris). B. Expresión por subtipo.

Finalmente, las curvas de Kaplan–Meier demostraron que una alta expresión de ambos lncRNAs se asocia con diferencias significativas en la supervivencia global de las pacientes, de acuerdo con la estratificación por mediana de expresión y la prueba de log-rank (Fig.3). Estos hallazgos resaltan el potencial de los lncRNAs identificados como biomarcadores pronósticos en cáncer de mama.



**Figura 3.** Curvas de supervivencia según la expresión de lncRNAs



## Discusión

Los resultados obtenidos resaltan la importancia de los lncRNAs como posibles moduladores moleculares en el cáncer de mama. La identificación de dos lncRNAs diferencialmente expresados en el subtipo triple negativo es particularmente relevante, ya que este subtipo carece de blancos terapéuticos específicos y se asocia con un peor pronóstico en comparación con los subtipos Luminal y HER2+ (Turova, P. et al. 2025). La sobreexpresión en tejido tumoral frente a tejido normal refuerza la hipótesis de que estos lncRNAs podrían estar vinculados a mecanismos de transformación y mantenimiento del fenotipo tumoral (Wen, Y. et al. 2025). De manera destacada, el análisis de supervivencia mostró que una alta expresión de ambos lncRNAs se relaciona con diferencias significativas en la supervivencia global, lo que refuerza su potencial como biomarcadores pronósticos (Asberger, J. et al. 2025). Sin embargo, estos hallazgos se basan en análisis de bases de datos públicas, por lo que será necesario realizar estudios funcionales *in vitro* e *in vivo* que permitan validar su papel biológico y su posible utilidad clínica.

## Conclusiones

Dos lncRNAs fueron identificados como diferencialmente expresados en cáncer de mama, con sobreexpresión en tejido tumoral, y marcada asociación al subtipo triple negativo. Además, su alta expresión se relacionó con la supervivencia de las pacientes, lo que los posiciona como potenciales biomarcadores para pronóstico y candidatos a estudios funcionales.

## Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN), a través de las becas BEIFI, así como a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP), y la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo financiero para la realización de este trabajo.

## Referencias bibliográficas

- Asberger, J., Ge, I., Schmidt, B., Jäger, M., Weiss, D., Berner, K., ... & Mayer, S. (2025). Long non-coding RNA signatures in breast cancer: Properties as biomarkers. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 29(3), 54.
- Giaquinto, A. N., Sung, H., Miller, K. D., Kramer, J. L., Newman, L. A., Minihan, A., Jemal, A., & Siegel, R. L. (2022). Breast cancer statistics, 2024. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 74(5), 421-442
- Turova, P., Kushnarev, V., Baranov, O., Butusova, A., Menshikova, S., Yong, S. T., ... & Kotlov, N. (2025). The Breast Cancer Classifier refines molecular breast cancer classification to delineate the HER2-low subtype. *npj Breast Cancer*, 11(1), 19.
- Wang, Y., Bu, N., Luan, X. F., Song, Q. Q., Ma, B. F., Hao, W., ... & Maimaitiyiming, Y. (2024). Harnessing the potential of long non-coding RNAs in breast cancer: From etiology to treatment resistance and clinical applications. *Frontiers in Oncology*, 14, 1337579.
- Wen, Y., Tang, Y., & Zou, Q. (2025). Dual-Function RNA Biomarkers: Integrating Relapse Prediction and Immune Profiling in Triple-Negative Breast Cancer. *International Journal of Medical Sciences*, 22(14), 3763-3778.

## CARACTERIZACIÓN DE LA RESINA ARI PRODUCIDA POR *Tachardiella fulgens* Y SU INTERACCIÓN EN LA SIERRA TARAHUMARA

Caryna Guadalupe Cruz Montoya<sup>1\*</sup>, Selvasankar Murugesan<sup>2</sup>, Homar Rene Gill Langerica<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Blvd. Del Maestro s/n Esq. Elías Piña Col. Narciso Mendoza, 88710, Reynosa, Tamaulipas, México. <sup>2</sup>Laboratorio de Microbioma y Biomarcadores, Sidra Medicine, Al Gharrafa St s/n Ar-Rayyan, Doha, Qatar.

\*ccruz2500@alumno.ipn.mx; \*\*hgill@ipn.mx

### Resumen

El Ari es una resina natural producida de forma silvestre en la Sierra Tarahumara a partir de la interacción específica entre *Coursetia glandulosa* y el insecto resinífero *Tachardiella fulgens*. Este bioproducto ha sido recolectado y utilizado por el pueblo rarámuri por generaciones, principalmente como alimento funcional, aunque su uso, composición y origen han sido escasamente documentados. Este trabajo tiene como objetivo caracterizar la resina Ari desde una perspectiva química, microbiológica y biocultural. Se plantea la identificación de compuestos orgánicos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), resonancia magnética nuclear (NMR) y espectrofotometría ultravioleta visible (UV-Vis), así como la caracterización del microbioma asociado a la resina, insecto, planta hospedera y suelo mediante secuenciación masiva (16S e ITS). Además, se documentarán saberes tradicionales mediante entrevistas en comunidades de Urique, Chihuahua. Se espera que los resultados fortalezcan el conocimiento sobre esta interacción insecto-planta-resina y abran posibilidades de aprovechamiento biotecnológico responsable del recurso.

**Palabras clave:** Resina natural, goma laca, Ari, Sierra Tarahumara, microbioma, biotecnología

### Introducción

La goma laca es una resina natural de origen animal secretada por los insectos pertenecientes al género *Kerria*, estos interactúan de manera parasitaria con especies vegetales, pues subsisten a partir del consumo del floema de estas (Sharma y Kandasamy 2023). Estudios recientes han señalado la presencia de estas asociaciones en las zonas montañosas del norte de México, específicamente en los estados de Chihuahua y Sonora, los organismos presentes en esta simbiosis son *Tachardiella fulgens* y *Coursetia glandulosa* (Bisulca et al. 2018; Kondo y Gullan 2011). *C. glandulosa* también llamada sámo o sámeta es una especie vegetal arbustiva perteneciente a la familia Leguminosae, desempeña un papel importante en las zonas áridas y semiáridas del norte del país pues previene la erosión del suelo y ha sido utilizado como recurso forrajero (Sánchez et al. 2011). Por otro lado *T. Fulgens* es un insecto perteneciente a la familia Kerriidae, estos hemípteros son catalogados como insectos laca debido a que segregan una resina de alta viscosidad color naranja rojizo (Klein 2022).

La resina obtenida posee propiedades como resistencia al agua, nula toxicidad y características organolépticas indetectables, aunado a lo anterior su naturaleza biodegradable lo posiciona como un producto sostenible (Rahman *et al.*, 2021). En la actualidad las resinas son utilizadas como recubrimiento de muebles, medicamentos, alimentos y obras de arte (Bashir *et al.* 2022), sin embargo, en México el Ari es un producto de importancia económica y cultural para la comunidad rarámuri quienes pese a la diversificación de usos lo siguen consumiendo como un remedio para aliviar malestares gastrointestinales. Este estudio propone una caracterización integral de la resina Ari, su contexto ecológico y su red simbiótica microbiana, a fin de generar conocimiento aplicado y preservar un recurso biocultural único.

## Materiales y métodos

**Recolección de muestras.** - Las muestras se recolectarán en el municipio de Urique, Chihuahua. Se identificarán ejemplares de *C. glandulosa* con y sin presencia de *T. fulgens*. Se recolectarán ramas nuevas con resina, insectos y tejido vegetal. El Ari se separará cuidadosamente para análisis químicos y microbiológicos. Además, se recolectarán muestras de suelo a 30 cm de profundidad (Carter y Gregorich, 2007).

**Análisis de suelo.** – Las muestras se tamizarán (malla #10) y almacenarán en frío. Se evaluarán pH, materia orgánica (MO), N total, textura, cationes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) y aniones solubles ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ) conforme a la NOM-021-RECNAT-2000.

**Caracterización química.** – Se aplicarán técnicas como GC-MS, FTIR, HPLC, UV-Vis y RMN para identificar compuestos fenólicos, flavonoides, ceras, terpenos y ácidos grasos tanto en resina como en el tejido vegetal. Se seguirá el protocolo de Buch *et al.* (2009) para extractos vegetales y Sutherland y Del Río (2014) para resina. La espectrofotometría UV-Vis utilizará el método de Folin-Ciocalteu.

**Análisis de microbioma.** – Se extraerá ADN usando el kit Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit (Zymo Research). Se amplificará el gen 16S rRNA (cebadores 341F/806R) y la región ITS (ITS1-F/ITS4) bajo protocolos de Stoeck *et al.* (2024) y Wu *et al.* (2023), respectivamente. La secuenciación se realizará con Illumina MiSeq. Se analizará diversidad alfa/beta con QIIME2, se inferirán funciones metabólicas con PICRUST2, y se construirán redes microbianas con NetCoMi.

**Evaluación biocultural.** – Se aplicarán entrevistas semiestructuradas a pobladores locales para documentar nombres vernáculos, prácticas de recolección y percepción del recurso. El instrumento incluirá preguntas abiertas sobre conocimiento empírico del Ari.

## Resultados

Se espera describir la composición química de la resina Ari, identificar metabolitos relevantes y establecer comparaciones con otras lacas. A nivel microbiano, se identificarán géneros dominantes y funciones potenciales simbióticas. Finalmente, se documentará el conocimiento tradicional asociado a este bioproducto.

## Conclusiones

El Ari representa un recurso estratégico con valor ecológico, biotecnológico y cultural. Su estudio contribuirá a consolidar líneas de investigación en bioproductos naturales, microbiomas funcionales y conservación del patrimonio biocultural rarámuri. La investigación permitirá sentar bases para un aprovechamiento sustentable y responsable del Ari en México.

## Agradecimientos

Este proyecto cuenta con el financiamiento de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) mediante beca de posgrado (CVU 1198482).

## Referencias bibliográficas

- Bashir, N. H., Chen, H., Munir, S., Wang, W., Chen, H., Sima, Y., & An, J. (2022). Unraveling the Role of Lac Insects in Providing Natural Industrial Products. *Insects*, 13(12), 1117. <https://doi.org/10.3390/insects13121117>
- Bisulca, C., Pool, M., & Odegaard, N. (2018). Resin and lac adhesives in Southwest archaeology and microchemical tests for their identification. *AIC Objects Specialty Group Postprints*, 23, 221-232. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/323550100\\_Resin\\_and\\_lac\\_adhesives\\_in\\_Southwest\\_archaeology\\_and\\_microchemical\\_tests\\_for\\_their\\_identification](https://www.researchgate.net/publication/323550100_Resin_and_lac_adhesives_in_Southwest_archaeology_and_microchemical_tests_for_their_identification)
- Buch, K., Penning, M., Wächtersbach, E., Maskos, M., & Langguth, P. (2009). Investigation of various shellac grades: Additional analysis for identity. *Drug development and industrial pharmacy*, 35(6), 694-703. <https://doi.org/10.1080/03639040802563253>
- Carter, M. R., & Gregorich, E. G. (2007). *Soil sampling and methods of analysis*. CRC press.
- Klein, B. A. (2022). Wax, wings, and swarms: insects and their products as art media. *Annual Review of Entomology*, 67(1), 281-303.
- Kondo, T., Gullan, P. J., & Pemberton, R. W. (2011). A new species of Paratachardina Balachowsky (Hemiptera: Coccoidea: Kerriidae) related to the lobate lac scale, P. pseudolobata. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14(1), 141-146.
- Rahman, T., Das, P., Hazarika, L. K., Sharma, K. K., Mohanasundaram, A., & Roy, S. (2021). Evaluation of certain plant hosts for the lac insect. *International Journal of Tropical Insect Science*, 1-8.
- Sánchez, J. G., Parra, M. A., Silva, M. F., & Pedroza, D. (2011). Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad en semillas de zámota (Coursetia glandulosa, Gray). *Biotecnia*, 13(3), 36-40.
- Sharma, K. K., & Kandasamy, T. (2023). Interaction Among the Multi-Trophic Lac Insect Complex of Flora and Fauna: Impact on Quantity and Quality of the Resin Secreted. En *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106902>
- Stoeck, T., Katzenmeier, S. N., Breiner, H. W., & Rubel, V. (2024). Nanopore duplex sequencing as an alternative to Illumina MiSeq sequencing for eDNA-based biomonitoring of coastal aquaculture impacts. *MBMG Metabarcoding and Metagenomics*, 8, 30.
- Sutherland, K., & Del Rio, J. C. (2014). Characterisation and discrimination of various types of lac resin using gas chromatography mass spectrometry techniques with quaternary ammonium reagents. *Journal of Chromatography A*, 1338, 149-163. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.02.063>
- Wu, Y., Sun, X. R., Pritchard, H. W., Shen, Y. B., Wu, X. Q., & Peng, C. Y. (2023). The metagenomics of soil bacteria and fungi and the release of mechanical dormancy in hard seeds. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1187614.

## PROPORCIÓN SEXUAL OPERACIONAL Y PATERNIDAD MÚLTIPLE DE CRÍAS DE LA POBLACIÓN DE TORTUGA NEGRA (*Chelonia mydas agassizii*) EN MICHOACÁN.

Carlos Delgado-Trejo<sup>1,4</sup>, Miguel Angel Reyes-López<sup>1</sup>, David Guillermo Pérez Ishiwara<sup>2</sup>,  
Fátima Yedith Camacho-Sánchez<sup>3</sup> y Cutzi Bedolla-Ochoa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa, Tamaulipas, México. <sup>2</sup>Escuela de Medicina y Homeopatía, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México. <sup>3</sup>Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa-Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Reynosa 88740, Tamaulipas, México. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México.

cdelgadot2300@alumno.ipn.mx

### Resumen

La proporción sexual operacional (PSO) refleja el número de machos disponibles para aparearse con hembras receptivas. En este estudio, se encontró una PSO de 3.3:1 machos por cada hembra en 2023 y 2.3:1(macho:hembra) en 2024 en un análisis multi anual de la población de Michoacán. También identificamos variaciones mensuales en los valores de la PSO al comienzo y al final de la temporada de anidación, probablemente debido a la llegada diferencial de los machos a la zona de reproducción y al número variable de hembras sexualmente receptivas. Las investigaciones sobre este tema son escasas, debido a que las interacciones reproductivas (cópula y cortejo) tienen lugar lejos de la zona de anidación lo cual complica su estudio debido a cuestiones de accesibilidad y costos de operación. En este trabajo se evalúa la PSO y su relación con la paternidad múltiple de las crías de la población de tortuga negra (*Chelonia mydas agassizii*) de Michoacán.

**Palabras clave:** Proporción sexual operacional, tortuga negra, paternidad Múltiple

### Introducción

La Proporción Sexual Operacional (PSO) se define como la relación entre los machos sexualmente activos y las hembras sexualmente receptivas dentro de una población (Emlen y Oring 1977). La teoría de selección sexual indica que la Proporción Sexual Operacional es un indicador principal de la oportunidad para la selección sexual. La PSO es un concepto central para explicar la variación en los roles sexuales y la intensidad en la competencia de apareamiento. En la costa de Michoacán, se observó mediante recorridos aéreos una gran cantidad de machos rodeando cópulas de adultos reproductores de tortuga negra, Sin embargo, reportó una aparente reducción en el tamaño de estas agregaciones a través de los años. A través de la observación de 362 cópulas observadas desde el aire, el autor reporta un promedio 1.04 machos satélites y sugiriendo que este número indica un peligroso declive en la población de machos de *Chelonia* en Michoacán (Cliffon y Cornejo 1983).

### Materiales y Métodos

Durante las temporadas de anidación 2023 y 2024 de tortuga negra en la playa de Colola, se evaluó la proporción sexual operacional (PSO) de la población de tortuga negra por medio de observaciones directas e indirectas de grupos de adultos reproductores en interacciones



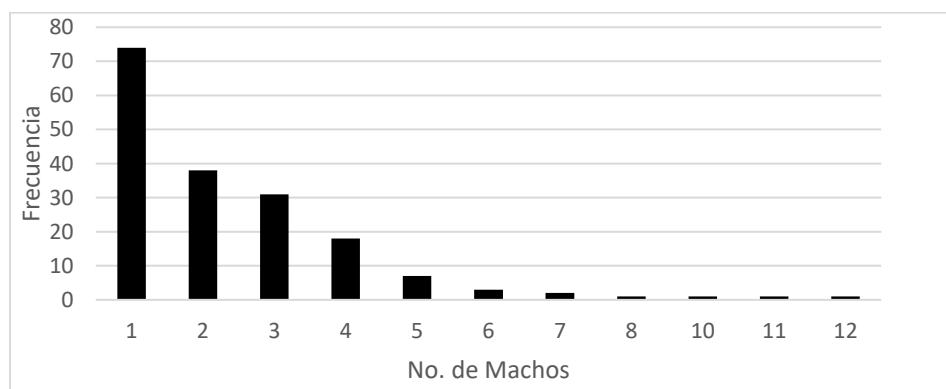
reproductivas a través del método de muestreo “focal” y “*ad libitum*” y el método de registro continuo (Martin y Bateson 1993).

Las observaciones de las interacciones reproductivas se llevaron a cabo desde una plataforma rocosa de 40 m de altura donde se pudieron observar y registrar estas interacciones durante la temporada de reproducción 2023/24 y 2024/25. Adicionalmente a esto, se llevaron a cabo registros fotográficos y de video a lo largo de la línea costera 4.8 km frente a Colola, con un DRONE DJI Mini 3 a 20 m de altura para documentar los grupos de hembras y machos en interacciones de cópula y cortejo a frente a la playa de Colola, esto con el fin de evitar sesgos espaciales en las observaciones de PSO. Las observaciones se llevaron a cabo durante los meses de octubre a febrero en 2023 a 2024 de 08:00 am a 18:00 pm. Una vez obtenidos los registros de hembras y machos en interacciones reproductivas se obtuvo la PSO mensual e interanual para 2023/24 y 2024/25.

## Resultados

Durante la temporada de anidación 2023/24 y 2024/25, se llevaron a cabo 145 h de observación de interacciones reproductivas de adultos tortuga negra en la playa de Colola en la costa de Michoacán, se lograron observar 283 grupos de copula, 178 en 2023 y 75 en 2024 a través de observaciones directas e indirectas por medio de videos y fotográficas obtenidas mediante DRON. En 2023/24, Durante los meses de septiembre, octubre y noviembre se llevaron a cabo observaciones de interacciones reproductivas, entre el 12 de octubre y el 17 de noviembre de 2023. Las observaciones se realizaron entre las 08:00 am y las 18:00 h, mientras la visibilidad y las condiciones meteorológicas lo permitieron. En estas 60 h de observaciones se identificaron 178 grupos de Copula (72 grupos en septiembre, 98 en octubre y ocho grupos en noviembre) en las cuales estuvieron involucrados 425 machos y 178 hembras de tortuga negra (fig. 1). La proporción sexual operacional de tortuga negra estimada para este periodo fue de 2.3:1 (macho/hembra) (rango=1-12 machos por hembra).

La PSO estimada en el mes de septiembre fue de 3.3:1 (macho:hembra). En el mes de octubre la PSO obtenida fue de 2.3:1. En el mes de noviembre la distribución de la proporción sexual operacional fue de 3.5:1 (macho:hembra). En este periodo se observó un solo macho en el 41% de los grupos de cópula y en el 58% de los grupos de copula se observó más de un macho en cópula y cortejo. En 2024/25, solo se observaron 75 grupos de cópula: 12 en septiembre; 26 en octubre; 32 en noviembre y 15 en diciembre. En estos grupos de cópula se identificaron 254 machos y 75 hembras. En el 32% de los grupos solo se observó un solo macho, mientras que en el 68 % de los grupos se observó más de un macho (rango de 2-7). La PSO obtenida durante este periodo fue de 3.3:1 (macho/hembra).



**Figura 1.** Distribución del número de machos por grupo de cópula en 2023.



De acuerdo con estos resultados, es probable que la frecuencia de paternidad múltiple en 2023 ocurra en el 58% de los nidos depositados en esta temporada de reproducción con una contribución parental de 3.3 padres por nidada. Por otra parte, en 2024 estimamos que la frecuencia de paternidad múltiple estuvo presente en el 68% de los nidos con una contribución parental de 2.3 padres por nidada, una frecuencia de paternidad múltiple más baja que en 2023.

## Discusión

Hay poca información sobre las estimaciones de la proporción de sexos operativa en las tortugas marinas obtenida a través de observaciones directas de las interacciones reproductivas. La mayoría de las estimaciones de la OSR se basan en análisis de paternidad múltiple obtenidos mediante herramientas de biología molecular. Se han publicado algunas estimaciones de la OSR en la población de tortuga negra desde que comenzaron las actividades de conservación en 1978 en la población de Michoacán. Clifton *et al.* (1982) reportan de una OSR de 1.04:1 machos/hembras en 362 grupos de apareamiento observados en estudios aéreos, mientras que Alvarado y Figueroa (1989) reportan un valor de OSR de 2.5:1 machos/hembras, con un rango de 1 a 6 machos por hembra. Por otra parte, Lemus (2007), reporta una PSO de 3.3:1 (hembra macho) para la población de tortuga negra.

La estimación de la OSR obtenida en este trabajo (3.3:1 y 2.3:1 macho/hembra en 2023 y 2024 respectivamente) coincide con el trabajo de paternidad múltiple encontrado en hembras de tortuga negra en la playa de Colola (Lara-De la Cruz *et al.* 2010), quienes informan de la participación de tres genotipos paternos en la fertilización de los nidos de tortuga negra.

La distribución de la PSO obtenida en 2023/24 (2.3:1) y 2024/25 (3.3:1), es probable que se haya visto influenciada por las condiciones de “El Niño” primero y “La Niña” en 2024, debido a que se ha reportado en otras poblaciones, que las condiciones de anomalías de temperaturas del nivel medio del mar provocan una disminución de la actividad reproductiva y una baja inversión reproductiva por parte de los machos (Hamman *et al.* 2002).

## Conclusiones

En cuanto a la PSO, presentamos un análisis multianual de la población de tortuga negra en Michoacán, lo que nos permite comprender un aspecto de la ecología reproductiva de las tortugas marinas sobre el que hay escasa información, ya que las interacciones de copula y cortejo tienen lugar en el mar, lo que dificulta su estudio en la mayoría de las poblaciones de tortugas marinas, especialmente en aquellas con hábitos pelágicos en la etapa adulta. Los adultos reproductores de tortuga negra muestran un comportamiento poliándrico en el que las hembras copulan con diferentes machos a lo largo de la temporada de reproducción, principalmente de septiembre a diciembre. Este comportamiento brinda a las hembras la oportunidad de seleccionar diferentes machos para aumentar la adecuación de las crías producidas. Dado que no existe selección intrasexual para el establecimiento de la dominancia entre los machos reproductores, las hembras discriminan entre un buen número de machos disponibles, seleccionando a los que consideran más adecuados mediante la identificación de rasgos morfológicos y de comportamiento (cortejo sexual) que aún desconocemos.

## Agradecimientos.

Los autores agradecemos la colaboración de la comunidad indígena de Colola en la costa de Michoacán y al grupo tortuguero Colola:capital mundial de la tortuga negra A.C.

## Referencias bibliográficas

- Alvarado, J., & Figueroa, A. (1989). Madurez sexual tardía de las tortugas marinas. *Ciencia y Desarrollo*, 89, 59-63.
- Cliffton, K., Cornejo, D. O., and Felger, R. S. 1982. Sea turtles of the Pacific coast of Mexico. In Bjorndal, K. A. (Ed.). *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, pp. 199-209.
- Cliffton, K. and Cornejo D.O. 1983 “The Ecological Recovery of *Chelonia mydas agassizii* The East Pacific Green Turtle of México” Final Report Submitted to World Wildlife Found U.S., 1758) tesis de Doctorado en ciencias biomédicas, UNAM, México.
- Emlen, ST. & Oring, L. W. 1977. “Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems”. *Science* 197, 215–223. (doi:10.1126/science.327542).
- Hamman, M., Limpus, C.J., Owens, D.W 2002. Reproductive Cycles of Males and Females: in *The Biology of Sea Turtles Vol.2* pag.221. Peter L. Lutz, John A. Music, Jeanette Wyneken Eds. CRC Press.
- Lara-De La Cruz, L. I., Nakagawa, K. O., Cano-Camacho, H., & Zavala-Paramo, M. (2010). Detecting patterns of fertilization and frequency of multiple paternity in *Chelonia mydas* of Colola (Michoacán, Mexico) Detección de patrones de fertilización y frecuencia de paternidad múltiple en *Chelonia mydas* de Colola (Michoacán, México). *Hidrobiológica*, 20(1), 85-89.
- Lemus, F. R. 2007. “Machos de Tortuga Negra (*Chelonia agassizii*, Bocourt 1968) en Michoacán: Abundancia, Morfometría, Radio Sexual y Distribución Espacio-Temporal”. Tesis de Maestría. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia, Michoacán, México. 102 p.
- Martin P. & P. Bateson. 1993. “Measuring Behaviour. An introductory guide” (Segunda edición). Cambridge University Press.

## GENERACIÓN DE BIOSENSORES COLOIDALES PARA LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN MUESTRAS DE PACIENTES.

Cecilia Díaz Pérez<sup>1</sup>, Zeus Saldaña Ahuactzi<sup>1</sup>, Abdú Orduña Díaz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal, Km 1.5, 90700 Santa Inés Tecuexcomac, Tlax.

\*aordunad@ipn.mx

### Resumen

La bacteria *Helicobacter pylori* es una de las principales causas de gastritis, úlcera gástrica y duodenal. Los genotipos de *H. pylori* *cagA* y *vacA* positivos asociados a un mayor riesgo de úlcera y cáncer gástrico, en dichas enfermedades también se ha observado la expresión de VapD. El proyecto contempla un análisis bioinformático para identificar regiones conservadas de las proteínas CagA y VapD para usarlas como blancos en la detección indirecta de cepas tipo I de *H. pylori* en muestras de pacientes. Se buscarán secuencias conservadas de aminoácidos para CagA y VapD en los proteomas de cepas aisladas en México, se clonará la secuencia codificante conservada en un vector de expresión para cada proteína, las proteínas recombinantes generadas se expresarán, purificarán y serán usadas en un ensayo ELISA indirecto con sueros de pacientes con antecedentes de infección con *H. pylori*. El alineamiento múltiple con las secuencias proteicas de CagA y VapD mostró que las cepas aisladas de pacientes mexicanos tienen poca variación entre ellas y la cepa control 26695. Se confirmó la clonación de *cagA* en el vector de expresión pLATE31 y purificó exitosamente VapD en condiciones nativas. Ensayos preliminares mostraron seropositividad de VapD con sueros de niños y adultos mexicanos.

**Palabras clave:** *Helicobacter pylori*, CagA, VapD, biosensor.

### Introducción

La bacteria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), una bacteria microaerofílica Gram negativa en forma de espiral, causante de diferentes enfermedades infecciosas gastrointestinales en humanos como son gastritis crónica, dispepsia, úlceras pépticas, la atrofia gástrica, la metaplasia intestinal gástrica y cáncer gástrico, muchas de estas enfermedades suelen ser asintomáticas lo que dificulta su detección y correcto tratamiento (Camilo et al., 2017; Flores et al., 2018; Nejati et al., 2018; Savoldi et al., 2018; Evariste et al., 2021). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado a *H. pylori* como una bacteria tipo 2 de acuerdo al riesgo de infección y ha sugerido su erradicación, dicha recomendación también se realizó en la conferencia de Kyoto *H. pylori* en 2015. Debido a que más de la mitad de la población es portadora de esta, aproximadamente 4.4 mil millones de personas, de estas 750,000 mueren al año por cáncer gástrico, que es la tercera causa de muerte en el mundo. Se ha previsto que la reducción o erradicación de *H. pylori* disminuiría drásticamente el cáncer gástrico y las úlceras pépticas, disminuyendo los gastos económicos generados por dichas enfermedades. (Evariste et al., 2021; Flores et al., 2018; Savoldi et al., 2018; Hooi et al., 2017). Diferentes estudios indican que *H. pylori* prevalece solamente en humanos, por lo que la vía de contagio o propagación suele ser fecal-oral, así como oral-oral, debido a la mala higiene o consumir agua contaminada con aguas residuales. (Shahzad et al., 2021; Savoldi et al., 2018; Scallan et al., 2011). *H. pylori* se divide en dos categorías, tipo I y II, por la presencia

y ausencia de dos antígenos, la toxina CagA y la citotoxina vacuolizante (VacA). La cepa tipo I tiene el gen que codifica tanto el gen *cagA* como *vacA*, con la consecuencia de la producción de la proteína CagA y VacA. El tipo II es la cepa que no produce CagA y VacA (Xiang et al., 1995). Se informó que el tipo I de *H. pylori* es más frecuente en pacientes con úlcera duodenal que en personas sin úlcera, así como enfermedades de más riesgo (Xiang et al., 1993, 1995). Por todas estas razones los métodos de detección son de suma importancia; existen diferentes métodos para detectar *H. pylori* como son del tipo invasivo o no invasivo, todos con diferente sensibilidad y especificidad. Actualmente las metodologías de diagnóstico no son tan contundentes para detectar la infección por *H. pylori*, debido a que no está claro la elección de un método, la selección de una o más pruebas diagnósticas dependerá de las condiciones clínicas, la experiencia del médico, el costo, la sensibilidad y la especificidad. (Naoko et al., 2023; Sabbagh et al., 2018). Los biosensores han comenzado a ser una alternativa en diversos sectores, entre ellos el médico, debido a que son dispositivos analíticos altamente específicos, estables, rápidos, sensibles, de preferencia reutilizables, deben ser desarrollados para ser capaces de reaccionar bajo condiciones extremas como alcalinidad, temperatura extrema, elevada acidez y la presencia de disolventes orgánicos (Castro, 2007). Los biosensores pueden conjugarse con nanomateriales debido a que mejoran las propiedades mecánicas, electroquímicas, ópticas y magnéticas de los biosensores, obteniendo un alto rendimiento (Mehrotra P., 2016). Por tal razón, el objetivo del proyecto es generar y usar las proteínas recombinantes CagA y VapD como blancos para la detección indirecta de cepas tipo I de *Helicobacter pylori* en sueros de pacientes infectados con esta, mediante un ELISA indirecto y su posterior uso en un biosensor coloidal para un mejor diagnóstico y seguimiento de la enfermedad.

## Materiales y métodos

Para el análisis bioinformático se comenzó realizando la búsqueda de la secuencia nucleotídica y aminoacídica de CagA de la cepa de referencia de *Helicobacter pylori* 26695/ATCC 700392, en la base de datos de GeneBank de National Center for Biotechnology Information (NCBI), se revisaron y descargaron las secuencias en formato FASTA, se cotejó la secuencia en UniProt, se realizó el alineamiento múltiple con las cepas aisladas en México de *cagA* y *vapD* (gen completo) con el programa Clustal Omega. Con base a este análisis se diseñarán oligonucleótidos para amplificar las regiones conservadas de dichos genes y se mandó a sintetizar los oligonucleótidos para *cagA*. El gen *cagA* se amplificó por PCR utilizando los oligonucleótidos forward y reverse previamente diseñados. Se realizó la mezcla de reacción de PCR utilizando dNTPS, oligonucleótidos, buffer de la enzima, enzima dream Tac pol y ADN genómico de *Helicobacter pylori* 26695. El protocolo de PCR fue desnaturalización a 94°C durante 5 min, con 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 45 seg, alineamiento a 54°C durante 45 seg, extensión a 72°C durante 3:12 seg y una extensión final a 72°C durante 3 min. El amplicón de 2388 pb se insertó en el vector pLATE31 siguiendo las instrucciones de fabricación (aLICator™ Ligation Independent Cloning and Expression System, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.). La construcción se transformó en células competentes de *E. coli* DH5α mediante electroporación, las transformantes se seleccionaron en placas LB que contenían 100 µg/ml de ampicilina para posteriormente realizar PCR de colonia y mediante electroforesis corroborar el tamaño del amplicón. Por otra parte, las células Rosetta (DE3) portadoras del plásmido pLATE31-VapD-6xHis se cultivaron en medio LB que contenía 100 µg/ml de ampicilina a 37°C en incubadora agitadora (200rpm) hasta alcanzar una densidad óptica de 0.8 a 600 nm (OD A<sub>600</sub>). La expresión de proteínas se indujo mediante la adición de isopropil-tio-β-D-

galactopiranosido (IPTG) a una concentración final de 0.5 mM. El cultivo se dejó durante 4 h y luego las células se centrifugaron a 3000 x g durante 5 min. El sedimento celular se resuspendió en tampón de lisis, luego se sonico durante 10 segundos al 50% de amplitud, con intervalos de 10 segundos hasta completar 10 min. A continuación, el lisado se centrifugó a 15.000 x g durante 30 min., a 4°C, y se recogió el sobrenadante. Antes de la aplicación de la muestra, la resina de Ni-NTA (HisPur™, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) se equilibró con dos volúmenes de tampón de lisis helada y se colocó en una columna de cromatografía. El extracto de proteína cruda se cargó en la columna a un caudal de 1 ml/min y se lavó con cinco volúmenes de tampón de lavado que contenía 50 mM de imidazol pH 8,0. rVapD se eluyó con tampón de lavado que contenía 325 mM de imidazol pH 8,0. Finalmente, la proteína se concentró utilizando filtros centrífugos de corte de peso molecular de 10 kDa (MWCO) (Amicon® Ultra, Merck Millipore, Irlanda). La proteína se analizó mediante geles SDS-PAGE al 15% y se almacenó a -20°C. Se realizó un ELISA indirecto para ver la seropositividad de la proteína VapD, utilizando placas de 96 pozos se colocó el anticuerpo primario, se incubó a 4° por 24 hrs., se realizaron lavados con PBS-Tween, posteriormente se colocó el anticuerpo secundario-IgG de humano dejando actuar por 1 h a 37°C, seguido de lavados y revelado con OPD, se leyó a OD de 495.

## Resultados

Se diseñaron y mandaron a sintetizar los oligonucleótidos para el gen *cagA*, se realizó la ligación de *cagA* en el vector pLATE31, se obtuvieron clonas transformadas de *E. coli* DH $\alpha$ 5 con el plásmido pLATE31-CagA-6xHis, se realizaron minipreps para obtener el plásmido pLATE31-cagA-6xHis. Por otra parte, se indujo una colonia de *E. coli* Rosetta (DE3) portadora de la construcción pLATE31-vapD-6xHis con IPTG. La proteína rVapD se purificó mediante cromatografía de afinidad por metales inmovilizados, se recogieron diferentes fracciones de elución de proteínas y el rVapD se encontró en un tamaño de aproximadamente 12 kDa, la proteína se desalinizó y se concentró obteniendo una concentración final de 343.04  $\mu$ g/mL. Para la prueba de seropositividad de rVapD se utilizaron muestras de suero, como anticuerpo primario, las muestras fueron de 11 personas, de estas 2 eran positivas a *H. pylori* y 9 eran muestras ciegas, debido a que nunca se habían realizado alguna prueba para detectar a la bacteria, del total de las muestras 5 fueron de adultos y 6 de niños, se observó un cambio en la coloración y en la DO de la mayoría de las muestras con valores de 0.15 hasta 0.25 de absorbancia, mientras que los controles negativos no presentaron cambio alguno en la coloración y teniendo absorbancia menor a 0.1, las muestras de sueros positivos mostraron un color más intenso y los valores de 0.18 hasta 0.2, una muestra ciega superó los valores de las muestras positivas con una absorbancia de 0.25.

## Discusión

El alineamiento múltiple realizado para las proteínas CagA y VapD en BLAST se pudo observar que hay muchos errores en el registro de las proteínas, las cuales no concuerdan con la secuencia reportada en UNIPROT para CagA y VapD, algunas están incompletas, no están bien los marcos de lectura o no los tienen, por lo que se seleccionó los que si tuvieran marcos de lectura. Los oligonucleótidos que se diseñaron para *cagA* amplificaron la secuencia del ADN genómico de *Helicobacter pylori* 26696, obteniendo una banda aproximada de 3000 pb, en el diseño se descartaron regiones que no estaban conservadas en los genes de las diferentes cepas de México, teniendo un tamaño de 2388 pb, lo que concuerda con el tamaño observado en el gel, corroborando el funcionamiento del diseño de los oligonucleótidos. Por otra parte, se expresó la proteína VapD utilizando el vector de expresión con la secuencia de



vapD, obteniendo el tamaño aproximado de 12 kDa. La prueba ELISA sugiere que la proteína rVapD si podría ser utilizada como elemento de reconocimiento biológico al estar en contacto con muestras de suero, además de que nos ayuda a vislumbrar la presencia de los anticuerpos contra esta proteína en mayor o menor cantidad en suero.

### Conclusiones

Tomando las secuencias conservadas, se diseñaron dos oligonucleótidos para clonar una secuencia de *cagA* y *vapD*, que estará conservada en varias cepas de acuerdo al alineamiento múltiple realizado. Además de que se obtuvo el elemento de reconocimiento biológico (ERB) de la proteína rVapD mediante su expresión y purificación, los resultados de la seropositividad de rVapD sugiere que dicha proteína podría estar presente en el suero de pacientes pediátricos y adultos, se necesitan realizar más pruebas para confirmar.

### Agradecimientos

A SECIHTI por la beca de Doctorado, también al proyecto SIP20253450, así como al proyecto Ciencia Básica y de Frontera 2025, No. CBF-2025-G-899, también un agradecimiento a la Dra. María del Rosario Morales Espinosa y al Dr. Alejandro Flores Alanís de la Universidad Nacional Autónoma de México por proporcionar las cepas utilizadas para este proyecto.

### Referencias bibliográficas

- Camilo, V., Sugiyama, T. & Touati, E. (2017) Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* **22**, e12405.
- Flores-Treviño, S., Mendoza-Olazarán, S., Bocanegra-Ibarias, P., Maldonado-Garza, H. J. & Garza-González, E. (2018) *Helicobacter pylori* drug resistance: therapy changes and challenges. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **12**, 819–827.
- Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, Malfertheiner P, Graham DY, Wong VWS, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG, Ng SC. (2017) Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*.153(2):420-429. doi: 10.1053/j.gastro.2017.04.022.
- Nejati S, Karkhah A, Darvish H, Validi M, Ebrahimpour S, Nouri HR. (2018) Influence of *Helicobacter pylori* virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders. *Microb Pathog.* **117**:43-48. doi: 10.1016/j.micpath.2018.02.016. Epub 2018 Feb 9. PMID: 29432909.
- Savoldi, A., Carrara, E., Graham, D. Y., Conti, M. & Tacconelli, E. (2018) Prevalence of Antibiotic Resistance in *Helicobacter pylori*: A Systematic Review and Meta-analysis in World Health Organization Regions. *Gastroenterology* **155**, 1372-1382.e17.
- Shahzad, M. et al. (2021) Antibacterial activity of *Ricinus communis* plant extract against antibiotic resistant *Helicobacter pylori* and *Gluconobacter oxydans* isolated from fresh apple juices samples. *Braz. J. Biol.* **84**, e253203.
- Xiang, Z. et al. (1993) Detection in an enzyme immunoassay of an immune response to a recombinant fragment of the 128 kilodalton protein (CagA) of *Helicobacter pylori*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*



## **AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE METABOLITOS MAYORITARIOS DE *Roldana* spp. Y EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE PROTEÍNAS FOSFATASA DE TIROSINA ASOCIADAS A CÁNCER**

Edgar Noe Rocha Alvarez<sup>1</sup>, Rene Torres Ricario<sup>1</sup>, Alfredo Téllez Valencia<sup>2</sup>, Norma Almaraz Abarca<sup>1</sup>, Jorge Cornejo Garrido<sup>3</sup>, Maria Guadalupe Nieto Pescador<sup>3</sup>.

Centro Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Unidad, Durango, Sigma 119, 20 de Noviembre II, 34220 Durango, Dgo<sup>1</sup>, Facultad de Medicina UJED, Avenida Universidad s/n, Los Ángeles, 34076 Durango, Dgo<sup>2</sup>, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México, CDMX<sup>3</sup>, Facultad de Ciencias Químicas UJED, Col. Valle del sur C.P. 34120. Durango, Dgo<sup>4</sup>.

\*erochaa1900@alumno.ipn.mx

### **Resumen**

En México, según datos de mortalidad del año 2020, se reportaron 683,823 muertes por cáncer o tumores. El cáncer de pulmón ocupó el primer lugar tanto en fallecimientos como en nuevos diagnósticos, seguido por los de cuello uterino, hígado, próstata, mama y otros. Algunos de estos tipos de cáncer, como pulmón, cervicouterino y próstata, tienen como tratamiento principal el fármaco Cis-platino, el cual genera numerosos efectos adversos. En este contexto, el interés por los compuestos fenólicos ha aumentado en los últimos años debido a su abundancia, diversidad estructural y actividades biológicas reportadas, tales como efectos antioxidantes, antiinflamatorios, hipoglucemiantes y citotóxicos. *Roldana* spp. es una planta poco estudiada en cuanto a sus propiedades medicinales. Estudios preliminares sugieren que esta especie posee un alto potencial terapéutico, respaldado por su perfil polifenólico y sus actividades citotóxica y antioxidante. Por lo tanto, el objetivo general del presente proyecto es aislar, purificar y caracterizar estructuralmente los metabolitos mayoritarios presentes en *R. spp.*, así como evaluar su capacidad para inhibir proteínas fosfatasa de tirosina, las cuales están asociadas a procesos de proliferación celular anómala y desarrollo de diversos tipos de cáncer.

**Palabras clave:** *Roldana* spp., metabolitos secundarios, cinética enzimática, PTPn11, cáncer

### **Introducción**

El cáncer es una enfermedad de alta prevalencia y mortalidad, caracterizada por proliferación celular descontrolada (Hanahan, 2022). Los cánceres de pulmón y mama encabezan las estadísticas en hombres y mujeres, respectivamente (Siegel et al., 2025). Aunque el tratamiento convencional incluye cirugía, radioterapia y quimioterapia con agentes como cisplatino y taxanos (Kaur et al., 2023; Yang et al., 2023), las terapias dirigidas emergen como una alternativa prometedora, enfocadas en dianas moleculares como p53, pRB y SHP2 (Zhou et al., 2023). SHP2, una tirosina fosfatasa codificada por **PTPN11**, participa en señalización oncogénica y resistencia terapéutica. Aunque aún no existen inhibidores clínicos, estudios in silico han identificado compuestos naturales potencialmente activos (Singh et al., 2024). El género *Roldana* (Asteraceae), nativo de México y Centroamérica, ha

mostrado presencia de compuestos con actividad antiinflamatoria, antimicrobiana y citotóxica, incluyendo lactonas sesquiterpénicas, flavonoides y eremofilanos (Funston, 2008; Arciniegas et al., 2017; Linares, 1987; Delgado, 1991, 1996). En particular, *Roldana spp.*, usada en medicina tradicional, carece de estudios farmacológicos, lo que justifica su exploración como fuente de inhibidores naturales de SHP2.

## Materiales y métodos

El material vegetal se seleccionó vasado en individuos sanos y en etapa de floración de una población silvestre de *R. hartwegii* var. *durangensis* del estado de Durango entre los meses de septiembre y octubre del año 2023, se separó por tejidos llevándose a sequedad solo tallo y raíz en estufa de aire a temperatura constante  $38\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Los ejemplares de referencia se depositaron en el Herbario del CIIDIR unidad Durango para su caracterización taxonómica. El material vegetal seco se trituró en un molino para la reducción de partícula inferior a 1mm de diámetro (Malla No. 18). La elaboración del extracto se realizó con la técnica de Gutiérrez-Velázquez (2018) con el solvente acetato de etilo (inmiscible en agua) a una relación de material seco - solvente de 1:10 (p/v), se sonicó por 1 hora y luego se maceró por 24h. El material se centrifugó y se decantó para su posterior concentración a sequedad con un rotavapor. Para el fraccionamiento, aislamiento y la caracterización de compuestos se utilizará la técnica de Haggag, (2022), cromatografía en columna, y cromatografía capa fina; apoyada por la técnica de cualitativa de cromatografía LC-MS/MS (Kamble 2022) y espectrofotometría de masas de ionización electrónico combinada (EIMS) (Rontani, 2022). La purificación de la SHP2 se realizará mediante cromatografía de afinidad en una columna de Ni-Agarosa. La medición de actividad de la SHP2 se llevará a cabo conforme a lo reportado por Campos-Almazán (2021). Los ensayos de inhibición se realizarán probando los compuestos a diferente concentración en presencia de concentraciones saturantes del sustrato. Los análisis estructurales del complejo enzima-inhibidor se llevan a cabo mediante acoplamiento y dinámica molecular conforme a lo reportado por RiosSoto, 2021, utilizando los programas Autodock Vina y Gromacs. La caracterización del complejo incluirá la determinación de la desviación cuadrática media (RMSD), la fluctuación cuadrática media (RMSF), y el radio de giro (RG). La predicción de las propiedades ADME-Tox de las moléculas se realizará con los servidores SwissADME y PreADMET.

## Resultados

Se evaluó el extracto de acetato de etilo de *Roldana spp.* mediante técnicas fitoquímicas, pruebas de toxicidad, genotoxicidad y citotoxicidad, con el objetivo de determinar su potencial como agente anticancerígeno.

**Cromatografía en columna y capa fina (CC y CCF):** Mediante cromatografía en columna se obtuvieron fracciones enriquecidas, analizadas por CCF en sistemas Metanol/Etanol y acetato de etilo/hexano en orden gradiente. Se identificaron compuestos de tipo flavonoides, saponinas, alcaloides, taninos y esteroides, indicando compuestos potencialmente bioactivos.

**Prueba de Ames:** El extracto fue evaluado en cepas *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100, con y sin activación metabólica (S9). No se observó incremento significativo en el número de revertantes en ninguna condición, lo que indica ausencia de mutagenicidad. El índice mutagénico fue  $<2$ , descartando actividad genotóxica directa o indirecta.

**Prueba de micronúcleos:** Se utilizó un modelo in vivo en ratón (norma OECD 474). No se evidenció un incremento significativo en la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos policromáticos comparado con el control negativo. La relación PCE/NCE se mantuvo dentro

del rango fisiológico, sugiriendo que el extracto no induce daño cromosómico ni citotoxicidad hematopoyética.

**Toxicidad aguda y subaguda:** En toxicidad aguda (OECD 423), la DL50 fue >2000 mg/kg, clasificando al extracto como no tóxico (categoría 5 GHS). En la fase subaguda (28 días, OECD 407), se administraron dosis orales de 100, 300 y 1000 mg/kg. No se observaron alteraciones en peso corporal, consumo de alimento, comportamiento ni en parámetros hematológicos o bioquímicos (ALT, AST, creatinina, urea). La histología hepática, renal y esplénica no mostró daño estructural, confirmando inocuidad sistémica.

**Pruebas de citotoxicidad e índice de selectividad:** En las pruebas de citotoxicidad in vitro, el extracto presentó actividad significativa contra varias líneas tumorales humanas, con valores de IC<sub>50</sub> a 48 h inferiores a 10 µg/mL en SIHA (2.24 µg/mL), C33 (2.82 µg/mL), y PC3 (4.64 µg/mL), destacando también A549 (8.36 µg/mL). Estos resultados fueron comparables o superiores a los de fármacos de referencia como cisplatino o paclitaxel. Además, el índice de selectividad (IS), calculado frente a líneas celulares no tumorales (3T3-L1, MCF-10 y hFOB), fue mayor a 2 en múltiples combinaciones, especialmente SIHA/3T3 (IS = 10.77), C33/MCF-10 (IS = 5.92) y PC3/3T3 (IS = 5.21).

A falta de las pruebas sobre la enzima SHP2, este perfil sugiere una alta selectividad tumoral y baja citotoxicidad en células no neoplásicas, posicionando al extracto de *Roldana spp.* como un candidato prometedor para futuras investigaciones preclínicas en oncología.

## Discusión

El extracto etanólico de *Roldana spp.* mostró actividad citotóxica selectiva contra varias líneas celulares tumorales, con valores de IC<sub>50</sub> < 10 µg/mL y altos índices de selectividad (IS > 2), especialmente en modelos como SIHA y C33. Estos resultados lo posicionan como un candidato prometedor en terapias oncológicas, con menor citotoxicidad sobre células no tumorales en comparación con fármacos convencionales como cisplatino y paclitaxel (Kumar et al., 2016; Nadal et al., 2017). Los ensayos de Ames y micronúcleos confirmaron la ausencia de mutagenicidad y genotoxicidad, y las pruebas de toxicidad en modelos murinos indicaron buena tolerancia en exposiciones aguda y subaguda. Esto, junto con la presencia de metabolitos secundarios bioactivos, se sugiere que *Roldana spp.* podría representar una alternativa terapéutica natural con alto perfil de seguridad. Este perfil sugiere alta selectividad tumoral y baja citotoxicidad en células no neoplásicas, respaldando su potencial para estudios preclínicos más avanzados.

## Conclusiones

A falta de las pruebas sobre la enzima SHP2. El extracto de acetato de etilo de *Roldana spp.* posee compuestos bioactivos no mutagénicos ni genotóxicos, con baja toxicidad sistémica y alta citotoxicidad selectiva en células tumorales, especialmente cervicales. Estos hallazgos sustentan su potencial como **agente antineoplásico seguro y eficaz**, viable para estudios preclínicos posteriores.

## Agradecimientos

Al Laboratorio de Biotecnología y el Herbario “Jerzy Rzedowski” del CIIDIR IPN unidad Durango, al Laboratorio de Desarrollo de Fármacos Asistido por Computadora FAMEN, UJED, al laboratorio de Productos Naturales de la ENMyH del IPN, al CONACyT y COCYTED.

## Referencias bibliográficas

- Arciniegas, A., Maldonado, J., González, K., Pérez-Castorena, A., Villaseñor, J., & Vivar, A. (2017). Sesquiterpenes and Other Natural Products from *Roldana reticulata*. *Revista de la Sociedad Química de México*, 57, 16-18. <https://doi.org/10.29356/JMCS.V57I1.230>.
- Campos-Almazán, M. I., Flores-Ramos, M., Hernández-Campos, A., Castillo, R., Sierra-Campos, E., Torgeson, K., Chemistry, M. (2021). Design, synthesis, kinetic, molecular dynamics, and hypoglycemic effect characterization of new and potential selective benzimidazole derivatives as Protein Tyrosine Phosphatase 1B inhibitors. 48, 116418.
- Delgado, G., García, P., Bye, R., & Linares, E. (1991). Eremophilanolides from *Roldana sessilifolia*. *Phytochemistry*, 30, 1716-1719. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)84244-M](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)84244-M)
- Funston, A. (2008). Taxonomic Revision of *Roldana* (Asteraceae: Senecioneae), a Genus of the Southwestern U.S.A., Mexico, and Central America1., 95, 282 - 337. <https://doi.org/10.3417/2003151>
- Haggag, M. I., & Elhaw, M. H. J. M. T. P. (2022). Estimation of some phytochemical materials and isolation of two flavonoids from pomegranate peel using different chromatographic techniques. 57, 362- 367
- Hanahan D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Kamble, M. D., Chaudhari, M., Tapadiya, G., Dhokchawle, B., & Sonar, C. J. P. M. (2022). LC MS/MS Bioanalytical Procedure for Quantification of Imatinib Mesylate in Rat Plasma: Development and Application to Pharmacokinetic Study. 13(4), 1-5.
- Kaur, R., Bhardwaj, A., & Gupta, S. (2023). Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers. *Molecular biology reports*, 50(11), 9663–9676.
- Linares, E., & Bye, R. (1987). A study of four medicinal plant complexes of Mexico and adjacent United States.. *Journal of ethnopharmacology*, 19 2, 153-83.
- Rios-Soto, L., Téllez-Valencia, A., Sierra-Campos, E., Valdez-Solana, M., Cisneros-Martínez, J., Gómez Palacio-Gastélum, M., AvitiaDomínguez, C. J. M. (2021). Finding the first potential inhibitors of shikimate kinase from methicillin resistant *Staphylococcus aureus* through computer-assisted drug design. 26(21), 6736.
- Rontani, J.-F., Charrière, B., Menitti, C., Aubert, D., Vaultier, F., & Aubert, C. J. R. C. i. M. S. (2022). EIMS Fragmentation and MRM quantification of ferulic and p-coumaric acid TMS derivatives in deposited atmospheric particles. 36(11), e9287
- Siegel, R. L., Kratzer, T. B., Giaquinto, A. N., Sung, H., & Jemal, A. (2025). Cancer statistics, 2025. *CA: a cancer journal for clinicians*, 75(1), 10–45. <https://doi.org/10.3322/caac.21871>
- Singh, P., Kumar, V., Lee, K. W., & Hong, J. C. (2024). Discovery of Novel Allosteric SHP2 Inhibitor Using Pharmacophore-Based Virtual Screening, Molecular Docking, Molecular Dynamics Simulation, and Principal Component Analysis. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 17(7), 935. <https://doi.org/10.3390/ph17070935>
- Yang, C. Y., Shiranthika, C., Wang, C. Y., Chen, K. W., & Sumathipala, S. (2023). Reinforcement learning strategies in cancer chemotherapy treatments: A review. *Computer methods and programs in biomedicine*, 229, 107280.
- Zhou, Y., Nakajima, R., Shirasawa, M., Fikriyanti, M., Zhao, L., Iwanaga, R., Bradford, A. P., Kurayoshi, K., Araki, K., & Ohtani, K. (2023). Expanding Roles of the E2F-RB-p53 Pathway in Tumor Suppression. *Biology*, 12(12), 1511.

## DESARROLLO DE BIOSENSOR PARA LA MEDICIÓN DE NIVELES DE CORTISOL EN SALIVA EN TIEMPO REAL

Karla M. Estrada-Salazar<sup>1\*</sup>, Ignacio Villanueva-Fierro<sup>1</sup>, Valentín López-Gayou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango (CIIDIR-IPN Durango) Nacional, Sigma 119, 20 de Noviembre II, 34220 Durango, Dgo., México, <sup>2</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA - IPN Tlaxcala), Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal, Km 1.5, 90700 Santa Inés Tecuexcomac, Tlaxcala, México.

\*kmestradas2100@alumno.ipn

### Resumen

El cortisol es una hormona clave en la regulación de diversas funciones celulares, y la alteración de sus niveles indica estrés y trastornos glandulares. El presente trabajo se centra en el diseño y desarrollo de un biosensor electroquímico innovador, accesible y de respuesta rápida, basado en polímeros de impresión molecular (MIPs). Con el uso de química computacional se utilizaron cálculos de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) específicamente con el software ORCA con el funcional híbrido B3LYP, el conjunto de bases def2-SVP y el modelo CPCM para acetonitrilo y se encontraron los monómeros funcionales y estructurales adecuados para la síntesis efectiva de un MIP selectivo a cortisol. Con base en los hallazgos teóricos, se sintetizó un MIP/NIP (Polímero no impreso) en un disolvente porógeno purgado con nitrógeno. La polimerización radicalaria se realizó utilizando el iniciador AIBN (2,2'Azobis(2-Metilpropionitrilo)) de tipo azo, EGDMA (Dimetilacrilato de etilenglicol) y ácido acrílico. El MIP/NIP que se obtuvo fue un prototipo evaluado con análisis electroquímico mediante voltamperometría de pulso diferencial, voltamperometría de onda cuadrada y HPLC.

**Palabras clave:** Biosensor, MIP, Cortisol, Polimerización, Electroquímica.

### Introducción

El cortisol es una hormona esteroidea fundamental en la respuesta al estrés (Guillín et al. 2016). Secretado por la corteza suprarrenal, estimulada por la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) de la hipófisis, el cortisol circulante en sangre se une a proteínas transportadoras, principalmente a la CBG (globulina fijadora de corticosteroides), que transporta aproximadamente el 80%, del 10-15% unida a la albúmina y solo alrededor del 5% en forma libre y biológicamente activa, siendo el porcentaje que ejerce la acción hormonal sobre los tejidos diana y regula la secreción de CRH (hormona liberadora de corticotropina) en el hipotálamo y de ACTH en la hipófisis, completando el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Quiceno 2016). La Química Computacional aplica principios de la mecánica cuántica y la teoría de sistemas multielectrónicos para calcular propiedades estructurales y electrónicas de moléculas y materiales. Entre los métodos más empleados se encuentra la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT), que utiliza la densidad electrónica como variable fundamental, ofreciendo un excelente equilibrio entre precisión y costo computacional. Para realizar estos cálculos, el software ORCA sirve como una herramienta poderosa de código



abierto y reconocida en la comunidad científica por su eficiencia y precisión en un gran número de funcionales de intercambio-correlación (como B3LYP) (Perdew et al. 2005).

Un biosensor es un dispositivo analítico de detección compuesto por un elemento de reconocimiento biológico de alta especificidad y un transductor fisicoquímico, convirtiendo una respuesta biológica en una señal digital cuantificable (Bertók 2013). El principio fundamental de su operación reside en la interacción selectiva entre el bio-receptor (como enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos o células completas) y el analito de interés, generando un cambio físico o químico captado y transformado por el transductor (electroquímico, óptico, piezoeléctrico o térmico) en una señal eléctrica proporcional a la concentración del analito (Peralta 2018).

La electroquímica es la rama de la química física que estudia la conversión de energía química y energía eléctrica, que ocurre mediante reacciones que implican la transferencia de electrones desde una especie que se oxida (agente reductor) a una especie que se reduce (agente oxidante) en la interfase entre un electrodo (un conductor eléctrico, como un metal o carbono) y un electrolito (una solución iónica o sólido conductor iónico) (Baeza 2006). El fundamento de los polímeros de impresión molecular se basa en la polimerización de monómeros funcionales en presencia de una molécula plantilla, que se elimina para dejar sitios de afinidad con una complementariedad geométrica y química tridimensional perfectamente adaptada al analito diana. Al acoplarse a transductores electroquímicos, ópticos o piezoeléctricos, estos polímeros confieren al biosensor una selectividad excepcional y alta sensibilidad de pequeñas moléculas hasta proteínas, en matrices complejas (Villa et al. 2021).

### **Materiales y métodos**

Los materiales utilizados fueron agua desionizada (resistividad de  $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ). Cortisol (1 mg/mL en 1 mL de metanol), acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$  utilizado en cromatografía líquida y espectrofotometría), ácido acrílico, dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), 2,2-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN), ácido acético, etanol y metanol se adquirieron de Sigma-Aldrich.

Se utilizó un HPLC el cual permite cuantificar de manera precisa la capacidad de retención y selectividad del MIP en comparación con NIP. Valida la formación de los sitios de reconocimiento específicos. El equipo utilizado fue Shimadzu HPLC 20A, equipado con un inyector automático (modelo SIL-20A), columna C18 ( $4.6 \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ).

Se emplearon las técnicas de Voltamperometría de pulso diferencial y voltamperometría de onda cuadrada, ambas aplican pulsos de potencial, maximizando la señal del analito capturado selectivamente en las cavidades del MIP. Los ensayos se realizaron en un equipo AUTOLAB de la marca Metrohm y los datos fueron procesados por el software NOVA 2.1.2.

Para sintetizar el MIP, se disolvieron 0,00025 mg de cortisol y 68.6  $\mu\text{L}$  de ácido acrílico en 25 ml de acetonitrilo y se dejó interactuar 6 h. Después se añadieron 2,360  $\mu\text{L}$  de EGDMA y 8.2 mg de AIBN y se purgó con  $\text{N}(\text{g})$  por 30 min. Finalmente, se dejó a  $60^\circ\text{C}$  durante 6 h.



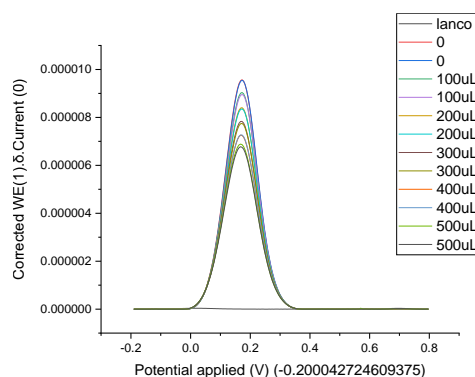
## Resultados

### HPLC.

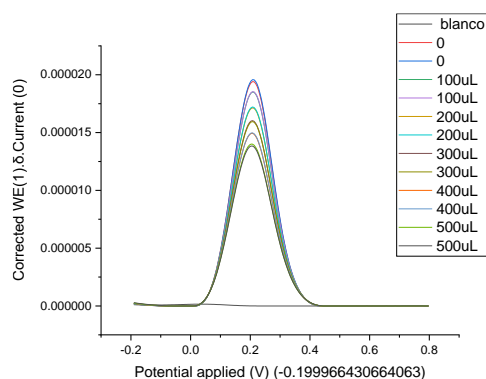
**Tabla 1.** Prueba de adsorción en MIP/NIP por HPLC

Polímero	Volumen	PPM total	PPM Solución	PPM adsorbido
MIP	100uL	8.98E-04	1.38E-04	7.59E-04
NIP	100uL	8.98E-04	4.29E-04	4.69E-04

Voltamperometría de pulso diferencial (DPV) y voltamperometría de onda cuadrada (SW).



**Figura 1.** DPV MIP-cortisol 80/20



**Figura 2.** SW MIP-cortisol 80/20

### Discusión

En las pruebas de HPLC ambos polímeros (MIP y NIP) estuvieron expuestos a la misma concentración inicial de analito ( $8.98 \times 10^{-4}$  ppm) y el MIP dejó menos analito en solución, lo que sugiere que adsorbió más cortisol. En la prueba electroquímica DPV se midió la corriente de pico (corregida) a diferentes volúmenes de adición de cortisol (de 0 a 500  $\mu\text{L}$ ), barriendo un rango de potencial de -0.2 V a 0.8 V. La gráfica de la figura 1 muestra picos de corriente a potenciales específicos (entre 0.2 V y 0.6 V), donde ocurre la oxidación/reducción del cortisol. Como se puede apreciar, a medida que se añade más cortisol, la corriente de pico disminuye (detección indirecta), demostrando que el MIP está capturando selectivamente el cortisol y generando una señal electroquímica medible. En el análisis SW se obtuvieron

también resultados positivos, con mayor sensibilidad, ya que generó señales de corriente más altas para la misma concentración de analito, lo que podría traducirse en un límite de detección más bajo.

### **Conclusiones**

Este trabajo demostró exitosamente que el polímero de impresión molecular (MIP) sintetizado para cortisol tiene una alta selectividad y sensibilidad, validada mediante técnicas de HPLC y electroquímicas (DPV y SWV). Los resultados confirmaron la diferencia significativa entre MIP y NIP (~62% más adsorción en MIP) demuestra que el MIP es selectivo hacia el analito, mientras que el NIP solo muestra adsorción inespecífica que puede deberse a la porosidad del material, y que la técnica SWV ofrece mayor sensibilidad para la detección electroquímica. Esto posiciona al MIP como un elemento prometedor para el desarrollo de biosensores robustos y eficientes.

### **Agradecimientos**

IPN, CIIDIR Durango, UNESP y SECIHTI por el apoyo brindado al desarrollo de esta investigación.

### **Referencias bibliográficas**

- Bertók T (2013) "Electrochemical lectin based biosensors as a label-free tool in glycomics." *Microchimica Acta* 180:1-13.
- Guillín C, Bernabeu I, Rodríguez I, Casanueva F (2016) Hiperkortisolismo de origen adrenal. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 12: 781-786.
- Peralta Y (2018) Los Biosensores como poderosas herramientas analíticas. *Encuentro Con LA* 4:10.
- Perdew J, Ruzsinszky A, Tao J, Staroverov N, Scuseria G, Csonka (2005). *Journal of Chemical Physics* 123:6.
- Quiceno S (2016) Cortisol: mediciones de laboratorio y aplicación clínica. *Medicina & Laboratorio* 22: 147-164.
- Villa J, Khan S, Neres L, Sotomayor M (2021) Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for non-invasive determination of cortisol, *Journal of Polymer Research* 28:298.
- Baeza A (2006). *Química analítica: reacciones en disolución y en las interfases en condiciones de amortiguamiento simple. expresión gráfica de las reacciones químicas*, S. y G. Editores. 105-125 pp.

## DESARROLLO DE AMARANTO BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Isai Jese Flores Lima<sup>1</sup>, Silvia Luna Suárez<sup>1</sup>, Rigoberto Castro Rivera<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada IPN-Tlaxcala, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5 Tlaxcala C.P. 90700, México.

\*rcastror@ipn.mx

### Resumen

El cultivo de amaranto toma relevancia debido a su potencial alimenticio y agronómico, analizar el desarrollo de dos especies *Amaranthus cruentus* L. y *Amaranthus hypochondriacus* L. en condiciones invernadero fue el objetivo del presente trabajo, las condiciones del cultivo fueron durante el periodo primavera verano 2024, el suelo se determinó como arcilloso, en el cual se observó que el ciclo de *A. cruentus* L. en estas condiciones fue clasificado como corto, siendo de 120 días, mientras que *A. hypochondriacus* L. fue de 204 días y se clasificó como ciclo medio. La altura media tuvo cambio  $P < 0.05$  siendo 197 cm y 136 cm para *A. cruentus* L. y *A. hypochondriacus* L. respectivamente, el rendimiento de la semilla no hubo diferencia  $P > 0.05$  entre especies, pero si hubo  $P < 0.05$  en el peso de 1000 semillas siendo 0.74 g para *A. cruentus* y 0.64 g para *A. hypochondriacus* L. el desarrollo en invernadero permite tener plantas de porte bajo para *A. hypochondriacus* y podría reducir el ciclo de desarrollo para *A. cruentus* L.

**Palabras clave:** Invernadero, *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus hypochondriacus*.

### Introducción

*Amaranthus cruentus* L. y *Amaranthus hypochondriacus* L. son especies originadas en México, con características nutricionales importantes, desde hojas y semillas (Das 2016). Las recomendaciones para un óptimo desarrollo del amaranto, pueden variar significativamente desde las características fisicoquímicas del suelo, fertilización, hasta la variedad fenotípica (Barrales et al. 2010; Martínez-Núñez et al. 2019). La mayor producción de amaranto es en temporal, de acuerdo con el SIAP (2020), esto puede conllevar a rendimientos variables ante entornos ambientales cada vez más adversos, alternativas de implementación del cultivo de amaranto en invernadero pueden generar mayor control ante condiciones de estrés biótico y abiótico (Dubravka y Žarko 2022). Existen pocos reportes de *A. cruentus* L. y *A. hypochondriacus* L. cultivados en invernadero por lo que es conveniente analizar el desarrollo y rendimiento de la semilla que tendrán siendo así el objetivo de este estudio.

### Materiales y métodos

El cultivo fue llevado a cabo en un invernadero del Centro en Biotecnología Aplicada a 2200 m s n. m. durante el ciclo primavera verano 2024 donde la temperatura promedio durante el cultivo fue de 19.7° C y humedad relativa de 66.7 % ambas monitorizadas por un HOBO Data Logger. Se usó bolsa de invernadero de 40 x 40 cm conteniendo suelo de la misma zona y se analizó la textura bajo los parámetros de la NOM 021 RECNAT 2000. *A. cruentus* L. y *A. hypochondriacus* L. fueron las especies elegidas en este estudio donde las semillas fueron sembradas a 1 cm de profundidad y riego constante hasta su completo desarrollo. Se determinó la altura media con un flexómetro, gramos de semilla por planta y peso de 1000

semillas mediante el uso de una balanza analítica. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo por triplicado y se realizó un análisis de datos ANOVA 1 vía y prueba de Tuckey  $p \leq 0.05$ .

### Resultados

De acuerdo a la caracterización del suelo se determinó de textura arcillosa, y apto para cultivo de ambas especies de amaranto. A partir de la germinación se determinó el número de días hasta la etapa de cosecha de las semillas, donde el aspecto de las plantas se puede observar en la figura 1 para lo cual, *A. cruentus* L. presentó un ciclo corto con 120 días bajo estas condiciones de invernadero, por el contrario, *A. hypochondriacus* L. fue de 204 días.



**Figura 1.** Plantas de amaranto al día de cosecha, de izquierda a derecha *A. cruentus* L. y *A. hypochondriacus* L. respectivamente.

Un aspecto de interés agronómico es la altura, así como la calidad de las semillas para lo cual se muestran en la tabla 1, los resultados analizados para ambas especies, destacando *A. cruentus* L. con un mayor peso de 1000 semillas con 0.74 g siendo diferente  $p < 0.05$ , por otro lado *A. hypochondriacus* L. obtuvo la menor altura con 156 cm. Entre especies no se mostró diferencia  $p > 0.05$  en el rendimiento de gramos de semilla por planta.

Tabla 1. Desarrollo de amaranto en invernadero y parámetros de calidad de la semilla.				
Tratamiento	Ciclo en días	Altura cm	Rendimiento g semillas/planta	Peso g de 1000 semillas
<i>A. cruentus</i> L.	120	197 a	11.3 a	0.74 a
<i>A. hypochondriacus</i> L.	204	136 b	8.8 a	0.64 b
Eem		10.9	1.93	0.014
Medias con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$ ), Eem= Error estándar de la media.				

## Discusión

El tipo de suelo y sus características físicoquímicas son aspectos importantes en el desarrollo de cultivo de amaranto lográndose adaptar a suelos arcillosos (Barrales et al. 2010). Un análisis de textura de suelo como lo indica Hernández E. et al. (2014) resulta de importancia para una fertilización adecuada. Con respecto al ciclo de desarrollo de amamanto en invernadero existen pocos reportes de *A. cruentus* L. (Granja et al. 2023). Con respecto a lo reportado por Abdel et al. (2018) en cielo abierto *A. cruentus* L. es de menor altura que *A. hypochondriacus* L. característica fenotípica que difiere con el presente estudio donde se observó lo apuesto siendo *A. hypochondriacus* L. de menor altura, denotando así la plasticidad fenotípica del amaranto en condiciones de espacios restringidos como lo menciona Martínez-Núñez et al. (2019). El rendimiento reportado en este estudio denota valores por debajo de la media que hay en la literatura, una de las posibles causas fue debido a que no hubo fertilización, esto para conocer la el rendimiento en este tipo de suelo y condición (El Gendy et al. 2017). Para el caso del peso de 1000 semillas ambas especies se encuentran en el intervalo reportado por Gimplinger et al. (2007) y en el caso para *A. cruentus* ha sido reportado semillas de mayor tamaño y peso, aunado a su ciclo corto, son características de interés con posibilidad de desarrollarse en invernadero; (SNICS 2006; Dharshini y Meera 2023). A pesar de que *A. hypochondriacus* L. fue de un ciclo más largo en días esto concuerda con lo ya reportados por diferentes autores, una ventaja de esta especie es que fue de menor altura que cuando se cultiva de forma extensiva a cielo abierto, característica que favorece la cosecha. (Ramírez et al. 2011).

## Conclusiones

El cultivo en invernado con suelo arcilloso es factible para el desarrollo de *A. cruentus* y *A. hypochondriacus* sin cambios en el rendimiento g/planta. Para *A. cruentus* se consideró de ciclo corto, siendo una característica favorable para su cultivo. Por último, en un esquema de invernadero *A. hypochondriacus* fue de porte bajo, esto podría facilitar su cosecha.

## Agradecimientos

A SECIHTI por la beca de posgrado.

## Referencias bibliográficas

- Barrales S, Barrales E, y Barrales E (2010) Amaranto recomendaciones para su producción. Plaza y valdes, editores. 92-103 pp.
- Das S (2016) Amaranths: The Crop of Great Prospect. In: Amaranthus: A Promising Crop of Future. Springer, Singapore.
- Dharshini S y Meera M (2023) Effect of popping and milling on physical, chemical, structural, thermal properties and angle of repose of amaranth seed (*Amaranthus cruentus* L.) and finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn) from Udhagamandalam. Applied Food Research. 3:2
- Dubravka S y Žarko I (2022) Advantages of Growing Vegetable Crops in Modern Greenhouses. [online]. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/359514671\\_Advantages\\_of\\_Growing\\_Vegetable\\_Crops\\_in\\_Modern\\_Greenhouses](https://www.researchgate.net/publication/359514671_Advantages_of_Growing_Vegetable_Crops_in_Modern_Greenhouses) [fecha de revisión 19 de septiembre de 2025].
- El Gendy ANG, Tavarini S, Conte G, Pistelli L, Hendawy AF. Omer EA y Angelini LG (2017) Yield and qualitative characterisation of seeds of *Amaranthus hypochondriacus* L. and *Amaranthus cruentus* L. grown in central Italy. Italian Journal of Agronomy13:63-73

Gimplinger DM, Dobos G, Schönlechner R y Kaul HP (2007) Yield and quality of grain amaranth (*Amaranthus* sp.) in Eastern Austria. PLANT SOIL ENVIRON. 53:105–112

Granja E, Parra GP, Molina R A, y Calapíña BO (2023) Caracterización fisiológica de semillas de ocho variedades de amaranto (*Amaranthus* spp.) en la provincia de Cotopaxi. Universidad & ciencia. 12:82-96

Hernández E, García E y Ramírez, JL (2014) Caracterización de suelos cultivados con amaranto y algunos aspectos agronómicos de la planta. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 53: 421-431.

Martínez-Núñez M, Ruiz-Rivas M, Vera-Hernández PF, Bernal-Muñoz R, Luna-Suárez S y Rosas-Cárdenas FF (2019) The phenological growth stages of different amaranth species grown in restricted spaces based in BBCH code. South African Journal of Botany. 124: 436-443.

Ramírez ML, Espitia E, Carballo A, Zepeda R, Vaquera H. Córdova L (2011) Fertilización y densidad de plantas en variedades de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Revista mexicana de ciencias agrícolas. 2(6):855-866.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP (2020) Avance de siembras y cosecha resumen nacional por estado, México [online]. Available from: [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do) [Fecha de revisión 29 enero 2025].

Servicio Nacional de Inspección y Certificación de semillas SNICS (2006) Manual Gráfico para la Descripción Varietal en Amaranto (*Amaranthus* spp) México. [online] 1-43 Available from: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/390818/MGDVamaranto.pdf>. [Fecha de consulta 18 de febrero de 2025].



## INTERACCIÓN FRIJOL-*Macrophomina phaseolina*: SUPLEMENTACIÓN CON PREPARADOS BIODINÁMICOS, PRODUCTIVIDAD Y RESPUESTA DE LA PLANTA

Atenas Cassandra González-García<sup>1\*\*</sup>, Netzahualcoyotl Mayek-Pérez<sup>1</sup>, Homar Rene Gill-Langarica<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Biotecnología Vegetal, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Blvd. del Maestro s/n esq. Elías Piña. Col. Narciso Mendoza, 88710, Reynosa, Tamaulipas, México.

\*Contacto: hgill@ipn.mx, \*\*agonzalezg2500@alumno.ipn.mx

### Resumen

La agricultura biodinámica es una estrategia agrícola sostenible que, a través de preparados específicos, busca reactivar la microbiota del suelo, incrementar la mineralización de nutrientes y mejorar la resistencia de las plantas frente a enfermedades. En este estudio se explora su aplicación en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*), afectado por la pudrición carbonosa causada por *Macrophomina phaseolina*, particularmente bajo condiciones de déficit hídrico. Se evaluará el efecto de preparados biodinámicos solos o enriquecidos con bacterias antagonistas, sobre el microbioma del sistema suelo-planta, la incidencia de *M. phaseolina* y la productividad en campo.

**Palabras clave:** Preparados biodinámicos, Frijol, *Macrophomina phaseolina*.

### Introducción

La agricultura biodinámica propone un manejo holístico de los agroecosistemas mediante preparados que contienen compuestos naturales derivados de estiércol, plantas medicinales y minerales. Estos insumos buscan revitalizar los procesos biológicos y mejorar la salud edáfica y vegetal (Santoni et al., 2022). Entre los preparados utilizados se encuentran el 500 (estiércol de vaca en cuerno), el 501 (sílice), el 504 (ortiga) y el 508 (cola de caballo), todos con efectos específicos sobre el suelo y la fisiología vegetal (Ningombi et al., 2023).

El frijol, cultivo clave para la seguridad alimentaria en México, es afectado severamente por *Macrophomina phaseolina*, un hongo necrotrófico que genera microesclerocios resistentes, provocando marchitez, necrosis radicular y pérdidas económicas, especialmente bajo estrés hídrico (Kumar et al., 2023; Reznikov et al., 2020). Ante ello, se plantea el uso de biopreparados como alternativa ecológica para mejorar la resiliencia del cultivo.

### Materiales y métodos

**Preparación de preparados biodinámicos.** Se elaborarán los preparados 500, 501, 504 y 508 conforme al manual oficial de la Federación Biodinámica Internacional Demeter (FBID, 2020). Se emplearán ingredientes naturales, bajo protocolos estandarizados de fermentación y maduración.

**Caracterización del microbioma endógeno de la semilla.** A partir del ADN extraído de semillas de frijol ejotero (var. "Opus" y "Strike"), tolerante (BAT 477) y susceptible (Pinto UI-114) a *M. phaseolina*, se amplificarán las regiones V3–V4 del gen 16S rRNA (Stoeck *et al.*, 2024), V4 y V9 del 18S rRNA (Choi *et al.*, 2021), e ITS (Montaño-Becerra *et al.*, 2024), para caracterizar la microbiota endógena por secuenciación Illumina.

**Evaluación de la susceptibilidad varietal frente a *M. phaseolina*.** Se utilizará la cepa patogénica HMP05 de *M. phaseolina* aislada de frijol en Cotaxtla, Veracruz (Ramos-García *et al.*, 2022). Las variedades serán evaluadas mediante ensayos *in vitro* (semilla en caja Petri) e *in vivo* (plántula en maceta), según Bañuelos-Baladrán y Mayek-Pérez (2008), para determinar su nivel de susceptibilidad o tolerancia al hongo.

**Aislamiento y validación de bacterias antagonistas.** Se aislarán bacterias desde los biopreparados, y se evaluará su potencial antagonista frente a *M. phaseolina* mediante cultivo dual (Oliva-Ortiz *et al.*, 2016). Las cepas con mayor halo de inhibición serán analizadas para producción de sideróforos (Schwyn & Neilands, 1987), actividad de quitinasas y celulasas (Hernández-Melchor *et al.*, 2022).

**Evaluación del efecto protector de bacterias antagonistas.** Las cepas bacterianas antagonistas serán aplicadas en semillas de frijol mediante bioprimado (Akram *et al.*, 2024). Posteriormente, se repetirán los ensayos *in vitro* e *in vivo* con y sin estrés hídrico, para valorar su efecto protector ante la infección por *M. phaseolina*.

**Enriquecimiento de preparados biodinámicos.** Los preparados 500, 501, 504 y 508 serán enriquecidos con cepas bacterianas seleccionadas. Se caracterizarán microbiológicamente mediante análisis genómicos (gen 16S).

**Evaluación en campo.** Se establecerá un diseño experimental en bloques completamente al azar con parcelas subdivididas: parcela principal (hídrico: riego y seco), subparcela (variedades: Opus, Strike, BAT 477, Pinto UI-114), y sub-subparcela (tratamiento: testigo, fertilizante, biopreparado convencional, biopreparado enriquecido). Las variables medidas serán agronómicas (altura, floración, biomasa, rendimiento), fisiológicas (SPAD, CRA) y sanitarias (severidad de pudrición).

**Análisis metagenómico del sistema suelo-planta.** En rizosfera, endosfera y filósfera de plantas en tres momentos (preemergencia, fase vegetativa y fase reproductiva), se realizará extracción de ADN metagenómico y amplificación por secuenciación de Illumina de los genes 16S, 18S e ITS, para análisis de diversidad (QIIME2) y predicción funcional (PICRUSt2, NetCoMi).

## Resultados

Se espera identificar microbiotas beneficiosas asociadas al sistema suelo-planta, así como cepas bacterianas capaces de mitigar el efecto de *M. phaseolina*. También se pretende demostrar el efecto de los preparados biodinámicos sobre la nutrición, sanidad y productividad del frijol bajo estrés hídrico.

## Conclusiones

Los biopreparados, especialmente cuando son enriquecidos con cepas antagonistas, podrían representar una herramienta agroecológica eficaz contra *M. phaseolina*, mejorando la salud del suelo, la resiliencia del cultivo y promoviendo un sistema sustentable en zonas áridas.

## Agradecimientos

Este proyecto cuenta con el financiamiento de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) mediante beca de posgrado (CVU 1190298).

## Referencias bibliográficas

- Akram, W.; Waqar, S.; Hanif, S.; Anjum, T.; Aftab, Z.-e.-H.; Li, G.; Ali, B.; Rizwana, H.; Hassan, A.; Rehman, A.; et al. Comparative effect of seed coating and biopriming of *Bacillus aryabhattai* Z-48 on seedling growth, growth promotion, and suppression of *Fusarium* wilt disease of tomato plants. *Microorganisms* 2024, 12, 792. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040792>
- Bañuelos-Balandrán, José Jaime, & Mayek-Pérez, Netzahualcóyotl. (2008). Evaluación no destructiva de la patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 26(1), 71-75.
- Chaudhary, H., Kumar, P., Dubey, R. C. (2023). Mechanism of disease development in host plants by *Macrophomina phaseolina*. *Macrophomina Phaseolina* 133-154. doi: 10.1016/B978-0-443-15443-0.00010-3
- Choi K, Khan R, Lee SW. Dissection of plant microbiota and plant-microbiome interactions. *J Microbiol.* 2021 59(3):281-291. doi: 10.1007/s12275-021-0619-5.
- Federación Biodinámica Internacional Demeter (FBID). Manual de Preparados Biodinámicos. (2020). [https://www.demeter.net/wp-content/uploads/2021/09/BFDI\\_2021\\_Preparation-Manual\\_espanol.pdf](https://www.demeter.net/wp-content/uploads/2021/09/BFDI_2021_Preparation-Manual_espanol.pdf).
- Hernández-Melchor, Dulce Jazmín, Ferrera-Cerrato, Ronald, García-Ávila, Clemente de Jesús, & Alarcón, Alejandro. (2024). Cellulase and chitinase production by *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense race 1 in submerged culture. *Revista mexicana de fitopatología*, 42(1), RMEXFIT2307-2. Epub 27 de enero de 2025. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2307-2>
- Kumar, S., Vishnoi, V. K., Kumar, P., & Dubey, R. C. (2023). Survival of *Macrophomina phaseolina* in plant tissues and soil. In *Macrophomina phaseolina* (pp. 205-224). Academic Press. DOI:10.1016/B978-0-443-15443-0.00015-2
- Lira-Méndez, K., Salinas-García, J. R., Díaz-Franco, A. & Mayek-Pérez, N. (2012). Efecto de labranza, humedad y fertilización en el rendimiento de frijol y la patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(2), 365-371. doi
- Montaño-Becerra V, Mancilla-Margalli NA, Chávez-Sánchez C y Ávila-Miranda ME. (2025). Diversidad y taxonomía de *Fusarium solani* aislado de plantas marchitas de Agave tequilana var azul. *Revista Mexicana de Fitopatología* 43(1): 36. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2310-5>
- Ningombi, D. (2023) Dynamic use of Cow Pat Pit, Biodynamic Preparations and Peppering in Organic Farming. *International Journal of Plant Soil Science*. <https://doi.org/10.9734/IJPSS/2023/V35I102935>
- Oliva Ortiz, L.C., Velázquez Alcaraz, T.J., Pérez, R.S., Ruvalcaba, L.P., Valdés, T.D., Ramos, J.A. and Ortega, J.E.C. (2016) Morphology and biochemistry of microbial

antagonists and their effect in the growth of garbanzo and control of Fusariosis. Open Access Library Journal, 3: e3226. <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1103226>

Ramos-García, V.H., Villota-Salazar, N.A., González-Prieto, J.M. (2022). Different histone deacetylase inhibitors reduce growth, virulence as well as changes in the morphology of the fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *World J Microbiol Biotechnol* 38, 63. [doi.org/10.1007/s11274-022-03249-w](https://doi.org/10.1007/s11274-022-03249-w)

Reznikov, Sebastian, Bleckwedel, Juliana, Claps, María P., De Lisi, Vicente, González, Victoria, Escobar, Marcela, Ledesma, Fernando, Devani, Mario, Castagnaro, Atilio P., & Ploper, L. Daniel. (2020). Nuevas fuentes de resistencia a la podredumbre carbonosa de la soja causada por *Macrophomina phaseolina*. *Revista industrial y agrícola de Tucumán*, 97(1), 35-42. [oai:ri.conicet.gov.ar:11336/148514](https://oai:ri.conicet.gov.ar:11336/148514)

Rigolot, C., & Quantin, M. (2022). Biodynamic farming as a resource for sustainability transformations: Potential and challenges. *Agricultural Systems*. 200. 103424. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103424>

Santoni, M., Ferretti, L., Migliorini, P. *et al.* A review of scientific research on biodynamic agriculture. *Org. Agr.* **12**, 373–396 (2022). <https://doi.org/10.1007/s13165-022-00394-2>

Schwyn, B., & Neilands, J. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical biochemistry*, 160(1), 47-56. DOI: 10.1016/0003-2697(87)90612-9

Stoeck T, Katzenmeier SN, Breiner H-W, Rubel V (2024) Nanopore duplex sequencing as an alternative to Illumina MiSeq sequencing for eDNA-based biomonitoring of coastal aquaculture impacts. *Metabarcoding and Metagenomics* 8: e121817. <https://doi.org/10.3897/mbmg.8.121817>

## OBESIDAD Y SU EFECTO SOBRE LA BIODISPONIBILIDAD DEL ÁCIDO ELÁGICO Y SU PRODUCCIÓN EN CULTIVO DE TEJIDOS

Luis Alberto Gonzalez Trejo<sup>1\*</sup>, Ana Belem Piña Guzmán<sup>2</sup>, Jorge Cornejo Garrido<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>ENMH-Instituto Politécnico Nacional, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México, CDMX, <sup>2</sup>UPIBI-Instituto Politécnico Nacional, Av. Acueducto, La Laguna Ticomán, Gustavo A. Madero, 07340 Ciudad de México, CDMX.

\*lgonzalez1001@alumno.ipn.mx

### Resumen

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial caracterizada por exceso de tejido adiposo que altera procesos fisiológicos y farmacocinéticos, especialmente la biodisponibilidad y la biodistribución de fármacos. Estos cambios se relacionan con variaciones en la unión a proteínas plasmáticas, lo que hace necesarios ajustes individualizados en la dosificación. En México, más del 75 % de los adultos presentan sobrepeso u obesidad, lo que constituye un grave problema de salud pública. El tratamiento de la obesidad debe abordarse de forma integral. Entre los medicamentos empleados destacan orlistat, fentermina y semaglutida, además de fitofármacos con evidencia clínica variable. Entre los compuestos naturales, el ácido elágico resalta por su seguridad y su efecto multifactorial, al inhibir la adipogénesis y favorecer la termogénesis. Este trabajo evaluó el impacto de la obesidad en la farmacocinética del ácido elágico en ratas Wistar. En animales sanos se obtuvieron valores de C<sub>max</sub> de 1.81 µg/mL, T<sub>max</sub> de 1.1 horas y biodisponibilidad de 2.92 µg/mL\*h. En ratas obesas, la C<sub>max</sub> disminuyó a 0.49 µg/mL y el T<sub>max</sub> aumentó a 7 horas, reduciendo la biodisponibilidad. Asimismo, el cultivo de callos de eucalipto produjo concentraciones de ácido elágico de 515.03 mg/kg, superiores a las reportadas en otras especies, confirmando su potencial como fuente biotecnológica.

**Palabras clave:** obesidad, ácido elágico, biodisponibilidad

### Introducción

La obesidad es una enfermedad crónica y multifactorial caracterizada por exceso de tejido adiposo que altera procesos fisiológicos y farmacocinéticos, especialmente la biodisponibilidad y la biodistribución de fármacos (OMS, 2024). En obesidad, la absorción oral puede modificarse por cambios en la secreción biliar y enzimática, lo que afecta transportadores y enzimas metabólicas (Greenblatt & Abernethy, 2014). También se observan alteraciones en la unión a proteínas plasmáticas (Abernethy & Greenblatt, 1985) y en el metabolismo hepático, lo que exige ajustes individualizados en dosificación. En México, la obesidad representa un grave problema de salud pública: 75.2 % de los adultos presentan sobrepeso u obesidad, con una prevalencia de 36.9 % de obesidad en adultos y más del 40 % en adolescentes, cifras que se han duplicado en las últimas décadas (INSP, 2022). El tratamiento de la obesidad debe ser integral, el tratamiento no farmacológico incluye la intervención nutricional, ejercicio regular, terapia conductual y educación para la salud (OMS, 2024). Algunos tratamientos farmacológicos utilizados actualmente son el orlistat, la fentermina y la semaglutida, con indicaciones específicas y riesgos que requieren vigilancia



(Cheymol, 2000). Así mismo se tiene reportado el uso de fitofármacos como el glucomanano, el té verde, *Garcinia cambogia*, chitosán, entre otros, con efectos adyuvantes, aunque con evidencia clínica variable. Entre los compuestos naturales, el ácido elágico inhibe la adipogénesis, promueve la termogénesis y el “browning”, con evidencia clínica preliminar de reducción en circunferencia abdominal e IMC sin efectos adversos relevantes (Hidalgo-Lozada et al., 2024). El eucalipto (*Eucalyptus* spp.) representa una fuente importante de ácido elágico y elagitaninos, (Guo et al., 2005). Además de sus usos en silvicultura, producción de aceites esenciales y medicina tradicional, los residuos industriales derivados de su procesamiento permiten la obtención de ácido elágico (de la Rosa et al., 2020). El cultivo de tejidos vegetales ofrece una alternativa biotecnológica para producir metabolitos secundarios, como el ácido elágico. Este cultivo facilita la micropropagación y generación de compuestos bioactivos, ofreciendo ventajas en términos de rapidez, control de proceso y uniformidad en los productos obtenidos (George et al., 2008). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la obesidad sobre la biodisponibilidad del ácido elágico utilizando un modelo murino, así como obtener dicho compuesto mediante técnicas de cultivo de tejidos.

### **Materiales y métodos**

La biodisponibilidad se determinó utilizando ratas macho de la cepa Wistar, con un peso promedio de 250  $\pm$  50 g, las cuales fueron mantenidas conforme a las disposiciones establecidas por las normas NOM-029-ZOO-1995 Y NOM-003-ZOO-1994. Se conformaron dos grupos experimentales, cada uno integrado por 35 ratas: uno de ratas sanas y otro de ratas obesas. La obesidad fue inducida mediante una dieta hipercalórica alta en grasas durante un periodo de 12 semanas.

Después de este periodo de tiempo, los animales fueron anestesiados con Xilacina (40 mg/kg de peso) y Ketamina (5 mg/kg de peso), y la sangre fue recolectada mediante punción cardiaca en tubos conteniendo heparina como anticoagulante para la posterior obtención de plasma. Las muestras se tomaron en los tiempos 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7 y 10 horas, usando 5 animales por cada punto temporal.

La concentración de ácido elágico en plasma se determinó haciendo una extracción con metanol en proporciones específicas, y la mezcla fue sometida a agitación mediante vortex. Posteriormente, se realizó una doble centrifugación a 4°C y 10000 rpm durante 15 minutos para cada ciclo. El sobrenadante se recuperó y analizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando un método previamente validado.

Por otra parte, la inducción de callos de eucalipto se realizó utilizando semillas de *Eucalyptus cinerea*, las cuales se obtuvieron en un semillero del estado de Michoacán, se desinfectaron y posteriormente se sembraron en medio MS. Cuando las plántulas tuvieron sus primeras hojas, se realizaron cortes del tallo y raíces (explantos) los cuales se sembraron en medio Murashige & Skoog adicionado con hormonas de crecimiento. Transcurridos 30 días de crecimiento se determinó la biomasa por diferencia de peso (Día 30 – Día 0).

La cuantificación del ácido elágico presente en los callos se determinó secándolos, posteriormente se realizó una maceración con metanol durante 5 días, transcurrido el tiempo se eliminó el solvente y finalmente se disolvieron 10 mg del extracto en metanol y se cuantificó mediante HPLC.



## Resultados

Los parámetros farmacocinéticos fueron calculados utilizando el complemento PKSolver para Excel, empleando un modelo monocompartimental con administración extravascular. Se determinaron la concentración máxima ( $C_{\max}$ ), el tiempo para alcanzar esta concentración ( $T_{\max}$ ) y la biodisponibilidad (AUC) del ácido elágico en ratas sanas y obesas. Los resultados se presentan en las **Tablas 1 y 2**.

**Tabla 1.** Parámetros farmacocinéticos del ácido elágico en ratas sanas

Parámetro	
$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$1.81 \pm 0.10$
$T_{\max}$ (h)	$1.10 \pm 0.24$
AUC ( $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$ )	$2.92 \pm 0.17$

**Tabla 2.** Parámetros farmacocinéticos del ácido elágico en ratas obesas

Parámetro	
$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$0.49 \pm 0.04$
$T_{\max}$ (h)	$7.00 \pm 0.00$
AUC ( $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$ )	$1.93 \pm 0.13$

La concentración de ácido elágico presente en los callos de tallo y raíz se muestran en la **tabla 3**.

**Tabla 3.** Concentración de ácido elágico en los callos de eucalipto.

Especie	Concentración de ácido elágico ( $\text{mg AE/kg}$ )
Callo de tallo	$465.19 \pm 0.80$
Callo radicular	$515.03 \pm 21.56$

## Discusión

Como se puede observar, la obesidad tuvo un efecto en los parámetros farmacocinéticos del ácido elágico. Se registro una disminución en la concentración máxima ( $C_{\max}$ ) y en la biodisponibilidad (AUC), con reducciones aproximadas de  $1.4 \mu\text{g/mL}$  y  $1 \mu\text{g/mL}$  respectivamente. En contraste, el tiempo para alcanzar la concentración máxima ( $T_{\max}$ ) se incrementó en aproximadamente 6 horas.

Este tipo de alteración ha sido reportado previamente en otros compuestos fenólicos. Por ejemplo, Mallick et al., 2015 evaluaron los parámetros farmacocinéticos de la irinotecán y observaron un incremento en la  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$  y biodisponibilidad, efecto que atribuyeron a cambios en la expresión y actividad de enzimas metabolizadoras hepáticas, como la UGT1A1.

El ácido elágico obtenido a partir de los callos de eucalipto presentó concentraciones superiores a las previamente reportadas en callos de cerezo japonés ( $3 \text{ mg/kg}$ ) y de *Dionea muscipola* ( $264.4 \text{ mg/kg}$ ). Las concentraciones alcanzadas fueron similares a las reportadas

en madera de eucalipto, aproximadamente 500 mg de ácido elágico por kilogramo (mg AE/kg), que constituye actualmente la principal fuente de este compuesto.

### Conclusiones

En ratas sanas, el ácido elágico presentó una concentración máxima (C<sub>max</sub>) de 1.81 µg/mL, un tiempo máximo (T<sub>max</sub>) de 1.10 horas y una biodisponibilidad de 2.92 µg/mL\*h.

En ratas obesas, se observó una reducción significativa en los parámetros farmacocinéticos C<sub>max</sub> de 0.49 µg/mL, T<sub>max</sub> de 7 horas y biodisponibilidad de 1.93 µg/mL\*h.

Estos resultados indican que la obesidad altera la farmacocinética del ácido elágico, disminuyendo su biodisponibilidad y retrasando su absorción. En cuanto a la producción del ácido elágico, los callos de eucalipto mostraron concentraciones elevadas de 515.03 mg/kg en callos de tallo y 465.19 mg/kg en callos de raíz, valores superiores a los reportados en otras especies vegetales.

### Agradecimientos

Agradezco a la SECIHTI (1031444), a la SIP-IPN (SIP 2024-0608) y al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo otorgado para la realización de este proyecto.

### Referencias bibliográficas

- Abernethy, D. R., & Greenblatt, D. J. (1985). Drug disposition in obese humans: An update. *Clinical Pharmacokinetics*, 10(2), 161–176.
- Cheymol, G. (2000). Effects of obesity on pharmacokinetics: Implications for drug therapy. *Clinical Pharmacokinetics*, 39(3), 215–231.
- de la Rosa, L. A., et al. (2020). Recent advances in the production and applications of ellagic acid and its derivatives. *Phytochemistry Reviews*, 19, 443–462.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed.). Springer.
- Greenblatt, D. J., & Abernethy, D. R. (2014). The obese patient: Some practical therapeutic considerations. In A. J. Atkinson, W. A. Raisch, & C. L. Malone (Eds.), *Principles of Clinical Pharmacology* (3rd ed., pp. 273–285). Academic Press.
- Guo, Q. M., Yang, X. W., et al. (2005). A new ellagic acid derivative from the fruits of *Eucalyptus globulus* Labill. *Pharmazie*, 60(9), 708–710.
- Hidalgo-Lozada, G. M., Villarruel-López, A., Nuño, K., & Ramos-García, C. O. (2024). Clinically effective molecules of natural origin for obesity prevention or treatment: Ellagic acid. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2671.
- Instituto Nacional de Salud Pública. (2022). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2022*.
- Mallick P, Shah P, Gandhi A, Ghose R. Impact of obesity on accumulation of the toxic irinotecan metabolite, SN-38, in mice. *Life Sci.* 2015 Oct 15;139:132–8. doi: 10.1016/j.lfs.2015.08.017. Epub 2015 Sep 1. PMID: 26334566.
- Organización Mundial de la Salud. (2024). *Obesidad y sobrepeso*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

## REDIRECCIÓN DEL METABOLISMO DE *Fusarium fujikuroi* PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO Y OTROS METABOLITOS

Aranza Hernández Rodríguez<sup>1\*</sup>, Raúl Jacobo Delgado Macuil<sup>1</sup>, Flor de Fátima Rosas Cárdenas, Aarón Mendieta Moctezuma<sup>1</sup>, Josefát Gregorio Jorge<sup>2</sup>, Víctor Eric López y López<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIBA-Tlaxcala, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5 Tlaxcala C.P. 90700, México. <sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional, CBG, Blvd. del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamaulipas.

\*ahernandezr2201@alumno.ipn.mx

### Resumen

*Fusarium fujikuroi* es productor de una gran variedad de metabolitos secundarios. Dentro de estos destaca el ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) por su papel en la agricultura y horticultura como estimulante de la germinación, fructificación y floración. Hasta el momento, no existe información que relacione contundentemente el efecto de diferentes fuentes de carbono sobre el metabolismo dirigido a la síntesis de GA<sub>3</sub> y otros metabolitos, lo que limita establecer estrategias de producción que aumenten los rendimientos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar los metabolitos mayoritarios en condiciones de producción de GA<sub>3</sub> a una relación Carbono:Nitrógeno (C:N) de 25 y 50, y una alta concentración de nutrientes (1X y 10X) en cultivos a nivel biorreactor de *Fusarium fujikuroi* IMI 58289. Se realizaron análisis de HPLC determinando la presencia de diferentes ácidos orgánicos como: ácido láctico, málico, cítrico, succínico, maleico y GA<sub>3</sub> en concentraciones de 101.09, 72.46, 10.47, 7.78, 1.07 y 5.72 g/L, respectivamente. Esto es de relevancia porque permite ampliar los conocimientos para redirigir el metabolismo de *F. fujikuroi* hacia la producción de GA<sub>3</sub> y/u otros metabolitos de alto valor agregado, posicionándolo como una prometedora herramienta de producción con posible gran impacto de aplicación en el sector agroindustrial.

**Palabras clave:** Producción, ácidos orgánicos, fitohormona, fermentación.

### Introducción

México es uno de los principales productores agropecuarios a nivel global. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, de la producción agrícola, pecuaria y pesquera equivalente a 297.6 millones de toneladas con valor de 1.4 billones de pesos, el subsector agrícola aportó el 55% del valor económico y el 91% del volumen total generados (SIAP, 2023). Por ello, es indispensable evaluar nuevas estrategias de cultivo eficaces y amigables con el medio ambiente. El uso de reguladores de crecimiento vegetal, como el ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), se ha posicionado como una prometedora herramienta para el incremento de la producción en campos agrícolas sin repercusiones negativas. El GA<sub>3</sub> es una fitohormona sintetizada por el metabolismo secundario de *Fusarium fujikuroi* y cuyo interés biotecnológico se basa en los efectos fenotípicos y metabólicos provocados en las plantas, como la tolerancia al estrés abiótico (salinidad, sequía, metales pesados y bajas temperaturas), el desarrollo y maduración de los frutos, la expresión sexual, la inducción a la etapa de floración, el retraso de la senescencia, entre otros. A pesar de ser una estrategia favorable para incrementar la rentabilidad del sector agrícola, la industria manufacturera de

GA<sub>3</sub> sigue siendo una incógnita. La deficiencia de metodologías de producción con parámetros competentes limita los rendimientos del compuesto. Si bien, el GA<sub>3</sub> es un producto comercial de venta, en México es importado en su totalidad principalmente de industrias asiáticas que mantienen la secrecía del proceso de producción. Además, el desconocimiento sobre el metabolismo de *F. fujikuroi* en la biosíntesis de otras moléculas mayoritarias y su interacción con los precursores de carbono (sustrato) han obstaculizado el impulso de dicho microorganismo como fuente alternativa de producción de compuesto que podrían innovar la industria farmacéutica, alimentaria, cosmética y agrícola. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo es redirigir el metabolismo de *Fusarium fujikuroi* IMI 58289 para la producción de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) y otros metabolitos de interés, ya que es indispensable tomar iniciativa en el establecimiento de estrategias metodológicas que permitan maximizar el proceso de producción de GA<sub>3</sub> y otros compuestos, a fin de establecer las condiciones de operación idóneas para una alta productividad y elucidar la capacidad del microorganismo para sintetizar moléculas de relevancia biotecnológica con base en el conocimiento metabólico de este, lo cual permitiría obtener mayores rendimientos con procesos de producción desarrollados en México y cubrir las necesidades de aplicación dentro del campo agroindustrial.

## **Materiales y métodos**

### **Propagación y fermentaciones de *Fusarium fujikuroi***

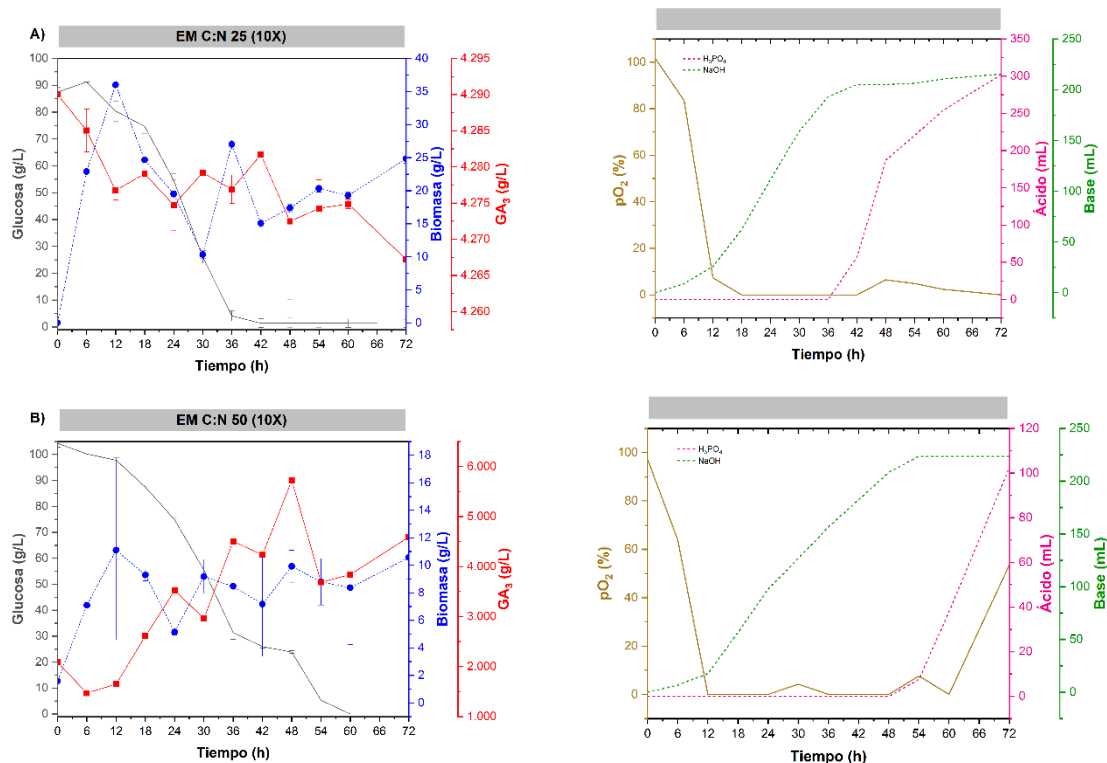
La propagación de *F. fujikuroi* a nivel placa y matraz se realizó en el medio de cultivo EM C:N 7, adicionando un inóculo de 0.8 mm de diámetro de un precultivo e incubando a 30°C. Posteriormente, se inocularon pellets en un matraz Erlenmeyer con medio EM C:N 25, esterilizado y ajustado a pH 5. La incubación del matraz se llevó a 30°C y 160 rpm. La producción a nivel biorreactor se llevó a cabo en 4.5-L utilizando los medios de cultivo EM C:N 25 (1X), (10X) y EM C:N 50 (2X), (10X). Las condiciones de operación fueron 30°C, pH 5.0, agitación de 300 rpm y aireación de 1 vvm. Se tomó muestra cada 6 h y se determinó el consumo de glucosa por el analizador bioquímico YSI 2700 SELECT, concentración de biomasa por la técnica de peso seco y producción de GA<sub>3</sub> por espectrofotometría UV-Vis (Berríos et al. 2004).

### **Determinación de ácidos orgánicos mediante HPLC**

El equipo de cromatografía líquida utilizado fue un Hewlett Packard Agilent 1100 HPLC System acoplado a un detector de matriz de diodos (DAD) y una columna Agilent 961967-902 ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 150 mm, 5 µm, 400 bar. Como método general se empleó una fase móvil de 25 mM fosfato monopotásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)/metanol (CH<sub>4</sub>O) con una relación de volumen de 99:1 (ajustada a un pH = 2.6), utilizando un volumen de inyección de 1.0 µL, flujo de inyección isocrático de 1.0 mL/min, temperatura de 40°C y una detección a 200 y 210 nm. Se realizaron corridas por triplicado de 7 minutos.

## **Resultados**

Se obtuvieron los perfiles cinéticos a nivel reactor de consumo de glucosa, concentración de biomasa, consumo de ácido y base, oxígeno disuelto (pO<sub>2</sub>) y producción de GA<sub>3</sub>. A partir de los datos obtenidos, se enfatizó que el medio EM C:N 25 (10X) presentó la mejor producción de biomasa con una concentración de 36.00 g/L a las 12 h, mientras que el medio EM C:N 50 (10X) mostró la máxima producción de GA<sub>3</sub> con una concentración de 5.72 g/L a las 48 h de fermentación como se ilustra en la Figura 1.



**Figura 1.** Perfiles cinéticos de los medios con máxima producción de biomasa y  $GA_3$ .

Con respecto a la determinación de ácidos orgánicos, se evaluaron 11 ácidos mediante HPLC: oxálico, láctico, fumárico, maleico, málico, cítrico, succínico, butírico, isobutírico, pirúvico y acético, encontrando únicamente 5 de ellos en las siguientes máximas concentraciones:

**Tabla 1.** Producción máxima de ácidos orgánicos por *Fusarium fujikuroi*.

Medio de cultivo	Ácido orgánico (g/L)				
	Láctico	Málico	Cítrico	Succínico	Maleico
EM C:N 25 (1X)	0.00	9.03	0.00	2.34	0.00
EM C:N 25 (10X)	39.43	72.46	10.47	7.78	0.00
EM C:N 50 (2X)	0.00	16.75	2.21	2.01	0.00
EM C:N 50 (10X)	101.09	10.66	2.80	6.94	1.07

## Discusión

Con base en los resultados obtenidos, se establece que la estrategia experimental implementada mejora eficientemente el crecimiento de *F. fujikuroi* y producción de  $GA_3$ , ya que las concentraciones obtenidas superan las reportadas hasta la actualidad, por ejemplo, (Escamilla et al. 2000) describe una producción máxima con la cepa nativa de 3.90 g/L de  $GA_3$  a las 192 h de proceso, por lo que las producciones de  $GA_3$  obtenidas en esta investigación son superiores hasta en un 46% y con tiempos de producción inferiores hasta en un 75% (144 h menos de proceso). Incluso, al comparar los rendimientos obtenidos con trabajos que emplean la cepa modificada genéticamente como el caso de (Wang et al. 2023), quienes registraron una producción de 3.02 g/L de  $GA_3$  a las 168 h de fermentación, se obtiene un 89% más de la fitohormona y un ahorro de tiempo del 71% (120 h menos).

Respecto a la producción de ácidos orgánicos, se logró establecer el perfil de metabolitos mayoritarios, esclareciendo la producción de: ácido láctico, maleico, cítrico, succínico y málico. Sin embargo, se analizó que el medio con mayor diversidad de producción fue EM C:N 50 (10X), ya que presentó una producción de todos los ácidos antes mencionados, destacando la concentración de ácido láctico (101.09 g/L). Tomando en cuenta la cantidad de sólidos totales presentes en el medio de cultivo, se infiere que el 88% de estos se dirige a la síntesis de ácido láctico, lo que es de relevancia porque posiciona a *F. fujikuroi* como un potencial productor en comparación con otros microorganismos como *Lactobacillus Rhamnosus* y *Enterococcus faecalis* con producciones de 32.50 y 48.60 g/L, respectivamente (Gullón et al., 2008; Wee et al., 2006). Hasta el momento, los ácidos determinados en este trabajo no han sido reportados en estudios de producción de GA<sub>3</sub> a partir de *F. fujikuroi*.

### Conclusiones

*F. fujikuroi* sobresale como productor de una amplia variedad de ácidos orgánicos y GA<sub>3</sub>, destacando la diversidad y concentración de estos. Lo anterior es de relevancia porque confiere una ventaja competitiva al método de propagación y producción implementado, ampliando las perspectivas de escalamiento a nivel industrial a más de un compuesto de interés biotecnológico.

### Agradecimientos

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (1238200) y a la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (20250214).

### Referencias bibliográficas

- Berrios J, Illanes A, Aroca G (2004) Spectrophotometric method for determining gibberellic acid in fermentation broths. *Biotechnol Lett.* 26(1): 67–70.
- Escamilla E, Dendooven L, Magaña I, Parra S, De la Torre M (2000) Optimization of gibberellic acid production by immobilized *Gibberella fujikuroi* mycelium in fluidized bioreactors. *J. Biotechnol.* 76(2–3): 147–155.
- Gullón B, Yáñez R, Alonso J, Parajó J (2008) L-Lactic acid production from apple pomace by sequential hydrolysis and fermentation. *Bioresour. Technol.* 99(2): 308–319.
- SIAP (2023) Expectativas agroalimentarias abril 2023 [online]. Available from [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/823375/Expectativas\\_Abril\\_2023.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/823375/Expectativas_Abril_2023.pdf)
- Wang H, Ke X, Jia R, Huang L, Liu Z, Zheng Y (2023) Gibberellic acid overproduction in *Fusarium fujikuroi* using regulatory modification and transcription analysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 107(9): 3071–3084.
- Wee Y, Yun J, Kim D, Ryu H (2006) Batch and repeated batch production of L(+)-lactic acid by *Enterococcus faecalis* RKY1 using wood hydrolyzate and corn steep liquor. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33(6): 431–435.



## EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA, FITOQUÍMICA, GENÉTICA Y PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE PLANTAS MEDICINALES DE LA MESETA PURÉPECHA

Gema Hernández Maldonado<sup>1</sup>, Flor de Fátima Rosas Cárdenas<sup>2</sup>, Hortencia Gabriela Mena  
Violante<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional (CIBA IPN), Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México, <sup>2</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, (CIIDIR-IPN Unidad Michoacán) Justo Sierra Ote. No. 28, Centro, C.P. 59510, Jiquilpan de Juárez, Michoacán, México.

\*ghernandezm2300@alumno.ipn.mx

### Resumen

El nurite (*Satureja macrostema*) es una planta de gran relevancia cultural y médica para la cultura purépecha. El nurite se ha reproducido de manera escasa en huertos de traspatios de las comunidades de la meseta Purépecha a partir de esquejes o semillas, esto último en menor medida, por lo que no existen planes de manejo o reproducción para dichos recursos. Un objetivo de este trabajo fue probar el efecto de la imbibición en agua y ácido giberélico sobre la germinación *in vitro* de semillas de *S. macrostema* en condiciones *in vitro*. Se probó la eficacia de nueve tratamientos que combinaron factores de imbibición en agua a 0, 24 y 48 horas y la suplementación de ácido giberélico en el medio a concentraciones de 0, 500 y 1000 ppm. Se observó una mayor germinación en las semillas de los tratamientos con 24 h de imbibición, por el contrario se observó un decremento en la germinación de las semillas sembradas en medio suplementado con ácido giberélico, siendo el de mayor concentración el que tuvo un promedio más bajo de semillas germinadas.

**Palabras clave:** germinación, *Satureja macrostema*, cultivo *in vitro*

### Introducción

Las plantas silvestres juegan un rol fundamental en la medicina tradicional purépecha, múltiples especies se usan para tratar malestares de diversa índole, esto incluye al nurite (*Satureja macrostema*) planta de gran relevancia cultural y médica para la cultura purépecha utilizada principalmente para tratar malestares relacionados con infecciones y afecciones de la mujer como cólicos menstruales e infertilidad.

El nurite es un arbusto de 1 a 3 m de altura, erecto, ramificado, hojas opuestas de forma ovada de margen dentado, con un tamaño entre los 2 y 6 cm de largo, inflorescencias en forma de tubo de color rojo a anaranjado de 2 a 3 cm de largo (González-Gallegos et al. 2014) Gran parte de las plantas medicinales utilizadas en la Meseta purépecha se extraen de medios silvestres, estas fuentes de obtención se han visto reducidas debido al cambio de uso de suelo o disminución de las áreas forestales (Mena-Violante, comunicación personal, 22 de junio de 2022). Esto aplica para el nurite, cuyo crecimiento ha sido reportado en ecosistemas de pino encino (Torres-Martínez, 2013). El nurite se reproduce de manera escasa en traspatios de las comunidades de la meseta Purépecha a partir de esquejes o semillas, esto último en menor

medida por lo cual dicho recurso se encuentra sujeto a su disponibilidad en áreas silvestres (Gálvez-Trejo, et al. 2023).

El cultivo *in vitro* se ha convertido en una estrategia crucial para fines de conservación y multiplicación de germoplasma, permitiendo la preservación de genotipos de interés y disminuyendo la presión derivada de colectas sobre las poblaciones silvestres de plantas útiles, siendo una solución adecuada para especies de difícil germinación permitiendo además la producción de material libre de patógenos (Theliade y Petri, 2003).

En el género *Satureja* se han probado múltiples procedimientos para potenciar la germinación de semillas de dichas especies (Vidak et al., 2022; Afzalifar et al., 2015). Entre ellos se ha utilizado Ácido giberélico GA<sub>3</sub> y remojo en agua logrando incrementar el porcentaje de germinación en especies como *S. khuzistanica* y *S. rechingeri* (Afzalifar et al., 2015).

El objetivo de este trabajo fue probar el efecto de la imbibición en agua y GA<sub>3</sub> sobre la germinación de semillas de *Satureja macrostema* en condiciones *in vitro*.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

Se utilizaron semillas provenientes del municipio del cerro de la de Kutsanda, Cherán, Michoacán (19°38'02.4"N 101°56'52.8"W) 2800 msnm, que se almacenaron a 4°C hasta su uso. Este fue desinfectado a partir de un enjuague con etanol al 70%, por 2 minutos, enjuague con agua destilada estéril 5 minutos, lavado con hipoclorito de sodio al 5% 15 minutos y 3 enjuagues con agua destilada estéril.

### Tratamientos pre-germinativos

Las semillas se sometieron a una imbibición en agua destilada estéril durante 0, 24 y 48 horas, las semillas se colocaron en tubos de 2 ml, se utilizaron 60 semillas por tratamiento, y se sembraron en frascos con 15 ml de medio.

Se empleó un diseño factorial (Imbibición y GA<sub>3</sub>) completamente al azar que combinó dos factores: tiempo de imbibición (0, 24 y 48 horas) y concentración de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) (0, 500 y 1000 ppm). Cada tratamiento consistió en 4 repeticiones cada una con 15 semillas. La variable respuesta fue la germinación (número de semillas germinadas por frasco).

### Medio de cultivo

Medio MS. Sacarosa 3%, 7.5 g/L de agar con un pH de 5.8. Las semillas se sembraron en frascos de vidrio con 15 ml de medio, en condiciones de oscuridad, 17 ±19 °C. La germinación fue monitoreada diariamente. Medios seleccionados fueron suplementados con GA<sub>3</sub> para probar su efecto en la germinación de las plántulas.

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza de dos vías, seguido de una prueba LSD para la comparación de medias utilizando Statgraphics Centurion XIX ®.

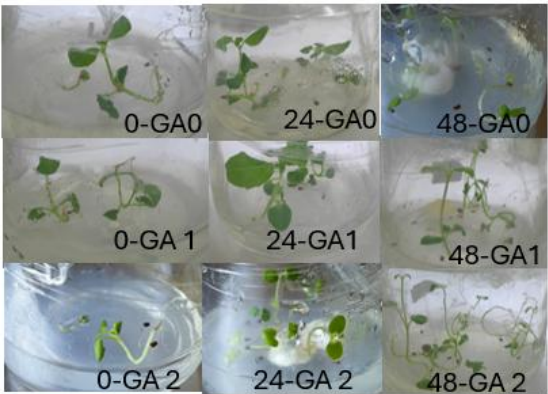
## Resultados

En la prueba ANOVA no se registraron diferencias significativas entre tratamientos, P= 0.1255. Sin embargo, el tratamiento de 24 horas de imbibición y sin GA<sub>3</sub> en el medio presentó una mayor media de germinación con un porcentaje de 45% de semillas germinadas (**Figura 1**). En contraste, el tratamiento de 0 horas de imbibición y 1000 ppm en el medio presentó el porcentaje más bajo de semillas germinadas con un 8.3%. En el ANOVA de dos vías se presentó una diferencia significativa (p= 0.044) (**Tabla 1**). Los tratamientos de 24 horas de

imbibición fueron los que presentaron una mayor media de semillas germinadas por unidad experimental seguida del tratamiento de 48 horas.

**Tabla 1.** Efectos del factor de imbibición en agua sobre la germinación de semillas de *S. macrostema*.

Imbibición H2O (horas)	Nº observaciones	Media germinación UE	de por
0	12	3.4157 <sup>B</sup>	
24	12	6.0833 <sup>A</sup>	
48	12	4.6555 <sup>AB</sup>	
Letras en cada media (en columna) indican diferencias significativas entre las distintas concentraciones (p=0.044) según test LSD.			



**Figura 1.** Plántulas obtenidas mediante los distintos tratamientos de germinación de *S. macrostema*. En el extremo izquierdo se observa el nombre de los diferentes tratamientos los números corresponden a la imbibición en horas (0,24 y 48) y GA corresponde al nivel de concentración utilizado (0, 500, 1000 PPM)

### Discusión

El uso de GA<sub>3</sub> ha sido reportado anteriormente como un disruptor de dormancia para las semillas de diversas especies de plantas como *S. khuzistanica* (Afzalifar et al., 2015) sin embargo, su uso en algunas dosis puede reducir significativamente la germinación. En la especie de este estudio pudimos observar ese efecto inhibitorio en concentraciones de 500 y 1000 ppm. En otras Lamiáceas como *Slavia officinalis* (Stoian et al., 2024), se ha optado por la imbibición en periodos cortos de tiempo, esto con el fin de estimular de manera física la resistencia del endospermo, para dicha especie periodos cortos de 12-48 horas han resultado adecuados para estos fines, de forma concordante con nuestros resultados donde el tiempo óptimo de imbibición fue de 24 horas.

### Conclusiones

La imbibición en agua por 24 h aumentó la germinación *in vitro* de *Satureja macrostema*. En cambio, el GA<sub>3</sub> redujo la germinación, especialmente a 1000 ppm. Para esta especie se

recomienda en consecuencia, priorizar el remojo 24 h y, si se evalúa GA<sub>3</sub>, probar solo rangos bajos.

### Agradecimientos

Agradecemos a SECIHTI por la beca otorgada, al Instituto Politécnico Nacional y el CIIDIR-IPN Unidad Michoacán por las facilidades en la elaboración de este trabajo.

### Referencias bibliográficas

- Afzalifar, M., Hasa-Ghorbani, G., Maryam, P., & Hadian, J. (2015). Seed germination improvement of *Satureja khuzistanica* and *S. rechingeri* (Lamiaceae) as valuable endemic medicinal species from Iran. *IJAAAR*, 7(2), 93–99.
- Gálvez-Trejo, F. A., Hernández-Maldonado, G., & Rosas-Cárdenas, F. F. (2023). *Nurite en Monografías de Plantas Medicinales en Traspacios de Cherán, Michoacán*. En Mena-Violante, G., García-Ruiz, I., Rodríguez-Torres, M. D., Ceja-Díaz J. A., Cárdenas-Valdovinos, J., Estrella-Santiago, D. P., & Sánchez-Martínez, M. (Eds.). Tecnológica Autónoma del Pacífico, pp. 21–22.
- González-Gallegos, J. G., Castro-Castro, A., Quintero-Fuentes, V., Mendoza-López, M. E., & De Castro-Arce, E. (2014). *Revisión taxonómica de Lamiaceae del occidente de México*, 7, 1–548.
- Stoian, V. A., Gâdea, Ș., Vidican, R., Balint, C., Stoian, V., Vâtcă, A., Truşcă, M., Horvat, M., Brozović, B., Camen, D., & Vâtcă, S. D. (2024). Seed priming methods tested on *Salvia officinalis* L. germination according to BBCH scale. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 52(2), 13676. <https://doi.org/10.15835/nbha52213676>
- Theilade, I., & Petri, L. (2003). *Conservation of tropical trees ex situ through storage and use*. Guidelines and Technical Notes No. 65. Danida Forest Seed Centre, Humlebæk, Denmark.
- Torres-Martínez, R. (2013). *Determinación del contenido de compuestos volátiles en etapas de desarrollo y durante la fertilización y micorrización en Nurite (Satureja macrostema (Benth.) Briq.)*. Tesis de maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Biblioteca virtual UMSNH.
- Vidak, M., Lazarević, B., Nekić, M., Šatović, Z., & Carović-Stanko, K. (2022). Effect of hormonal priming and osmopriming on germination of winter savory (*Satureja montana* L.) natural population under drought stress. *Agronomy*, 12(6), 1288.

## BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNp's) Y NANOENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) PARA LA INHIBICIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa*

Jessica Andrea Hernández Celis<sup>1</sup>, Marlon Rojas López<sup>2</sup>, Rocío Pérez y Terrón\*

<sup>1,2</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional. Carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5. Tepetitla, Tlax. México.

<sup>3</sup>Benemerita Universidad Autónoma de Puebla. Col. Jardines de San Manuel. Puebla, Puebla.

\*jhernandezc2300@alumno.ipn.mx

### Resumen

*Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria altamente patógena y con cepas multi y panresistentes a antibióticos, cada año el número de infecciones provocadas por esta bacteria es mayor, afectando los tratamientos con antibióticos e incrementando las tasas de mortalidad y morbilidad. Por lo antes mencionado se busca el uso de extractos de café con presencia de compuestos poli fenólicos como el ácido clorogénico y el ácido cafeico, para ser encapsulados en dos tipos de nanopartículas, formando una sinergia con el extracto. Las nanocápsulas fueron sintetizadas por gelación iónica, utilizando quitosano de peso molecular bajo y TPP (v/v), mientras que las nanopartículas de oro se sintetizaron por reducción química. Las pruebas de inhibición se realizaron en medio líquido con turbidimetría a 600 nm. Se obtuvo una inhibición del 99% para nanocápsulas con 9 mg/mL de extracto de café contra diferentes cepas bacterianas clínicas de *P. aeruginosa* y se calculó la Concentración mínima bactericida de las nanocápsulas en 1.8 mg/mL.

**Palabras clave:** inhibición, extracto de café, nanocápsulas y nanopartículas de oro

### Introducción

Entre las bacterias más peligrosas (OMS., 2017), se encuentra *Pseudomonas aeruginosa*, la cual provoca infecciones nosocomiales principalmente en pacientes inmunocomprometidos, es altamente persistente, presenta una variedad de mecanismos de resistencia contra antibióticos, y también se ha reportado que provoca el 10% de las infecciones adquiridas en hospitales a nivel mundial (Pang et al., 2019). Los extractos vegetales son una mezcla compleja de compuestos fitoquímicos, los cuales pueden utilizarse como agentes reductores en la biosíntesis de nanopartículas (Bonilla-Nepomuceno et al., 2021), incluso pueden nanoencapsularse y funcionalizarse con diferentes materiales con el fin de potenciar sus efectos inhibitorios contra bacterias (Sulaiman et al., 2013). Las nanocápsulas pueden transportar diferentes sustancias, lo que permite la estabilidad, así como su entrega y liberación de forma prolongada sobre el sitio blanco, aumentando la biodisponibilidad y biocompatibilidad de sus compuestos (Donsi et al., 2011). También las nanopartículas de oro tienen diferentes aplicaciones, debido a su estabilidad y su baja toxicidad, pueden transportar sustancias que las recubran (Keijok et al., 2019). Los extractos de café tostado han reportado actividad antimicrobiana debido a la gran variedad de compuestos fitoquímicos, entre los cuales destacan la acción de los ácidos clorogénicos (Duangjai et al., 2016; Khochapong et al., 2021). Por tal motivo como objetivo del trabajo se pretende utilizar el extracto vegetal de café, que contiene una gran cantidad de compuestos fitoquímicos como fenoles, alcaloides y terpenos, en



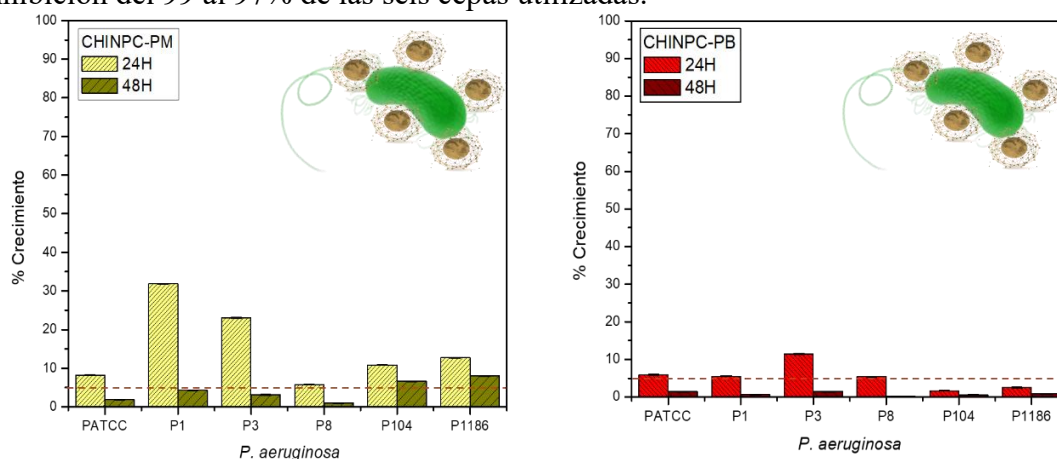
conjunto con las nanocápsulas y las nanopartículas de oro para formar una sinergia y potenciar los efectos del extracto de café por estos dos tipos de síntesis para inhibir el crecimiento de cepas resistentes a antibióticos de *P. aeruginosa*.

## Materiales y métodos

Se utilizó café orgánico y con tostado medio del municipio de Huitzilán de Serdán en la Sierra Norte de Puebla. Se utilizaron dos pesos moleculares de quitosano (peso molecular medio y bajo) y tripolifosfato de sodio de la marca Sigma Aldrich. Se utilizaron seis cepas bacterianas, una cepa ATCC 27853 (PATCC) y cinco clínicas (P1, P3, P8, P104 y P1186) de *P. aeruginosa*, donadas por el Hospital Infantil Federico Gómez. La extracción del café se llevó a cabo por método sólido-líquido a 80°C con una concentración de 10°Bx, posteriormente se filtraron por membrana Millipore de 0.45 µm y se liofilizaron. La síntesis de las nanocápsulas de quitosano se llevó a cabo por la técnica de gelación iónica con algunas modificaciones (Antoniou et al., 2015), agregando una concentración de extracto de café de 9 mg/mL. Las pruebas de inhibición se realizaron en medio líquido (Luria Bertani) mediante nanocápsulas con extracto de café (v/v) y agregando 4µL de 1x10<sup>8</sup> UFC/mL de las respectivas cepas bacterianas. Estas pruebas se realizaron con turbidimetría OD600 y se sembraron en placa de Mueller Hinton para corroborar la viabilidad; finalmente se calculó la Concentración Mínima Bactericida (CMB) con una serie de diluciones en porcentaje de las nanocápsulas (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 y 10) sin variar la cantidad de medio LB ni de bacteria inoculada, estas pruebas también se realizaron por turbidimetría OD600.

## Resultados

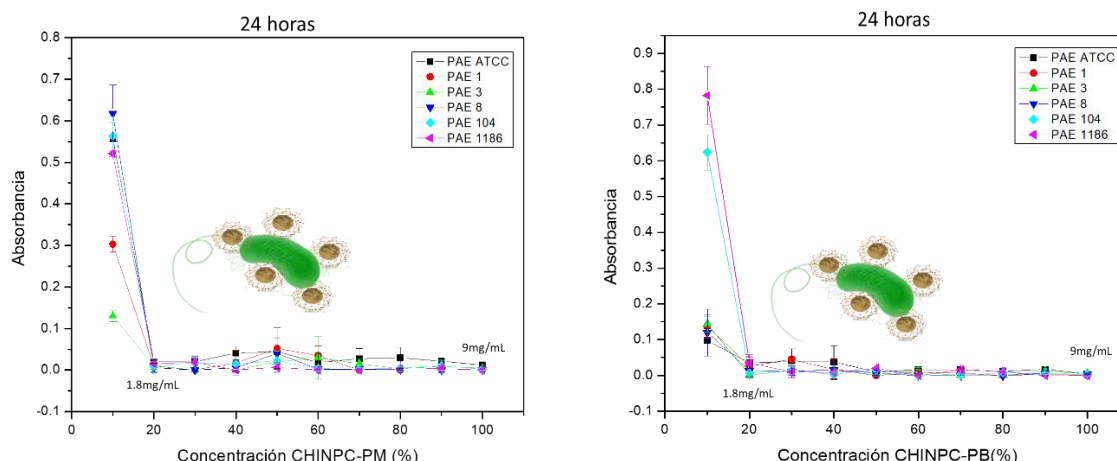
Para las pruebas de inhibición con las nanocápsulas con quitosano de peso molecular medio (CHINPC-PM), se observó crecimiento bacteriano mayor al 20% solo en las cepas P1 y P3, para las 48 horas el crecimiento disminuyó para todas las cepas siendo del 10% para las cepas P104 y P1186, y menor al 5% para las demás cepas. Para las nanocápsulas con quitosano peso bajo (CHINPC-PB), se obtuvo una inhibición mayor desde las 24 horas comparadas con las CHINPC-PM, debido a solo la cepa P3 tuvo un crecimiento solo del 10% y para las 48 horas todas las cepas presentaban crecimiento menor o igual al 3%, es decir hubo una inhibición del 99 al 97% de las seis cepas utilizadas.



Gráfica 1: Porcentaje de crecimiento de cepas de *P. aeruginosa* en 24 y 48 horas con CHINPC-PM y CHINPC-PB. Presentaron diferencias significativas entre tiempos y tratamientos  $P < 0.05$ .



Posteriormente se calculó la CMB de ambos tipos de nanocápsulas (CHINPC-PM y CHINPC-PB) donde se observó que la dosis mínima eficaz de cada tratamiento es del 20% (1.8 mg/mL) de los tratamientos originales y para PAE ATCC con CHINPC-PM es del 30% (2.7 mg/mL).



Gráfica 2: CMB de cepas de *P. aeruginosa* en 24 con CHINPC-PM y CHINPC-PB.

## Discusión

De los resultados antes presentados, se observa que ambos tipos de nanocápsulas CHINPC-PM y CHINPC-PB muestran una gran capacidad inhibitoria, en comparación con lo reportado por Pérez y Terrón et al, 2025; quienes utilizaron solo el extracto de café concentrado para lograr inhibir el crecimiento del 100% de *P. aeruginosa*. Esto corrobora el potencial del extracto de café y la sinergia que forma al nanoencapsularse con quitosano.

Otros autores como Duangjai et al, 2016, utilizaron una concentración de 300 mg/mL de extracto de pulpa de café y obtuvieron una CMI de 75 mg/mL. En este trabajo se utilizó una concentración de extracto de café de 9 mg/mL y la CMB determinada fue de 1.8 mg/mL, corroborando la sinergia y el aumento de la actividad inhibitoria mediante la nanoencapsulación. Algunos autores como Khochapong et al, 2021, utilizaron diferentes concentraciones de extracto de pulpa de café (300-150 mg/mL) sin lograr inhibir el crecimiento bacteriano de tres tipos de bacterias, esto puede deberse a diferentes factores, desde el tipo de preparación del extracto hasta la forma de cultivo del Café, haciendo énfasis en que el extracto de café necesita estar muy concentrado para obtener actividad inhibitoria, mientras que con las nanocápsulas de quitosano se puede obtener esta actividad con concentraciones bajas.

## Conclusiones

Las nanocápsulas sintetizadas con quitosano en dos modalidades (peso molecular medio y bajo), con extracto de café de 9mg/mL, son capaces de inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa*, y tienen una CMB de hasta el 20%, lo cual se propone seguir realizando más pruebas para el desarrollo de un tratamiento para la inhibición del crecimiento bacteriano de *P. aeruginosa* aprovechando el potencial de los extractos de café.

## Agradecimientos

Se agradece a la Secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo económico brindado en la realización del programa de posgrado.

Se agradece al Hospital Infantil de México Federico Gómez por la donación de las cepas de *P. aeruginosa* utilizadas en el presente trabajo.

## Referencias bibliográficas

- Antoniou J, Liu F, Majeed H, Qi J, Yokoyama W, Zhong F (2015) Physicochemical and morphological properties of size-controlled chitosan- tripolyphosphate nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 465:137-176.
- Bonilla-Nepomuceno G, Ríos-Corripio MA, Gómez-Merino FC, Méndez-Rojas MA, Arcila-Lozano LS, Hernández-Cázares AS, & Rojas-López M (2021) Analysis by response Surface methodology of gold nanoparticles obtained by green chemical reduction using aqueous coffee Pulp extract (*Coffea arabica*). *Can. J. Chem.* 99:519-530
- Donsi F, Annunziata M, Sessa M, Ferrari G (2011) Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Sci. Technol.* 44:1908-1914
- Duangjai A, Suphrom N, Wungrath J, Ontawong A, Nuengchamnong, Yosboonruang A (2016) Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integr. Med. Res.* 5:324-331
- Keijok WJ, Pereira RHA, Alvarez LAC (2019) Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Coffea arabica* using factorial design. *Sci. Rep.* 9:16019
- Khochapong W, Ketnawa S, Ogawa Y, and Punbusayakul N (2021) Effect of in vitro digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) Pulp aqueous extract. *Food Chemistry.* 348:129094
- Organización Mundial de la Salud (2017) OMS publica lista de bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Ginebra. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, and Cheng Z (2019) Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances.* 37:177-192
- Perez y-Terrón R, Hernández-Celis JA, Hernández-Chávez E (2024) Inhibitory activity of garlic, coffee, basil, oregano, and Rosemary extracts against pathogenic bacteria. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* 8:7774-7788
- Sulaiman GM, Mohammed WH, Marzoug TR, Al-Amiery AAA, Kadhum AAH, & Mohamad AB (2013) Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using *Eucalyptus chapmaniana* leaves extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3:58– 63

## PREDICCIONES MEDIANTE MODELADO MOLECULAR PARA IDENTIFICAR INHIBIDORES DE CATEPSINA B

Alma Cecilia Ibarra Buelna<sup>1\*</sup>, Eliud Ulises Aguilar Durán<sup>1</sup>, Bryan German Pineda Cagua<sup>1</sup>, Lenci Karina Vázquez Jiménez<sup>1</sup>, Eyra Liliana Ortiz Pérez<sup>1</sup>, Gildardo Rivera Sánchez<sup>1</sup>, Fernando Gómez Chávez<sup>2</sup>, Edgar Eduardo Lara Ramírez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional – Centro de Biotecnología Genómica, Blvd del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamps. <sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional – Escuela Nacional de Medicina y homeopatía, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México, CDMX

\*aibarrab2300@alumno.ipn.mx

### Resumen

La Catepsina B (CatB) es una proteína lisosomal con funciones fisiológicas esenciales, pero cuya sobreexpresión y deslocalización se relacionan con la progresión del cáncer, convirtiéndola en un blanco terapéutico de interés. En este estudio se buscó establecer parámetros que permitan predecir potenciales inhibidores de CatB mediante un enfoque computacional, a partir de un cristal de CatB humana con una resolución de 1.45 Å, al cual se le realizaron dinámicas moleculares para validar la estabilidad a lo largo de 500ns que mostraron estabilidad durante este tiempo. El complejo mostro estabilidad a lo largo del tiempo con valores de RMSD cercanos a los 50 Å, se validó con un análisis de interacciones que demostró interacciones estables dentro del sitio catalítico. Lo que nos permite fundamentar el posterior cribado computacional validado con señuelos para predecir potenciales inhibidores de CatB y seleccionar potenciales candidatos para validarse mediante técnicas *in vitro* en estudios posteriores.

**Palabras clave:** Catepsina B, terapia dirigida, cribado virtual.

### Introducción

La CatB es una proteína lisosomal monomérica (Mort y Buttle 1997), en condiciones fisiológicas normales participa en procesos esenciales en la célula, como lo es la participación en la degradación de proteínas mal plegadas o dañadas, regulación de procesos hormonales y respuesta inmunológica (Yadati et al. 2020). Recientemente se ha observado que, en condiciones fisiológicamente anormales, la CatB participa en procesos patológicos entre ellos el cáncer (Stoka et al. 2023).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe al cáncer como un grupo de enfermedades multifactoriales que tienen en común la proliferación descontrolada de células anormales, según cifras presentadas en el 2020 por la OMS se estima que alrededor de 10 millones de personas a nivel mundial mueren, lo que representa 1 de cada 6 muertes anuales a causa de este grupo de enfermedades (OMS 2025). Los tratamientos convencionales involucran procedimientos altamente invasivos como lo son la cirugía, quimioterapia, terapia hormonal, radioterapia, por mencionar algunas (Kaur et al. 2023, OMS 2025).

Durante el proceso de replicación de células cancerosas, la CatB suele encontrarse alterada, lo que lleva a una sobreexpresión, deslocalización y por ende actividad celular anormal, en el cáncer la CatB participa en los procesos asociados a la metástasis, como lo es la

angiogénesis, intravasación, extravasación e invasión de tejidos celulares, es por ello, que debido a su participación en la proliferación de células cancerosas la CatB se ha convertido en un blanco de interés para terapia dirigida hacia este grupo de enfermedades (Abdulla et al. 2017, Park et al. 2023, Stoka et al. 2023). Este trabajo tiene como objetivo predecir potenciales inhibidores contra CatB utilizando técnicas computacionales, para posteriormente validarlas en ensayos *in vitro*.

### **Materiales y métodos**

Se realizó una búsqueda en Protein Data Bank (PDB) cristales de CatB humana con una resolución  $\leq 2.5$  Å, X-Ray Diffraction, estableciendo como criterios, máximo una mutación fuera del sitio catalítico y un ligando co-cristalizado.

El cristal se preparó utilizando Chimera X v.1.9 y AutoDock Tools v.1.5.7, el ligando se preparó utilizando OpenBabel v.3.1.1

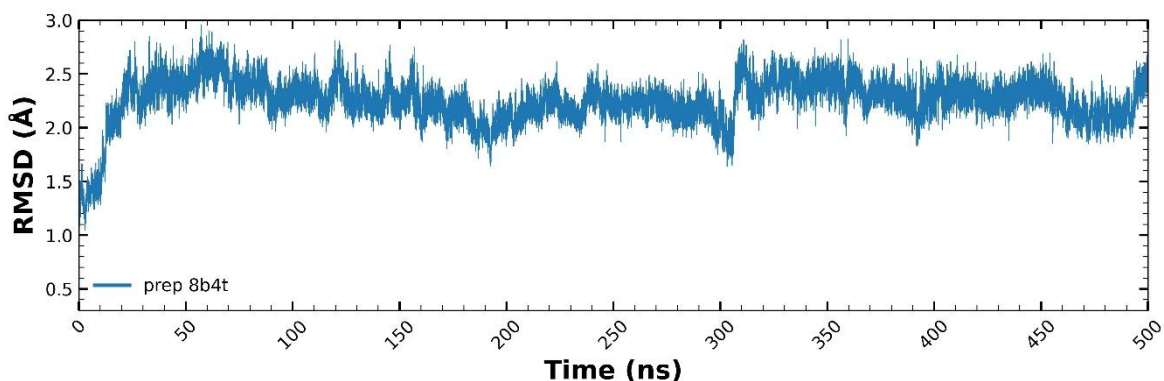
Se corrió una dinámica molecular a 500 ns para determinar la estabilidad de la proteína con el ligando y posteriormente se extrajeron a partir del punto de convergencia 3 poses a las cuales se les realizó re-docking para comparar la pose predicha con la pose previamente obtenida. Este procedimiento es esencial para realizar una segunda validación a partir de los compuestos que se encuentran disponibles en la base de datos de ChEMBL como potenciales inhibidores de CatB con IC50 reportado, donde a partir de los compuestos activos se generarán 50 señuelos y se generarán las curvas AUC-ROC en donde se determinará si el modelo es capaz de predecir compuestos activos sobre los inactivos asegurándonos que no obtendremos falsos negativos en el ensayo.

Como parte del uso de técnicas computacionales para predecir potenciales inhibidores de CatB, se desarrollarán algoritmos de Machine Learning basándonos en los inhibidores reportados en ChEMBL previamente descargados para entrenar modelos que nos permitan predecir potenciales inhibidores de la proteína.

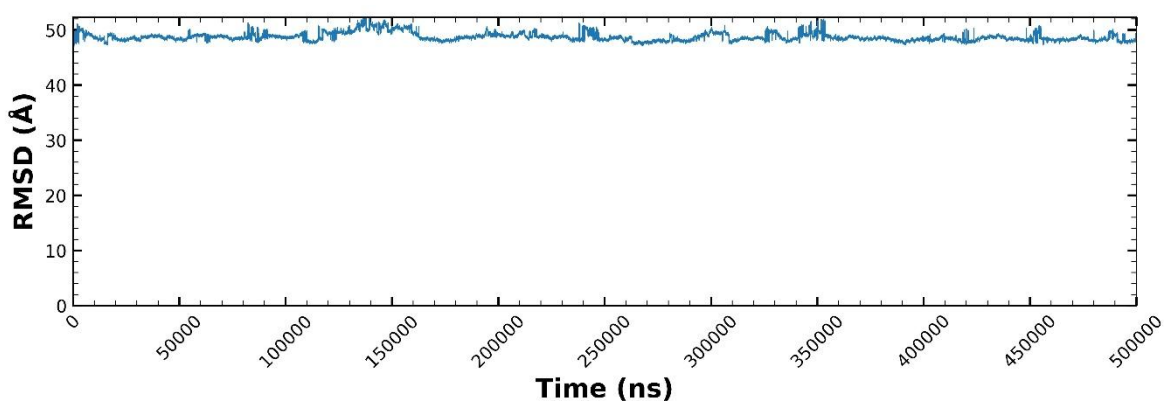
Una vez validados ambos modelos se procederá al cribado de la base de datos COCONUT, donde se seleccionarán al menos 10 compuestos de cada uno de los modelos previamente validados, para el caso de Docking se seleccionarán con base en la energía de afinidad y el punto de corte previamente establecido durante el re-docking, para el caso del modelo de Machine Learning se seleccionarán los compuestos con base en  $\geq 90\%$  de probabilidad de ser compuestos activos, posteriormente se realizarán predicciones del perfil farmacocinético de los compuestos y su estabilidad mediante dinámicas moleculares a 500ns, para finalmente obtener al menos 2 compuestos los cuales serán evaluados en ensayos *in vitro*.

### **Resultados**

A partir de los 19 cristales reportados en PDB para catepsina B humana se seleccionó un cristal con una resolución de 1.45 Å, experimentalmente obtenido por difracción de rayos-X, con un ligando co-cristalizado en el sitio catalítico con un peso de 472.96 g/mol y una sola mutación fuera del sitio catalítico. Durante la dinámica molecular de la proteína se observó que se mantiene la estabilidad del de la apo-proteína a lo largo de la dinámica, durante los primeros 5 ns se observa una ligera inestabilidad que se mantiene hasta los 300 ns, donde se observa un segundo cambio que se mantiene hasta los 500 ns (Fig 1). En el caso de la dinámica correspondiente al complejo receptor-ligando se observó que hay una estabilidad a lo largo de la dinámica sin cambios notorios desde el primer ns y este se mantiene durante los 500 ns que duró la dinámica (Fig 2).



**Figura 2** Gráfico RMSD dinámica molecular 500 ns del receptor



**Figura 3** Gráfico RMSD dinámica molecular 500 ns complejo receptor-ligando

### Discusión

Durante la dinámica molecular de 500ns del receptor sólo se observó estabilidad a lo largo de la dinámica con un RMSD < 3.0 Å, esto siendo un RMSD bajo que no indica que la estructura del receptor se mantiene estable a lo largo de la simulación, por otro lado durante la dinámica molecular correspondiente a los 500ns del complejo receptor-ligando a pesar que se observó una mayor estabilidad a lo largo de los 500ns el RMSD obtenido fue cercano a los 50 Å, siendo un RMSD elevado, lo que nos indica que podría deberse a fluctuaciones que sufrió el ligando durante la dinámica, ya que este se acopló diferente a la pose inicial, sin embargo una vez que este se acopló mantuvo su posición a lo largo de la dinámica, para confirmar las interacciones que se generaron entre el ligando y los residuos del receptor se comprobaron en PLIP a partir de 3 poses que se extrajeron a partir de la dinámica, donde se confirmaron que estas interacciones se mantenían a lo largo del tiempo, mismas que se encuentran en el sitio catalítico, así como dentro de las coordenadas de la caja.

### Conclusión

Este trabajo permitió la selección de un cristal de CatB, así como la validación de la estabilidad de este, estableciendo la base para continuar con la identificación y validación de potenciales inhibidores de CatB como potencial terapia anticancerígena.

## Referencias bibliográficas

- Abdulla, M. H., Valli-Mohammed, M. A., Al-Khayal, K., Al Shkieh, A., Zubaidi, A., Ahmad, R., Al-Saleh, K., Al-Obeed, O., & McKerrow, J. (2017). Cathepsin B expression in colorectal cancer in a Middle East population: Potential value as a tumor biomarker for late disease stages. *Oncology Reports*, 37(6), 3175–3180.
- Matarresse P, Ascione B, Ciarlo L, Vona R, Leonetti C, Scarsella M, Mileo A, Catricala C, Paggi M, Malorni W (2010). Cathepsin B inhibition interferes with metastatic potential of human melanoma: an in vitro and in vivo study. *Molecular Cancer*. 9:207
- Mort J, Buttle D (1997), Cathepsin B. *J. Biochem. Cell Biol* 29(5): 715-720.
- Park A, Lee J, Yang S, Lee D, Kang T (2023). Development of a Peptide-Based Nano-Sized Cathepsin B Inhibitor for Anticancer Therapy. *Pharmaceutics* 15(4): 1131
- Stoka, V., Vasiljeva, O., Nakanishi, H., & Turk, V. (2023). The Role of Cysteine Protease Cathepsins B, H, C, and X/Z in Neurodegenerative Diseases and Cancer. In *International Journal of Molecular Sciences* 24(21)
- OMS (2025). *Cancer*. [Online]. Available from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Yadati, T., Houben, T., Bitorina, A., & Shiri-Sverdlov, R. (2020). The Ins and Outs of Cathepsins: Physiological Function and Role in Disease Management. *Cells* 9(7).



## IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES EN EL GEN *CYP2D6* PREDICTORAS DEL FENOTIPO DE DEXTROMETORFANO EN POBLACIÓN INDÍGENA MEXICANA

<sup>1</sup>Leobardo Ibarra Sánchez, <sup>1</sup>Carlos Galaviz Hernández, <sup>2</sup>Adrian Llerena, <sup>1</sup>Martha Sosa Macías\*

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional. Calle Sigma No. 119 Fracc. 20 de Noviembre II, C.P. 34220 Durango México. <sup>2</sup>Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura, Av. de Elvas s/n, 06006 Badajoz, España.

\*msosam@ipn.mx

### Resumen

La respuesta a medicamentos es altamente variable entre individuos, la influencia de los factores genéticos explica alrededor del 30% de esa variación. La enzima CYP2D6 es responsable del metabolismo del 25% de los fármacos usados en la clínica. El gen *CYP2D6* presenta variantes de nucleótido único (SNV) y variaciones en el número de copias (CNV) que afectan la actividad enzimática. Aunque se ha estudiado principalmente en poblaciones caucásicas, en México la diversidad genética indígena sigue poco explorada. Identificar variantes genéticas específicas de *CYP2D6* en comunidades indígenas es clave para encontrar marcadores de respuesta a los fármacos en la población mexicana. Este trabajo tiene como objetivo identificar SNV y CNV específicas de la población indígena mediante secuenciación de nueva generación y Sanger. Las variantes genéticas encontradas serán caracterizadas *in silico*, para realizar posteriormente un genotipado y fenotipado en población general y validar su aplicabilidad. Hasta el momento se ha realizado el muestreo en 2 comunidades de origen huichol y cora, se han captado muestras de 10 voluntarios de 66 seleccionados. Se ha realizado la extracción del ADN genómico y se ha determinado su concentración, pureza e integridad para su posterior análisis mediante secuenciación de nueva generación y análisis de CNVs.

**Palabras clave:** CYP2D6, SNV, CNV, fenotipo, genotipo

### Introducción

Se estima que existe una variabilidad en la respuesta a los medicamentos que ronda entre el 50% y el 75%. Dicha variabilidad depende de diversos factores entre los que destaca el genético, que contribuye con 30%, y del que depende en cierta medida el desarrollo de reacciones adversas a medicamentos o falla en la respuesta a un tratamiento (Taylor et al. 2020). La farmacogenética ha estudiado la influencia de diversos genes en la respuesta a fármacos, entre los que se incluyen los que codifican el complejo enzimático CYP450 (CYP). Las enzimas CYP biotransforman una gran cantidad de fármacos para que puedan eliminarse más fácilmente por la bilis o la orina. La enzima CYP2D6 se encarga de metabolizar el 25% de los fármacos usados en la práctica clínica (Zhao et al. 2021). El gen *CYP2D6* es altamente polimórfico como se demuestra por la presencia de SNV y de CNV que afectan la función de la enzima, en la actualidad se encuentran reportadas más de 160 variantes genéticas.

La distribución y frecuencia de las variantes genéticas de *CYP2D6* depende del origen étnico (Koopmans et al. 2021). México es un país rico en diversidad étnica, el 19.4% de su población corresponde a personas que se identifican como indígenas (INEGI 2022). En un estudio realizado en 8 poblaciones indígenas de México se encontró que SNV y CNV en *CYP2D6*, que son de alta frecuencia en otras poblaciones, no explicaron la actividad metabólica de la enzima (fenotipo) (de Andrés et al., 2017). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es encontrar variantes genéticas específicas de la población indígena mexicana que sean predictoras de la respuesta a fármacos y que puedan ser de utilidad en la población mestiza.

## **Materiales y métodos**

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital General 450 de la SSA de Durango. Las muestras de voluntarios indígenas que se evaluarán pertenecen a una genoteca resguardada en el CIIDIR Durango. La ancestría indígena de la población fue confirmada mediante STR (Short tandem repeat) la cual fue mayor al 90% (Rangel-Villalobos 2016). Debido a que no se cuenta con suficiente cantidad de ADN para la búsqueda de las nuevas variantes (SNV y CNV) se realizará nuevamente el muestreo en diferentes comunidades de origen Huichol, Tarahumara, Cora, Tepehuano y Mexicanero (de Andrés et al. 2017). Se evaluarán adultos residentes del municipio de Durango. Se verificará que los voluntarios cumplan con los criterios de selección. Posteriormente, se aplicará un cuestionario en el que se registrarán variables antropométricas, historia personal y familiar de eventos adversos o falla a medicamentos, hábitos dietéticos, así como otros padecimientos. El reclutamiento se realizará hasta completar 175 individuos. Para realizar el fenotipado, los individuos en ayuno recibirán una dosis de dextrometorfano (Dx) (30 mg). Después de 3 h será recolectada una muestra de sangre periférica de la que se aislará el plasma que será almacenado a -80 °C hasta su análisis por HPLC-UV (de Andrés et al. 2017).

Posteriormente se calculará la tasa metabólica de *CYP2D6* de acuerdo con la siguiente relación:  $[Dx] / [\text{metabolito Dextrorfan}]$ . Menores tasas metabólicas indicarán un metabolismo más rápido (de Andrés et al. 2017). Para llevar a cabo la NGS se realizará una extracción de ADN será a partir de 500 µL de sangre total, la cual se tratará con una solución amortiguadora de lisis, NaCl y cloroformo (Iranpur 2010). Se diseñarán los cebadores a partir de la secuencia completa del gen *CYP2D6* (NG\_008376.4) para su amplificación. Se procederá a realizar la construcción de librerías usando el kit DNA tagmentation y se realizará la secuenciación mediante el equipo MiniSeq™. Las secuencias generadas se analizarán con el software Burrows-Wheeler (BWA-MEM) v0.7. Las lecturas se procesarán con el software Picard v1.135 para obtener los archivos BAM. Se hará el llamado de variantes con el software HaplotypeCaller y las variantes se observarán en archivos VCF (Chan et al. 2022). Las CNV se determinarán mediante sondas TaqMan® Gene Copy Number Assay (Applied Biosystems) y los primers. Se usarán de 25 – 100 ng de ADN genómico y se correrá una RT-PCR con el gen RNasa P como estándar interno. Se usará el método de Ct para determinar el número de copias (Contreras et al. 2011)

## **Resultados**

La selección de muestras se realizó tomando como base un estudio previo en el que se analizaron 11 variantes de *CYP2D6* relacionadas con baja o nula actividad enzimática, así como con una alta actividad metabólica (de Andrés et al., 2017). De las 450 muestras analizadas, se detectaron 66 individuos que portaron 3 o más copias del alelo silvestre (*wt*) de *CYP2D6*. Sin embargo, dicho genotipo no coincidió con el fenotipo esperado de Dx. Este

comportamiento sugiere la presencia de variaciones genéticas de *CYP2D6* no caracterizadas que podrían estar asociadas con una actividad disminuida.

Actualmente, se han realizado dos viajes de campo en los que se han captado 10 muestras de individuos de origen huichol y cora. Se procedió a realizar la extracción del gADN, se determinó su pureza y concentración mediante espectrofotometría.

Se procedió con el diseño de cebadores usando la secuencia NG\_008376.4 que corresponde al gen con secuencias flanqueantes obteniendo como resultado los siguientes pares de oligonucleótidos: 5' GAGCCGAGATCACACACCATT 3' (directo), 5' AAAAGGAAGTTGCTGCGTATC 3' (Inverso) y 5' GCACAGTGTAGCATTTATTCATTA 3' (directo), 5' GCTCTGGCTGGACTGGTTC 3' (inverso). Con estos cebadores se está estandarizando la reacción de amplificación del gen de estudio, la cual hasta el momento ha mostrado bandas inespecíficas.

## Discusión

El Dx es el fármaco ideal para evaluar la actividad de *CYP2D6* debido a su seguridad y amplia disponibilidad, y a que su metabolismo depende enteramente de *CYP2D6*. Por tanto, se puede analizar el efecto funcional que producirá una variante genética en *CYP2D6* y predecir el metabolismo de otros fármacos que no podrían utilizarse como sondas metabólicas por los riesgos de toxicidad (de Andrés et al. 2013).

Los cebadores utilizados para la amplificación del gen no han mostrado especificidad, esto se debe a la alta homología de *CYP2D6* con el pseudogen *CYP2D7* que se encuentra a 8.7 kb de distancia en el cromosoma 22. Una estrategia que se implementará es el diseño de cebadores sobre el espaciador en *CYP2D7* que es usado para aumentar la especificidad sobre el gen de interés. Junto a esta estrategia, la NGS tiene una alta resolución para identificar SNV y permite secuenciar el gen con sus secuencias flanqueantes para cubrir una mayor longitud. La XL-PCR permite determinar la presencia de CNVs y se suele combinar con métodos como qPCR usando una referencia con duplicaciones para determinar el número copias (Turner et al. 2023).

## Conclusiones

El uso de herramientas moleculares como secuenciación de nueva generación y la técnica de PCR de largo alcance para la detección de CNVs, permitirán la identificación de variantes genéticas específicas en la población indígena predictoras de respuesta a fármacos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la SECIHTI por el apoyo económico para realizar los estudios doctorales y a la SIP por el financiamiento otorgado a través del proyecto 20250970.

## Referencias bibliográficas

Chan E R, Mehlotra R K, Pirani K A, Ratsimbaoa A C, Williams S M, Gaedigk A, Zimmerman P A (2022) *CYP2D6* gene resequencing in the Malagasy a population at the crossroads between Asia and Africa: a pilot study. *Pharmacogenomics* 23:315–325.

Contreras A V, Monge-Cazares T, Alfaro-Ruiz L, Hernandez-Morales S, Miranda-Ortiz H, Carrillo-Sanchez K, Jimenez-Sanchez G, Silva-Zolezzi I (2011) Resequencing, Haplotype Construction and Identification of Novel variants of *CYP2D6* in Mexican Mestizos. *Pharmacogenomics* 12:745–756.

de Andrés F, Sosa-Macías M, Lazalde-Ramos B P, Naranjo M E G, Tarazona-Santos E, Llerena A, Moya G E, Ferreiro V, Fiedler J, Herrera L, Rojas-Ponce R, Sarmiento A P, Borbón A, Barrantes R, Jiménez-Arce G, Céspedes-Garro C, Rodeiro I, Álvarez M, Pérez B, González-Vacarezza N (2013) Evaluation of drug-metabolizing enzyme hydroxylation phenotypes in Hispanic populations: The CEIBA cocktail. *Drug Metabol. Drug Interact.* 28:135–146.

de Andrés F, Sosa-Macías M, Ramos B P L, Naranjo M E G, Llerena A (2017) CYP450 Genotype/Phenotype Concordance in Mexican Amerindian Indigenous Populations—Where to from Here for Global Precision Medicine?. *OMICS* 21:509–519.

INEGI (2022) Principales resultados Censo de Población y Vivienda 2020. Available from [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)

Iranpur V, Esmailizadeh A K (2010) Rapid Extraction of High Quality DNA from Whole Blood Stored at 4 °C for Long Period. [Online]. Protocol Online Available from <https://www.protocol-online.org/prot/Protocols/Rapid-Extraction-of-High-Quality-DNA-from-Whole-Blood-Stored-at-4-C-for-Long-Period-4175.html>

Koopmans A B, Braakman M H, Vinkers D J, Hoek H W, van Harten P N (2021) Meta-analysis of probability estimates of worldwide variation of CYP2D6 and CYP2C19. *Transl. Psychiatry* 11:141.

Rangel-Villalobos H, Martínez-Sevilla V M, Martínez-Cortés G, Aguilar-Velázquez J A, Sosa-Macías M, Rubi-Castellanos R, González-Martín A (2016) Importance of the geographic barriers to promote gene drift and avoid pre- and post-Columbian gene flow in Mexican native groups: Evidence from forensic STR Loci. *Am. J. Phys. Anthropol.* 160:298–316.

Taylor C, Crosby I, Yip V, Maguire P, Pirmohamed M, Turner R M (2020) A review of the important role of CYP2D6 in pharmacogenomics. *Genes* 11:1–23.

Turner A J, Nofziger C, Ramey B E, Ly R C, Bousman C A, Agúndez J A G, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Vanoni S, Dunnenberger H M (2023) PharmVar tutorial on CYP2D6 structural variation testing and recommendations on reporting *Clin Pharmacol Ther* 114:1220–1237.

Zhao M, Ma J, Li M, Zhang Y, Jiang B, Zhao X, Huai C, Shen L, Zhang N, He L, Qin S (2021) Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *Int. J. Mol.* 22:12808.

## ESTUDIO FUNCIONAL DE PROPIEDADES BIOACTIVAS DE GLUCANOS DE SETAS SILVESTRES DE LA REGION DE TEOLOCHOLCO, TLAXCALA

Rosalía, Juárez Atonal<sup>1</sup>, Adriana, Montoya Esquivel<sup>2</sup>, David Guillermo, Pérez Ishiwara<sup>3</sup>, Soley Berenice Nava Galicia<sup>1</sup>, Martha Dolores, Bibbins Martinez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala. CP 90700, Tepetitla, Tlaxcala, <sup>2</sup>Centro de Investigación de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, C.P 90120 Ixtacuixtla, Tlaxcala, <sup>3</sup>Laboratorio de Biomedicina Molecular, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Instituto Politécnico Nacional, CP. 07320 Ciudad de México, CDMX.

\*mbibbinsm@ipn.mx

### Resumen

Los hongos silvestres comestibles de la región de Teolocholco, Tlaxcala, tienen un alto valor ecológico, socio-cultural y económico. El aspecto ecológico es de gran relevancia para la conservación de la biodiversidad de los bosques, esto debido a la relación micorrízica hongo-planta. La identificación de cepas de este tipo de hongos es de gran valía para su preservación y para favorecer el uso sustentable de las mismas. Por lo anterior, en este trabajo de investigación se realizó la colecta, preservación e identificación taxonómica de setas de los géneros *Boletus sp.*, *Ramaria sp.* y *Helvella sp.* por claves taxonómicas y microscopía óptica. *Boletus* y *Ramaria* son descritas como hongos ectomicorrízicos, lo que resalta la necesidad de su conservación por los beneficios ecológicos, nutricionales y medicinales.

**Palabras clave:** Hongos ectomicorrízicos, *Boletus sp.*, *Ramaria sp.*, *Helvella sp.*

### Introducción

La asociación ectomicorrízica de hongos con plantas implica una categoría diversa de hongos *Basidiomycota*, *Ascomycota* y *Glomeromycota*. Estos hongos tienen más de 450 millones de años. Alrededor del 80% de las plantas terrestres, más del 90% de las familias de las plantas son micorrízicas (Khullar y Reddy 2019). En una simbiosis de hongos ectomicorrízicos, las plantas proporcionan al socio fúngico fotosintatos o carbohidratos almacenados a cambio de agua, minerales y nutrientes como N (nitrógeno) y P (fósforo) (Janowski y Leski 2023; Smith y Read 2008). Se estiman 10,000 especies de hongos que forman ectomicorrizas con las plantas anfitrionas. Estas pueden formar una estructura reproductiva visible de setas epígeas y trufas hipogeas a los pies de los árboles que colonizan. Los árboles anfitriones para hongos ectomicorrízicos incluyen familias como *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Betulaceae*, *Dipterocarpaceae* y *Caesalpiniaceae* distribuidas en bosques subtropicales, templados y boreales (Smith y Read 2008). Se sabe que, en Teolocholco, predominan estas familias de árboles en los bosques (36.43%) de abetos u oyameles (*Abies religiosa*), pinos (*P. leiophylla*, *P. montezumae*, *P. pseudostrobus*) y encinos (*Quercus rugosa*, *Q. crassipes*, *Quercus laeta*, *Q. obtusata*) (INEGI, 2010). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue identificar y preservar hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos de la región de Teolocholco, Tlaxcala, con un alto impacto cultural, social y económico.



## Materiales y métodos

### Área de estudio y recolección de ejemplares

La recolección de hongos silvestres se realizó en el municipio de Teolocholco, Tlaxcala, que se localiza entre los 19°23'143 N y los 98°14'326 O y los 19°23'367 N y los 98°15'836 O. El clima en esta región es templado subhúmedo con lluvias en verano (junio-septiembre) (INEGI, 2016). Las recolectas de los ejemplares se realizaron en el periodo de lluvias de la región, que comprendió de junio a octubre de 2025. Se realizaron 4 muestreos mensuales.

### Procesamiento e identificación de ejemplares

Para cada espécimen se tomaron los siguientes datos: fecha, predio, sustrato, coordenadas; en el pileo: tamaño, forma, margen, textura, color; en las láminas: unión, frecuencia, borde; en el estípite: forma, color, consistencia y características de la carne. Cada hongo se tomó sin dañar su ambiente, cortando el espécimen por su pie con un cuchillo (sin arrancar bruscamente) para no dañar el micelio. Se limpiaron los restos de vegetales o sustratos adheridos al pileo y el estípite, se envolvieron en papel encerado y se transportaron en una cesta (Del Conte & Laessee, 2008; Toledo et al., 2016). Se recolectaron dos cuerpos fructíferos por especie para su identificación taxonómica (macroscópica y microscópica) de acuerdo con guías especializadas con varias claves (García, 2001; Gastón, 1990). Cada espécimen se caracterizó en fresco y se tomaron fotografías de los hongos en el laboratorio. Para su conservación se deshidrataron a 50°C por 18 h, para su resguardo en el Herbario del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (CICB), UATx.

## Resultados

Se recolectaron 12 especímenes de basidiocarpos de hongos silvestres comestibles. Su mayor abundancia se presentó en los meses de lluvias continuas, julio-septiembre. Los especímenes de mayor abundancia entre julio y agosto fueron *Boletus* sp. y *Ramaria* sp. pertenecientes a la clase de *Basidiomycetes*, mismos que se describen a continuación:

*Boletus* sp. García., 2001. Pileo: hemisférico, convexo al madurar, superficie lisa, con tonalidades marrón, viscosa cuando está húmeda, de 6 a 20 cm de diámetro. Carne blanca y firme, conforme madura, se vuelve esponjosa. Estípite: robusto, ancho, fibroso y en la superficie puede tener granulaciones, de 10-20 cm de largo. Himenio: tubos paralelos, delgados y alargados, con tonalidades crema a amarillo verdoso cuando va madurando. Esporas: lisas, alargadas en huso y elipsoidales. Superficie de poros: pequeños, con forma redondeada, blanquecinos. Hábitat: bosques de pinos y encinos, tiene relación con las raíces de estos mismos árboles (Figura 1, a).

*Ramaria* sp. García., 2001. Cuerpo fructífero: forma coraloide muy ramificada, tronco delgado de color amarillento formado por numerosas ramas verticales, estrechas, largas y paralelas, y extremos bifurcados en puntas cortas. Carne blanca. Olor agradable. Esporas: elípticas, verrugosas. Hábitat: frecuentemente encontrada bosques de encino, aislada o en grupo (Figura 1, b).

De la clase *Ascomycetes* que fueron menos abundantes, se colectó 1 espécimen *Helvella* sp, misma que se describe a continuación:

*Helvella* sp. Gastón., 1990. Sombrero: de 5-8 cm en forma de silla de montar, coloración blanquecina a crema, superficie interna lisa. Pie: alveolado-acanalado longitudinalmente, formando costillas o surcos irregulares sobre la superficie, de 4-10 cm de alto, rara vez de 15 cm de alto. Esporas: elipsoides, lisas, ascosporas de 8 esporas, hialinas. Hábitat: bosques de encinos y pinos (Figura 1, c).



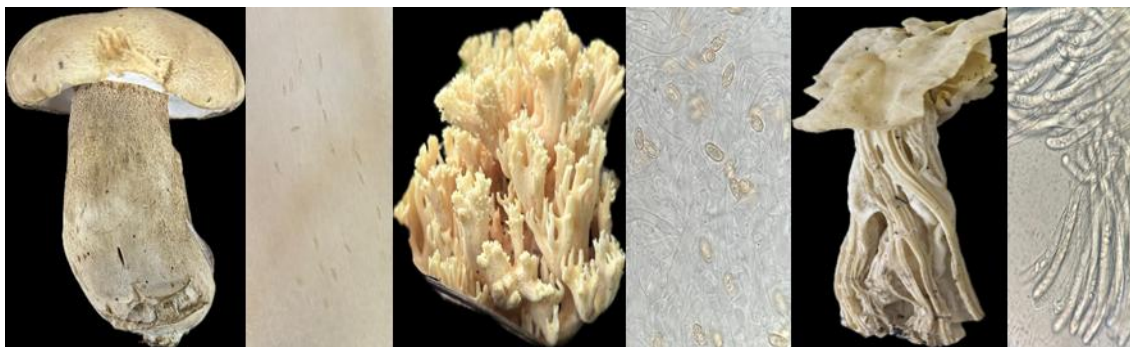


Figura 4. Características macroscópicas y microscópicas de a) *Boletus* sp., b) *Ramaria* sp., c) *Helvella* sp.

## Discusión

Todas las especies identificadas en el presente trabajo han sido reportadas como comestibles (Montoya et al., 2001). Dentro de la clase *Basidiomycetes* se encontró la familia *Ramariaceae* representada con una especie del género *Ramaria* (*Ramaria* sp.), la familia *Boletaceae* estuvo representada con el género *Boletus* (*Boletus* sp.), donde ambas tuvieron una incidencia en cuatro de los cinco meses de recolecta, además de que su abundancia fue evidente. Dentro de la clase *Ascomycetes*, la familia *Helvellaceae* fue representada con una especie del género *Helvella* (*Helvella* sp.); sin embargo, solo se colectó en el mes de septiembre, por su baja abundancia. Todas estas especies son muy apreciadas en la región de Teolocholco. Cabe resaltar que los géneros de *Boletus* y *Ramaria* se encuentran en el grupo de hongos ectomicorrízicos, por su asociación con suelos de bosques templados donde existen. Esta asociación, es relevante ya que tanto la planta como los hongos se ayudan mutuamente con diversos beneficios nutricionales y no nutricionales. Estos forman una densa red filamentosa que extrae agua y nutrientes del suelo y llega a las raíces de las plantas, acelerando así el crecimiento de las plantas y el desarrollo de las raíces. A cambio de todos estos beneficios, las micorrizas son premiadas con carbohidratos como la glucosa. Los hongos utilizan estos carbohidratos para su crecimiento y síntesis de glicoproteína glomalina que se libera en el suelo y mejora la estructura del suelo y el contenido orgánico (Khullar y Reddy 2019; Van et al., 2015). Por lo anterior, ambas especies son de gran importancia ecológica para los bosques de Teolocholco.

## Conclusiones

Se recolectó un total de diez especímenes de basidiocarpos de hongos silvestres comestibles, logrando la identificación de tres, dos basidiomicetos (*Boletus* sp y *Ramaria* sp) y un actinomiceto (*Helvella*).

La abundancia de las setas silvestres fue claramente afectada por la deforestación que actualmente afecta la zona bajo estudio por el gusano descortezador. Como se sabe factores bióticos (temperatura, humedad, ) influyen en la aparición de hongos silvestres, lo que subraya la necesidad de conservar estos recursos fúngicos y explorar sus aplicaciones ecológicas, nutricionales y medicinales. Por lo tanto, como perspectivas la identificación molecular de hongos silvestres permitiría la clasificación precisa de estos hongos, facilitando su conservación y caracterización como fuentes de compuestos útiles en la medicina tradicional.

## Agradecimientos

Al SECIHTI por la beca otorgada con número de beca: 804622 y Proyecto Multidisciplinario SIP: 20251091.

## Referencias bibliográficas

- Del Conte, A., & Laessøe, T. (2008). *The edible mushroom book* (First American Edition). DK Publishing. 14-40 pp.
- García Rollán, M. (2001). *Manual para buscar setas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Secretaría General Técnica, Centro de Publicaciones, Madrid 5ª ed., 307-321 pp.
- Gastón, G. (1990). *Identificación de los hongos: comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. Editorial Limusa. 5ª ed., 16-47 pp.
- INEGI. (2016). *Conociendo Tlaxcala*. Sexta edición. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 6-10 pp.
- INEGI. (2010). *Compendio de información geográfica municipal 2010: Teolochocho, Tlaxcala*. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 1-10 pp.
- Janowski, D., & Leski, T. (2023). Methods for identifying and measuring the diversity of ectomycorrhizal fungi. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 96(5), 639–652.
- Khullar, S., & Reddy, M. S. (2019). Ectomycorrhizal diversity and tree sustainability. En T. Satyanarayana, R. P. Johri, & A. Prakash (Eds.), *Microbial diversity in ecosystem sustainability and biotechnological applications*, pp. 145–166
- Montoya A, Estrada-Torres A, Kong A, Juárez-Sánchez L (2001) Commercialization of wild mushrooms during market days of Tlaxcala, Mexico. *Micología Aplicada Internacional* 13: 31-40.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Structure and development of ectomycorrhizal roots. Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. 3rd ed., 191–210 pp.
- Toledo, C. V., Barroetaveña, C., & Rajchenberg, M. (2016). Hongos comestibles silvestres de los bosques nativos de la región de Patagonia de Argentina. Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP). 9-18 pp.
- Van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M.-A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406–1423.

## IDENTIFICATION OF PROTEIN TARGETS INVOLVED IN ANTIBIOTIC-INDUCED OTOTOXICITY AND SEARCH FOR OTOPROTECTORS

Iftekhar Ahmad-Khan<sup>1</sup>, Claudia Guadalupe Benítez-Cardoza<sup>2</sup>, Absalom Zamorrano-Carrillo<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía Instituto Politécnico Nacional, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, CDMX.

\*Corresponding author: watanyaarkhan372@gmail.com

### Abstract

Ototoxicity is a serious adverse drug effect that can lead to irreversible hearing damage, according to literature that ototoxicity effect 20-63% of patients and can cause irreversible hearing loss. This study aimed to identify the protein targets of the ototoxic antibiotics kanamycin and gentamicin and to search for protective strategies. Using the Swiss Target Prediction platform, potential target proteins were identified. Their interaction and functional enrichment analysis was performed with the STRING database and Cytoscape, revealing the associated metabolic and signaling pathways. The findings provide a basis for structural analysis with AlphaFold, I-TASSER, and Rosetta. Subsequently, high-throughput screening strategies will be employed to identify candidate otoprotective molecules. This work seeks to understand the molecular mechanisms of ototoxicity and develop preventive agents that mitigate this damage while maintaining antibiotic efficacy.

**Keywords:** ototoxicity, aminoglycosides, protein targets, otoprotectors,

### Introduction

Ototoxicity refers to the adverse drug reaction affecting the auditory nerve or inner ear, characterized by vestibular or cochlear dysfunction. Over 600 medication groups have ototoxic potential, including aminoglycoside antibiotics, loop diuretics, and chemotherapeutic drugs. These agents can induce the production of free radicals in the cochlea, causing oxidative damage to cellular components. Damage mechanisms include the loss of protein-protein connections, aberrant accumulation, targeted destruction, and ionic imbalance. Numerous proteins of the inner ear, such as cadherin 23 (CDH23), protocadherin-15, connexin 26, and cochlin, are potential targets of these drugs (Rybak and Ramkumar, 2007; Schacht et al., 2012). Understanding these interactions is crucial for developing protective strategies. The objective of this work was to identify the protein targets of the ototoxic antibiotics kanamycin and gentamicin and describe their associated pathways to support the search for otoprotective agents.

### Materials and Methods

We used Swiss Target Prediction which is a computational program to recognize protein targets of ototoxic aminoglycosides (kanamycin & gentamicin). Then we used STRING database for finding its interaction with other proteins and we do the functional enrichment analysis and used the Cytoscape programs to describe the metabolic or signaling pathway in which they participate, and molecules they interact with. Now for further analysis we will use AlphaFold, I-TASSER and Rosetta Commons to obtain three-dimensional models of selected proteins. Using these models and high throughput strategies, possible otoprotective molecules will be searched for. The otoprotective activity of the selected molecules will be confirmed *in vitro* using HEI-Oc1 cell-line evaluating the viability and programmed cell death by MTT assay and annexin V.

## Results

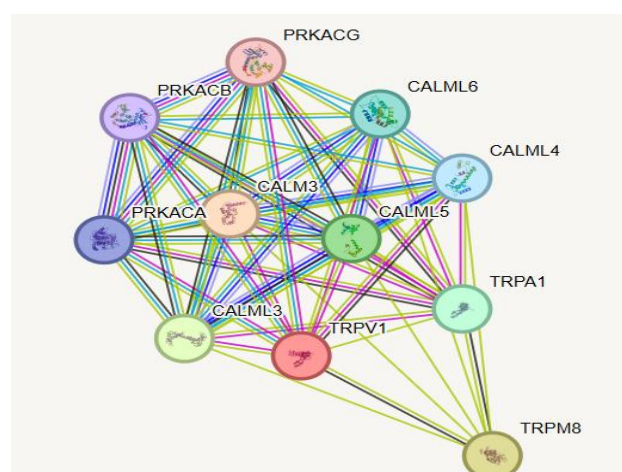
Analysis with Swiss Target Prediction identified potential protein targets for the aminoglycosides. The resulting list of proteins was analyzed using the STRING database to construct a protein-protein interaction (PPI) network as shown in figure 1. Functional enrichment analysis of this network revealed the key biological processes, molecular functions, and KEGG pathways in which these target proteins are involved. Visualization and pathway mapping using Cytoscape provided a detailed description of the associated metabolic and signaling pathways and highlighted key interacting molecules. These results establish a foundational network for understanding the mechanistic underpinnings of aminoglycoside ototoxicity and provide a basis for the subsequent structural and therapeutic phases of this study.

**Table 1.** Predicted proteins target for gentamicin

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*
<b>Vanilloid receptor</b>	TRPV1	Q8NER1	CHEMBL4794	Voltage-gated ion channel	0.100634432184
<b>Maltase-glucoamylase</b>	MGAM	O43451	CHEMBL2074	Hydrolase	0.100634432184
<b>Sucrase-isomaltase</b>	SI	P14410	CHEMBL2748	Enzyme	0.100634432184
<b>Galectin-4</b>	LGALS4	P56470	CHEMBL1671608	Other cytosolic protein	0.100634432184
<b>Galectin-3</b>	LGALS3	P17931	CHEMBL4531	Other cytosolic protein	0.100634432184
<b>Galectin-8</b>	LGALS8	O00214	CHEMBL5475	Other cytosolic protein	0.100634432184
<b>Bile salt export pump</b>	ABCB11	O95342	CHEMBL6020	Primary active transporter	0.100634432184
<b>Muscarinic acetylcholine receptor M2</b>	CHRM2	P08172	CHEMBL211	Family A G protein-coupled receptor	0.0
<b>Motilin receptor</b>	MLNR	O43193	CHEMBL2203	Family A G protein-coupled receptor	0.0
<b>Polyadenylate-binding protein 1</b>	PABPC1	P11940	CHEMBL1293286	Unclassified protein	0.0

**Table 2.** Represent protein predicated for kanamycin

Target	Common Name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability
<b>Vanilloid receptor</b>	TRPV1	Q8NER1	CHEMBL4794	Voltage-gated ion channel	0.10063443 2184
<b>Maltase-glucoamylase</b>	MGAM	O43451	CHEMBL2074	Hydrolase	0.10063443 2184
<b>Sucrase-isomaltase</b>	SI	P14410	CHEMBL2748	Enzyme	0.10063443 2184
<b>Galectin-4</b>	LGALS4	P56470	CHEMBL1671608	Other cytosolic protein	0.10063443 2184
<b>Galectin-3</b>	LGALS3	P17931	CHEMBL4531	Other cytosolic protein	0.10063443 2184
<b>Galectin-8</b>	LGALS8	O00214	CHEMBL5475	Other cytosolic protein	0.10063443 2184
<b>Bile salt export pump</b>	ABCB11	O95342	CHEMBL6020	Primary active transporter	0.10063443 2184
<b>Muscarinic acetylcholine receptor M2</b>	CHRM2	P08172	CHEMBL211	Family A G protein-coupled receptor	0.0
<b>Motilin receptor</b>	MLNR	O43193	CHEMBL2203	Family A G protein-coupled receptor	0.0
<b>Polyadenylate-binding protein 1</b>	PABPC1	P11940	CHEMBL1293286	Unclassified protein	0.0



**Figure 1** STRING Network Analysis of Vanilloid Receptor (TRPV1)



## Discussion

The results from the bioinformatic analysis suggest that kanamycin and gentamicin interact with a specific network of proteins critical for cochlear function. The enrichment of specific pathways, such as those involved in oxidative stress response and cellular junction integrity, aligns with known mechanisms of aminoglycoside ototoxicity, including the generation of reactive oxygen species and disruption of the hair cell's mechanotransduction apparatus (Xie and Talaska, 2011; Forge and Schacht, 2000). The identification of these specific targets and pathways provides a more precise framework for understanding the initial molecular events that lead to cell damage, moving beyond the general concept of oxidative stress. This targeted network analysis allows for a more focused search for otoprotective agents that can specifically bind with these key interactions or pathways, potentially offering protection without compromising the antibiotics' efficacy against pathogens.

## Conclusions

This study identified protein targets and pathways for the ototoxic antibiotics kanamycin and gentamicin through computational prediction and interaction analysis. These findings establish a foundation for the structure-based discovery of otoprotective molecules and provide a clearer understanding of the molecular initiation of ototoxicity, revealing specific targets for preventing strategies.

## Acknowledgments

The author acknowledges the support of the Instituto Politécnico Nacional and research supervisors for their guidance, and thanks the SECIHTI and BIFI scholarship. Proyecto Apoyado por la SECTEI, el IPN y la UAM (SECTEI/026/2024 y SIP-2024-RE/029)

## References

- Rybak, L. P., & Ramkumar, V. (2007). *Ototoxicity*. *Kidney International*, 72(8), 931–935.
- Xie, J., & Talaska, A. E. (2011). *Mechanisms of Gentamicin Ototoxicity and Targets of Protection*. *Current Medicinal Chemistry*, 18(20), 3357–3371.
- Schacht, J., Talaska, A. E., & Rybak, L. P. (2012). *Mechanisms of Aminoglycoside Ototoxicity and Targets for Prevention*. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*, 20(5), 359–364.
- Forge, A., & Schacht, J. (2000). *Aminoglycoside Antibiotics*. *Audiology and Neurotology*, 5(1), 3–22.
- Hirose, K., & Liberman, M. C. (2003). *Lateral Wall Histopathology and Endocochlear Potential in the Aging Mouse Cochlea*. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 4(3), 339–352.



## BÚSQUEDA DE LIGANDOS DIRIGIDOS A LAS PROTEÍNAS HUMANAS BAK, Mcl-1 y gp130 CON POTENCIAL ANTITUMORAL

Karla A. León-García<sup>1\*</sup>, Laurence A. Marchat<sup>2</sup>, Absalom Zamorano Carrillo<sup>1</sup>, Gilberto Mandujano Lázaro<sup>2</sup>, Claudia Guadalupe Benítez Cardoza<sup>3</sup>, Jorge Cornejo Garrido<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Biofísica Computacional, ENMH, Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera #239 Fracc. La Escalera, Ticomán CP07320 CDMX. <sup>2</sup> Laboratorio de Biomedicina Molecular 2, ENMH, Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera #239 Fracc. La Escalera, Ticomán CP07320 CDMX. <sup>3</sup> Laboratorio de Investigación Bioquímica, ENMH, Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera #239 Fracc. La Escalera, Ticomán CP07320 CDMX. <sup>4</sup> Laboratorio Biología Celular y Productos Naturales, ENMH, Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera #239 Fracc. La Escalera, Ticomán CP07320 CDMX

\*Correo [karla.leongarciaib@gmail.com](mailto:karla.leongarciaib@gmail.com)

### Resumen

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es un subtipo agresivo caracterizado por la ausencia de blancos terapéuticos convencionales. Este proyecto propone una estrategia *in silico* para identificar compuestos con afinidad por Glycoprotein 130 (gp130), Myeloid cell leukemia 1 (MCL-1) y Bcl-2 antagonist/killer (BAK), proteínas clave en la señalización inflamatoria y el control de la apoptosis, dos eventos alterados en células tumorales. Se utilizaron estructuras cristalinas validadas, predicciones híbridas de sitios de unión y cribado virtual con más de 400,000 compuestos. Los ligandos seleccionados fueron filtrados por parámetros ADME, obteniéndose candidatos con alta biodisponibilidad y afinidad molecular. Los próximos pasos contemplan validación *in vitro* para evaluar su actividad funcional. Esta aproximación podría contribuir al desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas en CMTN.

**Palabras clave:** Cáncer de mama triple negativo, cribado virtual, apoptosis, señalización inflamatoria.

### Introducción

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es una de las formas más agresivas de neoplasia mamaria. Su comportamiento clínico se complica no solo por su alta capacidad de proliferación y metástasis, sino también por la falta de blancos terapéuticos convencionales, como los receptores hormonales y HER2 (Yin et al. 2020; Secretaría de Salud). Esta carencia ha impulsado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas.

La inflamación crónica ha sido identificada como un factor clave en el desarrollo y progresión del CMTN. En particular, la vía de señalización activada por la citocina IL-6 a través de su correceptor gp130 promueve la activación sostenida de STAT3, un factor de transcripción que favorece la proliferación celular y la resistencia a la muerte programada (Chen et al. 2020; Martínez et al. 2021). Al estudiar los mecanismos que permiten a estas células escapar de la apoptosis, se ha prestado especial atención a MCL-1, una proteína antiapoptótica cuya sobreexpresión actúa como un recurso de escape cuando otras proteínas de la familia Bcl-2 son inhibidas. Esta respuesta compensatoria limita la eficacia de terapias dirigidas y favorece la persistencia tumoral (Merino et al. 2017). Por otro lado, se ha observado que la inhibición efectiva de MCL-1 permite la activación de BAK, una proteína efectora capaz de desencadenar la permeabilización mitocondrial y, con ello, la activación de la apoptosis intrínseca (Sarosiek et al. 2017). Ante este panorama, se planteó como objetivo identificar compuestos bioactivos

con afinidad por gp130, MCL-1 y BAK mediante herramientas computacionales, con el propósito de proponer nuevos candidatos terapéuticos que modulen la inflamación asociada al CMTN y reactiven los mecanismos de muerte celular.

## Materiales y métodos

### 1. Preparación de las proteínas

Se descargaron las estructuras cristalinas de gp130 (PDB: 1BQU), MCL-1 (6NE5) y BAK (8CZF) desde el PDB. Se priorizaron modelos funcionales completos. La calidad estructural se validó mediante PROCHECK y análisis de Ramachandran.

### 2. Identificación del sitio de unión

Los sitios de unión se predijeron con MOE Site Finder y COACH, eliminando el solvente y aplicando el campo de fuerza CHARMM27. Se definieron como sitios de unión los residuos coincidentes entre ambos métodos.

### 3. Cribado virtual de ligandos

Se utilizaron ~400,000 compuestos de ChemBridge, convertidos a formato PDBQT con Open Babel, añadiendo enlaces rotables, cargas de Gasteiger y átomos polares.

El acoplamiento se realizó con AutoDock Vina, generando 10 conformadores por ligando; se seleccionó el de menor energía. Las cajas de búsqueda fueron centradas en los residuos consenso (40×40×40 Å, espaciado 1.0 Å).

### 4. Filtrado por propiedades ADME

Los 20 mejores ligandos por proteína se analizaron con SwissADME. Se seleccionaron los 5 con mejor perfil farmacocinético.

## Resultados

Luego del cribado virtual y la evaluación de propiedades ADME, se seleccionaron los cinco ligandos más prometedores para cada proteína blanco. En el caso de gp130, los compuestos presentaron energías de unión entre -10.1 y -10.5 kcal/mol, con interacciones frecuentes en los residuos Arg163(A), Ser164(A), Ser165(A) y Lys132(A), lo cual sugiere una posible capacidad para estabilizar el sitio de unión e interferir con la vía de señalización pro-supervivencia STAT3.

**Tabla 1 Afinidad de unión e interacciones de ligandos seleccionados para gp130.**

Ligandos	Energía libre de unión (Kcal/mol)	Interacciones moleculares
MOL9	-10.1	R163, S164, S165, K132
MOL1	-10.5	S165, R163, S164, T162, N128, K132, S133
MOL7	-10.2	K132, N128, R163, T162, S164, S165
MOL4	-10.3	R163, S165, S164, T162, N128, K132, S133
MOL10	-10.1	R163, S164, S165

Para Mcl-1, los ligandos mostraron energías más favorables (entre -11.9 y -13.5 kcal/mol) e interacciones predominantes con Phe228(A), Leu267(A), Met231(A) y Phe270(A), residuos clave dentro del surco hidrofóbico implicado en la inhibición de apoptosis.

**Tabla 2 Afinidad de unión e interacciones de ligandos seleccionados para MCL-1.**

Ligandos	Energía libre de unión (Kcal/mol)	Interacciones moleculares
MOL1	-13.5	F228, M231, V253, F254, L267, R263, V249, L235, M250, L246, F270
MOL3	-13	L235, F270, V249, M250, M231, V253, T266, L267, I294, G271, L246, V274, L290
MOL7	-12.5	A227, F228, M231, M250, V253, T266, L267, F270, L246, L290, R263
MOL9	-12.4	R263, V253, M250, L235, F270, L267, M231, T266, V249, L246, L290, G271, I294, F319, N260
MOL11	-11.9	L235, V253, M250, M231, L246, L290, G271, V249, F270, L267, I294, T266, F254

Finalmente, los ligandos dirigidos a BAK mostraron afinidades entre -10.1 y -10.5 kcal/mol, con interacciones en residuos como Arg137(A), Gly133(A), Phe134(A) y Ala130(A). Dado que estos aminoácidos participan en su activación estructural, los compuestos seleccionados podrían facilitar la oligomerización de BAK y promover apoptosis mitocondrial

**Tabla 3 Afinidad de unión e interacciones de ligandos seleccionados para BAK.**

Ligandos	Energía libre de unión (Kcal/mol)	Interacciones moleculares
MOL10	-10.1	A130, G133, R137, N86, Y38, G126, L78, V129, I85, I114, F134, I103
MOL2	-10.5	R42, G82, N86, V129, I85, G133, A130, R137, F134, I114, I103, M96, L97, L118
MOL8	-10.2	Y86, I85, N86, F134, A130, R137, F93, W125, L183, A180, G126, Y38, G133, I81
MOL3	-10.3	V129, G126, N86, G133, A130, L118, R137, I114, F134, I103, I104, M96, L97
MOL6	-10.1	I86, V129, G82, Y38, N86, G133, R137, A130, F134, I103, I114, I85
MOL5	-10.1	G82, N86, Y38, V129, F93, F134, G133, I114, L118, A130

## Discusión

La selección de ligandos con buena afinidad de unión, sumada a perfiles ADME favorables, sugiere que estas moléculas podrían interferir con procesos críticos como la evasión de la apoptosis y la señalización inflamatoria. Estudios previos han demostrado que la inhibición de MCL-1 puede restaurar la sensibilidad apoptótica, especialmente cuando otras proteínas anti apoptóticas son bloqueadas (Merino et al. 2017). Nuestros resultados apuntan a una posible reproducción de este efecto mediante compuestos con afinidad por su ranura BH3. Asimismo, la selección de ligandos para gp130 abre la posibilidad de modular la vía IL-6/STAT3 (Chen et al. 2020). Por otro lado, los compuestos seleccionados para BAK podrían favorecer su activación directa, promoviendo así la permeabilización mitocondrial y la muerte celular programada (Chen et al. 2020).

## Conclusiones

Este estudio identificó compuestos con alto potencial antitumoral dirigidos a las proteínas humanas gp130, MCL-1 y BAK, mediante una estrategia *in silico* robusta que incluyó análisis

estructural, cribado virtual y filtrado por propiedades ADME. Los resultados obtenidos permiten establecer una base racional para futuras validaciones experimentales enfocadas en inducir apoptosis y modular procesos inflamatorios en el cáncer de mama triple negativo. Esta aproximación representa una contribución concreta en la búsqueda de nuevos candidatos terapéuticos para este subtipo de cáncer con opciones limitadas.

### **Agradecimientos**

Agradecemos a la SECIHTI (antes CONAHCYT) por la beca a KA León-García. Y al Programa Institucional de Formación de Investigadores del IPN por la beca BEIFI (20241036).

### **Referencias bibliográficas**

- Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu SC (2020) Triple-negative breast cancer stem-like cells: current status and perspectives. *Breast Cancer Res* 22:84.
- Chen X, Ying Z, Lin X, Lin H, Wu J, Wang X, Fan S (2020) Targeting signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway for breast cancer: current clinical progress and new targeted therapies. *Front Oncol* 10:576438.
- Esquivel-Velázquez M, Ostoa-Saloma P, Palacios-Arreola MI, Nava-González E, Castro-Montoya P (2015) The role of cytokines in breast cancer development and progression. *J Cancer Res Clin Oncol* 141(10):189–199.
- Merino D, Whittle JR, Vaillant F, Serrano AL, Gong JN, Maragno AL, Strasser A (2017) Synergistic action of the MCL-1 inhibitor S63845 with current therapies in preclinical models of triple-negative and HER2-amplified breast cancer. *Sci Transl Med* 9(401):eaam7049.
- Sarosiek KA, Fraser C, Muthalagu N, Bholá PD, Chang W, McBrayer SK, Letai A (2017) Developmental regulation of mitochondrial apoptosis by c-Myc governs age- and tissue-specific sensitivity to cancer therapeutics. *Cancer Cell* 31(1):142–156.

## IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS FUNCIONAL DE GENES CODIFICANTES DE MIEMBROS DE LA FAMILIA AP2 DE FACTORES TRANSCRIPCIONALES INVOLUCRADOS EN LA RESPUESTA A ÁCIDO ABSCÍSICO DEL MUSGO TOLERANTE A DESECACIÓN *Pseudocrossidium replicatum*

Lucero Leyva-Abascal, Santiago Valentín Galván-Gordillo<sup>1</sup>, Gup Xianwu<sup>2</sup>, Analilia Arroyo-Becerra<sup>1</sup>, Diana Verónica Cortés-Espinosa<sup>1</sup>, Martha Dolores Bibbins-Martínez<sup>1</sup>, Miguel Angel Villalobos-López<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal, Km 1.5, 90700 Santa Inés Tecuexcomac, Tlaxcala, México. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Blvd. del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamaulipas, México.

\*mvillalobosl@ipn.mx

### Resumen

*Pseudocrossidium replicatum* es un musgo considerado una planta totalmente tolerante a la desecación. Esta especie presenta características únicas de respuesta a estrés abiótico, puede recuperar sus funciones biológicas bajo deshidratación, congelamiento, alta salinidad y estrés osmótico. El ácido abscísico (ABA) es la fitohormona central en las respuestas al estrés en plantas. En *P. replicatum*, el ABA contribuye a preparar las células mediante la activación de genes sensibles al estrés, regulados a través de factores de transcripción (FTs), proteínas capaces de activar o reprimir la expresión génica. Diversas familias de FTs se han descrito en plantas vasculares y no vasculares, algunas posiblemente específicas de *P. replicatum*. No obstante, los mecanismos moleculares mediante los cuales el ABA regula tales procesos siguen siendo poco conocidos, lo que incrementa el interés en su estudio. El objetivo de esta investigación es analizar los FTs de la familia AP2 en respuesta a ABA, utilizando herramientas bioinformáticas y transcriptómicas en tejido protonemal. Posteriormente, hacer una validación de expresión génica mediante RT-qPCR de genes de interés. Finalmente, se generarán líneas transgénicas en *Physcomitrella patens* y *Arabidopsis thaliana*, para evaluar sus efectos moleculares, fenotípicos y fisiológicos bajo condiciones de estrés abiótico.

**Palabras clave:** estrés abiótico, factores transcripcionales, ácido abscísico, RT-qPCR.

### Introducción

*Pseudocrossidium replicatum* es un musgo mexicano altamente tolerante a la desecación, una planta no vascular para estudiar respuestas a estrés abiótico (Ríos-Meléndez *et al.*, 2021). El ABA es una fitohormona central en la señalización de estrés y su acción está mediada por factores de transcripción (FTs) (Hussain *et al.*, 2021). Entre ellos, la familia AP2/ERF es clave en la regulación de genes bajo condiciones de deshidratación, salinidad y frío (Feng *et al.*, 2020). Sin embargo, los mecanismos moleculares regulados por ABA en *P. replicatum* permanecen poco descritos. El presente trabajo se enfocó en identificar y caracterizar miembros de la familia AP2 involucrados en la respuesta a ABA en este musgo.

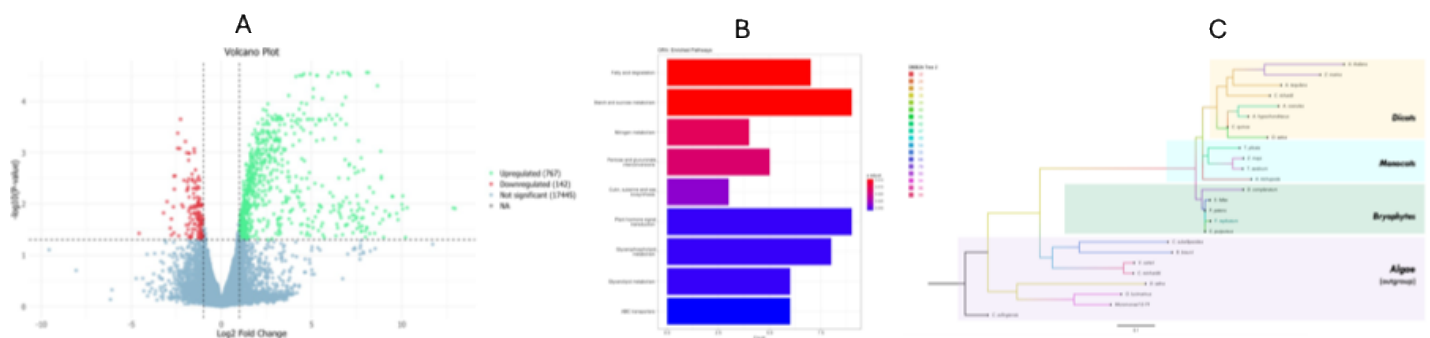
### Materiales y métodos

El conjunto de respuestas fisiológicas y moleculares de *P. replicatum* fueron de interés para este estudio. Se definieron pruebas fisicoquímicas como cuantificación de azúcares solubles y totales, contenido de clorofilas, acumulación de osmoprotectantes y actividad fotosintética para

monitorear la respuesta de este musgo en diferentes tiempos de cinéticas de tratamientos de estrés osmótico, frío y de hormonas. Además, los protonemas de *P. replicatum* fueron tratados con ABA 10  $\mu$ M durante diferentes tiempos (0, 15, 30 min, 1, 3 y 24 h). Se extrajo ARN total mediante protocolo Z6 modificado y se sintetizó cDNA (Ríos-Meléndez *et al.*, 2021). El análisis transcriptómico se realizó con RNA-Seq y las secuencias fueron procesadas con R, DESeq2 y LIMMA para identificar genes diferencialmente expresados (DEGs). Posteriormente, se llevó a cabo análisis de enriquecimiento (GO y KEGG). La validación de genes candidatos se realizó mediante RT-qPCR usando genes de referencia (ATP6, PsbB, PsbA, UBQ, ClpP) (Nava-Nolazco *et al.*, 2025). Finalmente, se hizo análisis *in silico* de dominios, homología y redes de interacción de los FTs AP2 identificados, DREB2A y ERF03. Estos dos genes seleccionados se usarán para diseñar el análisis de su sobreexpresión en modelos de plantas vasculares y no vasculares.

## Resultados

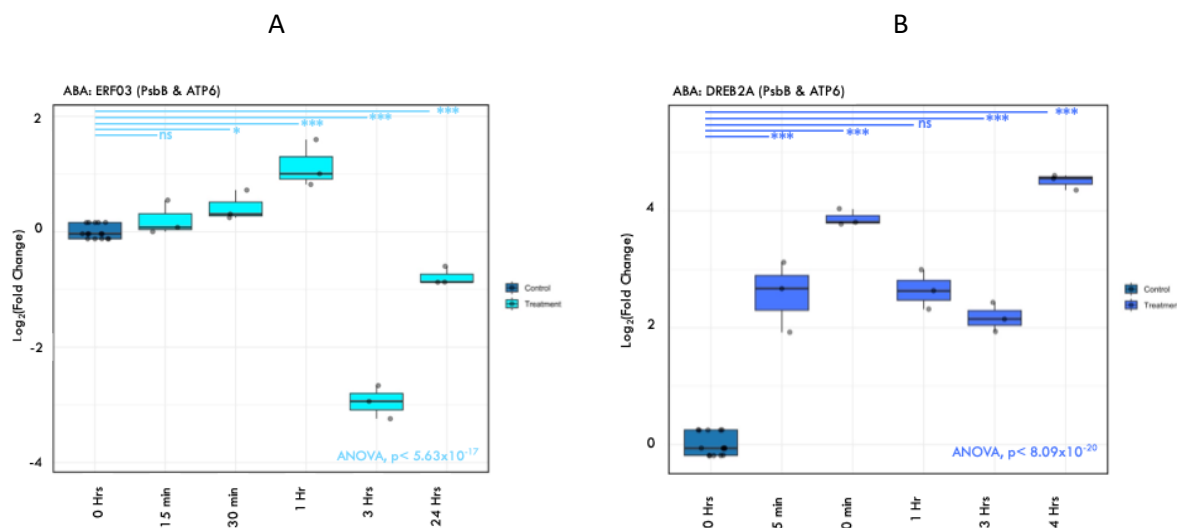
En el análisis transcriptómico de la respuesta de *P. replicatum* al tratamiento con ABA 10  $\mu$ M, se identificaron más de 1000 DEGs (Figura 1-A). El análisis de enriquecimiento reveló rutas asociadas a metabolismo de azúcares, lípidos y transportadores ABC (Figura 1-B). La filogenia mostró que DREB2A de *P. replicatum* está conservado en musgos y plantas vasculares, con motivos altamente preservados (Figura 1-C).



**Figura 1.** Análisis del transcriptoma de *P. replicatum* bajo el tratamiento con ABA 10  $\mu$ M. A) Volcano plot de Genes Diferencialmente Expresados (DEGs) en el transcriptoma de respuesta a ABA de *P. replicatum*. B). Análisis de sobre representación de rutas KEGGs de los DEGs en *P. replicatum*. C). Árbol filogenético de secuencias de *PrDREB2A* como secuencia homóloga en plantas vasculares y no vasculares.

Entre ellos, los FTs, destacaron miembros de las familias AP2, AUX y B. El gen DREB2A mostró una respuesta bifásica con fuerte inducción temprana (30 min) y tardía (24 h) (Figura 2-A). Por el contrario, ERF03 presentó inducción transitoria a 1 h seguida de represión marcada a 3 h (Figura 2-B).





**Figura 2.** Análisis de expresión de FTs seleccionados de la familia AP2 en cinética de tratamiento con ABA 10  $\mu$ M (0 h, 15 min, 30 min, 1 h, 3 h and 24 h). A). Resultados del análisis de RT-qPCR del gen *PrERF03*. B). Resultados del análisis de RT-qPCR del gen *PrDREB2A*.

## Discusión

Los resultados sugieren que ABA activa redes transcripcionales complejas en *P. replicatum*. El enriquecimiento en metabolismo de trehalosa, almidón y lípidos apunta a un ajuste metabólico para protección osmótica y remodelación de membranas. Estas respuestas son consistentes con la fisiología de plantas tolerantes a desecación. Las respuestas moleculares de *P. replicatum* resaltan la importancia de la familia AP2/ERF en la regulación mediada por ABA.

## Conclusiones

El tratamiento con ABA en *P. replicatum* regula de manera diferencial más de 1000 genes, incluyendo un número importante de FTs. Se identificaron rutas metabólicas relacionadas con osmoprotección y remodelación de membranas como parte de la respuesta al ABA. Los análisis *in silico* confirman la conservación evolutiva de DREB2A y su papel potencial en la tolerancia al estrés. Este trabajo representa un primer paso hacia la generación de líneas transgénicas en *A. thaliana* y *P. patens* para validar funcionalmente el papel de los genes AP2 de *P. replicatum* en estrés abiótico.

## Agradecimientos

MAVL agradece al CONACYT (SECIHTI) por el financiamiento del proyecto de Ciencia Básica A1-S-35357. SVGG agradece las becas posdoctorales de CONAHCYT. AAB, XG y MAVL agradecen a los proyectos SIP-IPN (números 20230516, 20232620 y 20231853, respectivamente) y a los fondos COFAA-IPN. LLA agradece a CONAHCYT (SECIHTI), COFAA y a la beca BEIFI del IPN.

## Referencias bibliográficas

Feng, K., Hou, X.-L., Xing, G.-M., Liu, J.-X., Duan, A.-Q., Xu, Z.-S., Li, M.-Y., Zhuang, J., & Xiong, A.-S. (2020). Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(6), 750–776. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1768509>

Hussain, Q., Asim, M., Zhang, R., Khan, R., Farooq, S., & Wu, J. (2021). Transcription Factors Interact with ABA through Gene Expression and Signaling Pathways to Mitigate Drought and Salinity Stress. *Biomolecules*, 11(8), 1159.

<https://doi.org/10.3390/biom11081159>

Nava-Nolazco, R. M., Ríos-Melendez, S., Galván-Gordillo, S. V., Martínez-Navarro, A. C., Sánchez-Pérez, M., Chavez-Santoscoy, R. A., Bibbins-Martínez, M., Maldonado-Mendoza, I. E., Arroyo-Becerra, A., & Villalobos-López, M. A. (2025). Selection and Validation of Reference Genes for RT-qPCR in Protonemal Tissue of the Desiccation-Tolerant Moss *Pseudocrossidium replicatum* Under Multiple Abiotic Stress Conditions. *Plants*, 14(12), 1752. <https://doi.org/10.3390/plants14121752>

Ríos-Meléndez, S., Valadez-Hernández, E., Delgadillo, C., Luna-Guevara, M. L., Martínez-Núñez, M. A., Sánchez-Pérez, M., Martínez-y-Pérez, J. L., Arroyo-Becerra, A., Cárdenas, L., Bibbins-Martínez, M., Maldonado-Mendoza, I. E., & Villalobos-López, M. A. (2021). *Pseudocrossidium replicatum* (Taylor) R.H. Zander is a fully desiccation-tolerant moss that expresses an inducible molecular mechanism in response to severe abiotic stress. *Plant Molecular Biology*, 107(4–5), 387–404. <https://doi.org/10.1007/s11103-021-01167-3>

## EFFECTO PROTECTOR DE *Pediococcus pentosaceus* Y *Bacillus licheniformis* EN *Penaeus vannamei* RETADO CON *Vibrio parahaemolyticus* IPNGS16

María Fernanda Lomeli-Álvarez<sup>1\*</sup>, Antonio Luna-González<sup>1</sup>, Xianwu Guo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Unidad Sinaloa, Departamento de Acuicultura, Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Col. San Joachin, 81101, Guasave, Sinaloa, México. <sup>2</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica, Blvd. del Maestro S/N, esquina Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, Reynosa, 88710, Tamaulipas, México.

mafer\_lomeli@hotmail.com

### Resumen

La intensificación de los sistemas de cultivo en la industria acuícola ha favorecido la aparición de enfermedades recurrentes, incrementando el uso indiscriminado de antibióticos, generando resistencia bacteriana y riesgos ambientales. En este contexto, los probióticos, como las BAL, se proponen como alternativas seguras y eficaces para la prevención de patógenos. Sin embargo, su viabilidad puede verse comprometida por condiciones adversas, por lo que la microencapsulación se presenta como una estrategia para mejorar su estabilidad. En este estudio se evaluó el efecto de las microcápsulas de *Pediococcus pentosaceus* (BALSC34) en el crecimiento y supervivencia de *Penaeus vannamei* desafiado con *Vibrio parahaemolyticus* IPNGS16. Se realizaron 6 tratamientos en un bioensayo de 21 días. Los resultados no mostraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en la tasa de crecimiento específico. Se presentaron diferencias significativas en la supervivencia en porcentaje relativo ( $p<0.05$ ) en los organismos tratados con microcápsulas de *P. pentosaceus* añadidas en el alimento suplementado con 10 % MRS 2 % NaCl (TIV) y 3 % mielaza 2 % NaCl (TV). Estos resultados sugieren que la microencapsulación de BAL favorece la resistencia frente a *Vibrio*.

**Palabras clave:** BAL, microcápsulas, *Vibrio*, supervivencia, suplementación

### Introducción

El creciente aumento de la demanda en el mercado ha impulsado la intensificación de los sistemas de producción en la industria camaronícola, provocando un incremento en la aparición de diversas enfermedades y complicaciones (Khanjani et al. 2024). Se han registrado pérdidas significativas en cultivos acuícolas debido a la prevalencia de enfermedades recurrentes por el empleo irracional de antibióticos para su prevención y tratamiento, favoreciendo el desarrollo de resistencia bacteriana en camarones, generando riesgos ambientales y causando afectaciones en la salud de los consumidores (Norman et al. 2024). Los probióticos se consideran una alternativa segura, viable y eficaz frente a los antibióticos para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas. Dentro de este grupo, las bacterias ácido lácticas (BAL) destacan por sus efectos profilácticos y por su reconocimiento como microorganismos seguros (GRAS). Sin embargo, estos microorganismos son sensibles a diversas condiciones ambientales, entre ellas el ambiente ácido del estómago (EFSA (BIOHAZ) 2017; Frota et al. 2024). Se han desarrollado alternativas tecnológicas para mejorar la supervivencia de los probióticos, el proceso de microencapsulación consiste en incorporar los microorganismos dentro de una matriz protectora, favoreciendo su viabilidad y estabilidad, por medio de liberación controlada. Por lo tanto, el presente estudio evaluó el efecto de la suplementación con microcápsulas de *P. pentosaceus* en la dieta del camarón blanco desafiado con *Vibrio parahaemolyticus* IPNGS16.

## Materiales y métodos

### Microencapsulación de *P. pentosaceus* mediante secado por aspersión

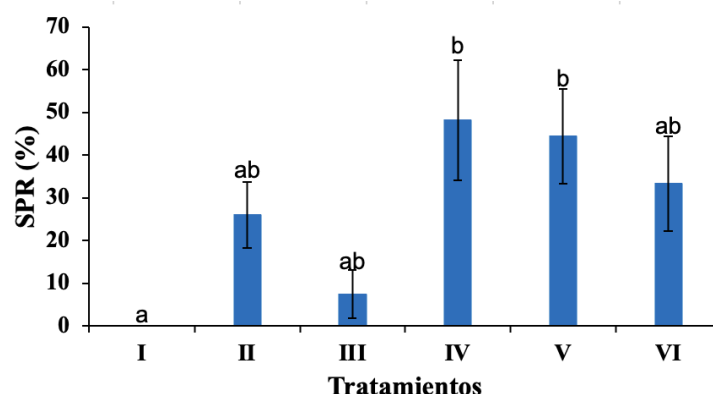
Se inocularon 100  $\mu\text{L}$  de *P. pentosaceus* en 100 mL de caldo de Man, Rogosa y Sharpe (MRS; BD Difco, Sparks, MD, USA) al 2.5 % de NaCl y el cultivo se incubó durante 72 h a 32 °C. El cultivo se secó en un spray dryer (Yamato®, Japón). Durante la alimentación del equipo se empleó una temperatura del aire de entrada de 120 °C y de salida de 70 °C. El flujo de alimentación fue de 600 mL/h y una presión de aspersión de 0.2 MPa. El material obtenido en polvo se almacenó a temperatura ambiente y a 4 °C para determinar su viabilidad y su posterior uso en el alimento. Como matrices envolventes se emplearon maltodextrina, glicerol, inulina, goma arábica y pectina.

### Bioensayo Experimental

Se realizó un bioensayo para determinar el crecimiento y supervivencia del camarón blanco tratado con microcápsulas de *P. pentosaceus* (BALSC34) (Leyva-Madrigal et al. 2011) en el alimento suplementado y retado con *V. parahaemolyticus* IPNGS16. Tuvo una duración de 21 d. Se utilizaron camarones con un peso promedio de  $110 \pm 0.1$  mg. Se utilizaron tanques de plástico (6 L) con 5 L de agua de mar filtrada (20  $\mu\text{m}$ ) a 30 ups, aeración constante y se alimentaron 3 veces al día con Camaronina (Purina®, México, 35 % de proteína), calculando la cantidad de alimento de acuerdo a la biomasa de los camarones. Se colocaron 12 camarones por tanque. Este bioensayo consistió en seis tratamientos por triplicado: TI) Control positivo, Alimento Comercial (AC); TII) Control positivo, Alimento Comercial (AC) + 10 % MRS 2 % NaCl en el alimento diario; TIII) *P. pentosaceus* libre ( $25 \times 10^6$  UFC/g) en el alimento diario + 2 % NaCl; TIV) *P. pentosaceus* libre ( $25 \times 10^6$  UFC/g) en el alimento diario + 10 % MRS 2 % NaCl; TV) MC de *P. pentosaceus* ( $25 \times 10^6$  UFC/g) en el alimento diario + 2 % NaCl; TVI) MC de *P. pentosaceus* ( $25 \times 10^6$  UFC/g) en el alimento diario + 10 % MRS 2 % NaCl. En el día 18 se realizó el desafío con *V. parahaemolyticus* IPNGS16 (López-León et al. 2016).

## Resultados

La tasa de crecimiento específico (TCE % d) de *P. vannamei* no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $F_{(5,12)} = 0.526$ ,  $p = 0.752$ ), con valores que oscilaron entre  $6.96 \pm 0.28$  (VI) y  $7.96 \pm 0.15$  (II). En cambio, la supervivencia en porcentaje relativo (SPR) presentó diferencias significativas ( $F_{(5,12)} = 4.482$ ,  $p = 0.015$ ), donde el tratamiento I fue significativo con respecto al IV ( $p = 0.02335$ ) y V ( $p = 0.032141$ ).



**Figura 1.** Supervivencia en porcentaje relativo (SPR) de *P. vannamei* cultivado en condiciones de laboratorio. Tratamientos: I) Alimento Comercial (AC); II) AC + 0.1 % MRS 2 % NaCl; III) AC + 3 % minelaza 2 % NaCl; IV) Microcápsulas de *P. pentosaceus* ( $25 \times 10^6$  UFC/g) + 10 % MRS 2 % NaCl; V) Microcápsulas de *P. pentosaceus* ( $25 \times 10^6$  UFC/g) + 0.1 % MRS 2

% NaCl; VI) Microcápsulas de *P. pentosaceus* ( $25 \times 10^6$  UFC/g) + 3 % minelaza 2 % NaCl. Los valores se presentan como promedio  $\pm$  DE.

## Discusión

En el presente estudio no se observaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento específico de *P. vannamei* suplementado con microcápsulas de *P. pentosaceus*, resultados consistentes con lo reportado por Won et al. (2020), quienes tampoco observaron diferencias significativas al adicionar el mismo probiótico en la dieta del camarón blanco a una concentración de  $10^8$  UFC/g durante 8 semanas. La suplementación probiótica no siempre se refleja en un incremento directo del crecimiento, ya que sus efectos suelen asociarse con la modulación del sistema inmune y la resistencia frente a estrés o agentes patógenos (Mazziotta et al. 2023). Durante el reto con *Vibrio*, la salinidad del agua descendió de 30 a 12 ‰ en un lapso de 24 h debido a lluvias intensas, lo que probablemente influyó en la supervivencia. A pesar de estas condiciones de estrés osmótico, los tratamientos (IV y V) presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la supervivencia en porcentaje relativo con respecto al control. Se ha reportado que la aclimatación de los camarones a salinidades bajas requiere periodos superiores a siete días, ya que la exposición abrupta puede inducir altas mortalidades. Cabe destacar que las microcápsulas empleadas, compuestas por carbohidratos, incorporan prebióticos que, además de promover el crecimiento de probióticos, actúan como termoprotectores, mejorando su viabilidad, almacenamiento, transporte y tránsito intestinal (Pinto et al. 2015; Yin et al. 2024).

## Conclusiones

Las microcápsulas de *P. pentosaceus*, administradas en la dieta, no mejoraron el crecimiento de los camarones, pero sí la supervivencia al ser retados con *V. parahaemolyticus*.

## Agradecimientos

Investigación financiada por proyecto SIP multidisciplinario (2174).

María F. Lomeli-Álvarez, agradece a BEIFI del IPN y la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI, México) por el apoyo brindado a través de becas de doctorado.

## Referencias bibliográficas

- Frota EG, Pessoa ARS, Souza de Azevedo PO, Dias M, Veríssimo NVP, Zanin MHA, Tachibana L, de Souza Oliveira RP (2024) Symbiotic microparticles produced through spray-drying-induced in situ alginate crosslinking for the preservation of *Pediococcus pentosaceus* viability. *Int J Biol Macromol* 261:129818.
- EFSA BIOHAZ Panel, Ricci, A, Allende, A, Bolton, D, Chemaly, M, Davies, R, Girones, R, Koutsoumanis, K, Herman, L, Lindqvist, R (2017) Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2016. *EFSA J* 15:e04663.
- Khanjani, MH, Mozanzadeh, MT, Gisbert, E, Hoseinifar, SH (2024) Probiotics, prebiotics, and synbiotics in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, and gut microbiome. *Aquaculture Reports* 38, 102362.
- López-León, P, Luna-González, A, Escamilla-Montes, R, Flores-Miranda, MdC, Fierro-Coronado, JA, Álvarez-Ruiz, P, Diarte-Plata, G (2016) Isolation and characterization of infectious *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of AHPND, from the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Latin american journal of aquatic research* 44, 470-479.

- Mazziotta, C, Tognon, M, Martini, F, Torreggiani, E, Rotondo, JC (2023) Probiotics Mechanism of Action on Immune Cells and Beneficial Effects on Human Health. *Cells* 12:184.
- Pinto, SS, Fritzen-Freire, CB, Benedetti, S, Murakami, FS, Petrus, JCC, Prudêncio, ES, Amboni, RDMC (2015) Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect *Bifidobacterium*-BB-12 microencapsulated by spray drying. *Food Research International* 67:400-408.
- Won, S, Hamidoghli, A, Choi, W, Bae, J, Jang, WJ, Lee, S, Bai, SC (2020) Evaluation of Potential Probiotics *Bacillus subtilis* WB60, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactococcus lactis* on Growth Performance, Immune Response, Gut Histology and Immune-Related Genes in Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Microorganisms* 8:281.
- Yin, M, Chen, L, Chen, M, Yuan, Y, Liu, F, Zhong, F (2024) Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG in double emulsions: Role of prebiotics in improving probiotics survival during spray drying and storage. *Food Hydrocolloids* 151:109792.



## EVALUACIÓN DE LIGANDOS DIRIGIDOS CONTRA LA PROTEÍNA HUMANA EGFR (Her1) PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

L. Christopher L.,\* Laurence A. Marchat y Absalom Zamorano-Carrillo.

Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320 Ciudad de México

\* llopezm2402@alumno.ipn.mx

### Resumen

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) regula la proliferación y supervivencia celular, y su sobreexpresión se ha asociado con cáncer de mama triple negativo. En este trabajo construimos un modelo completo de EGFR humano para su posterior aplicación en estudios de dinámica molecular. Para ello, se recuperaron modelos de la base de datos Protein Data Bank correspondientes a las regiones extracelular (7SYD), transmembranal (2M20) e intracelular (2GS7), los cuales fueron ensamblados en ChimeraX 1.8 y preparados mediante Dock Prep. El modelo final, así como las estructuras individuales, fueron evaluados con las herramientas ERRAT, Verify3D y PROCHECK en la plataforma SAVES v6.1. Los resultados mostraron que, si bien la región intracelular presentó una calidad aceptable, las regiones extracelular y transmembranal registraron deficiencias estructurales. A pesar de estas limitaciones, el modelo completo constituye una base útil para estudios computacionales posteriores que permitan explorar la dinámica de EGFR y evaluar posibles estrategias terapéuticas dirigidas contra este receptor en cáncer de mama triple negativo.

**Palabras clave:** EGFR, cáncer de mama triple negativo, modelado estructural, dinámica molecular, validación de proteínas.

### Introducción

El receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR por sus siglas en inglés), también conocido como HER1, pertenece a la familia de receptores ErbB y regula la proliferación, diferenciación, supervivencia y migración celular. La forma activa de EGFR es alcanzada por la unión de ligandos al dominio extracelular, lo que promueve la dimerización de los receptores y su autofosforilación, facilitando su interacción con otras moléculas que desencadenan una cascada de señalización (Roskoski 2014). Particularmente, EGFR inhibe la apoptosis mediante su impacto en las vías MAPK, PI3K-AKT y JAK/STAT promoviendo la sobreexpresión de las proteínas anti apoptóticas Bcl-2/xL y disminuyendo la expresión de las proteínas efectoras Bad (Danielsen y Maihle 2002).

El cáncer de mama es uno de los más frecuentes en la población femenina. Particularmente, el tratamiento del cáncer de mama triple negativo (CMTN) es muy limitado debido a la ausencia de los receptores hormonales para estrógeno y progesterona, así como la proteína HER2 de la familia ErbB. Estos receptores son de interés porque son blancos contra los cuales están dirigidos los tratamientos efectivos. Sin embargo, se ha reportado la sobreexpresión compensatoria de otros receptores como EGFR (HER1) que representa un blanco molecular interesante para el diseño de nuevos fármacos antitumorales (Uribe et al 2021). Los fármacos dirigidos contra el dominio tirosina quinasa de EGFR (HER1) son capaces de controlar el crecimiento tumoral, pero la aparición de mutaciones favorece eventos de resistencia, por lo que se requiere implementar estrategias terapéuticas novedosas (Shaban et al 2024).

Por otra parte, los sistemas biomoleculares no se encuentran estáticos, cambian de conformación, tienen fluctuaciones, interaccionan, muchos de estos comportamientos escapando a las técnicas experimentales actuales. Por lo tanto, la simulación computacional con la técnica llamada dinámica molecular es valiosa porque nos permite predecir y entender cambios estructurales, propiedades físicas y químicas que influyen en el funcionamiento de las proteínas. Por otra parte, la dinámica molecular permite la exploración de conformaciones de una proteína en diversas condiciones físicas y/o mutaciones, así como efectos en dados por la interacción con membranas. Una de las principales ramas de su utilización es la búsqueda de sitios blancos para el hallazgo de nuevos fármacos para el tratamiento de diversas patologías (Karplus y Petsko 1990).

Es por ello que en este trabajo se propone la construcción de un modelo completo de EGFR el cual incluya la mayor parte de las regiones que conforman a la proteína, para usos posteriores en dinámica molecular.

### **Materiales y métodos**

Los modelos estructurales se obtuvieron de la base de datos Protein Data Bank (PDB) mediante las interfaces de programación de aplicaciones (API). La Search API se empleó para identificar entradas que cumplieran con los criterios de búsqueda definidos en un archivo JSON, priorizando aquellas de mayor calidad, mientras que la Data API permitió recuperar sus características y coordenadas. La selección final se basó en la cobertura estructural, la calidad experimental y la especie de origen (Stephen et al 2025). Las estructuras fueron procesadas en ChimeraX 1.8, conservando únicamente la cadena A y eliminando moléculas de agua, iones y ligandos. Cada cadena individual se almacenó por separado para su posterior validación. El modelo completo de EGFR se ensambló con la herramienta *Build Structure*, incorporando un fragmento ausente (NGP) y estableciendo enlaces peptídicos simulados entre los extremos amino y carboxilo terminales de las cadenas. El ajuste espacial se realizó utilizando un pseudomodelo de referencia derivado de las estructuras originales en conformación dimérica, evitando la alteración de los ángulos de enlace (Meng et al 2023). Finalmente, los modelos individuales y el ensamblaje completo fueron preparados para simulaciones de dinámica molecular mediante Dock Prep y validados con las herramientas ERRAT, Verify3D y PROCHECK integradas en la plataforma SAVES v6.1, a fin de evaluar la calidad estructural y los posibles efectos derivados de la manipulación computacional (DOE-MBI Staff).

### **Resultados**

Los criterios para la búsqueda de modelos en PDB fueron establecidos bajo una serie de iteraciones en la búsqueda, utilizando en un inicio términos genéricos como: *epidermal growth factor receptor* y *Homo sapiens*, los cuales arrojaron un conteo total de coincidencias que ascendía a 8260 entradas, sin embargo con las posteriores revisiones la generalidad de estos términos incluía receptores, anticuerpos, moléculas con capacidad de regular el crecimiento, entre otros debido a la generalidad de los términos. Después de varias iteraciones los criterios de búsqueda establecidos fueron P00533, identificados de la proteína EGFR humana en la base de datos UniProt y la sentencia lógica *Negation* = "*antibody* + *antibodies*" la cual eliminaba todos los anticuerpos dirigidos contra EGFR, análisis que arroja 336 entradas, las cuales fueron revisadas y evaluadas para seleccionar tres modelos utilizados en la construcción, 7SYD para la región extracelular, 2M20 para la región transmembranal y 2GS7 para la región intracelular. Tras la construcción del modelo completo este se procedió evaluar en la plataforma SAVES v6.1 para verificar la calidad de la construcción, mismos, Verify 3D comprueba el ambiente local de cada residuo: si la ubicación de ese residuo en la estructura tridimensional es consistente con lo que se observa en estructuras conocidas, dado su tipo de aminoácido, su hidrofobicidad, entre otros, encontrando sus resultados en la tabla 2.

**Tabla 2. Resultados Verify 3D**

Modelo	Residuos Validos	Resultado
Construcción	66.42%	Fallido
7SYD/M	67.59%	Fallido
2M20/M	0.00%	Fallido
2GS7/M	69.75%	Fallido

Por otra parte, ERRAT evalúa interacciones no enlazadas (nonbonded) entre átomos en la estructura proteica versus lo que se esperaría estadísticamente en estructuras de alta calidad, comparando patrones de distancias en búsqueda de anomalías, encontrando sus resultados en la tabla 3.

**Tabla 3. Resultados ERRAT**

Modelo	Factor de calidad general	Calidad del Modelo
Construcción	76.812	Baja
7SYD/M	76.122%	Baja
2M20/M	4.878%	Baja
2GS7/M	96.679	Alta

Finalmente, la última evaluación se llevó a cabo con PROCHECK, software que evalúa la geometría estereoquímica, verificando que ángulos de enlace, longitudes de enlace, torsiones, conformaciones ramachandran para residuos, distribución de rotámeros, entre otros valores se encuentren dentro de zonas permitidas, los resultados se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4. Resultados PROCHECK**

Modelo	Construcción		7SYD/M		2M20/M		2GS7/M	
Categoría	Número de residuos	Porcentaje	Número de residuos	Porcentaje	Número de residuos	Porcentaje	Número de residuos	Porcentaje
Residuos en regiones más favorecidas [A,B,L]	647	77.7%	393	73.9%	46	92.0%	206	83.7%
Residuos en regiones adicionalmente permitidas [a,b,l,p]	181	21.7%	136	25.6%	4	8.0%	38	15.4%
Residuos en regiones generosamente permitidas [-a,-b,-l,-p]	5	0.6%	3	0.6%	0	0.0%	2	0.8%
Residuos en regiones no permitidas	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
<b>Número de residuos no glicina ni prolina</b>	<b>833</b>	<b>100.0%</b>	<b>532</b>	<b>100.0%</b>	<b>50</b>	<b>100.0%</b>	<b>246</b>	<b>100.0%</b>
Número de residuos terminales (excluyendo Gly y Pro)	5		2	–	2	–	5	–
Número de residuos de glicina (mostrados como triángulos)	72		50	–	5	–	16	–
Número de residuos de prolina	49		30	–	3	–	14	–
<b>Número total de residuos</b>	<b>959</b>		<b>614</b>	–	<b>60</b>	–	<b>281</b>	–

## Discusión

Los resultados obtenidos en la construcción y validación del modelo completo de EGFR muestran limitaciones inherentes al proceso de ensamblaje de regiones provenientes de diferentes estructuras experimentales. Los valores de Verify3D y ERRAT reflejaron una calidad estructural baja en la mayoría de los modelos, con excepción de la región intracelular (2GS7), que alcanzó un valor aceptable en ERRAT. Esto sugiere que las regiones extracelular y transmembranal presentan mayor complejidad para su modelado y validación computacional, probablemente debido a la flexibilidad estructural y a la limitada resolución de los modelos experimentales disponibles. Comparado con otros estudios, se ha reportado que la calidad de los modelos de EGFR depende fuertemente de la técnica experimental utilizada (crio-EM,

RMN o difracción de rayos X), siendo frecuente que las regiones extracelulares y transmembranales presenten menor resolución (Arkhipov et al 2013). En este sentido, la combinación de diferentes métodos y el uso de estrategias de refinamiento mediante dinámica molecular son herramientas clave para mejorar la estabilidad de los modelos ensamblados. De esta forma, la presente aproximación constituye un primer paso hacia la generación de modelos integrales de EGFR que podrán emplearse en simulaciones de dinámica molecular enfocadas al estudio de mutaciones, dimerización y diseño de inhibidores selectivos contra cáncer de mama triple negativo.

## Conclusiones

La construcción del modelo completo de EGFR permitió integrar regiones estructurales que normalmente se encuentran fragmentadas en los modelos experimentales depositados en PDB. A pesar de que las validaciones mostraron deficiencias en la calidad de algunas regiones, el modelo representa un punto de partida valioso para estudios posteriores en dinámica molecular. Este trabajo demuestra la factibilidad de ensamblar un modelo integral de EGFR humano, lo que facilitará investigaciones orientadas a comprender la relación estructura-función y apoyar el diseño de estrategias terapéuticas innovadoras frente al cáncer de mama triple negativo.

## Referencias bibliográficas

1. Roskoski, R. (2014). The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer. *Pharmacological Research*, 79, 34–74. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.11.002>
2. Danielsen, A. J., & Maihle, N. J. (2002). The EGF/ErbB receptor family and apoptosis. *Growth Factors*, 20 (1), 1–15. <https://doi.org/10.1080/08977190290022185>
3. Uribe, M. L., Marrocco, I., & Yarden, Y. (2021). EGFR in Cancer: Signaling Mechanisms, Drugs, and Acquired Resistance. *Cancers*, 13, 2748. <https://doi.org/10.3390/cancers>
4. Shaban, N., Kamashev, D., Emelianova, A., & Buzdin, A. (2024). Targeted Inhibitors of EGFR: Structure, Biology, Biomarkers, and Clinical Applications. *Cells* 13, 1. <https://doi.org/10.3390/cells13010047>
5. Karplus M, Petsko GA. Molecular dynamics simulations in biology. *Nature*. 1990 Oct 18;347(6294):631-9. doi: 10.1038/347631a0. PMID: 2215695.
- 6- Updated resources for exploring experimentally-determined PDB structures and Computed Structure Models at the RCSB Protein Data Bank (2025) *Nucleic Acids Research* 53 D564–D574 <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1091>
- 7 UCSF ChimeraX: Tools for structure building and analysis. Meng EC, Goddard TD, Pettersen EF, Couch GS, Pearson ZJ, Morris JH, Ferrin TE. *Protein Sci*. 2023 Nov;32(11):e4792.
- 8 [https://aves.mbi.ucla.edu/\[online\]](https://aves.mbi.ucla.edu/[online]).
- 9 Anton Arkhipov, Yibing Shan, Rahul Das, Nicholas F. Endres, Michael P. Eastwood, David E. Wemmer, John Kuriyan, David E. Shaw, Architecture and Membrane Interactions of the EGF Receptor, *Cell*, Volume 152, Issue 3, 2013, Pages 557-569, ISSN 0092-8674, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.12.030>.

## ANÁLISIS METAGENÓMICO DEL RESISTOMA BACTERIANO EN RÍOS Y ÁREAS COSTERAS DE TAMAULIPAS

Eleazar López Pecina<sup>1</sup>, Graciela Castro Escarpulli<sup>2</sup>, Ana Verónica Martínez Vazquez<sup>1</sup>, Silvia Susana Fernández Dávila<sup>1</sup>, Virgilio Bocanegra García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Boulevard del Maestro s/n esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, C.P. 88710, Reynosa, Tamaulipas, México. <sup>2</sup> Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Unidad Zacatenco, Av. Wilfrido Massieu 399, Nueva Industrial Vallejo, Gustavo A. Madero, C.P. 07700 Ciudad de México, CDMX.

[elopezp2200@alumno.ipn.mx](mailto:elopezp2200@alumno.ipn.mx)

### Resumen

La resistencia a los antibióticos constituye una de las mayores amenazas para la salud pública, y los ecosistemas acuáticos actúan como reservorios y vías de propagación de genes resistentes. En este estudio se evaluó la prevalencia y diversidad del resistoma bacteriano en ríos y zonas costeras de Tamaulipas. Los resultados mostraron una mayor abundancia de bacterias resistentes en ríos que en ambientes marinos, con predominio de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Aeromonas*. Estos hallazgos evidencian la influencia de la actividad humana en la diseminación de la resistencia a los antibióticos en ecosistemas acuáticos.

**Palabras clave:** Resistencia, antibióticos, cuerpos de agua, Tamaulipas.

### Introducción

La resistencia a los antibióticos es una amenaza global para la salud pública. Las bacterias desarrollan esta resistencia a través de mutaciones o al adquirir genes de otros organismos, y el uso de antibióticos en humanos y animales contamina el medio ambiente, acelerando este proceso (Duraó et al., 2018). Los cuerpos de agua, incluidos ríos y zonas costeras, son cruciales como reservorios y focos de propagación de estos genes. La rápida urbanización e industrialización contribuyen a este problema al descargar desechos con antibióticos y metales pesados en estos ecosistemas (Finton et al., 2020). Este ambiente facilita el intercambio de material genético que confiere la resistencia, lo que permite a las bacterias acumular una gran diversidad de genes de resistencia (Zhang et al., 2020). En Tamaulipas, los cuerpos de agua pueden actuar como vías de propagación, pero se carece de estudios exhaustivos sobre la prevalencia y distribución de esta resistencia en la región. Por ello, este estudio tiene como objetivo evaluar la prevalencia y distribución del resistoma en bacterias presentes en cuerpos de agua estratégicos del estado de Tamaulipas.

### Materiales y métodos

Se recolectaron muestras de agua superficial en seis sitios de la zona norte de Tamaulipas, a una profundidad aproximada de 30 cm, utilizando botellas de poliuretano estériles.

### Aislamiento e identificación

Se empleó el método de dilución en gotas para cuantificar la concentración total de microorganismos. Las muestras se diluyeron en serie hasta  $10^{-8}$ , y se sembraron 15  $\mu$ l de cada dilución en placas de agar. Posteriormente, para el aislamiento de bacterias resistentes a antibióticos, se emplearon medios de cultivo selectivos y diferenciales, como CHROMagar ESB, CHROMagar MRSA, sangre suplementado con tetraciclina, TCBS, TSA suplementado



con cloranfenicol, TSA con cefotaxima, TSA con tetraciclina, CHROMagar VRE y CHROMagar *Acinetobacter*. Las colonias que crecieron en estos medios se seleccionaron para su identificación con el sistema automatizado VITEK 2 (bioMérieux)

### Pruebas de susceptibilidad

Los aislados identificados mediante el sistema VITEK2 fueron sometidos a pruebas de susceptibilidad utilizando el mismo sistema automatizado. Para ello, se inocularon en tarjetas AST-GN01, que contienen un panel de antibióticos de uso común.

### Resultados

Se recolectaron un total de seis muestras. De estas, tres se recolectaron en la Playa Bagdad: una directamente del mar y dos de áreas con agua salobre en puntos distintos de la zona costera. Además, se recolectó una muestra del Río Bravo, una muestra de un lago ubicado en la zona centro del municipio, y una muestra adicional proveniente de una laguna de oxidación

### Distribución y análisis comparativo de la carga bacteriana ( $\log_{10}$ UFC/mL)

La mayor carga bacteriana resistente se registró en la laguna de oxidación en Matamoras (NA06) destacando por sus valores elevados en distintos medios selectivos. El Río Bravo (NA04) también presentó concentraciones considerables. En el sitio “El laguito” (NA05), se observó un crecimiento notable en el medio ESBL. En contraste, los valores en Playa Bagdad fueron significativamente menores, con crecimiento limitado a los sitios de agua salobre (Tabla 1).

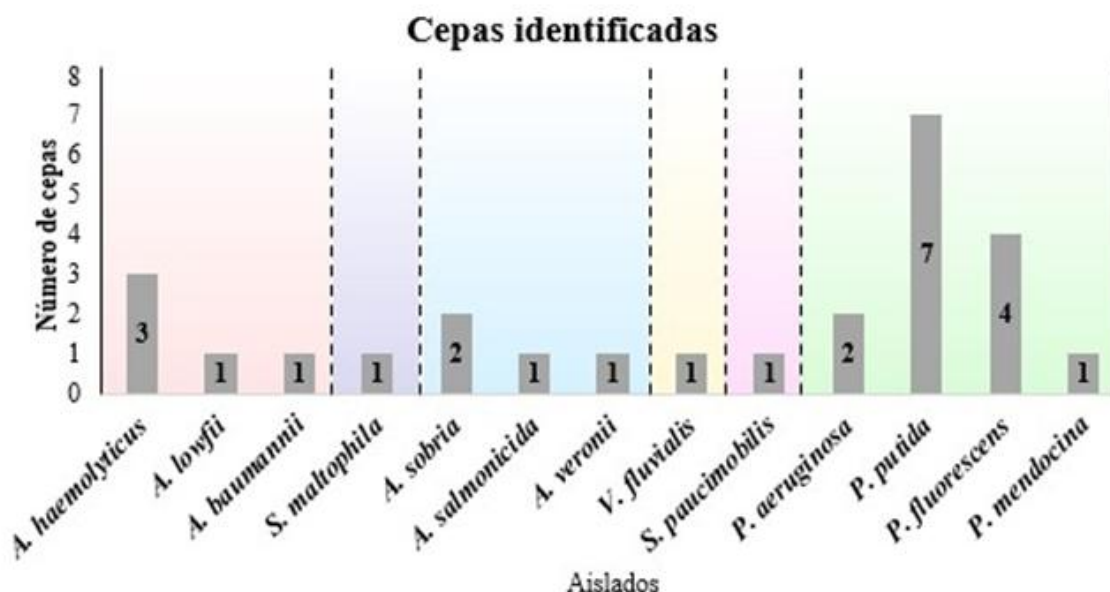
**Tabla 1.** Conteo bacteriano ( $\log_{10}$  UFC/mL).

Medio	NA01	NA02	NA03	NA04	NA05	NA06
VRE	-	-	-	1.6	-	2.3
TSA TET	-	-	-	-	-	-
TSA CTX	-	1.3	-	1.6	2.4	5.8
TSA CFN	-	-	-	1.3	-	1.7
TCBS	-	-	-	-	-	-
Sangre TET	-	-	-	-	-	-
MRSA	-	-	-	2.3	-	5.6
ESBL	-	1.6	1.7	7.4	-	-
ACINE	-	-	-	1.9	2	2

### Identificación y pruebas de susceptibilidad

Mediante el sistema automatizado VITEK 2 Compact se identificaron 26 aislados bacterianos provenientes de la zona norte del estado (Río Bravo, “Laguito” y laguna de oxidación), pertenecientes a seis géneros: *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., *Sphingomonas* spp. y *Pseudomonas* spp. (Figura 1).





**Figura 1.** Identificación de aislados por el sistema automatizado VITEK2 Compact.

La resistencia a antibióticos varió entre los géneros bacterianos, destacando *Pseudomonas* spp., donde el 100% de los aislados fue resistente a cefalotina y ceftazidima. En *Acinetobacter* spp., el 60% de los aislados mostró resistencia a ampicilina/sulbactam y ceftazidima. *Aeromonas* spp. presentó resistencia en el 50% de los aislados a norfloxacin, nitrofurantoina y trimetoprim/sulfametoxazol. Por último, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Vibrio fluvialis* también exhibieron patrones de resistencia significativos a varios antibióticos.

### Discusión

Se observó un mayor conteo bacteriano de UFC/mL en ríos que, en aguas marinas, lo que indica una mayor carga bacteriana en cuerpos de agua dulce, probablemente asociada a descargas domésticas, hospitalarias, agrícolas e industriales. En contraste, la salinidad y dilución marina limitan la supervivencia de bacterias entéricas resistentes. Hallazgos similares fueron reportados por García Torné et al. (2025) en Valencia, donde las muestras de ríos mostraron mayor concentración de bacterias resistentes que las costeras (García Torné et al., 2025).

### Conclusiones

En la región norte, las muestras de ríos presentaron un mayor crecimiento en medios suplementados con antibióticos que las de agua marina, lo que indica una mayor carga bacteriana resistente asociada a descargas antropogénicas. Los géneros más frecuentes fueron *Pseudomonas* spp., seguidos de *Acinetobacter* spp. y *Aeromonas* spp.

### Agradecimientos

Agradezco a mi asesor de tesis, el Dr. Virgilio Bocanegra García por la asesoría en la realización de esta investigación, a la SECIHTI y a BEIFI por el apoyo económico brindado.

### Referencias bibliográficas

Durao, P., Balbontín, R., & Gordo, I. (2018). Evolutionary Mechanisms Shaping the Maintenance of Antibiotic Resistance. *Trends in Microbiology*, 26(8), 677-691. doi:10.1016/j.tim.2018.01.005

- Finton, M. D., Meisal, R., Porcellato, D., Brandal, L. T., & Lindstedt, B. A. (2020). Whole Genome Sequencing and Characterization of Multidrug-Resistant (MDR) Bacterial Strains Isolated From a Norwegian University Campus Pond. *Frontiers in Microbiology*, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.01273
- Garcia Torné, M., Falcó, I., Borrell, X., Bautista, A., Mazigh, R., Aznar, R., Llorca, M. (2025). Comprehensive Study of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Wastewater and Impacted Mediterranean Water Environments. *antibiotics*, 14(4). doi:10.3390/antibiotics14040341
- Zhang, Y., Chen, H., Jing, L., & Teng, Y. (2020). Ecotoxicological risk assessment and source apportionment of antibiotics in the waters and sediments of a peri-urban river. *Science of The Total Environment*, 731. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139128

## ANÁLISIS DE LA RESPUESTA MOLECULAR INDUCIDA EN EL PROCESO DE INTERACCIÓN DE LOS HONGOS *Pleurotus ostreatus* Y *Aspergillus flavus*

Luis Jesús Martínez Tozcano<sup>1</sup>, Alfredo Heriberto Herrera Estrella<sup>2</sup>, Soley Berenice Nava Galicia<sup>1</sup>, Martha Dolores Bibbins Martínez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5 Tlaxcala C.P. 90700, México, <sup>2</sup>Unidad de Genómica Avanzada, Cinvestav, 36824 Irapuato, Guanajuato. México.

\*lmartinezt2102@alumno.ipn.mx

### Resumen

El hongo *Pleurotus ostreatus* es reconocido por su capacidad de producir compuestos bioactivos con el potencial de afectar el crecimiento de organismos patógenos, entre ellos bacterias y hongos. Por otra parte, *Aspergillus flavus* es un fitopatógeno de importancia agrícola que sintetiza aflatoxinas, metabolitos tóxicos y carcinogénicos. La interacción entre ambos organismos puede activar o reprimir vías metabólicas, afectando el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios, incluidos aquellos con actividad biológica. Con base en ello, el objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta inducida del co-cultivo de *P. ostreatus* y *A. flavus*, con énfasis en la inhibición del crecimiento del organismo patógeno y las aflatoxinas producidas por el mismo. El co-cultivo en placa se evaluó durante 24 días. La tasa de crecimiento para *P. ostreatus* fue de 0.69 cm/día, mientras que *A. flavus* de 0.53 cm/día en mono-cultivo. Durante el ensayo de interacción, los resultados mostraron una restricción del crecimiento micelial de *A. flavus* alrededor del 61%, además, la detección de aflatoxinas fue al día 6 e incremento hasta el día 11, posteriormente decreció hasta desaparecer al día 21, en comparación con mono-cultivo donde las aflatoxinas fueron detectadas desde el día 16 y no hubo disminución de estas.

**Palabras clave:** Aflatoxinas, *P. ostreatus*, interacción.

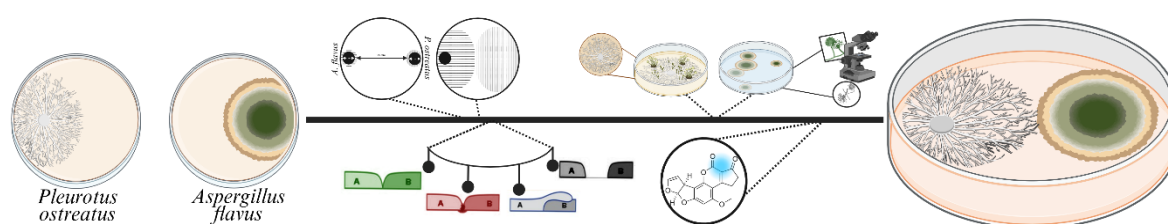
### Introducción

Cuando distintas especies de hongos entran en contacto, sus micelios interactúan directamente para competir o defenderse en la lucha por los nutrientes y el espacio. Este proceso suele ir acompañado de alteraciones en la morfología micelial y representa una vía clave para la producción de metabolitos secundarios bioactivos, los cuales no se generan en condiciones de cultivo individual (Evans et al., 2008). Estudios sugieren que los metabolitos secretados en la zona de interacción de dos especies de hongos podrían estar involucrados en la respuesta de defensa contra el estrés abiótico (Bertrand et al., 2014). En el caso del hongo *P. ostreatus*, su efecto antagónico frente a hongos fitopatógenos de interés agrícola, ya ha sido demostrado (Sarkar y Datta, 2024). En la última década se han dado a conocer estudios acerca del potencial que presenta las enzimas extracelulares que produce *P. ostreatus* no solo en la oxidación de aflatoxinas sino también en xenobióticos y agentes recalcitrantes (Zhuo y Fan, 2021). Actualmente, se ha reportado la producción de metabolitos con actividad biológica bajo diferentes condiciones de crecimiento tanto en el cuerpo fructífero como en el micelio (Shamugam y Kertesz, 2023). Por otra parte, *A. flavus* como entre muchos otros hongos, producen toxinas, las cuales pueden estar presentes en el cultivo, en los granos en almacén y en los alimentos que se produzcan a partir de los mismos, representando lo anterior un gran riesgo para la salud de humanos y animales. Entre las toxinas, sobresale la presencia de

aflatoxinas, metabolitos fúngicos altamente tóxicos con carácter hepatotóxico y teratogénico. Estudios reportan la efectividad de enzimas oxidasas en la degradación de aflatoxinas (Kumar et al., 2022), sin embargo, es necesario determinar la expresión/producción de metabolitos de *P. ostreatus* en respuesta a la interacción con patógenos. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta inducida en el co-cultivo de *P. ostreatus* y *A. flavus*, con énfasis en la inhibición del crecimiento del organismo patógeno y de las aflatoxinas producidas por el mismo.

## Materiales y métodos

En la figura 1 se presenta la estrategia experimental a la respuesta de interacción durante el co-cultivo, destacando la morfología, tipo de antagonismo y oxidación de aflatoxinas.

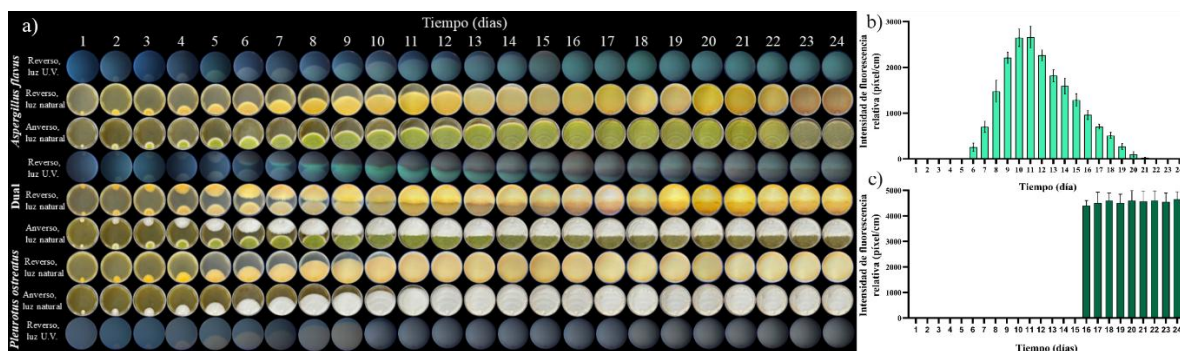


**Figura 1.** Estrategia experimental

Se estableció un co-cultivo de *P. ostreatus* y *A. flavus* en PDA con extracto de paja (10%) incubados a 25°C en oscuridad (Badalyan et al., 2002). El crecimiento y la interacción se monitorearon durante 24 días bajo luz U.V. (365 nm) y natural, evaluando la producción de aflatoxinas e índice de antagonismo. Las tasas de crecimiento (kt) se determinaron midiendo el crecimiento micelial. La velocidad de crecimiento se calculó en cm/día y las mediciones se tomaron cada día por registro fotográfico (Zervakis et al., 2001). La fórmula muestra la kt y se calcularon ajustando la función de crecimiento lineal. Ecuación 1.  $y = KtX + C$ . Donde: Y = distancia; x = tiempo; Kt = crecimiento micelial. Se registró el tiempo de confrontación entre *P. ostreatus* y *A. flavus* y, tras el contacto de sus hifas, se calculó el porcentaje de reducción de crecimiento micelial (PRCM) midiendo la zona de intersección cada 24 h hasta que el control (fitopatógeno) cubrió la placa. Las mediciones se realizaron con el programa ImageJ, aplicando la fórmula 2 para determinar el PRCM (Téllez-Téllez et al., 2024). Ecuación 2.  $PRCM = (A - B) / (A) * 100$ . Donde: A = crecimiento del fitopatógeno; B = crecimiento del fitopatógeno junto con el antagonista.

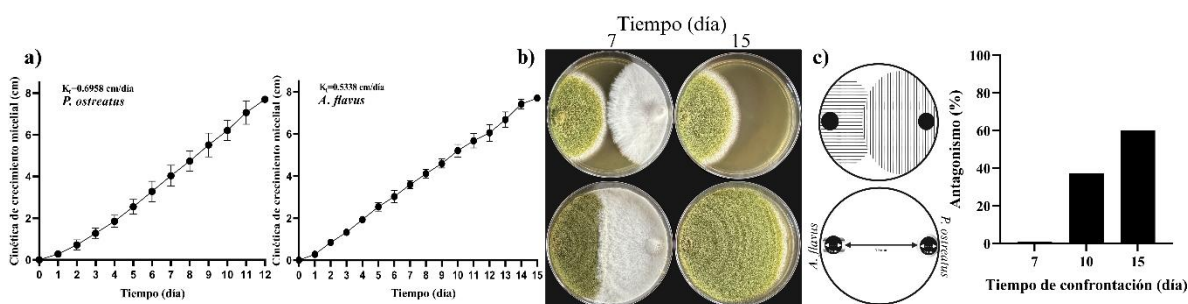
## Resultados

El análisis del proceso de interacción de *P. ostreatus* y *A. flavus*, se muestra en la figura 2. Se observó que las colonias fúngicas se tocaron al día 7 y se observó la inducción temprana en la producción de aflatoxinas, en comparación con el control, en donde las aflatoxinas se detectaron en el día 16. La figura 2b muestra el periodo de producción y oxidación de aflatoxinas, del día 7 al 11 se apreció visualmente el incremento en la concentración relativa de aflatoxinas y posteriormente el decremento de estas. A partir del día 21, las aflatoxinas ya no fueron detectadas. En la figura 2c se muestra la producción de aflatoxinas en mono-cultivo, las cuales fueron producidas a partir del día 16 y se mantuvo la fluorescencia relativa en los días posteriores de la cinética.



**Figura 2.** Cinética de crecimiento. a) co-cultivo y mono-cultivo; b) producción de aflatoxinas en co-cultivo; c) producción de aflatoxinas en mono-cultivo.

En la figura 3a se muestra la cinética de crecimiento de *P. ostreatus* y *A. flavus* en cultivos individuales. *P. ostreatus* generó una kt de 0.6958 cm/día, mientras que *A. flavus* mostró una kt de 0.5338 cm/día. La figura 3b ilustra el patrón de interacción fúngica durante el co-cultivo, que fue sobrecrecimiento (*P. ostreatus* crece sobre el fitopatógeno limitando su crecimiento) y finalmente la figura 3c representa el PRCM para *A. flavus*, al día 10 de interacción fue  $37.4 \pm 1.96$  y al lapso de 15 días mostró un porcentaje de  $61.7 \pm 0.9$ .



**Figura 3.** Ensayo de interacción. a) velocidad de crecimiento; b) tipo de interacción; c) antagonismo.

## Discusión

En interacciones fúngicas se han descrito distintos tipos de antagonismo, entre ellos el sobrecrecimiento, observado en los cultivos duales donde *P. ostreatus* mantuvo o incrementó su crecimiento mientras *A. flavus* detuvo el suyo. Este efecto se atribuye a la liberación de enzimas hidrolíticas, compuestos fenólicos y metabolitos secundarios que actúan sobre las paredes celulares de hongos patógenos, favoreciendo la competencia por espacio y nutrientes (Ge et al., 2022). Diversos estudios han confirmado el potencial antagónico de *P. ostreatus* frente a múltiples fitopatógenos. Las micotoxinas se han propuesto como mecanismos de defensa en interacciones fúngicas, función que también podría atribuirse a las aflatoxinas (Venkatesh y Keller, 2019). En co-cultivo, la fluorescencia observada se relaciona con la producción temprana de aflatoxinas inducidas por el estrés generado, mientras que su disminución sugiere la acción enzimática de *P. ostreatus*, capaz de liberar oxidasas potenciales para degradar aflatoxinas (Adebo et al., 2017).

## Conclusiones

*P. ostreatus* ejerce un efecto antagónico sobre *A. flavus*, evidenciado por el sobrecrecimiento del primero y la inhibición del segundo. Este efecto se asocia tanto a la liberación de enzimas con capacidad degradadora de aflatoxinas como a mecanismos de competencia por espacio y nutrientes.



## Agradecimientos

A beca SECIHTI con numero de registro 4024319 y proyecto multidisciplinario SIP 20251091.

## Referencias bibliográficas

- Adebo, O. A., Njobeh, P. B., Gbashi, S., Nwinyi, O. C., & Mavumengwana, V. (2017). Review on microbial degradation of aflatoxins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3208–3217.
- Badalyan, S. M., Innocenti, G., & Garibyan, N. G. (2002). Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathologia Mediterranea*, 41(3), 220–225.
- Bertrand, S., Bohni, N., Schnee, S., Schumpp, O., Gindro, K., & Wolfender, J. L. (2014). Metabolite induction via microorganism co-culture: A potential way to enhance chemical diversity for drug discovery. *Biotechnology Advances*, 32(6), 1180–1204.
- Evans, J. A., Eyre, C. A., Rogers, H. J., Boddy, L., & Müller, C. T. (2008). Changes in volatile production during interspecific interactions between four wood rotting fungi growing in artificial media. *Fungal Ecology*, 1(2–3), 57–68.
- Ge, X., Wang, Y., Sun, C., Zhang, Z., Song, L., Tan, L., Li, D., Yang, S., & Yu, G. (2022). Secondary Metabolites Produced by Coculture of *Pleurotus ostreatus* SY10 and *Pleurotus eryngii* SY302. *Chemistry and Biodiversity*, 19(4), 1–8.
- Kumar, V., Bahuguna, A., Ramalingam, S., Dhakal, G., Shim, J. J., & Kim, M. (2022). Recent technological advances in mechanism, toxicity, and food perspectives of enzyme-mediated aflatoxin degradation. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 62, Issue 20, pp. 5395–5412). Taylor and Francis Ltd.
- Sarkar, R., & Datta, B. (2024). Efficacy of *Pleurotus ostreatus* mycelia as bioinoculant to improve growth of pepper plant and protect against wilt causing *Fusarium oxysporum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 134(October), 102444.
- Shamugam, S., & Kertesz, M. A. (2023). Bacterial interactions with the mycelium of the cultivated edible mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Applied Microbiology*, 134(1), 1–10.
- Téllez-Téllez, M., Amaro-Guadarrama, B., Agapito-Ocampo, A. R., & Acosta-Urdapilleta, M. de L. (2024). Antagonismo y actividad antifúngica de *Humphreya coffeata* (Berk.) Steyaert contra *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 11(1), 1–11.
- Venkatesh, N., & Keller, N. P. (2019). Mycotoxins in conversation with bacteria and fungi. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAR), 1–10.
- Zhuo, R., & Fan, F. (2021). A comprehensive insight into the application of white rot fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants. In *Science of the Total Environment* (Vol. 778). Elsevier B.V.
- Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S., & Diamantopoulou, P. (2001). Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia microbiologica*, 46(3), 231–234.



## **EFFECTO DE PROBIÓTICOS MICROENCAPSULADOS EN EL CRECIMIENTO, MICROBIOTA INTESTINAL, COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y SISTEMA INMUNE DE LA JAIBA CAFÉ *Callinectes bellicosus* RETADO CON *Vibrio harveyi* VCBIPN 2016**

Elvia G. Medina-Contreras<sup>1\*</sup>, Genaro Diarte-Plata<sup>1</sup>, Ruth Escamilla-Montes<sup>2</sup>, Antonio Luna-González<sup>1</sup>, María E. Santos-Cervantes<sup>1</sup> y Magnolia Montoya-Mejía<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Unidad Sinaloa. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Guasave, Sinaloa 81101, México. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C- Unidad Guaymas. Estero de Bacochibampo, Km. 2.35 Camino al Tular, Guaymas - Hermosillo 349, Sin Nombre, 85400 Guaymas, Son.

\* emedinac2000@alumno.ipn.mx

### **Resumen**

El uso de probióticos en acuicultura ha demostrado beneficios para el control de patógenos como *Vibrio harveyi*. En este estudio, se evaluó el efecto de bacterias ácido- lácticas aisladas y caracterizados a nivel bioquímico a partir de la jaiba café *C. bellicosus* en el crecimiento, microbiota intestinal, composición bioquímica y sistema inmune de la jaiba azul *Callinectes arcuatus*. Se probaron dos aislados de bacterias ácido lácticas (BAL) a dos concentraciones ( $1 \times 10^6$  y  $3 \times 10^6$  UFC/mL) y cuatro frecuencias de administración (diaria, cada 2, 3 y 4 días), midiendo su efecto en la supervivencia, crecimiento, microbiota intestinal y sistema inmune de los organismos. Los resultados indicaron que una administración cada 2 días ( $1 \times 10^6$  UFC/mL) en las jaibas se observó un mayor conteo de UFC de BAL y una menor cantidad de UFC de *Vibrio* en comparación con la administración diaria. y mejor respuesta inmune sin que se comprometiera el crecimiento ni la supervivencia de *C. arcuatus*. Estos hallazgos refuerzan el potencial preventivo del uso de probióticos autóctonos en cultivos de crustáceos.

**Palabras clave:** Jaiba; Bacterias acidolácticas; Crecimiento; Supervivencia; Probióticos.

### **Introducción**

La jaiba es un recurso de gran valor comercial en México; *C. bellicosus* representa el 75 % de la captura en el Pacífico mexicano y el 66 % en Sinaloa, seguido de *C. arcuatus* (NOM-039-PESC-2003; Carta pesquera, 2023). Sin embargo, la producción y manejo de estos organismos han enfrentado desafíos en cuanto a su vulnerabilidad a infecciones bacterianas especialmente de especies del género *Vibrio*, especialmente cuando están bajo estrés (Serrano, 2018). El uso de antibióticos en acuicultura es limitado por la resistencia bacteriana y sus efectos negativos (Zheng *et al.*, 2020). Los probióticos al ser microorganismos vivos que, cuando se ingieren en cantidades suficientes, pueden conferir ciertos beneficios para la salud del huésped (Yan *et al.*, 2026) son una alternativa para fortalecer el sistema inmune de los organismos, mejorar su digestión y estabilizar su microbiota (Guzmán-Villanueva *et al.*, 2020). Las BAL han mostrado efectos positivos en el crecimiento, supervivencia y sistema inmune en especies de interés acuícola como peces y crustáceos de agua dulce y marina (Wei *et al.*, 2022). El presente trabajo evaluó el efecto de bacterias ácido lácticas (BAL), aisladas y caracterizadas a nivel bioquímico a partir de la jaiba café (*C. bellicosus*), en el crecimiento, microbiota intestinal, composición bioquímica y sistema inmune de la jaiba azul (*Callinectes arcuatus*) retada con *Vibrio harveyi* VCBIPN 2016, para determinar su potencial para mejorar la salud y resistencia a patógenos en sistemas acuícolas.

## Materiales y métodos

Se capturaron juveniles de *C. bellicosus* en la Bahía de Ohuira, Sinaloa, y se extrajeron los intestinos bajo condiciones estériles para el aislamiento de BAL, las cuales se sembraron en agar MRS con NaCl (2.5%) y se conservaron en caldo MRS con glicerol al  $-70^{\circ}\text{C}$  (Escamilla-Montes *et al.*, 2015). Las cepas presuntivas se caracterizaron mediante pruebas de Gram, catalasa y hemólisis; adhesión a p-xileno (Rosenberg *et al.*, 1980), autoagregación, coagregación con *Vibrio parahaemolyticus* (Del Re *et al.*, 2000; Laurencio-Silva *et al.*, 2017), formación de biofilm (Knobloch *et al.*, 2001), tolerancia a diferentes pH (4–10) y salinidades (NaCl 0–12%), así como producción enzimática en medios específicos (León *et al.*, 2000). También se realizó antibiograma y prueba de actividad antagónica contra *V. parahaemolyticus* en TSA (Kong *et al.*, 2020). Se realizaron dos bioensayos *in vivo* con juveniles machos de *C. arcuatus* ( $<7.5$  cm de caparazón) (Diarte-Plata, 2016). Los organismos se mantuvieron en tinas cilíndricas de 120 L (100 L de agua filtrada, 20  $\mu\text{m}$ ) con aireación constante, a una densidad de 15 organismos/tina. Se alimentaron dos veces al día con filete de tilapia (FT) (*Oreochromis niloticus*) suplementado con BAL. Donde en el primer bioensayo, se evaluó el efecto de distintas concentraciones ( $1 \times 10^6$  y  $3 \times 10^6$  UFC/mL) de BAL 1 y BAL 2, y el segundo bioensayo las frecuencias de administración (diaria, cada 2, 3 y 4 días) de BAL 1, ambos bioensayos duraron 30 días, posteriormente en el día 31, los organismos fueron retados por inyección intramuscular con *Vibrio harveyi* ( $\text{CL}_{50} = 2.652 \times 10^6$  UFC/mL). Se analizó el crecimiento, supervivencia, análisis microbiológico del intestino, para lo cual se colectaron seis intestinos completos por tratamiento bajo condiciones asépticas para la cuantificación de BAL y *Vibrio*. Para la respuesta inmune se realizó el conteo de hemocitos (Campa *et al.*, 2002), actividad de anión superóxido (Song y Hsieh, 1994), fenoloxidasa (PO) y profenoloxidasa (PPO) (Hernández *et al.*, 1996), así como la cuantificación de proteínas en plasma y suero libre de hemocitos SLH (Bradford, 1976). Para ello, se extrajo hemolinfa con anticoagulante (EDTA) de tres jaibas por tina, considerando un total de nueve organismos por tratamiento) (Vargas-Albores *et al.*, 1998). Los datos fueron analizados por ANOVA y post hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ) con el software STATISTICA®.

## Resultados

Los aislados BAL fueron gram positivos en forma de bacilos, con hemólisis gamma, mostraron crecimiento en diferentes concentraciones de salinidad y pH, con una formación de biofilm media, una autoagregación al superior al 60 %, con actividad proteolítica, hidrofobicidad variable, con valores que oscilan de baja a media (0.75-48.38%) y mostraron sensibilidad a oxitetraciclina y florfenicol, mientras que presentaron resistencia a gentamicina, estreptomycin y trimetoprima-sulfametoxazol. No se observó actividad antagónica frente *Vibrio parahaemolyticus*. Estas características fueron importantes para su selección para las pruebas *in vivo*. En el bioensayo 1 no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en la tasa de crecimiento específico (TCE) ( $p = 0.4246$ ), sin embargo, el TII ( $1 \times 10^6$  UFC/mL) mostró un mayor crecimiento en comparación con el control (TI). En la supervivencia se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo mayor en el TII (92 %) y menor en el TIV (50 %) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Supervivencia (%) y TCE de *Callinectes arcuatus* en bioensayos de concentraciones y frecuencias de administración de BAL.

Tratamiento	Bioensayo 1: Concentraciones		Bioensayo 2: Frecuencias	
	Supervivencia (%)	TCE (%/día)	Supervivencia (%)	TCE (%/día)
I (Control)	92 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.1	43 ± 12.4	0.540 ± 0.3
II	92 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.1	48 ± 1.3	0.299 ± 0.2
III	83 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.2	38 ± 1.2	0.317 ± 0.1
IV	50 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.1	41 ± 1.3	0.194 ± 0.1
V	81 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.2	40 ± 0.061	0.181 ± 0.1

Los valores se expresan como promedio ± error estándar. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

El análisis microbiológico en los tratamientos se presentó un mayor conteo de UFC de BAL y menor presencia de *Vibrio* en el TIII en comparación con el control, mientras que TII y TV tuvieron valores menores. En cambio, TIII, TIV y TV mostraron mayor conteo de *Vibrio* respecto al control, aunque sin diferencias significativas. Mientras que, en el análisis inmunológico, la actividad del anión superóxido fue similar al control en la mayoría de los tratamientos con diferencias significativas únicamente en el TV ( $p = 0.0112$ ). De manera similar, la fenoloxidasa mostró variación entre tratamientos, y únicamente el TII presentó diferencias significativas respecto al control ( $p = 0.0023$ ). En cuanto a la concentración de proteína total, se encontraron diferencias significativas en TII ( $p = 0.0004$ ) y TV ( $p = 0.0012$ ) respecto al control, mientras que en el suero lisado de hemocitos (SLH) no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p > 0.05$ ). En el bioensayo 2, no se observaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento específico ( $p = 0.9798$ ) ni en la supervivencia ( $p = 0.4992$ ; Tabla 1). Sin embargo, el análisis microbiológico reveló que la frecuencia de administración cada dos días (TIII) favoreció una mayor número de UFC de BAL y menor UFC de *Vibrio* en los tratamientos con respecto al control. A nivel inmunológico, TIII mostró la mayor actividad del anión superóxido intracelular, mientras que los niveles de PPO el TIV fue el que solamente mostró diferencias significativas respecto al control (TI) ( $p = 0.0463$ ) y proteína total en plasma ( $p = 0.1361$ ) y en SLH ( $p = 0.2609$ ) no mostraron diferencias significativas entre tratamientos.

## Discusión

Existen pocas investigaciones que evalúen el uso de probióticos en el crecimiento de jaibas del género *Callinectes*. Los aislados BAL presentaron características que respaldan su potencial como probiótico, como ausencia de hemólisis, autoagregación alta, formación de biofilm media y tolerancia a variaciones de salinidad y pH. De acuerdo con los resultados de caracterización bioquímica se sugiere que tienen capacidad para adherirse al intestino, resistir las condiciones del cultivo y favorecer la exclusión de patógenos (Kongnum *et al.*, 2012).

En cuanto a la TCE en los bioensayos no se presentó un efecto positivo de las BAL, sin embargo, en la supervivencia si hubo un efecto protector en las jaibas con respecto al reto con *V. harveyi* donde se registró la mayor supervivencia en el TII con respecto al control. El análisis microbiológico mostró una reducción de UFC de *Vibrios* y una mayor presencia de BAL lo que indica que a la concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/mL cada 2 días fue la que mostró un efecto positivo en las jaibas.

El sistema inmune de *C. arcuatus* mostró variaciones dependiendo de la concentración y la frecuencia de administración de BAL. El anión superóxido presentó valores intermedios en la mayoría de los tratamientos, con un incremento significativo en el TV respecto al control,

mientras que la fenoloxidasa también mostró diferencias significativas en la dosis moderadas. Estos resultados sugieren que el efecto de las BAL depende de la concentración y frecuencia de administración. Resultados similares fueron reportados en *L. vannamei* donde dosis moderadas de probióticos mejoraron la microbiota intestinal y la resistencia a patógenos (Viera *et al.*, 2010; Adel *et al.*, 2017). De forma similar, Kongnum & Hongpattarakere, (2012) y Wu *et al.* (2022) resaltaron que dosis y frecuencias moderadas optimizan la colonización intestinal y la inmunidad de los organismos, evitando los efectos adversos de la sobreexposición o estimulación insuficiente.

## Conclusiones

En el primer bioensayo, el tratamiento con BAL 1 a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/mL mejoró significativamente la tasa de crecimiento, la supervivencia y varios indicadores de la respuesta inmunológica en *C. arcuatus*. Aunque el crecimiento y la supervivencia no mostraron diferencias significativas entre frecuencias de administración, las BAL influyeron en variables microbiológicas e inmunológicas, en especial, la frecuencia de administración cada dos días que favoreció a una mayor abundancia de BAL en el intestino y un menor recuento de *Vibrio*. y estimulo indicadores de la respuesta inmune como el anión superóxido y los hemocitos semigranulares. Estos resultados sugieren que una frecuencia de administración de cada dos días puede ser más efectiva para modular la microbiota intestinal y mantener la respuesta inmune. Bajo las condiciones experimentales que se evaluaron, no se observaron cambios en las variables productivas; sin embargo, se registraron efectos positivos en la composición microbiana intestinal y en la respuesta inmunológica de los organismos.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT, México) y a la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP-IPN, México) por el apoyo financiero.

## Referencias bibliográficas

- Kongnum K, Hongpattarakere T (2012) Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. Fish & Shellfish Immunol. 32:170–177.
- Wei C, Luo K, Wang M, Li Y, Pan M, Xie Y, Qin G, Liu Y, Li L, Liu Q (2022) Evaluation of potential probiotic properties of a strain of *Lactobacillus plantarum* for shrimp farming: From beneficial functions to safety assessment. Frontiers in Microbiology. 13:854131.
- Yan S, Gao J, Sun Q (2026) Research progress on colonization ability of probiotics. In Journal of Future Foods (Vol. 6, Issue 2, pp. 195–204). KeAi Communications Co.

# IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES NUCLEOTÍDICAS EN LOS GENES *ABCC1* Y *CEP72* Y SU POSIBLE ASOCIACIÓN CON LA FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL DE VINCRIPTINA Y SU NEUROTOXICIDAD EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

María Fernanda Monroy Baroja<sup>1\*</sup>, Jazel Barragán Zúñiga<sup>2</sup>, Carlos Galaviz Hernández<sup>1</sup>,  
Aarón Elio Reyes Espinoza<sup>2</sup>, Martha Sosa Macías<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Unidad Durango, Sigma 119, 20 de Noviembre II, 34220, <sup>2</sup>Centro Estatal de Cancerología del Estado de Durango, 5 de Febrero, Zona Centro, 34000

\*mariafermonroy\_@hotmail.com

## Resumen

La vincristina (VCR) es un fármaco utilizado en el tratamiento de neoplasias pediátricas, cuya principal toxicidad es la neuropatía periférica (NPIV). El objetivo de este estudio fue analizar la prevalencia de NPIV y su posible asociación con variantes de un solo nucleótido (SNV) en *ABCC1*, *ABCC2* y *CEP72* en pacientes pediátricos de Durango, México. Se incluyeron 35 pacientes, clasificados en casos y controles de acuerdo con la presencia de NPIV. Se recopilaron variables clínicas y se realizó genotipificación mediante PCR en tiempo real semi-cuantitativa. No se encontraron diferencias significativas entre casos y controles en edad, género, peso, talla, número de dosis ni dosis acumulada de VCR. La prevalencia de NPIV fue del 51%, superior a lo descrito en estudios con muestras mayores. Tampoco se identificaron asociaciones significativas entre las SNV analizadas y la presencia de NPIV. Estos hallazgos sugieren que los factores genéticos estudiados no explican la variabilidad en la susceptibilidad a NPIV en esta población y resaltan la importancia de realizar investigaciones locales con tamaños de muestra más amplios y metodologías genómicas. Este estudio aporta evidencias sobre la farmacogenética de la VCR en pacientes pediátricos mexicanos y constituye un punto de partida para futuras investigaciones en medicina personalizada.

**Palabras clave:** LLA, pediatría, vincristina, neurotoxicidad, farmacogenética

## Introducción

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer pediátrico más frecuente, representando aproximadamente el 75% de las leucemias agudas a nivel mundial (Esparza y Sakamoto 2005) y más del 50% de los casos de cáncer infantil en México, con predominio de la LLA de precursores B (Rivera et al. 2017). La vincristina (VCR) es un agente clave en el tratamiento, pero puede causar neuropatía periférica (NPIV), limitando las dosis y afectando la calidad de vida del paciente (Gidding et al. 1999; van de Velde et al. 2022). Variantes de un solo nucleótido (SNV) en *ABCC1* (rs3743527), *ABCC2* (rs11190298, rs3740066) y *CEP72* (rs924607, rs12522955) se han asociado con NPIV en distintas poblaciones pediátricas (Diouf et al. 2015; López-López et al. 2016; Gutiérrez et al. 2017; Klumpers et al. 2022). El presente estudio evaluó la relación entre estas SNV con el desarrollo de NPIV en niños con LLA atendidos en el Centro Estatal de Cancerología de Durango (CECAN), México.



## Materiales y métodos

**Pacientes.** Se realizó un estudio de casos y controles que incluyó 35 pacientes pediátricos (3–18 años) con LLA tratados con VCR en el CECAN, donde los casos correspondieron a los niños que desarrollaron NPIV y los controles a aquellos que no la presentaron. El estudio fue aprobado por los comités de Investigación y Ética del Hospital General de Durango (No. 611/023), cumpliendo la Declaración de Helsinki y la Ley General de Salud de México. Se obtuvo consentimiento informado por escrito de los padres o tutores. Los pacientes recibieron tratamiento conforme a los protocolos TOTAL XIII y XVII de St. Jude, con dosis de VCR de 1.5 a 2.0 mg/m<sup>2</sup>. Se recopilaron datos demográficos y clínicos, incluyendo edad, sexo, peso, talla, número de dosis y dosis acumulada de VCR.

**Evaluación de la NPIV.** La presencia y severidad de la NPIV se determinó mediante revisión de expedientes médicos y el uso de un cuestionario original diseñado para este estudio. La neuropatía se clasificó en grados del 0 al 4 de acuerdo con los Criterios Terminológicos Comunes para Eventos Adversos (CTCAE) versión 4.0.

**Genotipificación de ABCC y CEP72** El DNA genómico se extrajo de sangre total según el método de Iranpur y Esmailzadeh (2010). Se evaluó su pureza e integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.7% y se cuantificó por espectrofotometría. Las SNV rs3743527 en *ABCC1*, rs11190298 y rs3740066 en *ABCC2* y rs924607 y rs12522955 en *CEP72* se identificaron mediante PCR en tiempo real semi-cuantitativa (qPCR) con sondas TaqMan® y rhAmp™ SNP assay.

**Análisis estadístico.** Los datos demográficos se expresaron como mediana y rango. La normalidad de las variables numéricas se evaluó con Shapiro-Wilk; al no seguir distribución normal, se aplicaron pruebas no paramétricas: Mann-Whitney para variables continuas y  $\chi^2$  o prueba exacta de Fisher para variables categóricas. Los análisis se realizaron en Jupyter Notebook 7.0.6 con Python 3.11.5. Las frecuencias alélicas y genotípicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg y los modelos de herencia se analizaron con SNPStats. Se consideró  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo, con un intervalo de confianza del 95%.

## Resultados

### Características generales de los pacientes

La Tabla 1 resume las características demográficas y clínicas de los pacientes con y sin NPIV. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ninguna de las variables analizadas.

**Tabla 1.** Datos demográficos de los casos y controles.

Variables	Casos (n = 18)	Controles (n = 17)	Valor de p
Edad (años)	4.5 (3.2, 8.0)	3.0 (2.0, 6.0)	0.84 <sup>B</sup>
Sexo (M/F) <sup>A</sup>	8/10	7/10	1.00 <sup>C</sup>
Peso (kg)	17.0 (14.5, 31.5)	14.7 (12.0, 24.0)	0.30 <sup>B</sup>
Talla (m)	1.06 (1.01, 1.31)	1.02 (0.93, 1.24)	0.37 <sup>B</sup>
Número de dosis VCR	11.5 (6.2, 16.2)	15.0 (6.0, 20.0)	0.44 <sup>B</sup>
Dosis acumulada VCR	14.6 (8.2, 21.7)	11.3 (7.6, 20.4)	0.91 <sup>B</sup>

<sup>A</sup> M=masculino; F=femenino; <sup>B</sup>U de Mann-Whitney; <sup>C</sup>Chi-cuadrado

### Presencia y severidad de la neuropatía

De los 35 pacientes pediátricos incluidos en el estudio, 18 (51%) desarrollaron NPIV. En cuanto a la severidad, 6 pacientes presentaron NPIV de grado 1, 3 de grado 2, 6 de grado 3 y 3 de grado 4. De este modo, el 67% de los casos presentó neuropatía moderada a grave (grados 2-4).

### Genotipo de ABCC y CEP72



No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas y genotípicas entre casos y controles en ninguna de las SNV analizadas. Todas las SNV se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg. En las SNV de los genes *ABCC1* y *ABCC2*, el genotipo heterocigoto fue el más frecuente en ambos grupos. En contraste, para las SNV del gen *CEP72*, el genotipo homocigoto silvestre fue predominante tanto en casos como en los controles. Cabe destacar que solo se identificó un paciente con el genotipo homocigoto mutado (TT) para la variante *CEP72* rs924607, el cual presentó neuropatía grado 3 (severa).

#### **Asociación entre SNV y desarrollo de la neuropatía**

El análisis mediante modelos de herencia no reveló asociaciones significativas entre ninguna de las SNV analizadas y el desarrollo de la NPIV.

#### **Discusión**

En este estudio no se observaron diferencias significativas entre casos y controles respecto a las covariables analizadas, lo que sugiere que no son determinantes en el desarrollo de la NPIV en la población evaluada. La prevalencia de NPIV fue del 51% (18/35), superior al 30% reportado en estudios con muestras más grandes, pero menor al 96% descrito por Rokkanen et al. (2024), posiblemente debido a variaciones en métodos diagnósticos, criterios clínicos y características poblacionales.

En cuanto al análisis genético, no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas ni genotípicas de las SNV de *ABCC1*, *ABCC2* y *CEP72* entre casos y controles. Esto contrasta con hallazgos previos que reportaron asociaciones con la NPIV (López-López et al., 2016; Diouf et al., 2015). Estos resultados podrían atribuirse a varios factores. En primer lugar, la diferencia en la frecuencia de las variantes alélicas observadas entre distintas poblaciones puede explicar la falta de replicabilidad de los resultados. En segundo lugar, el tamaño muestral reducido de este estudio limita la potencia estadística para detectar asociaciones de pequeño efecto. En tercer lugar, la heterogeneidad en las herramientas y criterios utilizados para el diagnóstico de la NPIV en los diferentes estudios, puede generar variaciones significativas en la clasificación de los pacientes. Además, es necesario considerar la interacción gen-ambiente, en la que factores como el estado nutricional, la presencia de comorbilidades y la administración concomitante de otros fármacos pueden modular la severidad la neurotoxicidad. Finalmente, no se puede descartar la posibilidad de que las SNV analizadas se encuentren en desequilibrio de ligamiento con otras variantes aún no estudiadas, lo que podría enmascarar asociaciones previamente descritas.

#### **Conclusiones**

En este estudio no se encontró ningún SNV asociado con la NPIV, pero documenta una prevalencia del 51% en niños de Durango, aportando evidencia local relevante para futuros estudios farmacogenéticos.

#### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a la SIP del IPN (Proyecto SIP20250970) y SECIHTI por el apoyo financiero y beca doctoral para la realización del trabajo. También reconocen la colaboración del personal sanitario, especialmente médicos y enfermeras, en la recolección de muestras y atención a los pacientes, así como la generosidad y confianza de los pacientes y sus familias.

#### **Referencias bibliográficas**

Diouf B, Crews KR, Lew G, Pei D, Cheng C, Bao J, Zheng JJ, Yang W, Fan Y, Wheeler HE, Wing C, Delaney SM, Komatsu M, Paugh SW, McCorkle JR, Lu X, Winick NJ, Carroll WL, Loh ML, Hunger SP, Devidas M, Pui CH, Dolan ME, Relling MV, Evans WE (2015)

Association of an inherited genetic variant with vincristine-related peripheral neuropathy in children with acute lymphoblastic leukemia. *JAMA* 313:815-823.

Esparza SD, Sakamoto KM (2005) Topics in pediatric leukemia--acute lymphoblastic leukemia. *MedGenMed* 7:23.

Gidding CE, Kellie SJ, Kamps WA, de Graaf SS (1999) Vincristine revisited. *Crit Rev Oncol Hematol* 29:267-287.

Gutierrez-Camino A, Martin-Guerrero I, Lopez-Lopez E, Echebarria-Barona A, Zabalza I, Ruiz I, Guerra-Merino I, Garcia-Orad A (2016) Lack of association of the *CEP72* rs924607 TT genotype with vincristine-related peripheral neuropathy during the early phase of pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment in a Spanish population. *Pharmacogenet Genomics* 26:100-102.

Iranpur V, Esmailizadeh AK (2010) Rapid Extraction of High-Quality DNA from Whole Blood Stored at 4°C for Long Period. Protocol Online. Disponible desde <https://www.protocol-online.org/prot/Protocols/Rapid-Extraction-of-High-Quality-DNA-from-Whole-Blood-Stored-at-4-C-for-Long-Period-4175.html> [fecha de revisión 10 Octubre 2024].

Klumpers MJ, Brand ACAM, Hakobjan M, Gattuso G, Schiavello E, Terenziani M, Massimino M, Gidding CEM, Guchelaar HJ, Te Loo DMWM, Coenen MJH (2022) Contribution of common and rare genetic variants in *CEP72* on vincristine-induced peripheral neuropathy in brain tumour patients. *Br J Clin Pharmacol* 88:3463-3473.

Lopez-Lopez E, Gutierrez-Camino A, Astigarraga I, Navajas A, Echebarria-Barona A, Garcia-Miguel P, Garcia de Andoin N, Lobo C, Guerra-Merino I, Martin-Guerrero I, Garcia-Orad A (2016) Vincristine pharmacokinetics pathway and neurotoxicity during early phases of treatment in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics* 17:731-741.

Rivera-Luna R, Zapata-Tarres M, Shalkow-Klincovstein J, Velasco-Hidalgo L, Olaya-Vargas A, Finkelstein-Mizrahi N, Cárdenas-Cardós R, Aguilar-Ortiz MR (2017) The burden of childhood cancer in Mexico: Implications for low- and middle-income countries. *Pediatr Blood Cancer* 64:6.

Rokkanen R, Aarnivala H, Pokka T, Niinimäki R (2024) Chemotherapy-related toxicities follow a typical pattern in children treated for acute lymphoblastic leukaemia. *Acta Paediatr.* 113:1103-1111.

van de Velde ME, Uittenboogaard A, Yang W, Bonten E, Cheng C, Pei D, van den Berg MH, van der Sluis IM, van den Bos C, Abbink FCH, van den Heuvel-Eibrink MM, Segers H, Chantrain C, van der Werff Ten Bosch J, Willems L, Evans WE, Kaspers GJL (2022) Genetic Polymorphisms Associated with Vincristine Pharmacokinetics and Vincristine-Induced Peripheral Neuropathy in Pediatric Oncology Patients. *Cancers (Basel)* 14:3510.

## EVALUACIÓN MOLECULAR Y BIOQUÍMICA DEL EFECTO DEL BIOPRIMING DE SEMILLAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) CON CEPAS DEL HONGO BIOCONTROLADOR *Trichoderma* spp.

Luis Angel Morales Mora<sup>1</sup>, Ignacio Eduardo Maldonado Mendoza<sup>2</sup>, Soley Berenice Nava Galicia<sup>1</sup>, Analilia Arroyo Becerra<sup>1</sup>, Miguel Angel Villalobos López<sup>1</sup>, Diana Cortés Espinosa y Martha Bibbins Martínez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-Instituto Politécnico Nacional, Carretera Estatal Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1,5, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México, C, P, 90700. <sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Unidad Sinaloa, Departamento de Biotecnología Agrícola, Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes, No, 250, Guasave, Sinaloa, México, CP 81101.

\*[mbibbinsm@ipn.mx](mailto:mbibbinsm@ipn.mx)

### Resumen

En este estudio evaluó cepas de *Trichoderma* aisladas de la rizosfera del teosinte (*Zea perennis* L.) por su potencial como agentes de control biológico y promotores del crecimiento vegetal. Las cepas TJ, TD y TC mostraron alta inhibición frente a los fitopatógenos *Aspergillus flavus* (AF) y *Fusarium verticillioides* (PO3), mientras que TA, TE y TF destacaron en fitoestimulación, mediante producción de metabolitos y mejora del crecimiento radicular en maíz. Los resultados respaldan su posible aplicación en el desarrollo de estrategias sostenibles para el manejo fitopatológico y el desarrollo agrícola.

**Palabras clave:** *Trichoderma*, endófitos, maíz, teosinte, fitoestimulación.

### Introducción

El género *Trichoderma* (Hypocreales, Ascomycota) agrupa hongos filamentosos cosmopolitas ampliamente utilizados en el control biológico y la promoción del crecimiento vegetal, mediante mecanismos como mico-parasitismo, antibiosis, competencia rizosférica, fitoestimulación, inducción de defensas sistémicas y el fenómeno emergente de “priming” (Asad, 2022). Gracias a estas propiedades, se consideran aliados clave en la agricultura sostenible, al reducir el uso de agroquímicos y mitigar impactos ambientales y riesgos para la salud humana (Asghar et al., 2024). Sin embargo, el uso indiscriminado de cepas no nativas puede provocar efectos adversos como el desplazamiento de microbiota local (Pfordt et al., 2020). En este contexto, las cepas nativas y endófitas de *Trichoderma* ofrecen ventajas agroecológicas más seguras (Jangir et al., 2019). La exploración de microorganismos benéficos se ha orientado hacia plantas silvestres, que albergan comunidades rizosféricas diversas que los cultivos modernos. El teosinte (*Zea perennis* L.), pariente silvestre del maíz, destaca por su resistencia a factores abióticos y bióticos (Wang et al., 2022). Por ello, esta investigación se centró en aislar cepas endófitas y rizosféricas de *Trichoderma* spp. asociadas al teosinte, evaluando su potencial como agentes de control biológico frente a *flavus* y *F. verticillioides*, así como su capacidad promotora del crecimiento en semillas de maíz.

### Materiales y métodos

**Ensayo de antagonismo mediante cultivos duales:** Se evaluó el antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *flavus* y *F. verticillioides* mediante cultivos duales en placas Petri con PDA, siguiendo el protocolo de Rolim et al. (2019). El crecimiento micelial se registró cada 24 h mediante imágenes analizadas con FIJI-ImageJ, y se calculó el porcentaje de inhibición con base en el área superficial de los hongos según la fórmula:  $y = (A1 - A2 / A1 \times 100\%)$ . Donde A1

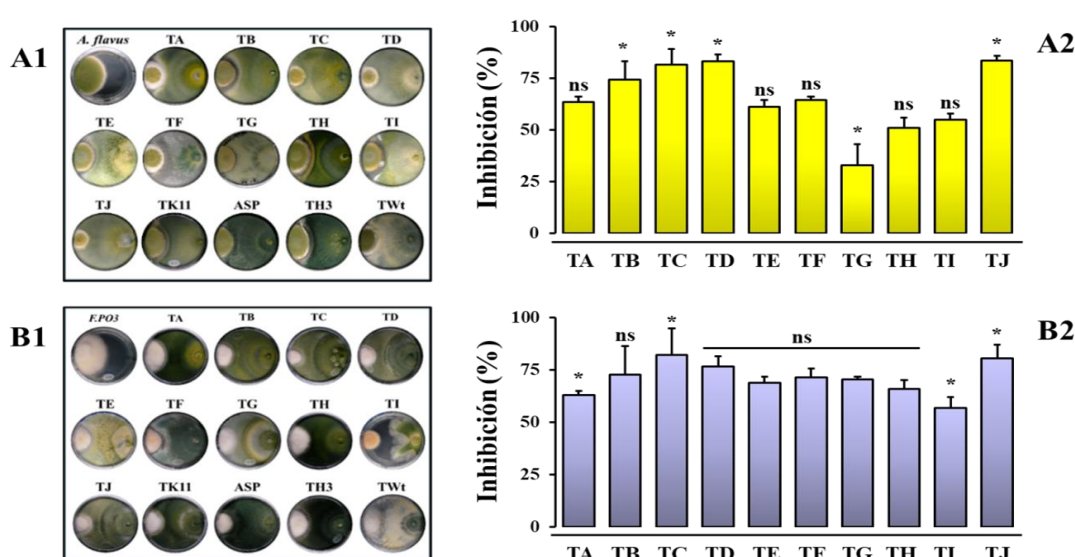
es el área superficial del fitopatógeno control y A2 es el área superficial del patógeno durante todo el proceso de antagonismo.

**Solubilización de fosfatos, producción de ácidos orgánicos y sideróforos:** La capacidad de solubilización de fosfato se evaluó en el medio Pikovskaya (PVK) según Senthilkumar et al. (2021). Los aislados de *Trichoderma* se inocularon en el centro de las placas PVK y se incubaron en oscuridad a 25 °C durante diez días, con observación diaria del crecimiento fúngico y la aparición de halos translúcidos indicativos de actividad de solubilización. La producción de ácidos orgánicos se evaluó utilizando medio Pikovskaya suplementado con púrpura de bromocresol (PVK+BP), empleado como un indicador sensible al pH (5.6). Se registró la formación de halos y se calculó el índice de producción de ácido orgánico (%PAO) (Prasad et al., 2023 y Din et al., 2020). En el caso de los sideróforos, se evaluó mediante el ensayo colorimétrico Chrome Azurol S (CAS) (Schwyn y Neilands, 1987). Cada aislado, con tres días de crecimiento, fue inoculado con tres discos de micelio para observar la formación de halos o cambios de color. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular la eficiencia de producción:  $(\%EPS) = \frac{rH(mm) - rC(mm)}{rC(mm)} \times 100\%$ .

**Efecto de *Trichoderma* en la germinación de semillas de maíz en condiciones *in vitro*:** Para evaluar el efecto fitoestimulante de *Trichoderma spp.*, se utilizaron semillas de maíz (Gara®, no híbrido, Asgrow) cultivadas por el método descrito por Draves et al. (2022). Las semillas fueron desinfectadas superficialmente tratadas por inmersión en suspensiones de conidios ( $1 \times 10^6$  conidios/mL), complementadas con 1.5% de carboximetilcelulosa para mejorar la adhesión del inóculo (Shams et al., 2023). El bioprimering se evaluó mediante variables fisiológicas como el vigor de las plántulas, considerando la longitud de brotes y raíces.

## Resultados

La figura 1 muestra los resultados del ensayo de antagonismo. La cepa endófitra TJ fue la más eficaz, con inhibiciones de 68.8% frente a *A. flavus* y 77.7% frente a *F. verticillioides*. Para *A. flavus*, las cepas TD, TG, TWt (*T. atroviride*) y TE también presentaron inhibiciones cercanas (64.3–64.8%). Frente a *F. verticillioides*, destacaron TC, ASP (*T. asperellum*) y TWt, con valores entre 73.9% y 76.4%. Todas las cepas evaluadas superaron el 50% de inhibición contra ambos patógenos.



**Figura 1.** Inhibición de los fitopatógenos en cultivo dual. A1) Cultivos duales y A2) Porcentaje de inhibición contra *A. flavus*. B1) Cultivos duales y B2) Porcentaje de inhibición versus *F. verticillioides*. \*\*Los valores marcados con asterisco sobre la columna difieren significativamente en  $p < 0,05$ .

En cuanto a fitoestimulación, TA destacó por promover significativamente el crecimiento vegetal, correlacionado con su alta producción de sideróforos y ácidos orgánicos. La cepa TC, pese a su alta producción de PAO, tuvo un efecto más moderado en plántula, lo que indica la influencia de otros factores. TB mostró un desempeño intermedio sin diferencias marcadas. Los resultados de fitoestimulación se observan en la tabla 1.

**Tabla 1. Propiedades de fitoestimulación evaluadas**

Cepa	SPi	Evaluación en placa		Evaluación en planta	
		EPS	PAO	Raíces (cm)	Brote (cm)
TA	-	52 ± 2.9 ab	74.5 ± 4.3 ab	3.9 ± 0.089 a	5.25 ± 0.629 a
TB	-	49.1 ± 2.9 ab	71.3 ± 6.01 ab	2.7 ± 0.047 bcd	3.92 ± 0.783 abc
TC	-	55 ± 3.5 a	77.9 ± 7.6 ab	2.6 ± 0.067 de	3.41 ± 0.273 bc
TD	-	48.9 ± 3.9 ab	70.5 ± 3.9 ab	3.9 ± 0.58 a	5.20 ± 0.20 a
TE	-	56.7 ± 3.5 a	66.9 ± 2.5 ab	3.8 ± 0.29 ab	5.27 ± 0.896 a
TF	-	29.3 ± 2.8 bca	85.1 ± 6.4 a	1.3 ± 0.065 f	3.39 ± 0.207 bc
TG	-	60.1 ± 3 a	69.7 ± 1.8 ab	2.4 ± 0.051 def	3.31 ± 0.353 bc
TH	-	56.4 ± 4.9 a	61.4 ± 1.8 ab	3 ± 0.43 abcd	2.64 ± 0.671 c
TI	-	55.5 ± 3.4 a	80.2 ± 4.3 ab	3.4 ± 0.30 abcd	3.27 ± 0.703 bc
TJ	-	61.1 ± 3.4 a	58.7 ± 6.4 b	2.35 ± 0.096 ef	4.75 ± 0.427 ab
C-	na	na	na	2.6 ± 0.067 bcd	3.38 ± 0.464 bc

\*Se presentan medias ± desviación estándar de cuatro réplicas. Letras iguales en una misma columna indican ausencia de diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ; prueba HSD-Tukey). Las variables evaluadas son SPi (solubilización de fosfato inorgánico), EPS (producción de sideróforos en placa) y PAO (producción de ácidos orgánicos).

### Discusión

Las cepas TJ, TD y TC mostraron una inhibición destacada frente a *flavus* (83%, 81% y 83%), superando los valores reportados por Ren et al. (2022) con *T. atroviride* y *T. asperellum* (hasta 47%), y por Boukaew et al. (2023) con *T. asperelloides* (61–63%). Frente a *F. verticillioides*, TJ, TD, TC y ASP lograron inhibiciones del 80–81%, superiores a las observadas por Veenstra et al. (2019) con *T. asperellum* (52%) y por Modrzewska et al. (2022) con otras especies de *Trichoderma* (33–54%). También superaron los resultados de Chen et al. (2021) frente a *F. oxysporum* y *F. solani* (44–47%). Los resultados de fitoestimulación indican que las cepas endófitas de *Trichoderma* TJ, TA, TE y TF presentaron los valores más altos para la producción *in vitro* de ácidos orgánicos y sideróforos. Además, estas cepas también promovieron significativamente el crecimiento de las raíces, tanto en términos de biomasa como de longitud de estas, fenómeno antes reportado en la planta *Arabidopsis* por diversos autores (Contreras et al., 2009 y Nieto et al., 2017). Estos datos confirman la eficacia de las cepas locales como agentes antagonistas y de fitoestimulación.

### Conclusiones

En conjunto, los resultados destacan el potencial agro-biotecnológico de las cepas locales de *Trichoderma* (TJ, TD y TC) sobresalen como agentes de control biológico efectivos contra *A. flavus* y *F. verticillioides*, mientras que TA se perfila como una candidata prometedora en fitoestimulación por su alta producción de metabolitos y su impacto positivo en el desarrollo de plántulas.

### Agradecimientos

Al SECIHTI por la beca otorgada con número de beca: 1003924 y Proyecto Multidisciplinario SIP: 20251091 y al comité tutorial que supervisa este proyecto.

### Referencias bibliográficas

Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases-A review. *Ecological Complexity*, 49, 100978.



- Asghar, W., Craven, K. D., Kataoka, R., Mahmood, A., Asghar, N., Raza, T., & Iftikhar, F. (2024). The application of *Trichoderma* spp., an old but new useful fungus, in sustainable soil health intensification: A comprehensive strategy for addressing challenges. *Plant Stress*, 100455.
- Chen, J., Zhou, L., Din, I. U., Arafat, Y., Li, Q., Wang, J., ... & Lin, W. (2021). Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* in rhizosphere of *Radix pseudostellariae* triggers the expression of host defense genes and improves its growth under long-term monoculture system. *Frontiers in Microbiology*, 12, 579920.
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 149(3), 1579-1592.
- Draves, M. A., Muench, R. L., Lang, M. G., & Kelley, D. R. (2022). Maize seedling growth and hormone response assays using the rolled towel method. *Current Protocols*, 2(10), e562.
- Jangir, M., Sharma, S., & Sharma, S. (2019). Non-target effects of *Trichoderma* on plants and soil microbial communities. In *Plant microbe interface* (pp. 239-251). Cham: Springer International Publishing.
- Modrzewska, M., Błaszczuk, L., Stępień, Ł., Urbaniak, M., Waśkiewicz, A., Yoshinari, T., & Bryła, M. (2022). *Trichoderma* versus *Fusarium*- inhibition of pathogen growth and mycotoxin biosynthesis. *Molecules*, 27(23), 8146.
- Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., ... & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Pfordt*, A., Schiwek, S., Karlovsky, P., & von Tiedemann, A. (2020). *Trichoderma afroharzianum* ear rot—a new disease on maize in Europe. *Frontiers in Agronomy*, 2, 547758.
- Prasad, A., Dixit, M., Meena, S. K., & Kumar, A. (2023). Qualitative and quantitative estimation for phosphate solubilizing ability of *Trichoderma* isolates: A natural soil health enhancer. *Materials Today: Proceedings*, 81, 360-366.
- Senthilkumar, N. A. M., Sankaranarayanan, A., & Senthilkumar, M. (2021). *Plant-microbe interactions* (pp. 103-105). New York, NY: Springer US.
- Veenstra, A.; Rafudeen, M.S.; Murray, S.L. *Trichoderma asperellum* isolated from African maize seed directly inhibits *Fusarium verticillioides* growth in vitro. *Eur. J. Plant Pathol.* 2019, 153, 279–283.
- Wang, Q., Liao, Z., Zhu, C., Gou, X., Liu, Y., Xie, W., ... & Lu, Y. (2022). Teosinte confers specific alleles and yield potential to maize improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(10), 3545-3562.



## EVALUACIÓN POLIFÁSICA DE *Laetiporus sulphureus* PARA LA FORMULACIÓN DE MICROENCAPSULADOS CON UN ALTO VALOR PROTÉICO.

Mitzi Elizabeth Nava-Romero<sup>1</sup>, Tania Raymundo<sup>1</sup>, Silvia Luna-Suárez<sup>2</sup>, Michelle Martínez Pineda<sup>1</sup>, Celestino Odín Rodríguez Nava<sup>1</sup>, Rodrigo Villanueva<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, Santo Tomás, Ciudad de México, <sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada- Instituto Politécnico Nacional. Carr. Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla, Tepetitla, Tlaxcala, México. <sup>3</sup>Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, Programa de Investigadoras e Investigadores por México, Insurgentes Sur 1582, Crédito Constructor, Ciudad de México. <sup>4</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Toxicología, CDMX 07360, México,

\* mnavar2500@alumno.ipn.mx

### Resumen

*Laetiporus sulphureus* es un hongo conocido como “pollo del bosque” crece sobre árboles vivos, actualmente, es de interés biotecnológico por la producción de metabolitos con actividad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria, además de alto valor proteico; por lo que en el presente trabajo se evaluó el crecimiento *in vitro* de especímenes provenientes del bosque de niebla de la Sierra Alta Hidalguense. El cultivo axénico se obtuvo a partir del tejido interno del basidiocarpo y se determinó la tasa de crecimiento en diferentes medios de cultivo (MEA, PDA y PDAY); se caracterizó la fase somática midiendo la densidad micelial, el crecimiento radial y la tasa de crecimiento en condiciones controladas; para la obtención de la semilla se inocularon por separado alpiste, mijo y sorgo. el crecimiento de la cepa mexicana de *L. sulphureus* creció de manera óptima en PDA a 25°C, 55% HR durante 7 días con mayor tasa de crecimiento que otras reportadas previamente; mientras que en el inóculo de mijo fue el mejor sustrato para el desarrollo de biomasa en menor tiempo de manera que se considera a esta especie como versátil y eficaz, posicionándose como un recurso fúngico con potencial biotecnológico.

**Palabras clave:** biotecnología, encapsulación, hongo del azufre, hongos comestibles

### Introducción

*Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murril es un hongo anual que forma basidiomas sésiles conocido como “pollo del bosque” crece sobre árboles vivos y troncos en descomposición de ecosistemas mixtos en regiones templadas y es de amplia distribución. Perteneciente a la familia Polyporaceae de la clase Agaricomycetes. *L. sulphureus* ha emergido como un recurso fúngico de interés biotecnológico por su fracción proteica, perfil de aminoácidos y producción de metabolitos con actividad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria. En la evaluación polifásica a *L. sulphureus*, se combina información morfológica, molecular y metabolómica para lograr una identificación precisa y reproducible especialmente relevante en bioprocesos o productos alimentarios, por lo que en combinación con la aplicación tecnológica de la microencapsulación ayudará a la mejora de la estabilidad de sus biomoléculas frente al calor, la oxidación y prolongando su vida útil, además de permitir una liberación controlada en aplicaciones funcionales. A partir de estos enfoques, se caracterizará este hongo para desarrollar microencapsulados con alto valor proteico, valorar su potencial nutracéutico, biotecnológico y tecnofuncional generando opciones innovadoras para la industria en general.

## Materiales y métodos

**Recolección del hongo y aislamiento del micelio:** Los especímenes de *L. sulphureus* se recolectaron en el bosque de niebla de la Sierra Alta Hidalguense, los ejemplares se identificaron, caracterizaron, fotografiaron. El micelio se aisló en cajas de Petri con agar papa y dextrosa (PDA) a partir del tejido interno del hongo. Los cultivos se mantuvieron en oscuridad a 25 °C y 55% de humedad relativa (HR). Una vez colonizada toda la superficie del agar se registraron las características macroscópicas como homogeneidad de la colonia, textura, color del anverso y reverso del cultivo. Las características microscópicas como tipo y color de las hifas se establecieron a partir de la tinción con azul de lactofenol de un microcultivo de tres días. La cepa madre se cubrió con agua destilada estéril y se depositó en la colección de cultivos de ENCB y CINVESTAV en donde se mantiene a 4 °C para su posterior estudio.

**Efecto del medio en el crecimiento y densidad del micelio:** Posteriormente, se calculó la tasa de crecimiento radial de la fase logarítmica, se utilizaron 3 medios de cultivo diferentes para el crecimiento del micelio: PDA, PDA enriquecido (PDAY) y agar de extracto de malta (EMA), para determinar los medios adecuados para promover el crecimiento del micelio. Los cultivos se realizaron por cuadruplicado, transfiriendo un disco de micelio de 0.5 cm de diámetro al centro de cada caja de Petri. El diámetro del micelio se midió con una regla por 8 días. Una vez alcanzado el borde de la caja de Petri se calculó la tasa de crecimiento radial ajustando los valores de la fase logarítmica a un modelo lineal. La densidad micelial se determinó con la escala adaptada por Luangharn (2014) para el crecimiento de *L. sulphureus*: + muy escasa, 2+ escasa, 3+ moderada, 4+ abundante, 5+ muy abundante. La tasa de crecimiento se calculó mediante la relación entre el diámetro de las colonias y el tiempo (días).

**Cultivo en semillas suplementadas:** Los granos utilizados fueron: sorgo (*Sorghum spp.*), mijo rojo (*Panicum miliaceum* L.) y alpiste (*Phalaris canariensis*) para determinar el mejor sustrato en la producción de micelio y basidiomas de *L. sulphureus*. En contenedores biológicos de 1L se pesaron 320 gr de semilla y se hidrataron durante 20 horas con agua destilada, las semillas se lavaron con abundante agua destilada. Posteriormente se adicionó 0.5 gr de  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 390 mL de agua de destilada finalmente se esterilizaron para inocular la cepa de *L. sulphureus* para su desarrollo en oscuridad durante 20 días a 25°C y 55% de HR.

**Evaluación de la fructificación y crecimiento de basidiomas:** Una vez que *L. sulphureus* colonizó la superficie de los cereales, las semillas miceliadas se transfirieron a bolsas de polipropileno de 20x12x50 cm con filtro de 0.5 µm con aserrín estéril enriquecido. Los cultivos se incubaron en oscuridad a 25±DS°C y 55% de HR hasta que el micelio colonizó la superficie de la viruta.

## Resultados

### Morfología y aislamiento de hongos

*Laetiporus sulphureus* presenta basidiomas pileado sésiles de 150 a 300 × 100-200 x 50-80 mm de tamaño, pálido amarillento a naranja pálido en la superficie del píleo, margen ondulado a lobulado, himenóforo con poros circulares de color blanco, disepimiento entero y grueso de 60 µm de grosor. Las cepas obtenidas de *L. sulphureus* son de color blanco, consistencia algodonosa y un crecimiento de 2-3 mm por día, por lo que de 7-10 días invade toda la caja Petri en PDA incubados a 25°C, 55 % de HR en oscuridad.



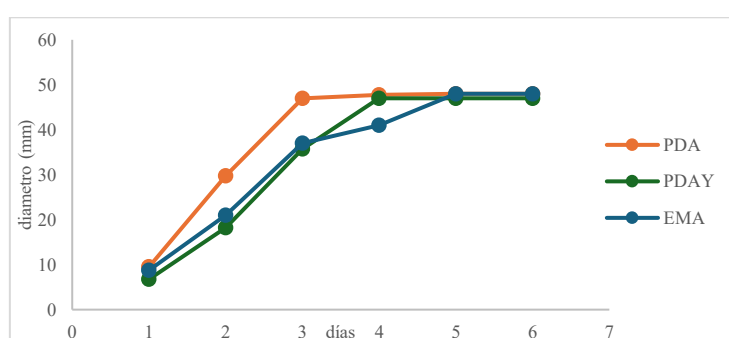
Figura 1. (A) Basidiomas de *Laetipirus. Sulphureus*. (B) Micelio anverso (arriba) y reverso (abajo) en PDA .

### Efecto de los medios sobre el crecimiento micelial

En el presente estudio, se evaluaron tres medios sólidos diferentes para establecer el crecimiento favorable de *L. sulphureus*. La mayor tasa de crecimiento se observó en PDA con respecto de los medios PDAY y EMA (18.8, 13.8 y 9.85 mm/d, respectivamente) con una densidad micelial de 5+. Estos resultados presentados en la tabla 1 y en la figura 2.

**Tabla 1.** Efecto de diversos medios sólidos sobre el crecimiento micelial (mm) y la tasa de crecimiento micelial (mm/día) de *L. sulphureus*.

Medio de cultivo	Diámetro (mm)	Tasa de crecimiento (mm/d)	Densidad micelial
PDA	26.8	18.8	5+
PDAY	21.5	13.8	3+
EMA	29.1	9.85	3+



**Figura 2.** Efecto de diversos medios sólidos sobre el crecimiento micelial (mm) y la tasa de crecimiento micelial (mm/día) de *L. sulphureus*.

### Discusión

El cultivo axénico de *L. sulphureus* en PDA desarrolló micelio blanco algodónoso abundante e hifas hialinas septadas. Los resultados son similares a los de Siwulski et al. (2009) quienes analizaron la influencia de los medios sólidos en el crecimiento del micelio de *L. sulphureus* y Luangharn et al. (2014) quienes obtuvieron la muestra de un bosque caducifolio mixto dominado por *Castanopsis* sp. en la zona tropical de Chiang Rai, Tailandia. En los

trabajos antes mencionados el medio PDA es el óptimo, con una tasa de crecimiento de 10.08 mm/d en la misma temperatura; mientras que en la cepa mexicana el crecimiento fue de 18.08 mm/d lo que indica que presenta un mayor crecimiento en menor tiempo. El mejor desarrollo de la colonia micelial se observó en los medios PDA y EMA, en el equipo de Siwulski, sin embargo, en nuestro estudio el medio EMA presentó un diámetro mayor, pero de forma global no fue el mejor para el crecimiento de este hongo. Comparando la densidad micelial fue de 3+ y respecto al de PDA fue de 5+. En el medio PDAY creció en toda la placa, pero su densidad también fue de 3+. *L. sulphureus* logró colonizar todos los granos de cereal de este estudio, nuestros resultados son consistentes con en la investigación de Luangharn et al. (2014). El micelio logró colonizar en su totalidad el mijo rojo, seguido del sorgo y por último el alpiste tras 20 días de incubación; por lo tanto, los resultados mostraron que los cereales utilizados se aprovechar para promover el crecimiento micelial de *L. sulphureus*.

### Conclusiones

Los especímenes mexicanos de *L. sulphureus* crecieron de manera óptima en PDA a 25°C, 55%HR durante 7 días con mayor tasa de crecimiento que datos reportados previamente por lo que el hongo del pollo es un recurso fúngico prometedor, versátil y eficaz para el aprovechamiento biotecnológico por sus propiedades antioxidantes y alto valor proteico en la industria alimenticia y farmacéutica ya que se puede manejar en cultivo *in vitro*.

### Agradecimientos

Agradecemos el apoyo a la SIP con los proyectos 20251281, 20251282; SECIHTI por la beca doctoral y a la SIP por beca BEIFI; así como a todo el equipo interdisciplinario de trabajo.

### Referencias bibliográficas

- Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., & Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 76–81. <https://doi.org/10.7550/rmb.33649>.
- Luangharn, T., Karunarathna, SC, Hyde, KD y Chukeatirote, E. (2014). Condiciones óptimas para el crecimiento micelial de *Laetiporus sulphureus* sensu lato. *Micología*, 5 (4), 221–227.
- Villarreal-Ruiz, L., & Perez-Moreno, J. (1989). Los hongos comestibles silvestres de México: un enfoque integral. <https://www.researchgate.net/publication/281068885>
- Wasser, S. P. (2011). Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(5), 1323–1332. <https://doi.org/10.1007/S00253-010-3067-4/METRICS>
- Siwulski M, Pleszczyńska M, Wiater A, Wong JJ, Szczodrak J. 2009. Influencia de diferentes medios en el crecimiento del micelio de *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. *Herba Pol*. 55:278–284.

## DESARROLLO DE BIOSENSORES TATUADOS PARA EL MONITOREO DE DIABETES TIPO 2 EN UN MODELO EN RATÓN.

Jesús Javier Pastrana Carballo<sup>1</sup>, Fernando Gómez Chávez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía del Instituto Politécnico Nacional, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320, Ciudad de México, México.

\*fgomezch@ipn.mx

### Resumen

En México existe un incremento sostenido en la incidencia de diabetes mellitus tipo 2, lo que plantea la necesidad de estrategias innovadoras para su monitoreo continuo. Los glucómetros convencionales presentan limitaciones relacionadas con su carácter invasivo, elevado costo y dependencia de electricidad, lo que disminuye la adherencia terapéutica y favorece complicaciones crónicas que deterioran la calidad de vida. En este contexto, los biosensores intradérmicos representan una alternativa prometedora. La modificación corporal mediante tatuajes puede adquirir una función biomédica al sustituir las tintas convencionales por formulaciones biosensibles capaces de reflejar, mediante un cambio colorimétrico, la concentración de glucosa en el líquido intersticial. Esta tecnología no requiere energía eléctrica, no se ve afectada por sudoración o movimiento y permite un monitoreo continuo en tiempo real. El presente estudio describe el desarrollo de una tinta tatuable biosensor de glucosa, evaluada en un modelo in vivo de diabetes tipo 2 en ratones (cepas C57BL/6 y BALB/c), conforme a la NOM-062 y con aprobación del comité de bioética, analizando la correlación entre la respuesta colorimétrica y las fluctuaciones de glucosa intersticial.

**Palabras clave:** biosensor, tatuaje, glucosa, diabetes, monitoreo.

### Introducción

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por deficiencia en la secreción o acción de la insulina, lo que conduce a hiperglucemia sostenida y al desarrollo de complicaciones como neuropatías, nefropatías y retinopatías, con riesgo potencialmente letal si no se controla adecuadamente (ElSayed et al., 2023). En México, la diabetes tipo 2 representa un problema creciente de salud pública. Desde 1980, la prevalencia mundial de diabetes se ha cuadruplicado, con mayor impacto en países de ingresos bajos y medios, vinculada principalmente a obesidad, sobrepeso e inactividad física. (Font y Gutiérrez, 2021). El monitoreo continuo de glucosa es indispensable para un tratamiento eficaz, pero los métodos convencionales requieren punción sanguínea dolorosa y tiras reactivas costosas. Como alternativa, los tatuajes funcionales permiten la incorporación de tintas biosensibles intradérmicas que reflejan, en tiempo real, las concentraciones de glucosa en el líquido intersticial mediante cambios de color (Vega et al., 2017). El presente estudio describe la formulación y evaluación de un Biosensor de Glucosa Tatuable (BGT) en un modelo en ratón de diabetes tipo 2 inducida por dieta hipercalórica.

### Materiales y métodos

**Formulación del biosensor:** Se formuló un biosensor tatuable de glucosa (BGT) con los siguientes componentes: Glucosa Oxidasa de *Aspergillus niger* (10 Ku), Fenolftaleína (ACS, 100 g), Rojo de Metilo (ACS, 25 g), Azul de Timol (ACS, 5 g), Azul de Bromofenol (100 g),



Polivinilpirrolidona K30, IGEPAL, Hidroxietilcelulosa, Sulfato de Bario. Todos los reactivos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich y Thermo Scientific.

**Ensayos in vitro:** Se evaluó la respuesta colorimétrica del BGT en concentraciones de glucosa representativas de hipoglucemia (3 mM), normoglucemia (6 mM) e hiperglucemia (10 mM), mediante espectrofotometría UV-Vis.

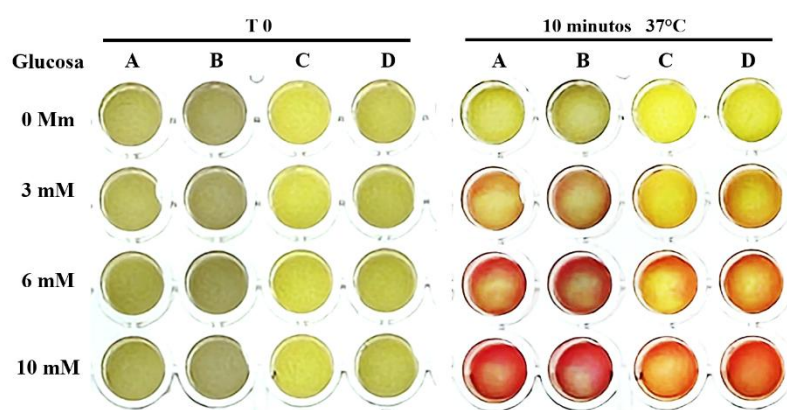
**Ensayos ex vivo:** Se utilizó piel porcina (1 cm<sup>2</sup>) tatuada con el BGT y sumergida en soluciones de glucosa (0, 3, 6 y 10 mM) a 37 °C durante 10 minutos. La variación colorimétrica se evaluó visualmente y con microscopía óptica.

**Ensayos in vivo:** Se emplearon ratones BALB/c y C57BL/6 (7–11 semanas). Se conformaron tres grupos experimentales (n=4 por grupo). Los animales fueron sedados con pentobarbital (0,06 mg/kg, i.p.). Se tatuó la base de la cola con marcas rectangulares de 0.3 × 0.5 mm usando una máquina Pen Duke K1 (Curved Magnum 1223M1C EZ Revolution). Se diseñó y colocó un collar isabelino impreso en 3D para evitar autolesiones y el desprendimiento del tatuaje. Los tatuajes fueron documentados fotográficamente a diario (Canon EOS R50, caja de luz). Los animales se alojaron en condiciones controladas (23–24 °C, ciclo luz/oscuridad 12 h, dieta estándar Lab Rodent Diet 5001). Las curaciones incluyeron solución electrolizada superoxidante (Microdacyn) y gel ozonizado al 5% (Oxitopic Vet). El sacrificio se realizó a los 365 días mediante dislocación cervical. El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Bioética de la ENMH y se ajustó a la NOM-062-ZOO-1999.

## Resultados

### 1. Desarrollo del BGT.

El BGT mostró variación colorimétrica específica a diferentes concentraciones de glucosa in vitro, discriminando con claridad hipoglucemia, normoglucemia e hiperglucemia (Fig 1)



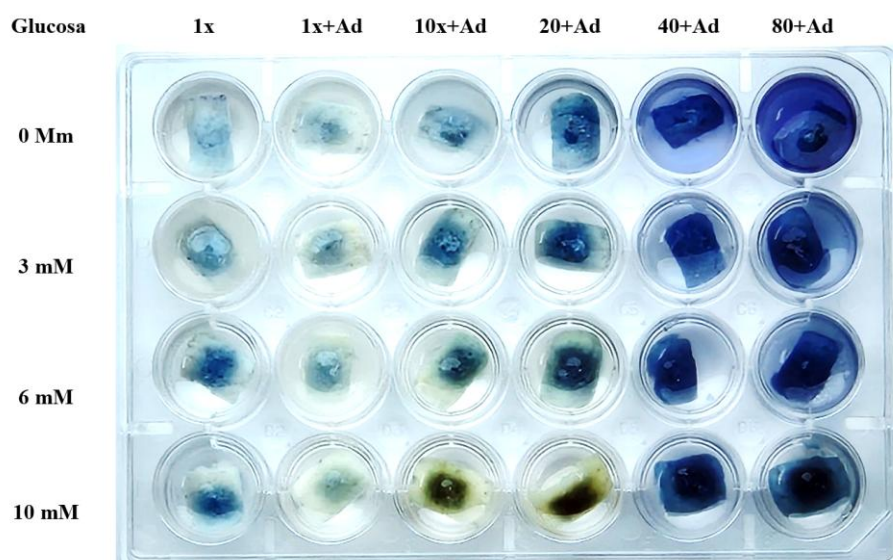
**Figura 1.** BGT antes y después de incubación por 10 minutos a 37°C.

### 2. Estandarización *ex vivo*.

Se estandarizó la capacidad del BGT para ser incorporada en tejido animal. En piel porcina tatuada, el BGT mostró cambios visibles en concentraciones de 6 y 10 mM (Fig 2).

La optimización del tatuaje en tejido de ratón *ex vivo* indicó que un voltaje de 8 V y un stroke de 2 mm fueron las condiciones óptimas para el depósito de pigmento.

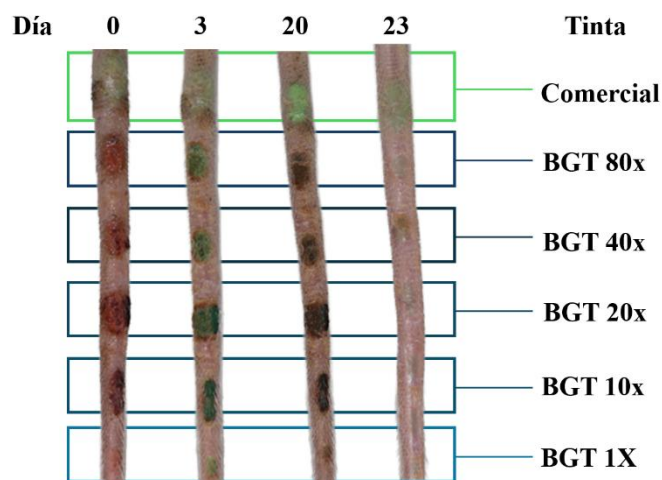




**Figura 2.** Piel porcina *ex vivo* tatuada con el BGT

### 3. Estandarización *in vivo*.

Los tatuajes con BGT fueron visibles hasta por 23 días, mostrando coloraciones diferenciadas según la concentración y formulación aplicada. La adición de aditivos, protocolos de curación y el uso de collar isabelino incrementaron la intensidad y duración del tatuaje en comparación con controles con tinta comercial.



**Figura 2.** Cola tatuada con el BGT concentrado 1, 10, 20 y 40 veces y la tinta comercial, observada desde el día del tatuaje hasta su desprendimiento.

### Discusión

Los resultados demuestran que el BGT es capaz de reflejar variaciones de glucosa tanto *in vitro* como *ex vivo* e *in vivo*. Los ratones tatuados constituyen un modelo adecuado, ya que el depósito y migración de pigmentos en piel guardan similitud con el proceso en humanos, incluyendo la distribución linfática de partículas (Smith et al., 2018; Brown et al., 2020). Estos hallazgos son comparables con desarrollos recientes en biosensores basados en parches de microagujas (Rongyan et al., 2021), pero ofrecen la ventaja de permanencia y autonomía energética.

## Conclusiones

El BGT representa una alternativa innovadora y de bajo costo para el monitoreo continuo de glucosa. Su aplicación en modelos murinos demostró viabilidad técnica y biológica, con potencial de traslación hacia aplicaciones en humanos. Futuras investigaciones deberán optimizar la estabilidad a largo plazo y evaluar correlaciones cuantitativas con glucosa sanguínea en escenarios clínicos.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Dra. Sandra Rodríguez por el suministro de los ratones utilizados en este estudio.

A la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) por facilitar el uso de sus instalaciones y del bioterio para el manejo y cuidado de los modelos murinos.

Al Centro de Investigaciones Biológicas Avanzadas (CIBA) por el apoyo brindado en los análisis de espectroscopía UV-Vis.

Finalmente, se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

## Referencias bibliográficas

ElSayed A, Ahmed R, Khan M, Patel S (2023) Diabetes mellitus: global epidemiology and complications. *J Metab Res* 45:123–134.

Font C, Gutiérrez M (2021) Panorama epidemiológico de la diabetes en México. *Salud Publica Mex* 63:678–685.

Vega R, Martínez P, López J, Hernández G (2017) Tattoo-based biosensors for intradermal monitoring. *Biosens Bioelectron* 94:292–298.

Smith L, Brown T (2018) Dermal deposition of tattoo pigments: implications for biosensing. *Skin Res* 12:145–153.

Rongyan Z, Liu Y, Chen F, Wang H (2021) Microneedle glucose biosensors: advances and applications. *Adv Healthc Mater* 10:2001878.

## GENÓMICA COMPARATIVA PARA IDENTIFICAR BLANCOS FARMACOLÓGICOS EN BACTERIAS PATÓGENAS HUMANAS

Bryan German Pineda Cagua<sup>1\*</sup>, Jessica Lizbeth Ortega Balleza<sup>1</sup>, Lenci Karina Vázquez Jiménez<sup>1</sup>, Maily Stephany Porras García<sup>1</sup>, Gildardo Rivera<sup>1</sup>, Alma Cecilia Ibarra Buelna<sup>1</sup>, Ismael Hernandez Lucas<sup>2</sup>, Edgar Eduardo Lara Ramirez<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Blvd. del Maestro SN, Narciso Mendoza, C.P. 88710, Reynosa, Tams., México. <sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad #2001, Col. Chamilpa C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos, México.

\*bpinedac2200@alumno.ipn.mx

### Resumen

La resistencia a los antimicrobianos (AMR, por sus siglas en inglés) representa una de las amenazas más urgentes para la salud pública mundial, y la Organización Mundial de la Salud (OMS) la reconocen oficialmente como una prioridad, tras estimarse en 2019 al menos 4,95 millones de muertes se asociaron a patógenos resistentes. Para abordar este desafío, en este trabajo se integra una metodología que combina la genómica comparativa dirigida, el descubrimiento de potenciales blancos farmacológicos de amplio espectro y su validación funcional mediante modelos computacionales para predecir su inhibición. Resultados preliminares del análisis del pangenoma de 10 cepas patógenas ha permitido identificar potenciales blancos que se conservan en al menos cuatro de las cepas patógenas preseleccionadas, con porcentajes de identidad y cobertura superiores al 70%, que además, están implicados en la modificación del tRNA, un proceso esencial para la traducción precisa de proteínas y la viabilidad celular, lo que los destaca como potenciales blancos farmacológicos.

**Palabras clave:** Genoma núcleo, genómica comparativa, multidrogoresistencia, pangenoma.

### Introducción

La AMR es una de las mayores amenazas para la salud pública global, con altas tasas de mortalidad atribuidas a patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (WHO 2024; Murray et al. 2022). La adquisición de perfiles extensos de resistencia suele estar mediada por determinantes genéticos conservados que facilitan la adaptación, diversificación y diseminación de mecanismos de resistencia, aumentando la patogenicidad (Ogwara 2018). Se han propuesto que estos determinantes genéticos surgieron en bacterias productoras de antibióticos, como *Streptomyces*, y se transmitieron horizontalmente a otros microorganismos (Sunuwar y Azad et al. 2022) combinándose además con el uso indebido de antibióticos (Fernández-Martínez et al. 2022).

Ante este desafío, es fundamental desarrollar estrategias que vayan más allá de genes específicos de resistencia. La genómica comparativa permite identificar genes núcleo conservados y esenciales, base para descubrir dianas antimicrobianas de amplio espectro (Süssmuth et al. 2025). Por su parte, la evaluación *in silico* mediante cribado virtual y acoplamiento molecular facilita priorizar compuestos con alta afinidad por proteínas diana (Boora et al. 2025). Sin embargo, la validación experimental es indispensable en estudios posteriores (Yu et al. 2000; Datsenko y Wanner 2000). Por lo tanto, nuestro objetivo es

desarrollar una estrategia integrada que combine la genómica comparativa, el descubrimiento de fármacos asistido por computadora y la edición del genoma para identificar y validar dianas conservadas y de amplio espectro en bacterias patógenas humanas clínicamente relevantes.

**Materiales y Métodos**

**Identificación de dianas conservadas**

Se empleo el genoma núcleo de *E. coli* (Chauhan *et al.* 2024) para identificar genes conservados en al menos cinco cepas bacterianas patógenas humanas. Las especies se seleccionarán según Bartlett *et al.* (2022) y la Lista de Patógenos Prioritarios (BPPL, por sus siglas en inglés) de la OMS 2024. Se descargaron 10 genomas por especie de NCBI y se analizaron con Roary y Get\_homologues para comparar pangenomas, eliminando redundancias y evaluando perfiles de AMR y virulencia con ResFinder y VirulenceFinder (Tantoso *et al.* 2022).

**Modelado y validación proteica**

Las proteínas codificadas por los genes seleccionados se modelaron con SWISS-MODEL o AlphaFold y se evaluó la calidad estructural con MolProbity y ProSA. Los modelos más estables se identificarán mediante simulaciones de dinámica molecular a 500 ns en GROMACS.

**Cribado virtual y acoplamiento**

Los sitios de unión se identificarán con CB-Dock2 y AutoDock Vina; las interacciones se analizarán con PLIP y visualizarán en Maestro Elements. Se validará mediante acoplamiento con inhibidores conocidos ( $IC_{50} < 100 \mu M$ ) y señuelos generados con DUD-E. El rendimiento del modelo se calculará mediante la curva operativa del receptor considerando un área bajo la curva superior al 80% (AUCROC > 0.8). Se realizará cribado de análogos en ZINC, COCONUT y DrugBank. La estabilidad en complejo de los mejores ligandos se evaluará mediante estudios de dinámica molecular.

**Resultados**

El análisis inicial del pangenoma de *Burkholderia pseudomallei*, *Nocardia farcinica*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi*, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pyogenes*, permitió identificar un grupo de proteínas hipotéticas conservadas, con identidad > 50% y cobertura > 80% en 4 de estas cepas, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Grupo de proteínas hipotéticas conservadas en 4 cepas patógenas humanas						
GO_Id	Proteína probable					Cepa
CPF_2496	Proteína	Gcp	de	biosíntesis	de tRNA	<i>C. perfringens</i> .
	threonilcarbamoyladenosina					
nfa8840	Proteína	Gcp	de	biosíntesis	de tRNA	<i>N. farcinica</i> .
	threonilcarbamoyladenosina					
BF2512	Proteína	Gcp	de	biosíntesis	de tRNA	<i>B. fragilis</i> .
	threonilcarbamoyladenosina					
t3128	Proteína	Gcp	de	biosíntesis	de tRNA	<i>S. enterica</i> serovar
	threonilcarbamoyladenosina					Typhi Ty2

\*GO\_Id: Identificador de Gene Ontology

## Discusión

Se identificaron proteínas hipotéticas conservadas con alta homología en cuatro patógenos humanos, destacando la proteína Gcp relacionada con la biosíntesis de tRNA threonylcarbamoyladenosa. Esta proteína puede potencialmente participar en la modificación del tRNA, un proceso esencial para la traducción precisa de proteínas y la viabilidad celular (Perrochia et al 2013). Su inactivación podría afectar la síntesis proteica y reducir la supervivencia bacteriana, lo que la convierte en una candidata prometedora para el desarrollo de antimicrobianos de amplio espectro.

## Conclusión

El análisis pangenómico demostró ser útil para identificar proteínas esenciales conservadas en patógenos humanos. Se identificó a la proteína Gcp es un candidato prometedor para el desarrollo de antimicrobianos de amplio espectro.

## Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional, al Centro de Biotecnología Genómica, al Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) y a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

## Referencias bibliográficas

- Bartlett, A., Padfield, D., Lear, L., Bendall, R., & Vos, M. (2022). A comprehensive list of bacterial pathogens infecting humans. *Microbiology (United Kingdom)*, 168(12). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001269>
- Boora, A., Devi, J., Dubey, A., Tufail, A., Kumar, B., & Taxak, B. (2025). Unveiling the bioactive potential of organotin(IV) complexes of hydrazones: Synthesis, spectral characterization, in vitro and in silico exploration. *Journal of Molecular Structure*, 1321. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.139955>
- Chauhan, S. M., Aardalani, O., Hyun, J. C., Monk, J. M., Phaneuf, P. V., & Palsson, B. O. (2024). *The Pangenome of Escherichia coli*. <https://doi.org/10.1101/2024.06.07.598014>
- Datsenko, K. A., & Wanner, B. L. (2000). One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(12), 6640–6645. <https://doi.org/10.1073/pnas.120163297>
- Fernández-Martínez, N. F., Cárcel-Fernández, S., De la Fuente-Martos, C., Ruiz-Montero, R., Guzmán-Herrador, B. R., León-López, R., Gómez, F. J., Guzmán-Puche, J., Martínez-Martínez, L., & Salcedo-Leal, I. (2022). Risk Factors for Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria Carriage upon Admission to the Intensive Care Unit. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1039. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031039>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B. Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Ogawara, H. (2018). Comparison of Strategies to Overcome Drug Resistance: Learning from Various Kingdoms. *Molecules*, 23(6), 1476. <https://doi.org/10.3390/molecules23061476>
- Perrochia, L., Crozat, E., Hecker, A., Zhang, W., Bareille, J., Collinet, B., van Tilbeurgh, H., Forterre, P., & Basta, T. (2013). In vitro biosynthesis of a universal t6A tRNA modification in Archaea and Eukarya. *Nucleic Acids Research*, 41(3), 1953–1964. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1287>

- Sunuwar, J., & Azad, R. K. (2022). Identification of Novel Antimicrobial Resistance Genes Using Machine Learning, Homology Modeling, and Molecular Docking. *Microorganisms*, 10(11), 2102. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112102>
- Süssmuth, R. D., Kulike-Koczula, M., Gao, P., & Kosol, S. (2025). Fighting Antimicrobial Resistance: Innovative Drugs in Antibacterial Research. *Angewandte Chemie International Edition*, 64(10). <https://doi.org/10.1002/anie.202414325>
- Tantoso, E., Eisenhaber, B., Kirsch, M., Shitov, V., Zhao, Z., & Eisenhaber, F. (2022). To kill or to be killed: pangenome analysis of *Escherichia coli* strains reveals a tailocin specific for pandemic ST131. *BMC Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01347-7>
- WHO. (2024). *WHO\_2024\_Bacterial\_priority\_list*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
- Yu, D., Ellis, H. M., Lee, E.-C., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., & Court, D. L. (2000). An efficient recombination system for chromosome engineering in *Escherichia coli*. <https://doi.org/10.1073/pnas.100127597>



## ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS MicroRNAs mir160 Y mir397 EN LA RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO EN AMARANTO Y SU IMPACTO FISIOLÓGICO PARA SU POSIBLE APLICACIÓN AGROBIOTECNOLÓGICA

Neri Pluma Polvo<sup>1</sup>, José Alberto Narváez Zapata<sup>2</sup>, Flor de Fátima Rosas Cárdenas\*

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tepetitla, Tlaxcala, 90700, México. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Genómica - Instituto Politécnico Nacional. Blvd. del Maestro S/N Col. Narciso Mendoza. Reynosa, Tamaulipas. C.P. 88710, México

\*[frosasc@ipn.mx](mailto:frosasc@ipn.mx)

### Resumen

Este estudio explora el papel de miR160 y miR397 en *Amaranthus hypochondriacus* frente al estrés abiótico mediante un flujo integrado in silico-experimental. Se predijeron dianas, se establecieron correspondencias ortológicas con *Arabidopsis thaliana* y se analizaron redes de interacción para caracterizar módulos regulatorios. La comparación entre especies, tras normalizar identificadores, evidenció una convergencia ortóloga consistente dentro de cada miRNA y ausencia de solapamiento entre ambos módulos, lo que sugiere funciones no redundantes. Las estructuras secundarias de los pre-miRNA mostraron conformaciones compatibles con procesamiento eficiente, aportando plausibilidad biológica. Se avanzó en la construcción de vectores para la generación de líneas sobreexpresoras. En conjunto, los resultados respaldan que miR160 y miR397 regulan rutas complementarias relevantes para la respuesta al estrés y sientan las bases para su validación funcional en planta.

**Palabras clave:** microRNAs, transformación genética, estrés abiótico, agrobiotecnología.

### Introducción

El cambio climático está modificando temperatura, precipitación y frecuencia de sequías, con proyecciones de calentamiento sostenido hacia 2100 (Swann, 2018; Alvarado & et al., 2002). El amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*), cultivo de alto valor nutricional y tolerante a salinidad, sequía, calor y plagas, cuenta hoy con recursos genómicos en especies cultivadas y silvestres, lo que facilita estudiar sus mecanismos de tolerancia al estrés (Omami & Hammes, 2006; Singh & et al., 2023). En este contexto, los RNA pequeños (sRNAs) regulan procesos de crecimiento, reproducción y respuesta al estrés mediante control epigenético, de transcritos y de traducción; en plantas incluyen miRNAs y siRNAs (Zhan & Meyers, 2023). En particular, los miRNAs modulan factores de transcripción y proteínas de respuesta al estrés, actuando como nodos clave de la regulación génica (Rogers & Chen, 2013). Con base en ello, este trabajo se enfoca en caracterizar miR160 y miR397 en *A. hypochondriacus* para entender su contribución a la respuesta al estrés abiótico y su potencial aplicación agrobiotecnológica.

### Materiales y métodos

**Predicción y depuración de genes diana.** Se utilizó psRNATarget y los genomas de referencia de *A. hypochondriacus* para predecir genes potencialmente regulados por miR160 y miR397. Posteriormente, se buscaron ortólogos en *A. thaliana* (Phytozome/Ensembl Plants) y se filtraron las predicciones por criterios de complementariedad y localización del sitio diana (UTR/CDS), conservándose solo las coincidencias de mayor confianza.

**Redes de interacción y comparación entre listas.** Con las listas depuradas de genes diana se construyeron redes de interacción en STRING y GeneMANIA y se modularon en Cytoscape. Para comparar la superposición entre conjuntos por miRNA y por especie, los identificadores

de *A. hypochondriacus* (AH) se mapearon a sus ortólogos de *A. thaliana* y se normalizaron a símbolos Ath. El diagrama de Venn se generó en Venny 2.1, sin duplicados y con coincidencia exacta de cadenas.

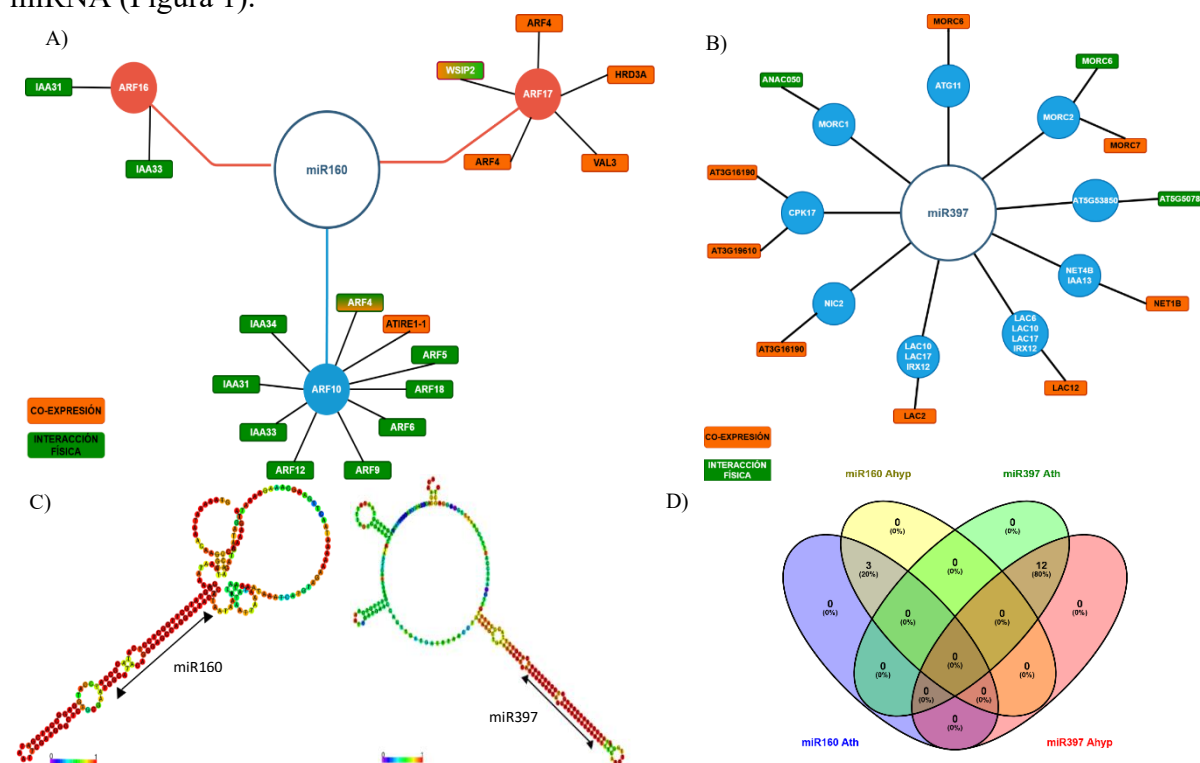
**Validación in silico y diseño de oligonucleótidos.** La secuencia precursora y madura de ambos miRNAs se confirmaron por BLAST y su estructura secundaria se evaluó con RNAfold. Con dichas secuencias se diseñaron oligonucleótidos específicos con Primer3 y Primer-BLAST para validación experimental por PCR.

**Construcción de vectores y clonación en *E. coli*.** Las secuencias precursoras de Ahyp-miR160 y miR397 se insertaron en el vector de entrada pENTR/D-TOPO; las construcciones se diseñaron y verificaron en SnapGene Viewer. La clonación se realizó en *E. coli* TOP10 mediante transformación química: las células quimiocompetentes se sometieron a choque térmico a 42 °C durante 45 s y se recuperaron en medio LB a 37 °C durante 1 h con agitación.

**Validación del inserto y preparación para *Agrobacterium*.** La validación del inserto se efectuó mediante extracción plasmídica por miniprep de lisis alcalina (Birnboim y Doly) a partir de colonias transformadas. Las clonas con banda del tamaño esperado se cultivaron en LB suplementado con kanamicina y el ADN plasmídico purificado se utilizó para confirmar la inserción mediante PCR antes de su transferencia a *A. tumefaciens* GV3101.

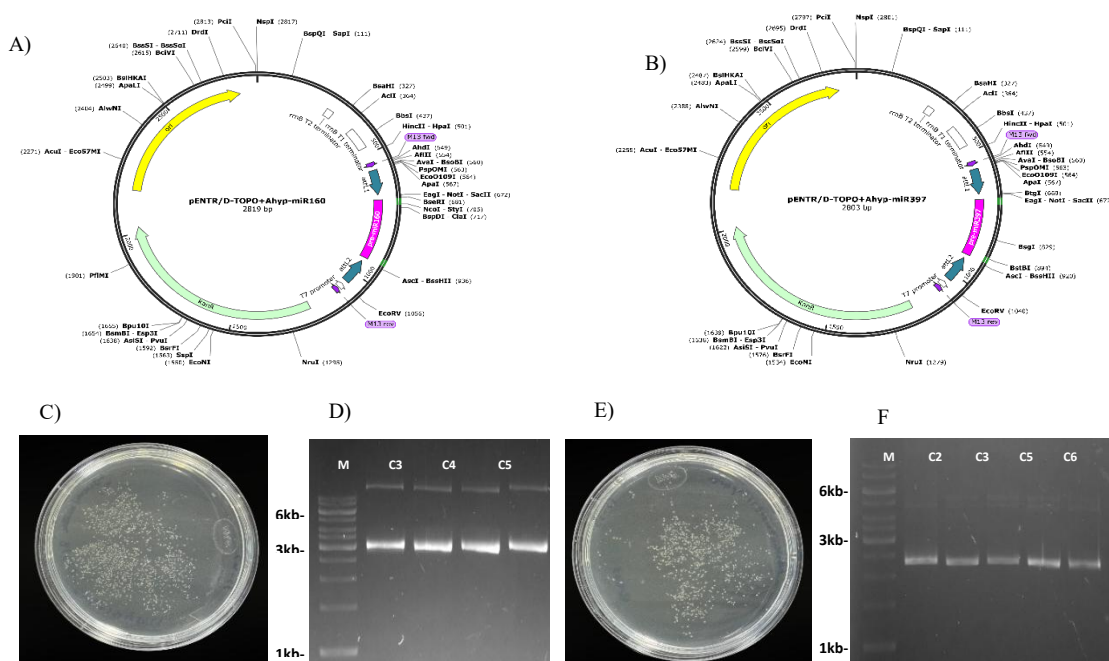
## Resultados

Se determinó la red de interacción de los dos miRNAs y la secuencia precursora para cada miRNA (Figura 1).



**Figura 1.** Integración bioinformática de ahy-miR160 y ahy-miR397. A) Red de interacción para el módulo miR160 con genes diana ortólogos en *A. thaliana* (Cytoscape). Se destacan *ARF10*, *ARF16* y *ARF17*. B) Red de interacción para miR397 con sus genes diana ortólogos en *A. thaliana*. C) Estructuras secundarias de los pre-miR160 y pre-miR397 (RNAfold). Las flechas indican la región madura; el gradiente de color representa la probabilidad de apareamiento (rojo = alta; azul = baja). D) Diagrama de Venn (Venny 2.1; 4 listas) que compara genes diana en *A. thaliana* (símbolos Ath) con los ortólogos predichos desde *A. hypochondriacus* normalizados a símbolos de *Arabidopsis*.

Tras filtrar dianas con psRNATarget y normalizar la comparación por ortología (AH→símbolos de *Arabidopsis*), el Venn de 4 listas mostró convergencia ortóloga completa dentro de cada miRNA: miR160 se asoció consistentemente con *ARF10/16/17*, mientras que miR397 se vinculó con genes de pared celular/oxidoreductasas (p. ej., *LAC6/10/17*, *IRX12*, *NET4B*, *MORC1/2*, *ATG11*, *CPK17*, *IAA13*, *AT5G53850*, *NIC2*). Se procedió a la clonación de los precursores y validación (Figura 2).



**Figura 2.** Mapas circulares de los vectores de entrada pENTR/D-TOPO utilizados para las construcciones de los miRNAs miR160 (A) y miR397 (B). En las imágenes C y E se observan las placas de *E. coli* Top10 con las colonias transformadas. Las imágenes D y F presentan la identificación de los plásmidos mediante gel de agarosa al 1%, donde el carril M corresponde al marcador de peso molecular (1 kb), y los carriles consecutivos muestran las diferentes clonas obtenidas para cada construcción.

## Discusión

La integración bioinformática y experimental sugiere que miR160 y miR397 actúan como módulos regulatorios conservados y no redundantes entre *A. hypochondriacus* y *A. thaliana*. Según Huang et al. (2020), miR397 regula genes *LAC*, implicados en la lignificación celular y adaptación al estrés, lo que coincide con nuestros resultados en *A. hypochondriacus*. Zimmerman et al. (2024) demostraron que miR160 regula *ARF10*, *ARF16* y *ARF17* en *Arabidopsis*, promoviendo el desarrollo radicular, lo que también se observa en *A. hypochondriacus*, donde miR160 regula genes *ARF* bajo estrés abiótico. Las estructuras secundarias predichas por RNAfold presentan conformaciones compatibles con un procesamiento eficiente. Además, la inserción de los pre-miRNAs en pENTR/D-TOPO y la obtención de colonias transformantes adecuadas preparan el sistema para su transferencia a *Agrobacterium GV310*.

## Conclusiones

Se ha logrado identificar con éxito los genes diana para los miRNAs miR160 y miR397 en *A. hypochondriacus*, lo que proporciona una base sólida para los análisis futuros. Aunque los resultados preliminares de las transformaciones genéticas de las construcciones de los

plásmidos son adecuados para continuar, será necesario realizar validaciones genéticas y evaluar fenotípicamente las plantas transgénicas para confirmar los efectos de la sobreexpresión de los miRNAs en la respuesta al estrés abiótico. Este estudio tiene el potencial de ofrecer nuevas estrategias para la mejora genética de *A. hypochondriacus* y otras especies vegetales mediante la modulación de microRNAs, contribuyendo a la adaptación de los cultivos a condiciones de estrés, lo cual es fundamental para enfrentar los retos del cambio climático.

### Agradecimientos

Agradecemos al Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN-Tlaxcala por su apoyo técnico, a la Secretaría de Investigación y Posgrado por los proyectos SIP20253420 y PROREDES 20254751, así como a la Dra. Flor de Fátima Rosas Cárdenas y al Dr. José Alberto Narváez Zapata por su dirección y orientación en este proyecto.

### Referencias bibliográficas

- Swann, A. L. (2018). Plants and drought in a changing climate. *Current Climate Change Reports*, 4, 192-201.
- Alvarado Vázquez, M. A., Foroughbakhch Pournavab, R., Jurado Ybarra, E., & Rocha, A. (2002). El cambio climático y la fenología de las plantas. *Ciencia Uanl*, 5(4).
- Omami, E. N., & Hammes, P. S. (2006). Interactive effects of salinity and water stress on growth, leaf water relations, and gas exchange in amaranth (*Amaranthus* spp.). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34(1), 33-44.
- Singh, A., Mahato, A. K., Maurya, A., Rajkumar, S., Singh, A. K., Bhardwaj, R., ... & Singh, R. (2023). Amaranth Genomic Resource Database: an integrated database resource of Amaranth genes and genomics. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1203855.
- Zhan, J., & Meyers, B. C. (2023). Plant small RNAs: their biogenesis, regulatory roles, and functions. *Annual Review of Plant Biology*, 74(1), 21-51.
- Rogers, K., & Chen, X. (2012, January). microRNA biogenesis and turnover in plants. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 77, pp. 183-194). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Huang, S., Zhou, J., Gao, L., & Tang, Y. (2020). Plant miR397 and its functions. *Functional Plant Biology*, 48(4), 361-370.
- Zimmerman, K., Pegler, J. L., Oultram, J. M., Collings, D. A., Wang, M. B., Grof, C. P., & Eamens, A. L. (2024). Molecular manipulation of the miR160/AUXIN RESPONSE FACTOR expression module impacts root development in *Arabidopsis thaliana*. *Genes*, 15(8), 1042.

## COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA PULPA DEL CAFÉ CON EFECTO ANTIHIPERTENSIVO: PROPUESTA PARA REVALORIZAR DESECHOS AGROINDUSTRIALES

Pobeda Xitlali Martínez Romero<sup>1\*</sup>, Rosalva Mora Escobedo<sup>2</sup>, Vanessa Blas Valdivia<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> ENCB, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Av. Wilfrido Massieu 399, Col. Nueva Industrial Vallejo, C.P. 07738 Alcaldía Gustavo A. Madero CDMX México.

\*xitla.mar@gmail.com

### Resumen

Una de las bebidas de mayor consumo en el mundo es el café, México ocupa el décimo puesto de productores en el ranking mundial. Del procesamiento del café se derivan desechos como la pulpa del café (PC), la cual es altamente contaminante debido al pH ácido que contiene. Existe evidencia que la PC es una fuente de compuestos bioactivos los cuales pueden otorgar beneficios para la salud en el tratamiento o prevención de enfermedades como la hipertensión arterial (HTA) derivado de sus propiedades antioxidantes. En el presente trabajo se propone realizar la extracción de los compuestos bioactivos de la PC y llevarlo a secado con aspersión, obteniendo un polvo con efecto antihipertensivo. Se obtuvo un extracto acuoso de etanol:agua (30:70) al 7 % (p/v) con un contenido de polifenoles totales (CPT) de  $352.76 \pm 7.11$  GAE/g DW, actividad antioxidante (AOx) mediante ABTS y DPPH de  $33.14\% \pm 1.90$  y  $34.21\% \pm 2.68$  respectivamente, en contraste con el polvo obtenido, donde se determinaron CPT ( $336.35 \pm 3.64$  GAE/g DW) y AOx (ABTS:  $89.13\% \pm 8.37$ ; DPPH:  $90.33\% \pm 0.66$ ).

**Palabras clave:** pulpa de café, ácido clorogénico, hipertensión arterial.

### Introducción

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo; se produce mediante la extracción en frío o caliente de los granos de café tostados que se someten a un extenso proceso de cultivo, cosecha y procesamiento (Statista, 2023; Heeger et al., 2017). Durante el procesamiento o beneficiado del café se obtienen diferentes desechos, el que se obtiene en mayor proporción es la pulpa, representando aproximadamente el 42 % del peso del fruto en fresco; son residuos altamente contaminantes para los suelos y mantos acuíferos donde llegan estos desechos, debido a su pH ácido (4-4.5) y a la gran cantidad de materia orgánica que representa, originando problemas en los suelos acidificándolos y con esto afectando la microflora, además de la emisión de gases como el metano (CH<sub>4</sub>) y el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) resultantes de la fermentación de la pulpa (Patel et al., 2021; Torres-Valenzuela et al., 2019). En la literatura se identifica que estos desechos poseen en su composición química compuestos bioactivos como el ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico que, debido a su actividad antioxidante podrían ser de utilidad para la mejora de la salud humana en el tratamiento o prevención de enfermedades como la HTA (Cruzalegui et al., 2021; Fierro-Cabrales et al., 2018). Existe evidencia de que el ácido clorogénico (ACG) ha decrecido la presión arterial (PA), estudios como el de Suzuki et al. (2006) y otros más recientes como el de Husniati et al. (2023) demuestran que el ACG es un compuesto que podría generar el decremento de la HTA. Es por ello que en el presente proyecto se propone el uso de un extracto acuoso que posteriormente es llevado a secado por aspersión, el cual es abundante en polifenoles y por último analizar el posible efecto antihipertensivo en un modelo murino.



## Materiales y métodos

**Muestra.** La pulpa de café fue colectada de un cultivo se encuentra en Monte Blanco, Fortín, Veracruz, Mex. A 1200 m s. n. m. Se obtuvo la muestra proveniente de la especie *Coffea arabica* variedad Bourbon de la cosecha 2022-2023. Para su obtención se lavó la cereza con agua purificada, se despulpó en una despulpadora manual de tambor y se colocó al sol, posteriormente se reservó en un recipiente con orificios bajo techo a temperatura ambiente, cuando la pulpa se trituraba al tacto se almacenó para su uso en próximos análisis.

**Análisis químico proximal:** Se llevó a cabo mediante normativa vigente, determinando el porcentaje de humedad (Norma Mexicana NMX-F-428 1982), cenizas (Norma Oficial Mexicana NOM-F260-S 1978), proteína (Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980), extracto etéreo (Norma Mexicana NMX-F-615-NORMEX-2004) y fibra (NOM-F-90-S-1978 y AOAC 991.43).

**Extracto acuoso:** La muestra seca se molió por aproximadamente 30 segundos, posteriormente se realizó un extracto en agua destilada a  $92\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  utilizando 7% v/v de muestra por 10 minutos con agitación constante, posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm por 15 minutos, se recuperó el sobrenadante y por último fue filtrado. La muestra se conservó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para posteriores análisis.

**Secado por aspersión:** El extracto acuoso obtenido de la PC se llevó a secado por aspersión con una temperatura del aire de entrada a  $170^{\circ}\text{C}$ , la presión que se seleccionó para el flujo fue de 0.6 atm, la velocidad de alimentación se ajustó durante el proceso para obtener una temperatura de salida a  $70^{\circ}\text{C}$  constante. El polvo obtenido fue conservado en una bolsa tipo ziploc en un desecador a temperatura ambiente y a oscuridad.

**CPT:** El contenido de fenoles totales se determinó mediante el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) con algunas modificaciones de acuerdo con Rosales *et al.* (2019). En la microplaca se adicionarán 50  $\mu\text{L}$  de muestra con 125  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin-Ciocalteu (1:5) y 425  $\mu\text{L}$  de solución de carbonato de sodio al 7.1% p/v, el volumen se ajustará a 1 mL con agua destilada. La muestra se mantendrá en oscuridad durante 60 minutos; posteriormente, se medirá la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro.

**ABTS:** Se determinó según el método de Re *et al.* (1999) con modificaciones para microplaca. Se realiza una solución de ABTS (192 mg/50 mL), una solución de persulfato de potasio  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  (189.2 mg/5 mL), posteriormente se agregan 5 mL de la solución de ABTS con 88  $\mu\text{L}$  de la solución de persulfato se deja en reposo a oscuridad y a temperatura ambiente por 16 hrs. Posteriormente se disuelve un poco de esta solución en agua destilada (aproximadamente 1 mL en 45 mL), leer a 734 nm y ajustar la solución a una absorbancia de  $0.700 \pm 0.005$ . En la microplaca se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra con 280  $\mu\text{L}$  de ABTS, se incubó en oscuridad por 20 min y por último se leyó a 734 nm.

**DPPH:** Se determinó de la siguiente manera, solución DPPH en metanol de 50 mg/L, luego se preparó una solución de metanol y los extractos de pulpa de café en una concentración de 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (600  $\mu\text{L}$  de muestra/2 ml metanol), esta es la solución A. Además, el blanco de muestra se preparará con 0.75 ml de muestra de la solución A y 1.5 ml de metanol. Se preparó el patrón de referencia con 1.5 ml de DPPH y 0.75 ml de agua ultrapura. Posteriormente se preparó la muestra con 0.75 ml de la solución A y 1.5 ml de DPPH, con concentración final de 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , dejándose por 5 min en oscuridad. Finalmente se tomó lectura a 517 nm en un espectrofotómetro.

## Resultados

**AQP:** El análisis químico proximal se realizó en la muestra de PC, se determinaron los porcentajes de fibra, cenizas, nitrógeno total, humedad, extracto etéreo y carbohidratos, en la tabla 1 se pueden identificar los resultados de la determinación de estos parámetros.



**Tabla 1.** Análisis químico proximal de PC.

<i>Parámetro</i>	<i>Fibra dietaria total</i>	<i>Cenizas</i>	<i>Nitrógeno total</i>	<i>Humedad</i>	<i>Extracto etéreo</i>	<i>Carbohidratos</i>
<b>Contenido (%)</b>	52.62 ±0.86	7.83 ±0.26	8.37 ±0.18	7.31 ±0.06	1.12 ±0.02	22.75

También se determinó la proporción de celulosa, hemicelulosa y lignina, como se observa en la tabla 2, estos componentes corresponden a la pared celular, es decir fibra totalmente indigerible o parcialmente digerible, podría explicarse que el 26.26 % (fibra dietaria total menos lignina+hemicelulosa+lignina) restante corresponde a la fibra soluble que contiene la PC como la pectina, que ha sido reportada que se encuentra en una proporción importante en la pulpa de café (Hoseini et al., 2021; Manasa et al., 2021).

**Tabla 2.** Determinación de celulosa, lignina y hemicelulosa.

<i>Parámetro</i>	<i>Celulosa</i>	<i>Lignina</i>	<i>Hemicelulosa</i>	<i>TOTAL</i>
<b>Contenido (%)</b>	16.81	6.89	2.66	26.36

Mediante espectrometría de fotoelectrones inducidos por rayos X (XPS), se determinó la proporción de algunos elementos en la pulpa de café (cuadro 5), encontrándose minerales como el potasio (K: 1.6 %), fósforo (P: 1.4 %) y Calcio (Ca: 0.4 %), además de haber identificado un 1.2 % de silicio en el presente estudio.

**Tabla 3.** Resultados XPS, comparación de contenido de elementos en la PC seca contra el polvo de extracto seco (ES-PC).

<i>Elemento</i>		<i>C</i>	<i>O</i>	<i>K</i>	<i>N</i>	<i>Si</i>	<i>P</i>	<i>Ca</i>	<i>Na</i>	<i>Cl</i>
<i>PC seca</i>	%	66.5	28.4	1.6	1.4	1.2	0.4	0.4	NC	NI
<i>ES-PC</i>		68	24.4	0.9	3.4	0.7	NI	NI	1.1	1.5

PC: Pulpa de café; ES-PC: Extracto seco de pulpa de café; NC: No cuantificado; Ni: No identificado.

El secado de la muestra fue mediante secado por aspersión, obteniendo un rendimiento del proceso de un 4%. Como se muestra en la tabla 4, el CPT es muy similar en ambos casos, mientras que en el EA se obtuvieron 352.76 ( $\pm 7.11$ ) CPT GAE/g DW en el ES-PC 336.35 ( $\pm 3.64$ ) CPT GAE/g DW en una solución de 1 mg/mL de polvo seco. Por otro lado, la actividad antioxidante determinada mediante ABTS en el EA es de 33.14 % ( $\pm 1.90$ ) mientras que en el ES-PC es de 89.13 % ( $\pm 8.37$ ), además, la AOx determinada mediante DPPH para EA es de 34.21 % ( $\pm 2.68$ ) y para ES-PC 90.33 % ( $\pm 0.66$ ). Estos resultados nos podrían indicar que los compuestos con mayor efecto antioxidante se están conservando posterior al secado por aspersión, mismos compuestos que podrían generar el efecto antihipertensivo que se busca obtener para el presente proyecto.

**Tabla 4.** Comparación de CPT y AOx en el extracto acuoso de (EA) contra el polvo obtenido por secado por aspersión (ES).

<i>Muestra</i>	<i>CPT GAE/g DW</i>	<i>ABTS % Inhibición</i>	<i>DPPH % Inhibición</i>
<b>EA</b>	352.76 $\pm$ 7.11	33.14 % $\pm$ 1.90	34.21 % $\pm$ 2.68
<b>ES-PC</b>	336.35 $\pm$ 3.64	89.13 % $\pm$ 8.37	90.33 % $\pm$ 0.66

EA: Extracto acuoso; ES-PC: Extracto seco de pulpa de café.

## Conclusiones.

Con los resultados obtenidos se demuestra que este desecho agroindustrial puede ser una fuente importante de compuestos bioactivos, demostrando además que la presencia de ácido

clorogénico es muy importante, el cual podría ser el responsable del efecto antihipertensivo que se busca obtener.

### **Agradecimientos**

A la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional y a la SECIHTI través de la beca de doctorado, que permite la realización de este proyecto.

### **Referencias bibliográficas**

- Cruzalegui, R. J., Güivin, O., Fernández-Jeri, A. B., & Cruz, R. (2021). Caracterización de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) deshidratada de tres fincas cafeteras de la región Amazonas (Perú). *Información tecnológica*, 32(5), 157–166. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642021000500157>
- Fierro-Cabral, N., Contreras-Oliva, A., Gozález-Ríos, O., Rosas-Mendoza, E. S., & Morales-Ramos, V. (2018). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y NUTRIMENTAL DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) CHEMICAL AND NUTRITIONAL CHARACTERIZATION OF COFFEE PULP (*Coffea arabica* L.). *Agroproductividad*, 11, 9–13.
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>
- Husniati, H., Garmana, A. N., & Ketut Adnyana, I. (2023). Potential Extract of Robusta Coffee as Antihypertensive Agent: In Vivo Study on Dexamethasone-induced Hypertensive Rats. *AIP Conference Proceedings*, 2902(1). <https://doi.org/10.1063/5.0173172>
- Patel, A., Temgire, S., & Borah, A. (2021). Agro-industrial waste as source of bioactive compounds and their utilization: A review. *The Pharma Innovation*, 10(5), 192–196. <https://doi.org/10.22271/tpi.2021.v10.i5c.6197>
- Suzuki, A., Yamamoto, N., Jokura, H., Yamamoto, M., Fujii, A., Tokimitsu, I., & Saito, I. (2006). Chlorogenic acid attenuates hypertension and improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats. En *Journal of Hypertension* (Vol. 24). Lippincott Williams & Wilkins. [www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/)
- Torres-Valenzuela, L. S., Sanín-Villarrea, A., Arango-Ramírez, A., & Serna-Jiménez, J. A. (2019). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de aguas mieles del beneficio del café. *Revista ION*, 32(2), 59–66. <https://doi.org/10.18273/revion.v32n2-2019006>

## DERIVADOS DE PIRANOXANTONAS Y SU EVALUACIÓN COMO INHIBIDORES DE ENZIMAS RELACIONADAS CON LA DIABETES MELLITUS

Manuel Alejandro Polvo García<sup>1\*</sup>, Aarón Mendieta Moctezuma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5 Tlaxcala C.P. 90700, México.

\* [mpolvog2500@alumno.ipn.mx](mailto:mpolvog2500@alumno.ipn.mx)

### Resumen

La diabetes mellitus es una de las principales enfermedades crónico-degenerativas y constituye un problema de salud pública global. Su tratamiento actual se basa en fármacos que con frecuencia generan efectos adversos, por lo que existe la necesidad de buscar nuevos agentes terapéuticos más seguros. Entre las alternativas se encuentran las xantonas preniladas y sus derivados ciclados, conocidos como piranoxantonas, los cuales han mostrado capacidad para inhibir enzimas clave en el metabolismo de carbohidratos. En este trabajo se describe la síntesis de compuestos intermedios suficientes para la ciclación intramolecular de piranoxantonas y su potencial efecto inhibitorio sobre las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa, asociadas a la regulación de glucosa postprandial. Los resultados representan un avance hacia el desarrollo de derivados con actividad antidiabética, contribuyendo a la búsqueda de alternativas terapéuticas para el control de la diabetes mellitus.

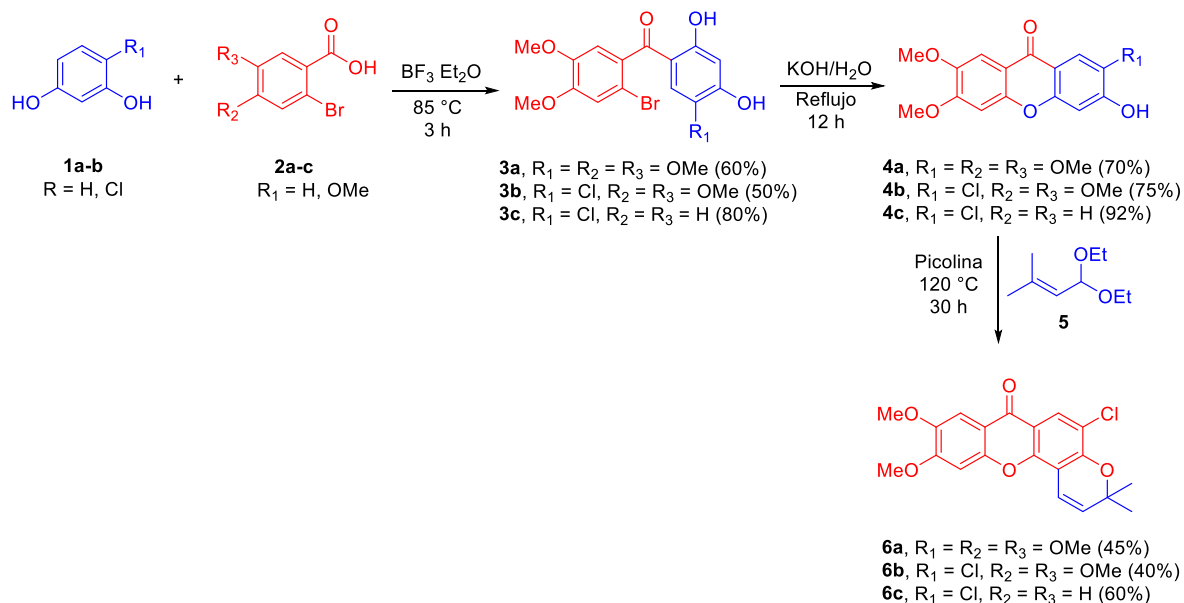
**Palabras clave:** piranoxantonas,  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa.

### Introducción

La diabetes mellitus es una de las principales causas de mortalidad en México y el mundo (INEGI 2021). Se caracteriza por hiperglucemia postprandial derivada de un defecto progresivo en la secreción y acción de la insulina, lo que conlleva resistencia insulínica y complicaciones asociadas (Bischoff 1994). Las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa son fundamentales en la degradación de carbohidratos y representan blancos terapéuticos clave para el desarrollo de nuevos agentes antidiabéticos (Carrasco y Vega 2015). Heterociclos oxigenados derivados de productos naturales tales como las xantonas preniladas han mostrado ser de interés en el desarrollo de potenciales agentes antidiabéticos inhibidores de enzimas digestivas como  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa (Vázquez-Lira et al. 2025). Sin embargo, los bajos rendimientos de compuestos naturales y su limitada biodisponibilidad hacen necesaria su síntesis química y evaluación biológica. Una estrategia consiste en emplear herramientas de modelado molecular que permitan analizar interacciones de diversas xantonas preniladas con las enzimas digestivas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa y seleccionar los compuestos más prometedores para sus estudios *in vitro*, reduciendo tiempos y costos en el desarrollo de agentes terapéuticos antidiabéticos (Genovese et al. 2021; Tan et al. 2017).

### Materiales y métodos

**Síntesis de piranoxantonas.** A partir de fenoles comerciales **1a-b**, en presencia de los agentes acilantes **2a-c** y eterato de trifloruro de boro se generaron las benzofenonas sustituidas **3a-c** en rendimientos moderados. Estos derivados en condiciones básicas con KOH y reflujo formaron las correspondientes 3-hidroxi-xantonas **4a-c**, con buenos rendimientos. Las piranoxantonas **6a-c**, se obtuvieron mediante ciclación intermolecular empleando 1,1-dietoxi-3-metil but-2-eno (**5**) en condiciones básicas y reflujo con rendimientos moderados (Esquema 1).



**Esquema 1.** Síntesis de piranoxantonas **6a-c**.

*Ensayo in vitro de  $\alpha$ -glucosidasa.* Se evaluó la actividad inhibitoria de las piranoxantonas sobre  $\alpha$ -glucosidasa (MERCK, G5003) utilizando *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido como sustrato en formato de microplacas de 96 pocillos. La mezcla de reacción se leyó en 405 nm y se utilizó acarbosa como control positivo.

*Ensayo in vitro de  $\alpha$ -amilasa:* La inhibición de  $\alpha$ -amilasa (MERCK, A6255) por parte de las piranoxantonas se realizó empleando almidón como sustrato y DNS. La lectura se realizó a 540 nm. Se empleó acarbosa como control positivo.

## Resultados

La síntesis de las piranoxantonas **6a-c** se llevó a cabo mediante ciclación intermolecular de sus correspondientes 3-hidroxi-xantonas **4a-c** con rendimientos moderados. El efecto inhibitorio de estas piranoxantonas sobre las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa se muestra en la Tabla 1, donde la piranoxantona **6c** mostró mejor efecto inhibitorio sobre  $\alpha$ -glucosidasa con  $CI_{50}$  de 18  $\mu$ M. Para  $\alpha$ -amilasa los compuestos mostraron débil inhibición con valores de  $CI_{50}$  de 200-500  $\mu$ M.

**Tabla 1.** Efecto inhibitorio de piranoxantonas **6a-c** sobre  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa.

Compuesto	$\alpha$ -Glucosidasa	$\alpha$ -Amilasa
	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)
<b>6a</b>	>200	>200
<b>6b</b>	130.0	>200
<b>6c</b>	18.0	>500
<b>Acarbosa</b>	308.0	25.0

## Discusión

Los resultados sugieren que las piranoxantonas **6a-c** son buenos inhibidores sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa donde el compuesto **6c** mostró ser 17 veces más potente con respecto al fármaco acarbosa. Con respecto a  $\alpha$ -amilasa presentaron débil inhibición comparado con acarbosa. La adición del halógeno cloro al esqueleto de xantona (C-5) aumentó significativamente la inhibición sobre  $\alpha$ -glucosidasa, pero disminuyó sobre  $\alpha$ -amilasa (Vázquez-Lira et al. 2025). La presencia de grupos metoxilo en el esqueleto de xantona (C-9 y C-10) no favorece la inhibición sobre estas enzimas digestivas. Estos datos muestran que las piranoxantonas son inhibidores selectivos sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa.

## Conclusiones

Los derivados piranoxantonas con un átomo de cloro en C-5 del esqueleto de piranoxantona favorecen significativamente la inhibición sobre  $\alpha$ -glucosidasa con respecto al fármaco acarbosa. Estas piranoxantonas podrían ser considerados para el diseño de inhibidores selectivos sobre  $\alpha$ -glucosidasa con la finalidad de limitar o reducir posibles efectos adversos.

## Referencias bibliográficas

- Bischoff H. (1994). Pharmacology of alpha-glucosidase inhibition. *Eur. J. Clin. Invest.* 24 (3), 3–10.
- Fei X, Jo M, Lee B, Han S-B, Lee K, Jung J-K, Seo S-Y. (2014). Synthesis of xanthone derivatives based on  $\alpha$ -mangostin and their biological evaluation for anti-cancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 24, 2062–2065.
- Genovese M, Nesi I, Caselli A, Paoli P. (2021). Natural  $\alpha$ -glucosidase and protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors: a source of scaffold molecules for synthesis of new multitarget antidiabetic drugs. *Molecules.* 26, 48–18.
- Tan XF, et al. (2017). Competitive protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors, prenylated caged xanthenes from *Garcinia hanburyi* and their inhibitory mechanism. *Bioorg. Med. Chem.* 25, 2498–2506.
- Vázquez-Lira G, et al. (2025). Novel alkoxy- and prenyl-xanthenes derivatives as potential antidiabetic agents: synthesis, *in vitro* evaluation and *in silico* studies. *Med. Chem. Res.* 34, 602–624.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS DEGRADADORES DE XENOBIÓTICOS CON CAPACIDAD DE PRODUCIR MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

Mailyn Stephany Porras García<sup>1</sup>, Alma Delia Paz González<sup>1</sup>, Gildardo Rivera Sánchez<sup>1</sup>,  
Pineda Cagua Bryan German<sup>1</sup>, Timoteo Delgado Maldonado<sup>1</sup>, Gilberto Vargas Salas<sup>1</sup>, Edgar  
Eduardo Lara Ramírez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Colonia Narciso Mendoza C.P 88710, Reynosa, Tamaulipas tel. 55 57 29 6000 tel. 89 99 13 08 89

\*mporrasg2200@alumno.ipn.mx

### Resumen

Los xenobióticos son sustancias químicas que interactúan con los sistemas biológicos, los cuales pueden ser un riesgo ambiental. Los xenobióticos de mayor prevalencia son los fármacos, los pesticidas, los hidrocarburos y los plásticos, los cuales se han detectado en entornos acuáticos, como aguas subterráneas, aguas superficiales y suelos. Por otra parte, la biorremediación es una estrategia de eliminación de diversos xenobióticos, que utiliza comúnmente microorganismos como son las bacterias y hongos. De estos, los hongos filamentosos han demostrado la capacidad de degradar una amplia gama de xenobióticos a través de diversas vías metabólicas. Con base en lo anterior se propuso identificar hongos filamentosos nativos de Tamaulipas capaces de tolerar y degradar fármacos, pesticidas, hidrocarburos y plásticos. Finalmente, también se identificarán los metabolitos secundarios de los hongos con una potencial actividad biológica antiparasitaria y antioxidante.

**Palabras clave:** Hongos, biorremediación, xenobióticos, metabolitos.

### Introducción

La presencia de xenobióticos, compuestos químicos externos a los sistemas biológicos, constituye una creciente amenaza ambiental y para la salud humana debido a su toxicidad, persistencia y acumulación en la cadena alimentaria. Entre los xenobióticos de mayor uso a nivel mundial se encuentra los fármacos, pesticidas, hidrocarburos y plásticos (Jagaba et al., 2022). A raíz de esta problemática en los últimos años se han estudiado técnicas que mitigan o reducen el impacto ambiental como lo es la biorremediación, la cual usa organismos vivos para descomponer o degradar contaminantes. Uno de estos organismos estudiados son los hongos filamentosos, ya que poseen mecanismos enzimáticos que ayudan a descomponer moléculas complejas en más pequeñas, o incluso son degradadas por completo. Un ejemplo de esto es el hongo *Penicillium oxalicum* que ha demostrado degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos además del diclofenaco (Aranda et al., 2017; Olicón-Hernández et al., 2019), mientras que *Aspergillus niger* ha sido utilizado para la descomposición de pesticidas organofosforados. Otras características de los hongos filamentosos, es su capacidad para producir moléculas bioactivas con potencial en aplicaciones biotecnológicas, enzimas industriales y metabolitos con diversas propiedades (Baker et al., 2019), como *Penicillium chrysogenum* es fuente de la penicilina, (Bills y Gloer 2016). Con base a lo anterior en esta investigación se identificará y analizará la capacidad de degradación de fármacos, pesticidas, hidrocarburos y plásticos de hongos filamentosos aislados en Tamaulipas, México. Además, se identificarán metabolitos de interés con potencial actividad biológica.



## Materiales y métodos

**-Toma de muestras:** Se recolectarán las muestras de agua y suelos contaminados en el estado de Tamaulipas. También, se usarán cepas de hongos provenientes del cepario del Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica-Centro de Biotecnología genómica.

**- Preparación de muestras de suelo (pretratamiento):** Se colocarán 10-20 mL o 10-20 g de cada muestra de agua o suelo en un Erlenmeyer de 250 ml que contendrán 100 ml de caldo Czapek dox con sacarosa. Todos los matraces se incubarán durante 15 días a 28 °C a 120 rpm, adicionalmente se le añadirán 100 mg/L de glifosato y permetrina (Atagana et al., 2016).

**-Aislamiento fúngico:** Se inoculará 1 mL del pretratamiento en medio Czapek Dox con 100 mg/L de glifosato, permetrina, ibuprofeno, paracetamol y PET (1 g p/v) y se incubará a 28 °C durante 7 días (Silambarasam y Abraham 2013). Se tomarán colonias con características morfológicamente diferente y se resembrarán en medio PDA obtener colonias únicas. Una vez purificadas se hará una respectiva identificación macroscópica y microscópica con la técnica de tinción azul de lactofenol (Chen *et al.*, 2012).

### Ensayo enzimático cualitativo

**-Detección de lacasa (Lac):** Se inocularán las cepas fúngicas en una placa Petri que contendrá medio MMS más ABTS 0.01 % se incubará a 30 °C durante 7 días.

**-Detección de lignina peroxidasa (LiP):** El hongo se inoculará en medio semisólido con glucosa 4 g; L-histidina 0.05 g; glicerol 0.7 g, CuSO<sub>4</sub> 0.01 g; NaNO<sub>3</sub> 0.18 g; NaCl 0.18 g, KCl 0.05 g; CaCl<sub>2</sub> 0.05 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1 g; FeSO<sub>4</sub> 0.005; MgSO<sub>4</sub> 0.05 g; guayacol 10 mM (v/v); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 mM; agar 2 g. Las cajas se incubarán durante 7 días a 30 °C.

**-Detección de manganeso peroxidasa (MnP):** Se sembrará en placas que contengan agar Czapek-Dox con 0.0025 % de rojo de fenol (p/v) y se incubarán a 30 °C por 7 días (Cruz-Izquierdo *et al.*, 2021).

### Identificación molecular de los aislados

La extracción de ADN se realizará siguiendo las instrucciones del protocolo del kit Promega Wizard® y su integridad se verificará por electroforesis en gel de agarosa al 1 %. La PCR se hará por medio de los ITS (600 pb), visualizada en gel de agarosa al 2 %. Los productos de PCR se purificarán con EXOSAP y para su secuenciación se enviarán a Eurofins GTM Operon LLC. Las secuencias obtenidas se ensamblarán en consenso con MEGA 11 y se identificarán mediante BLAST en la base de datos del NCBI.

**Ensayos de tolerancia en medio sólido:** Se sembrará una suspensión de esporas de los aislados fúngicos a la concentración de  $1 \times 10^7$  en tween-20 al 0.01 % (Joshi et al., 2024). Se realizará mediante el método de placa de gradiente en medio Czapek Dox que contendrá 200, 400 y 600 mg/L de ibuprofeno, paracetamol, glifosato, permetrina, naftaleno y fenantreno y para el caso del PET al 1.2%. Las placas se incubarán a 28 °C durante 8-15 días (Silambarasam y Abraham 2013).

**Análisis de degradación:** Se utilizarán las cepas fúngicas con mayor potencial de tolerancia y capacidad enzimática. Se evaluarán los siguientes tratamientos: Ta) MMS adicionado con glucosa e inóculo (tratamiento testigo); Tb) MMS adicionado con xenobióticos individual y el inóculo; Tc) MMS adicionado con xenobióticos individual y el inóculo; Td) MMS, xenobióticos individuales como control negativo. Cada tratamiento se inoculará con  $1 \times 10^7$  esporas/mL en medio MMS y se incubará a 28 °C a 140 rpm. Se usará la concentración de 50 mg/L. El ensayo será monitoreado por 36 días.

La degradación e identificación de metabolitos se determinará por FTIR, NMR, HPLC y UPLC-MS (Adaptada de: Cruz-Izquierdo *et al.*, 2021). En paralelo al análisis de degradación, se realizará la evaluación de crecimiento (López-Peña et al., 2013).

### Identificación de genes candidatos por genómica comparativa

Se hará una búsqueda de genes involucrados en la degradación de paracetamol, ibuprofeno, naftaleno, fenantreno, glifosato, permetrina y PET basándonos en la bibliografía reportada y considerando también los genes que codifican las enzimas a evaluar.

A partir de las secuencias de los hongos identificados, se hará anotación de los genes y el análisis comparativo usando JGI MycoCosm y NCBI, seleccionando los genes con mayor número de copias o una diversidad significativa. Los análisis se depurarán con EAWAG-BBD y KEGG. Finalmente, se evaluará mediante modelado computacional la afinidad de unión de los xenobióticos con las proteínas codificadas por estos genes.

**Análisis funcional mediante docking molecular:** Se simularán las interacciones entre las proteínas modeladas o cristalografiadas y los xenobióticos como ligandos; utilizando AutoDockTools para preparar los sistemas y AutoDock Vina para realizar el acoplamiento molecular en Python (Champramary *et al.*, 2023).

### Análisis de expresión génica

Se seleccionarán al menos 3 genes de interés (Godall *et al.*, 2018). La extracción de ARN se llevará a cabo utilizando el protocolo la extracción de ARN con el kit comercial de extracción SV Total RNA Isolation System (Promega®). La síntesis de ADNc se realizará de acuerdo con el protocolo de transcripción inversa A3500 de Promega®, y finalmente se hará la detección y cuantificación por PCR en tiempo real.

**Obtención de metabolitos y evaluación biológica:** Los hongos que posean ciertas características se les hará la obtención de metabolitos: Para esto, el hongo se inoculará en 300 mL de medio PDB se incubará a 28 °C por 7 días a 150 rpm. Luego se filtrará el micelio, este se secará y se pulverizará, obteniéndose al final un extracto crudo, para la extracción de los metabolitos se usará el sistema de cromatografía Flash Pure Essential C-900 Büchi. La identificación de metabolitos se hará mediante IR, NMR y UPLC-MS. Para la evaluación de la actividad biológica se hará un análisis de actividad antioxidante y antimicrobiana.

## Resultados

Inicialmente, se tomaron seis muestras de agua, suelo y lodos en Tamaulipas para el aislamiento de los hongos, obteniendo un total de 56 aislados: 4 de agua superficial del TEC, 12 de agua de profundidad del TEC, 23 de lodos del TEC, 2 de agua superficial del Hospital Materno Infantil, 5 del suelo de la muestra #01 del Río Bravo y 10 del suelo de la muestra #02 del Río Bravo. A partir de los 56 aislados, utilizando como fuente de carbono tres tipos de xenobióticos (fármacos, pesticidas, y plásticos) se determinó su tolerancia, logrando una selección con base al xenobiótico: permetrina, glifosato y PET, con 12 aislados cada uno; e ibuprofeno y paracetamol, con 10 aislados cada uno. En la identificación microscópica y macroscópica se determinó que el género *Fusarium* con 19 aislados, seguido de *Trichoderma* con 14, *Penicillium* y *Geotrichum* con 6 cada uno, *Mucor* con 5, *Scedosporium* con 3, y finalmente *Alternaria*, *Aspergillus* y *Microsporum* con un aislado cada uno. De los 56 aislados, se seleccionaron los aislados con capacidad de crecer en ausencia de sacarosa, utilizando como fuente de carbono el xenobiótico, a los cuales se les realizaron las pruebas enzimáticas cualitativas de lacasa (Lac), manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP). Como resultados relevantes, se observó que, de los aislados provenientes del aislamiento de permetrina, tres aislados del género *Trichoderma* presentaron una alta actividad en las tres enzimas evaluadas. En el caso de los aislados de glifosato, dos aislados mostraron mayor actividad en solo dos pruebas, MnP y LiP, correspondientes a los géneros *Penicillium* y *Fusarium*, mientras que un aislado del género *Fusarium* presentó alta actividad en Lac.

## Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos, la muestra de lodos del TEC presentó la mayor cantidad de aislados de hongos, indicando que esta posee mejores características para obtener microorganismos mayormente adaptados a xenobióticos, también, los resultados evidencian la capacidad de adaptabilidad de los hongos de crecer al no tener una fuente de carbono común y usar un xenobiótico. Además, los géneros *Fusarium* y *Trichoderma* fueron los géneros más representativos, diversos autores han resaltado estos géneros como degradadores de xenobióticos (Sagar y Singh, 2011; Mendarte-Alquisira *et al.*, 2024).

## Conclusiones

En este estudio preliminar se demostró, que varios aislados fúngicos presentan la capacidad de crecer teniendo como única fuente de carbono al xenobiótico, además de tener una actividad enzimática relevante. De los aislados evaluados, los géneros *Fusarium* y *Trichoderma* son candidatos para la degradación de los xenobióticos evaluados. Lo anterior demuestra el potencial de los aislados fúngicos para la degradación de diversos xenobióticos.

## Agradecimientos

Al SECITHI, y al IPN por el apoyo brindado para el desarrollo de la investigación.

## Referencias bibliográficas

- Aranda, E., Godoy, P., Reina, R., Badia-Fabregat, M., Rosell, M., Marco-Urrea, E., & García-Romera, I. (2017). Isolation of Ascomycota fungi with capability to transform PAHs: Insights into the biodegradation mechanisms of *Penicillium oxalicum*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 122, 141–150.
- Atagana, H. I., Haynes, R. J., & Wallis, F. M. (2006). Fungal Bioremediation of Creosote-Contaminated Soil: A Laboratory Scale Bioremediation Study Using Indigenous Soil Fungi. *Water, Air, and Soil Pollution*, 172(1–4), 201–219.
- Bills, G. F., & Gloer, J. B. (2016). Biologically Active Secondary Metabolites from the Fungi. *Microbiology Spectrum*, 4(6).
- Champramary, S., Indic, B., Szűcs, A., Tyagi, C., Languar, O., Hasan, K. M. F., Szekeres, A., Vágvolgyi, C., Kredics, L., & Sipos, G. (2023). The mycoremediation potential of the armillarioids: a comparative genomics analysis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11.
- Cruz-Izquierdo, R. I., Paz-González, A. D., Reyes-Espinosa, F., Vazquez-Jimenez, L. K., Salinas-Sandoval, M., González-Domínguez, M. I., & Rivera, G. (2021). Analysis of phenanthrene degradation by Ascomycota fungi isolated from contaminated soil from Reynosa, Mexico. *Letters in Applied Microbiology*, 72(5), 542–555.
- Mendarte-Alquisira, C., Alarcón, A., & Ferrera-Cerrato, R. (2024). Growth, tolerance, and enzyme activities of *Trichoderma* strains in culture media added with a pyrethroids-based insecticide. *Revista Argentina de Microbiología*, 56(1), 79–89.
- Olicón-Hernández, D. R., Camacho-Morales, R. L., Pozo, C., González-López, J., & Aranda, E. (2019). Evaluation of diclofenac biodegradation by the ascomycete fungus *Penicillium oxalicum* at flask and bench bioreactor scales. *Science of The Total Environment*, 662, 607–614.

## IDENTIFICACIÓN DE MODULADORES GENÉTICOS QUE REGULAN LA DINÁMICA DE INTERCAMBIO DE HIERRO Y NITRÓGENO DE MAÍZ CRIOLLO CULTIVADO BAJO EL SISTEMA MILPA EN EL NORTE DE SINALOA.

José Ricardo Rendón de Anda<sup>1</sup>, Jesus Mireya Higuera Rubio<sup>1</sup>, Grethel Priscila Gaytán Pinzón<sup>1</sup>, Carlos Ligne Calderón Vázquez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Blvd. Juan de Dios Bátiz #250, Col. San Joaquín, Guasave, Sinaloa

\*Contacto: ccalderon@ipn.mx

### Resumen

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y en Mesoamérica se ha cultivado tradicionalmente en asociación con frijol y otras especies bajo el sistema milpa. Este sistema favorece interacciones planta-planta, donde se propone que el maíz estimula la fijación de nitrógeno en frijol, mediante un proceso dependiente de hierro (Fe). El objetivo de este estudio fue determinar parámetros de crecimiento de maíz nativo en sistema milpa en condiciones contrastantes de disponibilidad de Fe. En este estudio se evaluaron dos variedades de maíz nativo, “Breve San Juan” (BSJ) y “8 Carreras” (8C), en monocultivo y en milpa con frijol nativo Yorimuni (*Phaseolus acutifolius*), en Fe óptimo y deficiente. Se cuantificó biomasa y concentración de Fe foliar y radicular a los 15 y 55 días (d). A los 15 d, BSJ presentó mayor peso seco aéreo en ambos sistemas de cultivo. Al finalizar el bioensayo (55 d), se observaron diferencias significativas en biomasa foliar y radicular en función del sistema de cultivo y la disponibilidad de Fe, con valores más altos en monocultivo y Fe óptimo. La concentración foliar de Fe fue mayor en milpa y condiciones óptimas. Estos resultados confirman que las interacciones en milpa se manifiestan principalmente en etapas intermedias del desarrollo y que el sistema de cultivo influye en la acumulación de biomasa y Fe en maíz nativo.

**Palabras clave:** Maíz nativo, Milpa, Policultivo, intercropping, asimilación de hierro.

### Introducción

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cultivos más ampliamente producidos a nivel mundial, se cultivan anualmente alrededor de 200 millones de hectáreas de maíz y es producido en varios países del mundo (Lopez-Ridaura et al., 2021). En particular, el policultivo de maíz asociado con frijol (*Phaseolus vulgaris*) u otros cultivos, como calabaza, chile, tomate, papa, entre otros, ha sido utilizado extensamente en la agricultura por miles de años en el área de Mesoamérica. Esta asociación de cultivos es conocida como “milpa”. (Lopez-Ridaura et al., 2021). Desde la Revolución Verde (1940-1970), con el uso de fertilizantes, herbicidas, híbridos y mecanización, maíz y frijol pasaron a producirse en monocultivo, lo que provocó degradación del suelo y dependencia de insumos externos (Aguilar-Jimenez et al., 2019). Estudios recientes han reportado que los exudados de raíz del maíz pueden promover la fijación de nitrógeno cuando se encuentran cultivados junto con leguminosas. Los exudados de maíz promueven la síntesis de flavonoides en frijol e incrementan la formación de nódulos en las raíces mediante la inducción de la transcripción de genes importantes para ambos procesos (Hu et al., 2021). La deficiencia de hierro limita la síntesis de clorofila y fotosíntesis. Para absorberlo, las plantas usan dos estrategias: reducción (I, en no gramíneas) y quelación (II, en gramíneas), destacando el caso del maíz que posee genes de ambas estrategias en su genoma. (Liu et al., 2021). Las leguminosas fijan nitrógeno mediante nódulos en sus raíces formados por bacterias



rizosféricas. Este proceso depende del hierro, cuya deficiencia reduce la fijación y el desarrollo de nódulos (Liu et al., 2023) y por tanto son igualmente importantes los mecanismos de absorción de Fe que el maíz dispone.

### Materiales y métodos

En este estudio se utilizaron las variedades de maíz nativo “Breve San Juan” (BSJ) y “8 Carreras” (8C) y la variedad de frijol “Yorimuni”, materiales que son usados por comunidades en sistema milpa del norte de Sinaloa. Se utilizó suelo recolectado de la comunidad llamada El Veranito, del municipio de Sinaloa, siendo este un suelo del tipo franco arenoso con deficiencias de  $\text{NO}_3$  (10 ppm), P (8 ppm) y Fe (6 ppm).

Se estableció un bioensayo en macetas de 4L, con el suelo recolectado en El Veranito en una proporción 3:1 con perlita, dentro de invernadero sin esterilizar, con un diseño factorial con cuatro factores y dos niveles, para el estudio por variedad (BSJ vs 8C) y por factor: sistema de cultivo (monocultivo vs milpa) y niveles de hierro disponible (óptimo = 20 ppm vs deficiente = 6 ppm), teniendo como variable de respuesta la biomasa y contenido de hierro de las plantas de maíz utilizadas en el estudio. Se tomó muestra del tejido foliar y de raíz a los 15 y 55 días después de haber iniciado el bioensayo, la muestra fue congelada y almacenada hasta el día de su uso. La cuantificación hierro (Fe) se determinó mediante el método de BPDS de acuerdo con (Gautam, 2022). La disponibilidad de hierro fue ajustada mediante el uso de hierro quelatado en el riego, el riego se realizó cada 5 días. Las plantas utilizadas en este bioensayo fueron germinadas en semilleros una semana antes de iniciar el experimento.

### Resultados

Se estableció un bioensayo con las variedades de maíz “Breve San Juan” y “8 Carreras”, en monocultivo y policultivo con el frijol “Yorimuni” (*Phaseolus acutifolius*). Al finalizar el bioensayo, no se observaron síntomas de toxicidad por hierro, pero si se notó la presencia de signos de deficiencia de fósforo (figuras 1 y 2).

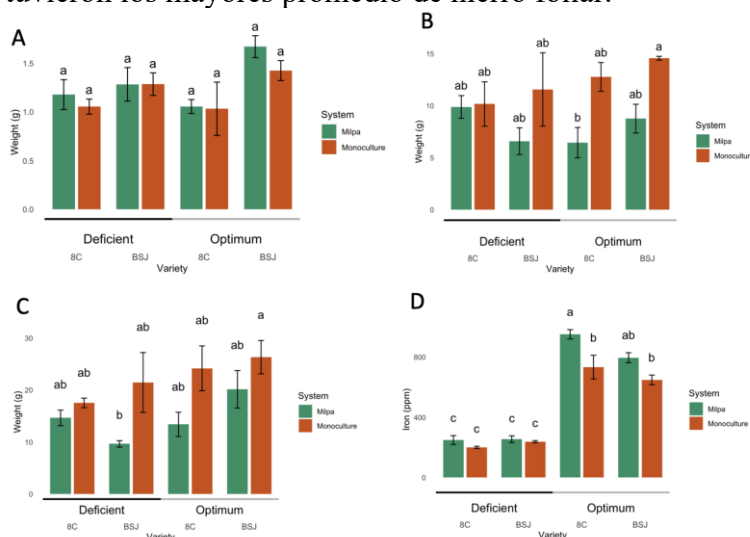


**Figura 1.** Macetas de maíz “Breve San Juan” después de 55 días de iniciar el bioensayo. De izquierda a derecha: Maceta de monocultivo con hierro óptimo; maceta de milpa con hierro óptimo; maceta de monocultivo con hierro deficiente; maceta de milpa con hierro deficiente.



**Figura 2.** Macetas de maíz “8 Carreras” después de 55 días de iniciar el bioensayo. De izquierda a derecha: Maceta de monocultivo con hierro óptimo; maceta de milpa con hierro óptimo; maceta de monocultivo con hierro deficiente; maceta de milpa con hierro deficiente. Transcurridos 15 días del inicio del bioensayo, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a la variedad de maíz en el peso seco de la parte aérea de la planta, siendo

la variedad BSJ la que presenta los mayores valores (Panel A). Al finalizar el bioensayo (55 días) se encontraron diferencias significativas en el peso foliar seco con respecto al sistema de cultivo (Panel B). Se encontró diferencia significativa en el peso seco radicular de la planta, con respecto a la disponibilidad de hierro y el sistema de cultivo (Panel C). Tanto el monocultivo como la condición de hierro óptimo, tuvieron los promedios más altos. En la concentración de hierro foliar se encontró diferencia significativa con respecto al sistema de cultivo y la disponibilidad de hierro (Panel D). El sistema de cultivo milpa y el la disponibilidad de hierro óptimo tuvieron los mayores promedio de hierro foliar.



**Figura 3. A)** Peso seco foliar a los 15 días **B)** Peso foliar seco a los 55 días **C)** Peso radicular seco a los 55 días **D)** Hierro foliar a los 55 días

## Discusión

De acuerdo con (Brooker et al., 2015), quienes mencionan que las interacciones en el sistema milpa maíz-frijol pueden cambiar a lo largo del ciclo de cultivo, pero, la tendencia es que estas interacciones se hagan visibles en etapas de desarrollo intermedias o tardías; es que se explica que a los 15 días de haber iniciado el cultivo, las diferencias encontradas estén relacionadas con la variedad de maíz y no con el sistema de cultivo.

El frijol *Yorimuni* (*Phaseolus acutifolius*), adaptado a zonas áridas del noroeste de México y sur de EE. UU., es resistente a la sequía y presenta un desarrollo temprano lento pero eficiente (Nong et al., 2025). Dado que en frijol común la nodulación se considera tardía si ocurre hasta los 40 días después de la germinación (Athul et al., 2022) puede inferirse que en el *Yorimuni* aún no habría efecto sobre el desarrollo de la raíz de maíz dentro de los primeros 15 días del bioensayo.

Las diferencias en el peso seco de raíz de maíz entre monocultivo y milpa pueden explicarse por lo reportado por (Sun et al., 2020), quienes observaron que plántulas de maíz desarrolladas en ambientes con deficiencia de nitrógeno, como el suelo que fue empleado en el bioensayo, incrementan el crecimiento radicular vía auxinas, logrando raíces hasta una tercera parte más grandes que en condiciones óptimas, en apenas nueve días de bioensayo.

## Conclusiones

Existen diferencias significativas en etapas intermedias del desarrollo de maíz nativo según el sistema de cultivo, la disponibilidad de hierro y la variedad. En general, el monocultivo presentó mayor peso foliar y radicular, mientras que los tejidos tendieron a acumular más hierro, con diferencias marcadas entre sistemas. La disponibilidad de hierro influye en el



desarrollo vegetativo, por lo que el aumento en la absorción del mismo por parte del sistema milpa representa una ventaja para el desarrollo de las plantas cultivadas en este sistema.

### Agradecimientos

Al c. Martin Sagaste y a los productores rurales que han participado en el proyecto.

### Referencias bibliográficas

- Aguilar-Jimenez, C., Galdamez-Gadamez, J., Martinez-Aguilar, F., Guevara-Hernandez, F., Vazquez-Solis, H., & Llaven-Martinez, J. (2019). Eficiencia del policultivo maíz-frijol-calabaza bajo manejo orgánico en la frailesca, chiapas, México. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(3), 64–72.
- Athul, P. P., Patra, R. K., Sethi, D., Panda, N., Mukhi, S. K., Padhan, K., Sahoo, S. K., Sahoo, T. R., Mangaraj, S., Pradhan, S. R., & Pattanayak, S. K. (2022). Efficient native strains of rhizobia improved nodulation and productivity of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under rainfed condition. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1048696>
- Brooker, R. W., Bennett, A. E., Cong, W., Daniell, T. J., George, T. S., Hallett, P. D., Hawes, C., Iannetta, P. P. M., Jones, H. G., Karley, A. J., Li, L., McKenzie, B. M., Pakeman, R. J., Paterson, E., Schöb, C., Shen, J., Squire, G., Watson, C. A., Zhang, C., ... White, P. J. (2015). Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytologist*, 206(1), 107–117. <https://doi.org/10.1111/nph.13132>
- Gautam, C. K. (2022). A Quick Method to Quantify Iron in Arabidopsis Seedlings. *Bio-Protocol*, 12(05), e4342. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.4342>
- Hu, H. Y., Li, H., Hao, M. M., Ren, Y. N., Zhang, M. K., Liu, R. Y., Zhang, Y., Li, G., Chen, J. S., Ning, T. Y., & Kuzyakov, Y. (2021). Nitrogen fixation and crop productivity enhancements co-driven by intercrop root exudates and key rhizosphere bacteria. *Journal of Applied Ecology*, 58(10), 2243–2255. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13964>
- Liu, Y., Kong, D., Wu, H.-L., & Ling, H.-Q. (2021). Iron in plant–pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany*, 72(6), 2114–2124. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa516>
- Liu, Y., Xiong, Z., Wu, W., Ling, H.-Q., & Kong, D. (2023). Iron in the Symbiosis of Plants and Microorganisms. *Plants*, 12(10), 1958. <https://doi.org/10.3390/plants12101958>
- Lopez-Ridaura, S., Barba-Escoto, L., Reyna-Ramirez, C. A., Sum, C., Palacios-Rojas, N., & Gerard, B. (2021). Maize intercropping in the milpa system. Diversity, extent and importance for nutritional security in the Western Highlands of Guatemala. *Scientific Reports*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82784-2>
- Nong, R. A., Gerrano, A. S., & Gwata, E. T. (2025). Impact of soil moisture stress on growth and physiological traits of tepary bean genotypes. *Journal of Underutilised Crops Research*, 4(1). <https://doi.org/10.4102/jucr.v4i1.26>
- Sun, X., Chen, H., Wang, P., Chen, F., Yuan, L., & Mi, G. (2020). Low nitrogen induces root elongation via auxin-induced acid growth and auxin-regulated target of rapamycin (TOR) pathway in maize. *Journal of Plant Physiology*, 254, 153281. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153281>

## RESISTENCIA A INSECTICIDAS Y CONTROL BIOTECNOLÓGICO DE *Aedes aegypti* EN CIUDAD JUÁREZ, CHIHUAHUA.

Erick De Jesús De Luna Santillana<sup>1</sup> María Berenice González Maldonado<sup>2</sup> Miguel Angel Reyes López,<sup>3</sup> Karina Janet Juárez Rendón<sup>4</sup> Angel Gustavo Reyes Moya<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>IPN, Blvd del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamps., <sup>2</sup>IPN, Sigma 119, 20 de Noviembre II, 34220 Durango, Dgo.

\*agustavo.rm@gmail.com

### Resumen

Las poblaciones de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) en ciudad Juárez, han sido combatidas mediante insecticidas. Resulta fundamental evaluar si dichas poblaciones han desarrollado resistencia a los compuestos empleados y explorar alternativas biotecnológicas sostenibles para contrarrestarla. El objetivo de este estudio es identificar los mecanismos genéticos y microbiológicos que permiten al mosquito evadir los efectos de los insecticidas así como proponer nuevas estrategias de control. Para ello se realizarán bioensayos, análisis moleculares y de microbioma con el fin de detectar cambios en la expresión génica y asociaciones con microorganismos que influyan en la resistencia. Se contempla además el uso de herramientas como RNAi para inhibir la producción de proteínas blanco. Estos hallazgos permitirán diseñar estrategias de control éticas, eficaces y ambientalmente responsables. El conocimiento generado contribuirá tanto en el ámbito académico como a la salud pública en Ciudad Juárez y en otras regiones afectadas por brotes de arbovirosis.

**Palabras clave:** *Ae. aegypti*, Resistencia, Microbioma, Bioensayo, Arbovirus

### Introducción

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector de enfermedades como dengue, zika, chikungunya y fiebre amarilla lo que representan una amenaza creciente para la salud pública en regiones tropicales y subtropicales (OMS 2023) En las últimas décadas, su incidencia ha aumentado en regiones urbanas del norte de México, incluyendo Ciudad Juárez Chihuahua, debido a su ubicación fronteriza y las condiciones climáticas propicias para la presencia y desarrollo de este vector. Esta situación plantea un desafío para los métodos de control aplicados, particularmente ante la creciente evidencia del desarrollo resistencia a insecticidas (De la Mora-Covarrubias et al. 2010; Villarreal-Treviño y Yepes-Blandón 2015). Esta resistencia se ha vinculado a mutaciones *kdr*, alteraciones en la acetilcolinesterasa y sobreexpresión de enzimas detoxificadoras como esterasas, citocromo P450 y glutathione S-transferasa (Liu 2015). Por su parte, se ha documentado que el bacterioma y bioma de *Ae. aegypti* desempeñan un papel fundamental en la modulación de su competencia vectorial y en la respuesta a insecticidas, lo que abre nuevas posibilidades para los programas de control (Bolling et al. 2015). En México y particularmente en ciudad Juárez persiste un vacío de información acerca de cómo los microorganismos interactúan con los mecanismos de resistencia a insecticidas en las poblaciones locales de *Ae. aegypti*, así como de la manera en que estos pueden ser aprovechados como una alternativa viable para el control poblacional mediante herramientas biotecnológicas.

## Materiales y métodos

Los huevecillos de *Aedes aegypti* serán colectados utilizando ovitrampas en colonias seleccionadas de Ciudad Juárez, Chihuahua, previamente por personal del programa de vectores del estado de chihuahua región 2, y posteriormente criados en condiciones de laboratorio en la Unidad de Investigación Entomológica del Estado de Chihuahua (UIEB). Este procedimiento seguirá los protocolos establecidos para las UIEB por el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE, 2018) descritos en la *Guía Metodológica para la Instalación y Mantenimiento del Insectario* con el fin de obtener huevecillos F1. Se realizarán bioensayos de susceptibilidad y resistencia en botellas de acuerdo con el protocolo del centro para el control y prevención de enfermedades (CDC, 2024) empleando insecticidas de tres clases: piretroides (deltametrina, cipermerina, permetrina), carbamatos (propoxur y bendiocarb) y organofosforados (malation y primifos metil). Se utilizará una botella control y cuatro repeticiones de prueba con 25 mosquitos cada una. Los datos serán registrados en una base de datos, se calcularán los porcentajes de mortalidad y los bioensayos se analizarán mediante tablas de contingencia entre repeticiones por insecticida y colonia, a fin de determinar la consistencia en los resultados.

Utilizando concentraciones diagnosticas recomendadas por el CDC. Se determinará la expresión de genes detoxificadores realizando el bioensayo de botellas antes descrito con dosis subletales previamente validadas a partir de 20 mosquitos de la población de ciudad Juárez y 10 de la cepa susceptible New Orleans para cada insecticida, se realizará la extracción de ARN total con el kit RNeasy Mini de Qiagen siguiendo las instrucciones del fabricante. Se llevará a cabo la secuenciación de transcriptoma (RNA-Seq) para identificar genes diferencialmente expresados, incluyendo CCEae3a, CCEae6a, Est $\alpha$ 2, Est $\beta$ 2 CYP9J32, CYP9J24, CYP9J26, CYP9M9, CYP6Z6, CYP6Z8 GSTe2, GSTe2, GSTe7, GSTd1, GSTx2 entre otros. El análisis bioinformático se llevará a cabo con Galaxy y DESeq2, considerando un valor de  $p < 0.05$  y  $\log_2FC \geq 1$  como criterios de significancia.

Para validar el papel funcional de genes candidatos, es decir diferencialmente expresados se aplicarán técnicas de silenciamiento génico mediante micro inyección de ARN de interferencia (RNAi) en hembras adultas siguiendo el protocolo de Isoe y cols (2007). La eficiencia del silenciamiento será evaluada por RT-qPCR, permitiendo la comparación de la expresión génica entre grupos tratados y no tratados utilizando una prueba t de student o U de Man-Wihtney dependido de la distribución de los datos. Se realizarán pruebas de bioensayo con los mosquitos tratados para determinar si existe aumento en la susceptibilidad de los mismos.

En paralelo se llevará a cabo la caracterización del microbioma utilizando el método de meta genómica “Shotgun” utilizando el kit de extracción DNA/RNA purification kit de DANAGEN siguiendo las instrucciones del fabricante para su posterior secuenciación Illumina MISeq, La secuencias serán analizadas QIIME2 y Kraken2 para determinar la composición microbiana y su posible asociación a resistencia en la población de mosquitos de Ciudad Juárez Chihuahua.

## Resultados

Se espera identificar niveles variables de resistencia a insecticidas en las poblaciones de *Aedes aegypti* de ciudad Juárez con una posible sobreexpresión de genes detoxificadores en respuesta a la exposición subletal a piretroides, carbamatos y organofosforados. Mediante el análisis transcriptómico se espera detectar diferencias significativas en la expresión génica entre mosquitos expuestos y controles de la cepa susceptible. Así mismo se anticipa que el análisis metagenómico del bacterioma, viroma y micobioma revele asociaciones entre microorganismos simbioses y la resistencia conferida a insecticidas en las poblaciones locales.

Finalmente el silenciamiento de genes de resistencia mediante RNAi permitirá evaluar el impacto directo sobre la susceptibilidad de los mosquitos, lo que facilitara el diseño de estrategias biotecnológicas de control.

**Tabla I.** Proyección de datos esperados en el análisis molecular y funcional de resistencia en *Aedes aegypti*.

Técnica aplicada	Tipo de indicador	Unidad / Métrica
Diagnóstico de resistencia	Clasificación según umbral OMS	Mortalidad < 90% indica resistencia; 90–97% posible resistencia; > 98% susceptible
RNA-Seq	Genes diferencialmente expresados	Número de genes
RT-qPCR	Validación de expresión en genes clave	$\Delta C_t$ entre grupos tratados y controles
Metagenómica bacteriana	Dominancia de simbiontes asociados a resistencia	% de abundancia relativa
Metagenómica fúngica	Dominancia de simbiontes asociados a resistencia	% de abundancia relativa
Meta genómica viral	Presencia de viromas con posible implicación funcional	Número de especies virales detectadas
RNAi	Reducción de expresión génica tras silenciamiento	% de inhibición (RT-qPCR)
Bioensayos post-silenciamiento	Aumento de susceptibilidad en mosquitos tratados	% de mortalidad comparativa

Principales indicadores cuantitativos esperados, estos datos permitirán dilucidar mecanismos moleculares implicados en la resistencia a insecticidas y la validación de su impacto funcional.

## Conclusiones

El presente estudio propone una estrategia integral para caracterizar la resistencia a insecticidas en poblaciones de *Ae. aegypti* de Ciudad Juárez Chihuahua. A través de análisis de resistencia, perfil microbiológico expresión génica, para la identificación de genes clave y la validación funcional mediante silenciamiento selectivo e identificación de microorganismos implicados en dicha resistencia. Permitiendo una aproximación a las necesidades de control de poblaciones de mosquitos adaptadas al contexto local.

## Agradecimientos

Al Dr. Dr. Erick de Jesús De Luna Santillana y a la Dra. María Berenice González por su apoyo incondicional como directores del proyecto. A SECIHTI por el financiamiento otorgado, a BEIFI por el apoyo económico suplementario y al programa de vectores del estado de chihuahua por su contribución con el material biológico.

## Referencias bibliográficas

Bolling B.G, Weaver SC, Tesh R.B, Vasilakis N (2015) Insect-Specific Virus Discovery: Significance for the Arbovirus Community. *Viruses*. Sep 10;7(9):4911-28.

Centro Nacional de Programas Preventivos y control de enfermedades (CENAPRECE) (2018) Guía Metodológica para la Instalación y Mantenimiento del Insectario [online] Disponible en: [chromeextension://efaidnbmninnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/598095/Guia\\_Metodologica\\_para\\_la\\_Instalacion\\_y\\_Mantenimiento\\_del\\_Insectario\\_compressed.pdf](chromeextension://efaidnbmninnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/598095/Guia_Metodologica_para_la_Instalacion_y_Mantenimiento_del_Insectario_compressed.pdf) [Fecha de revisión 4 Septiembre 2025].

Centro para el control y prevención de enfermedades (CDC) (2024) Manual CONUS para evaluar la resistencia a los insecticidas en mosquitos del mediante el uso del kit para el ensayo biológico de la botella de los CDC [online] Disponible en: <https://www.cdc.gov/mosquitoes/es/php/toolkit/bioensayo-de-botella-de-los-cdc.html> [Fecha de revisión 28 Agosto 2025].

De la Mora-Covarrubias A, Jiménez-Vega F, Treviño-Aguilar S.M (2010). Distribución geoespacial y detección del virus del dengue en mosquitos *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Salud Pública de México*, 52(2), 127-133.

Isoe J, Kunz S, Manhart C, Wells M.A, Miesfeld R.L (2007), Regulated expression of microinjected DNA in adult *Aedes aegypti* mosquitoes. *Insect Molecular Biology*, 16: 83-92.

Liu, N. (2015). Insecticide resistance in mosquitoes: Impact, mechanisms, and research directions. *Annual Review of Entomology* 60:537-559.

Organización mundial de la salud (2023) Dengue-Situación mundial [online] Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498> [Fecha de revisión 25 Agosto 2025].

Villarreal R. G y Yepes-Blandón, J. A (2023). Caracterización genética del genoma completo de una cepa del virus Chikungunya circulante en Brasil. *Orinoquia*, 27(2), e-789.



## CARACTERÍSTICAS GENERALES DE HARINAS DE CHAPULINES (*Sphenarium* spp.) ALIMENTADOS CON MAÍZ

Saúl Reyes Farfán<sup>1\*</sup>, Silvia Luna Suárez<sup>1</sup>, Marlon Rojas López<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal, Km 1.5, 90700 Santa Inés Tecuexcomac, Tlax.

\*sreyesf1901@alumno.ipn.mx

### Resumen

El presente trabajo aborda de manera general las características nutricionales y nutraceuticas de chapulines (*Sphenarium* spp.) recolectados en Tlaxcala durante 2023 alimentados con maíz. La entomofagia se perfila como una alternativa sostenible de producción alimentaria, destacando los chapulines por su alto contenido de proteínas y compuestos funcionales. A partir de las muestras recolectadas se elaboró harina de chapulín, resaltando su potencial para ser utilizada en aplicaciones de la industria alimentaria y biotecnológica. Este estudio enfatiza la importancia de los chapulines como ingrediente funcional con perspectivas de desarrollo sostenible.

**Palabras clave:** Chapulines, propiedades nutraceuticas, maíz, proteína.

### Introducción

El consumo de insectos comestibles, conocido como entomofagia, ha sido practicado desde tiempos ancestrales en diversas culturas y actualmente es reconocido como una alternativa viable para enfrentar los desafíos de la seguridad alimentaria global (Van Huis et al., 2013). La FAO ha resaltado la importancia de los insectos por su eficiencia en la conversión alimenticia y su bajo impacto ambiental en comparación con la ganadería tradicional, requiriendo menos agua, espacio y alimento (Rumpold & Schlüter, 2013). En México, el consumo de chapulines (*Sphenarium spp*) constituye una tradición cultural en estados como Oaxaca, Puebla y Tlaxcala, donde son considerados no solo un alimento ancestral, sino también un recurso económico y gastronómico de gran relevancia (Ramos-Elorduy, 2009). Su composición incluye proteínas de alta calidad, ácidos grasos poliinsaturados, fibra derivada de la quitina y minerales esenciales, lo que los convierte en candidatos idóneos para el desarrollo de ingredientes funcionales y nutraceuticos (Zielińska et al., 2018; Batish et al., 2020). Diversos estudios han demostrado que factores como la dieta y el ambiente influyen en la composición química y propiedades funcionales de los chapulines (Reyes-Herrera et al., 2022). Sin embargo, se requiere mayor información sobre la caracterización de lotes recolectados en condiciones naturales, que permita generar bases para su estandarización en cadenas productivas alimentarias.

El presente trabajo tiene como objetivo describir de forma general las características nutricionales y funcionales de tres lotes de chapulines recolectados en Tlaxcala durante 2023, destacando tendencias comunes en su composición y potencial aplicación industrial.

### Materiales y métodos

Se recolectaron tres lotes de chapulines (*Sphenarium* spp.) durante la temporada de 2023 en Tlaxcala, denominados como: A, B y C. Los ejemplares fueron seleccionados en etapa adulta, transportados en condiciones controladas y procesados en el laboratorio del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN).



Preparación de las muestras: Los chapulines fueron lavados con agua destilada para eliminar impurezas. Posteriormente, se sometieron a un tratamiento térmico en agua hirviendo durante 10 minutos para asegurar la inocuidad. El secado se realizó en estufa a 60 °C por 24 horas. Finalmente, se molieron hasta obtener una harina con tamaño de partícula de 0.420 mm. Análisis de composición proximal: Humedad: AOAC 950.46. Proteína: digestión Kjeldahl (AOAC 945.01). Lípidos: extracción Soxhlet (AOAC 920.39). Cenizas: AOAC 923.03. Fibra cruda: AOAC 962.09. Las pruebas se realizaron por triplicado en cada lote y los resultados se analizaron de manera comparativa y descriptiva.

## Resultados

El análisis proximal de las harinas de chapulín (*Sphenarium spp.*) obtenidas de los tres lotes recolectados en Tlaxcala durante 2023 mostró una variabilidad moderada entre ellos. El contenido de proteína osciló entre 32.94 y 45.65%, siendo el lote A el que presentó el valor más elevado. En cuanto a lípidos, los lotes se mantuvieron en un rango de 10.76 a 12.58%, mientras que los carbohidratos fluctuaron entre 28.01 y 35.78%. La fracción mineral (cenizas) alcanzó valores de 2.22 a 5.35%, y la fibra se mantuvo estable alrededor de 12%. La humedad fue baja en todos los casos (<3%), lo que favorece la conservación de las harinas, mientras que el rendimiento varió de 25.3 a 32.1%, siendo el lote B el de mayor aprovechamiento.

**Tabla 1.** Análisis químico proximal de harina de chapulín (*Sphenarium spp* A, B y C) adulto.

Variable de respuesta	A	B	C
Proteína (%)	45.65 ± 1.58 A	32.94 ± 1.71 B	34.33 ± 0.37 B
Grasa (%)	11.35 ± 0.53 B	12.58 ± 0.32 A	10.76 ± 0.59 B
Carbohidratos (%)	35.78 ± 9.53 A	28.01 ± 3.23 A	35.22 ± 4.33 A
Cenizas (%)	2.22 ± 0.28 B	5.05 ± 0.71 A	5.35 ± 13 A
Fibra (%)	12.29 ± 0.40 A	11.60 ± 0.78 A	12.58 ± 0.08 A
Humedad (%)	2.11 ± 0.40 A	0.92 ± 0.08 B	1.49 ± 0.42 AB
Rendimiento (%)	25.53	32.08	25.33

Todos los valores son promedio ± DE por triplicado. Las letras A, B y C en las filas indican diferencia estadísticamente significativa basado en una prueba de Tukey (p-valor < 0.05)

## Discusión

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en estudios previos, donde los chapulines presentan un alto contenido proteico, variable según la dieta y las condiciones ambientales (Ramos-Elorduy, 2009; Reyes-Herrera et al., 2022). El valor superior de proteína en el lote A puede relacionarse con diferencias en la disponibilidad de nutrientes en los sitios de recolección, lo que confirma que la composición puede estar influida por factores ecológicos (Zielińska et al., 2018). El contenido de lípidos, que se mantuvo entre 10 y 13%, coincide con lo descrito en otros ortópteros, destacando la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de interés nutracéutico (Batish et al., 2020). La fibra cercana al 12% corresponde principalmente a quitina, componente que, además de su valor funcional, puede contribuir a efectos prebióticos en la dieta humana (Mark, 2007).

La fracción mineral (2–5%) resalta la presencia de calcio, fósforo y hierro, lo que posiciona a las harinas de chapulín como un suplemento potencial frente a deficiencias nutricionales comunes en comunidades rurales (Rumpold & Schlüter, 2013). En términos tecnológicos, el bajo contenido de humedad (<3%) favorece la estabilidad y vida de anaquel del producto. El rendimiento cercano al 30% en promedio refuerza su viabilidad como materia prima para la industria alimentaria, aunque la variación entre lotes evidencia la necesidad de estandarizar procesos de recolección y procesamiento.

## Conclusiones

Las harinas elaboradas a partir de tres lotes de chapulines recolectados en Tlaxcala durante 2023 presentan un perfil nutricional competitivo, caracterizado por un elevado contenido proteico y una fracción lipídica y de fibra de interés nutracéutico. Las diferencias observadas entre lotes reflejan la influencia de factores ambientales y de manejo, pero no comprometen la consistencia general del producto. Estos hallazgos refuerzan el potencial de los chapulines como recurso biotecnológico y fuente sostenible de proteína para la industria alimentaria. Asimismo, su bajo contenido de humedad y rendimiento adecuado favorecen su procesamiento y conservación. En conjunto, los resultados respaldan la incorporación de harinas de chapulín en productos innovadores que respondan a la demanda de alimentos funcionales y sostenibles.

## Agradecimientos

Agradezco al Instituto Politécnico Nacional y al Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada por el apoyo brindado durante el desarrollo de esta tesis. También agradezco a mi directora de tesis, Dra. Silvia Luna Suárez, por su guía y asesoramiento durante todo el proceso.

## Referencias bibliográficas

- Batish, D. R., et al. (2020). Proteins of edible insects: Extraction, properties, and their potential applications in food products. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.002>
- Mark, D. (2007). Estimation of chitin in raw whole insects. *Zoology*, 115, 105–115. <https://doi.org/10.1002/zoo>
- Ramos-Elorduy, J. (2009). Los insectos comestibles en México. *Revista de Biología Tropical*, 57(2), 105–121.
- Reyes-Herrera, A., et al. (2022). Changes in the chemical composition of edible grasshoppers (*Sphenarium purpurascens*) fed exclusively with soy sprouts or maize leaves. *Insects*, 13(6), 1–12. <https://doi.org/10.3390/insects13060510>
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 802–823. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>
- Van Huis, A., et al. (2013). Edible insects: Future prospects for food and feed security. *FAO*. <https://doi.org/10.1093/jrr/rru048>
- Yi, L., et al. (2013). Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141(4), 3341–3348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.115>
- Zielińska, E., et al. (2018). Functional properties of edible insects and protein preparations derived from them. *LWT - Food Science and Technology*, 91, 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.05>

## DESARROLLO DE MICROENCAPSULADOS PARA LA ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD SIMILAR A LA INSULINA PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2.

Arantxa Roa Tort<sup>1\*</sup>, Guillermo Ismael Osorio Revilla<sup>1</sup>, Ofelia Gabriela Meza Márquez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional-Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Av. Wilfrido Massieu 399, Col. Nueva Industrial Vallejo, C.P. 07738 Alcaldía Gustavo A. Madero CDMX. México.

[\\*arantxa.roatort@gmail.com](mailto:*arantxa.roatort@gmail.com)

### Resumen

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica y un problema a nivel mundial, el tratamiento consiste en administración de insulina o fármacos hipoglucemiantes que a largo plazo pueden tener efectos secundarios en los pacientes. Se ha descubierto que algunos péptidos, flavonoides y medicamentos confieren un efecto en la activación del receptor de insulina (INSR) y la inhibición de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) que reduciría los niveles glucémicos. El objetivo de este trabajo es realizar el acoplamiento molecular de crisina, oxitocina y piroxicam en el INSR y DPP-4 para la administración por vía oral de compuestos para el tratamiento de la diabetes tipo 2. En el presente trabajo se hizo inicialmente una simulación *in silico* de acoplamiento molecular de los compuestos anteriormente mencionados, para evaluar la afinidad de éstos en el INSR y DPP-4 comparado con la insulina y sitagliptina respectivamente. Se obtuvo como resultados la energía libre de enlace entre ligandos y receptores, observando la estabilidad de los compuestos en el sitio activo de las proteínas. Los resultados muestran que los compuestos pueden actuar de manera similar a la insulina y sitagliptina como hipoglucemiantes. Se realizará la comprobación experimental del acoplamiento de los compuestos mencionados para proceder a su microencapsulación.

**Palabras clave:** Receptor de insulina; enzima dipeptidil peptidasa-4; oxitocina; crisina; piroxicam.

### Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) es una afección de largo plazo (crónica) que ocurre cuando los niveles de glucosa en la sangre de una persona son altos debido a dos razones principalmente: el cuerpo no produce la cantidad suficiente de insulina (diabetes tipo 1) o no puede utilizar de manera eficaz la insulina que produce (diabetes tipo 2). La Federación Internacional de Diabetes informó que en el 2024 hubo 588.7 millones de adultos que fueron diagnosticados con diabetes. El tratamiento principal de la DM es la administración de fármacos hipoglucemiantes orales o insulina por vía parenteral para el control glucémico lo más próximo a la normalidad para evitar el riesgo de complicaciones y que el paciente tenga una buena calidad de vida (IDF, 2025).

Entre las opciones de tratamiento se incluyen fármacos orales como la sitagliptina, que inhibe específicamente a la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4). Al ser inhibida, se estimula la secreción de insulina tras la ingesta de alimentos y ayuda en la reducción de los niveles de glucosa en sangre. Por otra parte, la activación del receptor de insulina (INSR) desencadena una cascada de señalización que concluye en la traslocación de la proteína transportadora de glucosa, sensible a la insulina (GLUT-4) responsable de la captación de glucosa en las células (Mendivil y Sierra, 2005; Seguí, 2018). En estudios realizados *in silico* se ha descubierto que

la estructura de algunos péptidos, flavonoides y medicamentos confieren un efecto tanto sobre el INSR de las células otorgando un efecto similar a la insulina como en la inhibición de la DPP-4 confiriendo un efecto hipoglucemiante (Kalhotra et al., 2018; Chittepu et al. 2019). Estas investigaciones *in silico*, o de simulación computacional, facilitan la identificación de fragmentos aminoacídicos a partir de métodos que se fundamentan en simulaciones de docking molecular. El desarrollo de estudios *in silico* es esencial para la identificación de compuestos moleculares que posteriormente puedan ser comprobados y validados en organismos vivos. El objetivo de este trabajo es realizar el acoplamiento molecular del flavonoide crisina, el péptido oxitocina y el antiinflamatorio no esteroideo (AINE) piroxicam en el INSR y DPP-4 para la administración por vía oral de compuestos para el tratamiento de la diabetes reduciendo los efectos secundarios.

## Materiales y métodos

Acoplamiento de compuestos al INSR y a la enzima DPP-4. Las estructuras tridimensionales del INSR, la insulina, la enzima DPP-4 y la oxitocina se obtuvieron del banco de datos de proteínas (Protein Data Bank); las estructuras de los compuestos crisina, piroxicam y sitagliptina se obtuvieron de la base de datos de fármacos (DrugBank) y posteriormente se realizaron ajustes de las estructuras con el Software PyMOL y Python Molecular Viewer (PMV). Para realizar simulaciones de acoplamiento molecular se utilizó el algoritmo proporcionado por el software AutoDock Vina, se eligió el sitio de unión donde el péptido insulina se une al INSR y el compuesto sitagliptina a la DPP-4. Se generaron nueve “poses” para cada uno de los compuestos y como resultado se obtuvieron sus afinidades de unión representadas como energía libre de enlace (kcal/mol). Todas las posiciones de acoplamiento se visualizaron utilizando el Software PyMOL.

## Resultados

El análisis de las posiciones de unión de los compuestos y de las referencias con el INSR y la enzima DPP-4 indican que la crisina, oxitocina y el piroxicam pueden activar al INSR y participar en la vía de señalización, asimismo, inhibir la enzima DPP-4, presentando una energía libre de enlace similar a la obtenida con la insulina y sitagliptina para INSR y DPP-4 respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Energía libre de enlace de la unión entre los ligandos y los receptores.

Compuesto	Energía libre de enlace para INSR (kcal/mol)	Energía libre de enlace para DPP-4 (kcal/mol)
Insulina	-6.011	-
Sitagliptina	-	-9.361
Oxitocina	-7.176	-9.362
Piroxicam	-6.709	-8.660
Crisina	-6.902	-7.902

Los compuestos analizados (crisina, oxitocina y piroxicam) se unen a los residuos que pertenecen al sitio activo del INSR, (Asp 12, Tyr 60, Phe 64, Glu 97, His 108 Asn 711, Val 712, Phe 714, Val 715 y Pro 716) y de la enzima DPP-4 (Arg 125, Glu 206, Tyr 547, Ser 630, Val 656, Tyr 662 y Asn 710).

## Discusión

La porción extracelular del INSR  $\alpha$  y  $\beta$  contiene un segmento carboxiterminal de la cadena  $\alpha$  ( $\alpha$ CT) que se ensambla al dominio L1 y juntos forman el sitio de unión principal de la

insulina. Los estudios del dominio L1 del INSR indican que las cadenas laterales de residuos forman dos epítomos funcionales, el primero de éstos está compuesto por Asp 12, Arg 14 y Asn 15; Gln 34, Leu 36 y Leu 37; Phe 64; Val 94, Glu 97; Glu 120 y Lys 121, siendo los aminoácidos que proporcionan la mayor parte de la energía libre de unión la Arg 14, Asn 15 y Phe 64. El segundo epítomo está conformado por los aminoácidos 704-715 correspondientes al segmento  $\alpha$ CT, que son esenciales en el sitio de unión de la insulina. Los modelos sugieren que los dos residuos más críticos del acoplamiento de la insulina en  $\alpha$ CT son His 710 y Phe 714 (Menting *et al.*, 2013; Choi y Bai, 2023).

Comparando con lo obtenido en los resultados del presente trabajo, cada uno de los compuestos analizados se enlazan en el segundo epítomo  $\alpha$ CT (711-716) y uno de los aminoácidos importantes del dominio L1 (Phe 64). Estos resultados *in silico* concuerdan con lo reportado por Chittepudi *et al.* (2019), sin embargo, obtuvieron una energía libre menor (-1.673 kcal/mol y -0.93 kcal/mol) a la obtenida en este trabajo (-7.176 kcal/mol y -6.709 kcal/mol) para el acoplamiento de la oxitocina y el piroxicam al INSR respectivamente. Estas diferencias pueden deberse a los algoritmos de los distintos Software utilizados o al tratamiento que se le da al receptor y a los ligandos (Wang *et al.*, 2016). Por otro lado, al momento no existen reportes del acoplamiento molecular entre el INSR y el compuesto crisina para comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En el caso de la enzima DPP-4, como reporta Ashraf *et al.* (2021) esta enzima posee Ser 630, Asp 708, His 740, Gly 629, Gly 633, Tyr 631, Glu 205 y Glu 206 como residuos de aminoácidos importantes en sus sitios activos. En general, tres aminoácidos, Ser 630, Asp 708 e His 740, se conocen como la tríada catalítica principal y se consideran el principal residuo interactivo en la DPP-4 para su inhibición. Por lo tanto, estos aminoácidos se consideran indicadores potenciales de la interacción de DPP-4 con compuestos como los que se abordan este trabajo, que de acuerdo con los resultados obtenidos, la crisina, la oxitocina y el piroxicam interaccionan directamente con uno de los tres aminoácidos de la tríada catalítica (Ser 630) y parcialmente con los otros dos (Asp 708 e His 708). En la Tabla 1 se muestra que los valores de energía libre son cercanos al del compuesto de referencia (sitagliptina). Chittepudi *et al.* (2019) reportan una energía libre de enlace de -13.063 kcal/mol y -4.76 kcal/mol para oxitocina y piroxicam respectivamente, mientras que Kalhotra *et al.* (2018) reportaron una energía de -5.11 kcal/mol para crisina. La diferencia entre estas energías libres y lo obtenido en este trabajo (Tabla 1), pueden deberse al Software utilizado o los parámetros utilizados en el análisis *in silico*.

## Conclusiones

Las simulaciones de acoplamiento molecular realizados en el presente trabajo demuestran que la crisina, oxitocina y piroxicam pueden actuar como compuestos con actividad similar a la insulina y desencadenar la cascada de señalización al activar al receptor y de igual manera, pueden actuar como compuestos hipoglucemiantes al inhibir la acción de la enzima DPP-4.

## Agradecimientos

Para la realización del presente proyecto se contó con el financiamiento de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), mediante la beca otorgada con el número 1179691 y del programa de Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI) dentro del proyecto de investigación con clave SIP 20251346.

## Referencias bibliográficas

Ashraf A, Mudgil P, Palakkott A, Iratni R, Gan CY, Maqsood S, Ayoub MA (2021) Molecular basis of the anti-diabetic properties of camel milk through profiling of its bioactive peptides on

dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) and insulin receptor activity. *Journal of Dairy Science* 104:61-77.

Chittepu VCSR, Kalhotra P, Osorio-Gallardo T, Gallardo-Velázquez T, Osorio-Revilla G. (2019). Repurposing of FDA-Approved NSAIDs for DPP-4 Inhibition as an Alternative for Diabetes Mellitus Treatment: Computational and in Vitro Study. *Pharmaceutics* 11(5):238.

Choi E, Bai XC (2023) Activation mechanism of the insulin receptor: a structural perspective. *Annual Review of Biochemistry* 92:247-272.

IDF-International Diabetes Federation (2025) IDF Diabetes Atlas. [online]. Available from: <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>.

Kalhotra P, Chittepu VCSR, Osorio-Revilla G, Gallardo-Velázquez T. (2018). Structure Activity Relationship and Molecular Docking of Natural Product Library Reveal Chrysin as a Novel Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) Inhibitor: An Integrated *In Silico* and *In Vitro* Study. *Molecules* 26(3):1368.

Mendivil CO, Sierra ID (2005) Acción insulínica y resistencia a la insulina: aspectos moleculares. *Revista de la Facultad de Medicina* 53(4):235-243.

Menting JG, Whittaker J, Margetts MB, Whittaker LJ, Kong GKW, Smith BJ, Watson CJ, Žáková L, Kletvíková E, Jiráček J, Chan SJ, Steiner DF, Dodson GG, Brzozowski AM, Weiss MA, Ward CW, Lawrence MC (2013) How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. *Nature* 493: 241-245.

Seguí M (2018) Uso de inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 en pacientes con diabetes en situaciones especiales. *Medicina de Familia* 44:18-25.

Wang Z, Sun H, Yao X, Li D, Xu L, Li Y, Tian S, Hou T (2016) Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein–ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18:12964-12975.



## PREDICCIÓN DEL COMPORTAMIENTO BIOMECÁNICO Y EVALUACIÓN CLÍNICA/MOLECULAR DE LA OSTEOINTEGRACIÓN EN IMPLANTES DENTALES MEDIANTE EL MÉTODO DEL ELEMENTO FINITO

Jesús Alejandro Serrato-Pedrosa<sup>1\*</sup>, Verónica Loera-Castañeda<sup>1</sup>, Virgilio Bocanegra-García<sup>2</sup>, Absalom Zamorano-Carrillo<sup>3</sup>, Ignacio Villanueva-Fierro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIIDIR-Durango, Instituto Politécnico Nacional, Calle Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango C.P. 34220, México, <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Boulevard del Maestro S/N Esq. Elías Piña, Colonia Narciso Mendoza. Reynosa, 88710, Tamaulipas, C.P., México. <sup>3</sup>SEPI-ENMH, Instituto Politécnico Nacional, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, Fracc. La Escalera, Ticomán, Gustavo A. Madero, 07320, Ciudad de México, México.

\*alejandroserrato@live.com.mx

### Resumen

La capacidad para predecir el éxito clínico en implantes dentales reside en la estabilidad de la osteointegración a largo plazo y la mitigación de fallas biomecánicas. El presente proyecto tiene como objetivo central predecir el comportamiento mecano-biológico y de osteointegración en distintos sistemas de implantes dentales, a través de una sinergia entre modelado computacional y evaluación clínica-molecular. La metodología implementa el Método del Elemento Finito (MEF) para el análisis numérico del comportamiento de implantes dentales, así como para el desarrollo de biomodelos tridimensionales a partir de tomografías computarizadas. Este enfoque integral busca establecer una correlación entre los estímulos mecánicos y su respuesta biológica, sentando las bases para la optimización de diseños protésicos y un enfoque génico integral al paciente.

**Palabras clave:** Implantes dentales, osteointegración, biomecánica.

### Introducción

Las diferentes tendencias tecnológicas interdisciplinarias han marcado la pauta en lo que refiere a la evaluación de la osteointegración en implantes dentales de manera experimental, por otro lado, la osteointegración también es un proceso dinámico influenciado por factores biomecánicos, donde la estabilidad del implante en la interacción entre hueso-implante, es un factor mecánico determinante para el éxito a largo plazo. Se ha demostrado que estímulos mecánicos controlados son cruciales para la expresión génica que conduce a la osteogénesis. Una carga mecánica adecuada promueve la diferenciación de células mesenquimales en osteoblastos, regulando la expresión de genes clave como *RUNX2*, *ALP*, *COL1* y *OPN* (Szmukler-Moncler et al. 1998).

Por otro lado, el Método del Elemento Finito (MEF) emerge como una herramienta computacional de alta potencia para el análisis en la implantología dental. Esta técnica de simulación permite una evaluación detallada de la distribución de esfuerzos y deformaciones en el sistema implante-hueso, proporcionando una perspectiva predictiva que trasciende las limitaciones de la evaluación clínica convencional (Stoilov et al. 2023). La aplicación del MEF facilita la optimización de planes de tratamiento mediante la identificación de sobrecargas potenciales; permite predecir y mitigar riesgos de fracaso al analizar la micromovilidad (Stoilov et al. 2023; Villabona-Lopez et al. 2018); y orienta la selección de geometrías y materiales de implantes con base en su comportamiento biomecánico para las condiciones

anatómicas de cada paciente (Awasthi y Singh 2020). Este proyecto de investigación aborda dicha problemática desde un enfoque integrador, que acopla el análisis numérico con la evaluación clínica y molecular para comprender tanto la respuesta mecánica como la biológica a nivel celular y tisular. El objetivo de este trabajo es predecir numérica, clínica y molecularmente el comportamiento mecano-biológico y de osteointegración de diferentes implantes dentales, a fin de contribuir al desarrollo de una medicina de precisión en el campo de la odontología.

### **Materiales y métodos**

El análisis biomecánico consistió en la evaluación numérica de implantes dentales comerciales bajo condiciones de cargas oblicuas y oclusales funcionales. El protocolo metodológico para realizar la simulación implicó; la obtención de la geometría específica de los implantes a evaluar, la reconstrucción de la sección transversal de la zona del segundo molar inferior (incluyendo hueso cortical, trabecular y tejido gingival), la generación de un preprocesamiento adecuado en el análisis con un discretizado fino, semi-controlado y de alto orden, la asignación de propiedades a los materiales y la definición de las condiciones de frontera para emular las fuerzas masticatorias; y el análisis del comportamiento mecánico resultante en términos de distribución de esfuerzos, desplazamientos y deformaciones unitarias. A partir de esta metodología se desarrolló un estudio biomecánico no lineal para evaluar y comparar tres diferentes sistemas de implantes dentales.

### **Resultados**

Los resultados de la simulación demostraron que los implantes de dos piezas presentan un comportamiento mecánico que favorece una distribución de esfuerzos y deformaciones unitarias más homogénea en las estructuras biológicas adyacentes, lo cual es relevante para minimizar el riesgo de reabsorción ósea. Asimismo, se observó que biomateriales cerámicos como el Zirconio exhiben una capacidad de absorción de energía que reduce los desplazamientos globales bajo carga, mostrando un desempeño comparable al del Titanio en los modelos numéricos. Bajo cargas oclusales, generaron 6 y 2 veces menos esfuerzo que los sistemas de tres y una pieza, respectivamente. Mientras que, bajo cargas oblicuas, fueron 5 y 1.3 veces más eficientes en la disipación de estrés que los otros dos sistemas. Además, los implantes de dos piezas lograron mantener los valores máximos de estrés por debajo de los 100 MPa y redujeron los patrones de deformación unitaria en el sistema. En consecuencia, los resultados de este estudio demostraron que los implantes de dos piezas son la mejor opción debido a su excelente comportamiento mecánico del implante por sí mismo y los esfuerzos y deformaciones unitarias de las estructuras biológicas circundantes, generando menos micro deformaciones unitarias que los sistemas de Titanio de tres piezas para evitar cualquiera de las micro aberturas que pudiera conducir a la reabsorción ósea.

### **Discusión**

Los hallazgos preliminares sobre la influencia del diseño y el material del implante en la respuesta biomecánica son consistentes con la literatura, la cual subraya la importancia de una adecuada transferencia de carga para preservar la integridad del tejido óseo periimplantario. Los resultados abordan las ventajas y desventajas inherentes de cada diseño. Mientras que los implantes de una pieza eliminan el microespacio que existe en los sistemas de múltiples componentes, los de dos y tres piezas pueden presentar micromovimientos en la unión entre el pilar y el cuerpo del implante, un factor relevante especialmente en los implantes metálicos (Serrato et al. 2025). Esta vinculación entre el estímulo mecánico (*in silico*) y la respuesta biológica (*in vivo*) es fundamental para trascender el estado del arte actual. El establecimiento de dicha correlación permitiría desarrollar modelos predictivos más potentes que asistan al

clínico en la toma de decisiones, optimizando la selección del implante en función del perfil biomecánico y biológico del paciente. El protocolo clínico ya definido y el plan de análisis molecular representan el siguiente paso para materializar esta integración.

### **Conclusiones**

Se ha establecido y validado una metodología de análisis numérico para la evaluación biomecánica de implantes dentales, lo cual ha sido respaldado por los resultados preliminares de las simulaciones que sugieren que el diseño geométrico y el material del implante son factores críticos que modulan la distribución de esfuerzos y deformaciones en el tejido óseo. Se ha diseñado y estructurado el protocolo para el estudio prospectivo clínico-molecular, sentando las bases para el reclutamiento de voluntarios y el subsecuente análisis de biomarcadores genéticos. El progreso actual constituye una base sólida para las etapas futuras tendencias actuales, orientadas a la integración de los modelos numéricos y los datos biológicos para la creación de un modelo predictivo de la osteointegración.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen la beca otorgada por el Instituto Politécnico Nacional y la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo brindado para el desarrollo de esta investigación.

### **Referencias bibliográficas**

- Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, Dubruille JH (1998) Timing of loading and effect of micromotion on bone–dental implant interface: Review of experimental literature. *J Biomed. Mater. Res.* 43(2):192-203.
- Stoilov M, Shafaghi R, Stark H, Marder M, Kraus D, Enkling N (2023) Influence of Implant Macro-Design, -Length, and -Diameter on Primary Implant Stability Depending on Different Bone Qualities Using Standard Drilling Protocols-An In Vitro Analysis. *J. of Funct. Biomat.* 4(9):1-18.
- Villabona-Lopez CA, Amorin-Vasco MA, Ruales E, Apaza-Bedoya K, Magalhaes-Benfatti C, Luis Bezzon O, Miranda Deliberador T (2018) Three-Dimensional Finite Element Analysis of Stress Distribution in Zirconia and Titanium Dental Implants. *J. of Oral Implant.* 44(6):409-415.
- Awasthi S, Singh VP (2020) Design and analysis of tooth abutment implant. *J. of Dent. Implants.* 10(1):35-44.
- Serrato-Pedrosa JA, Villanueva-Fierro I, Marquet-Rivera RA, Hernández-Vázquez RA, Cruz-Lopez S, Loera-Castañeda V (2025) Non-Linear Biomechanical Evaluation and Comparison in the Assessment of Three Different Piece Dental Implant Systems for the Molar Region: A Finite Element Study. *J. of Funct. Biomat.* 16(1):17.

## EFFECTO DE FLUOXETINA SOBRE LA EXPRESIÓN PLACENTARIA DE MARCADORES INVOLUCRADOS EN LA HOMEOSTASIS DE SEROTONINA EN UN MODELO ANIMAL.

Jorge Eduardo Sifuentes García<sup>1</sup>, Carlos Galaviz Hernández<sup>1</sup>, Aracely Chávez Piña<sup>2</sup>, Martha Sosa Macías.

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango. Instituto Politécnico Nacional. Calle Sigma No. 119, Fracc. 20 de Noviembre II, C.P. 34220, <sup>2</sup>Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía. Instituto Politécnico Nacional. Avenida Guillermo Massieu Helguera No. 239, Col. La Escalera, C.P. 07320.

[\\*sosa.martha@gmail.com](mailto:sosa.martha@gmail.com)

### Resumen

La fluoxetina se utiliza para tratar la depresión durante el embarazo; sin embargo, aún se desconocen muchos de sus efectos sobre el desarrollo fetal. **Objetivo.** Evaluar el efecto de la fluoxetina sobre genes placentarios relacionados con la serotonina (*Tph1*, *Mao-a*, *Sert*, *Oct3* y *Lat1*) en ratas gestantes. **Métodos.** Ratas fueron tratadas vía oral con fluoxetina (2.06 mg/kg/día) o agua desde DG1. Se analizaron fetos y placentas en DG11, DG16 y DG20 mediante somatometría, y la expresión génica por qPCR en tiempo real. Resultados. En DG20, la fluoxetina provocó un aumento significativo del peso placentario y una disminución significativa del diámetro en ambos sexos. El peso fetal se redujo significativamente en machos (DG11, DG20) y hembras (DG20). La fluoxetina disminuyó la expresión de *Sert* en machos (DG16) y la aumentó en hembras (DG20). *Lat1* se subexpresó en machos (DG11, DG16) y se sobreexpresó en hembras (DG16). *Mao-a* disminuyó en machos (DG11). Además, se observaron correlaciones positivas significativas entre *Mao-a* y el peso fetal en hembras (DG20), y entre grosor placentario y *Lat1*, *Oct3* y *Sert* en machos (DG20). **Conclusión.** La fluoxetina modifica parámetros placentarios y la expresión génica de manera diferencial y significativa según el sexo.

**Palabras clave:** Fluoxetina, placenta, embarazo.

### Introducción

Se estima que más del 16 % de las mujeres experimentan depresión durante el embarazo. El 13% de las mujeres embarazadas reciben tratamiento con antidepresivos, y los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) son la principal opción terapéutica (Charlton et al., 2015). La exposición intrauterina a fluoxetina se ha asociado con disfunción neurológica en el recién nacido, así como **alteraciones cardiovasculares** y complicaciones respiratorias. Además, se ha sugerido que la fluoxetina tiene el potencial de afectar los niveles de serotonina (5-HT) en la placenta y el feto, a dosis terapéuticas y de manera dependiente del sexo (Burton & Fowden, 2015). Durante el desarrollo fetal, la serotonina participa en la diferenciación neuronal, el desarrollo cardíaco, la supervivencia embrio/fetal, la placentación y la morfogénesis (Bonnin & Levitt, 2011). La homeostasis de 5-HT en la placenta está regulada por un conjunto de proteínas encargadas de su síntesis, degradación y transporte. La enzima triptófano hidroxilasa 1 (TPH1) cataliza la síntesis de 5-HT a partir de triptófano, mientras que la monoamino oxidasa A (MAO-A) se encarga de su degradación (Rosenfeld, 2020). El triptófano, precursor indispensable para la síntesis de 5-HT, es incorporado a la placenta a través del transportador LAT1 (Scalise et al., 2018). El transporte placentario de 5-HT depende

principalmente de dos proteínas: SERT (*SLC6A4*), localizado en la membrana apical del sincitiotrofoblasto, capta 5-HT desde la sangre materna y OCT3 (*SLC22A3*), presente en la membrana basal, responsable del transporte de 5-HT hacia la circulación fetal (Rosenfeld, 2020; Sata et al., 2005).

## Material y métodos

Se utilizaron ratas Wistar proporcionadas por la Unidad de Investigación Biomédica del IMSS, Durango. Este estudio fue aprobado por el Comité Nacional de Investigación del IMSS (No. R-2024-785-072). Se evaluaron 36 ratas en embarazo distribuidas en seis grupos de seis animales. Tres grupos fueron controles tratados con agua estéril y tres grupos experimentales tratados con fluoxetina (2.06 mg/kg/día), administradas de manera oral. La eutanasia se realizó en los días gestacionales (DG) 11, 16 y 20. Se registraron los parámetros somatométricos de los fetos y las placentas de cada. La determinación del sexo de la placenta y el feto se realizó mediante PCR de punto final de acuerdo a los iniciadores y condiciones de amplificación descritos previamente (referencia). Posteriormente, se extrajo el ARN de las placentas con Trizol, seguido de un análisis cualitativo en gel de agarosa al 1% y un análisis cuantitativo en un Nanodrop 2000. Se sintetizó el ADNc con cebadores aleatorios con el kit Promega GoScript Reverse. La expresión placentaria de los genes se evaluó mediante PCR-RT semicuantitativa en un equipo Step One utilizando sondas específicas FAM/ZEN/IBFQ (IDT). El análisis se realizó con el método del doble delta Ct ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) y se utilizó como gen constitutivo *Gapdh*, previa validación de las curvas estándar de eficiencia de amplificación para cada gen.

## Resultados

### Somatometría fetal y placentaria

En el DG11, se observó que el peso fetal de los machos fue significativamente menor en el grupo expuesto a fluoxetina que en el grupo control ( $p < 0.001$ ). Este comportamiento también se observó en el DG 20, en hembras ( $p = 0.003$ ) y en machos ( $p = 0.031$ ). El diámetro abdominal aumentó significativamente en los machos del DG 16 expuestos al fármaco. Las placentas expuestas a fluoxetina fueron significativamente más pesadas en los grupos del DG 20 de hembras ( $p = 0.045$ ) y machos ( $p = 0.036$ ) que en los grupos control.

Cabe mencionar que en el DG11 se obtuvo un número limitado de hembras, por lo tanto, no se cuenta con estos resultados.

### Expresión génica

En el grupo de hembras expuestas al fármaco, se observó la sobreexpresión de *Lat1* ( $p = 0.007$ ) solo en el DG16. Por el contrario, en los machos expuestos la expresión de *Lat1* disminuyó en los DG 11 ( $p = 0.01$ ) y el DG 16 ( $p = 0.032$ ). Fluoxetina ejerció un efecto positivo sobre la expresión de *Sert* ( $p < 0.001$ ) en hembras del DG20, mientras que en los machos disminuyó su expresión en el DG16 ( $p = 0.02$ ). En los machos expuestos a fluoxetina se observó una subexpresión de *Mao-a* en DG11 ( $p < 0.001$ ), mientras que en hembras no se detectaron cambios en ninguna etapa. En cuanto a *Oct3*, se registró una subexpresión en machos en DG16 ( $p = 0.02$ ), sin diferencias en hembras. Respecto a *Tph1*, no se encontraron variaciones significativas en ningún sexo ni etapa gestacional.

### Análisis de correlación

En hembras expuestas a fluoxetina en DG20, el peso fetal mostró una correlación positiva con la expresión de *Mao-a* ( $r = 0.9$ ,  $p = 0.035$ ).



## Discusión

En estudios previos se ha descrito un menor peso al nacer en neonatos humanos expuestos a ISRS (Simon et al., 2002), lo cual concuerda con nuestros resultados. Dado que los estrógenos regulan la expresión de *Sert* y *Lat1*, el aumento significativo de estos genes observado en las hembras expuestas a fluoxetina puede explicarse por la aromatasa CYP19, la cual se regula positivamente por este fármaco y está involucrada en la síntesis de estrógenos (Hudon Thibeault et al., 2017). El aumento de *Sert* y *Lat1* podrían contribuir con el incremento de serotonina placentaria que ejerce un efecto vasoconstrictor, limitando el paso de nutrientes y disminuyendo el peso fetal en las hembras (Hu et al., 2020; McQueen et al., 1997). En machos, la disminución significativa de *Mao-a*, *Lat1* y *Oct3* por fluoxetina podría favorecer el aumento de serotonina y ejercer el mismo efecto sobre el peso fetal que se observó en las hembras (Karahoda et al., 2020; Prasad et al., 1999).

## Conclusiones

La fluoxetina alteró los parámetros somatométricos fetales y placentarios. Además, el fármaco afectó la expresión del ARNm de *Sert*, *Lat1*, *Mao-a* y *Oct3* de forma dependiente del sexo y la etapa gestacional.

## Agradecimientos

Se hace el atento agradecimiento a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca otorgada, así como al Sistema de Incentivos a la Investigación (SIP) del IPN por el financiamiento brindado a través del proyecto N.º 20241409, que hicieron posible la realización de este trabajo.

## Referencias bibliográficas

- Bonnin A, Levitt P (2011). Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain. *Neurosci.* 197: 1–7.
- Burton GJ, Fowden AL (2015). The placenta: a multifaceted, transient organ. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 370: 1663.
- Charlton RA, Jordan S, Pierini A, Garne E, Neville AJ, Hansen AV, Gini R, Thayer D, Tingay K, Puccini A, Bos HJ, Nybo Andersen AM, Sinclair M, Dolk H, De Jong-Van Den Berg LT (2015). Selective serotonin reuptake inhibitor prescribing before, during and after pregnancy: A population-based study in six European regions. *Int. J. Obstet. Gynaecol.* 122: 1010–1020.
- Hu Q, Liu L, Zhou L, Lu H, Wang J, Chen X, Wang Q (2020). Effect of fluoxetine on HIF-1 $\alpha$ -Netrin/VEGF cascade, angiogenesis and neuroprotection in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. *Exp. Neurol.* 329: 113–312.
- Hudon Thibeault A, Laurent L, Vo Duy S, Sauvé S, Caron P, Guillemette C, Sanderson JT, Vaillancourt C (2017). Fluoxetine and its active metabolite norfluoxetine disrupt estrogen synthesis in a co-culture model of the feto-placental unit. *Mol. Cell. Endocrinol.* 442: 32–39.
- Karahoda R, Horackova H, Kastner P, Matthios A, Cervený L, Kucera R, Kacerovsky M, Duintjer Tebbens J, Bonnín A, Abad C (2020). Serotonin homeostasis in the materno-foetal interface at term: Role of transporters (SERT/SLC6A4 and OCT3/SLC22A3) and monoamine oxidase A (MAO-A) in uptake and degradation of serotonin by human and rat term placenta. *Acta Physiol.* 229: 134–178.
- McQueen JK, Wilson H, Fink G. (1997). Estradiol-17 $\beta$  increase serotonin transporter (SERT) mRNA levels and the density of SERT-binding sites in female rat brain. *Brain Res. Mol.* 45: 3–23.
- Prasad PD, Wang H, Huang W, Kekuda R, Rajan DP, Leibach FH, Ganapathy V (1999). Human LAT1, a subunit of system L amino acid transporter: molecular cloning and transport function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 255: 283–288.



- Rosenfeld CS (2020). Placental serotonin signaling, pregnancy outcomes, and regulation of fetal brain development. *Biol. Reprod.* 102: 532–538.
- Sata R, Ohtani H, Tsujimoto M, Murakami H, Koyabu N, Nakamura T, Uchiumi T, Kuwano M, Nagata H, Tsukimori K (2005). Functional analysis of organic cation transporter 3 expressed in human placenta *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 315: 888–895.
- Scalise M, Galluccio M, Console L, Pochini L, Indiveri C (2018). The human SLC7A5 (LAT1): The intriguing histidine/large neutral amino acid transporter and its relevance to human health. *Front. Chem.* 6: 371668
- Simon GE, Cunningham ML, Davis RL (2002). Outcomes of prenatal antidepressant exposure. *Am. J. Psychiatry.* 159: 2055–2061.

## EFECTO DEL USO DE HOJAS DE AGAVE Y MEZCLA DE CONCENTRADOS DE PROTEÍNA EN ALIMENTOS FORMULADOS PARA JUVENILES DE CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei*

Laura Belén Soto Peña<sup>1\*</sup>, Herveý Rodríguez González<sup>1</sup>, Claudia Patricia Larralde Corona<sup>2</sup>, Píndaro Álvarez Ruiz<sup>1</sup>, Claudia Castro Martínez<sup>1</sup>, Emmanuel Martínez Montaña<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Col. San Joachin, en Guasave, Sin., <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Blvrd del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamps., <sup>3</sup>Universidad Politécnica de Sinaloa, Carretera Municipal Libre Lote Higueras-Km 3, Genaro Estrada, 82199 Mazatlán, Sin.

\*Isotop2200@alumno.ipn.mx

### Resumen

La búsqueda de ingredientes alternativos a la harina de pescado en la acuicultura ha impulsado el aprovechamiento de subproductos agrícolas con potencial nutricional. En este estudio se evaluó la composición química de hojas de *Agave cupreata*, *A. angustifolia* y *A. potatorum*. Además de obtenerse un concentrado proteico a partir de pasta de cártamo. El concentrado alcanzó un contenido de proteína de 66.61 % con un rendimiento de 31.67 %, evidenciando la eficiencia del proceso. Las hojas de agave mostraron alrededor de 4.2 % de proteína, pero con variaciones significativas en carbohidratos y antinutrientes entre especies. Los resultados de azúcares evidencian que *A. potatorum* y *A. cupreata* poseen mayores concentraciones de carbohidratos, particularmente fructanos, en comparación con *A. angustifolia*. En cuanto a antinutrientes, *A. potatorum* mostró los valores más altos de inhibidores de tripsina y saponinas, y *A. angustifolia* el mayor contenido de ácido fítico. Los resultados obtenidos sugieren que la inclusión de hojas en niveles inferiores al 5% en la dieta no representa un riesgo para el cultivo. Asimismo, constituyen una fuente de carbohidratos de interés y contribuyen a la sostenibilidad de la producción acuícola mediante la valorización de residuos agroindustriales.

**Palabras clave:** Agave; cártamo; *Penaeus vannamei*; nutrición acuícola; antinutrientes.

### Introducción

La harina de pescado ha sido la principal fuente proteica en dietas para camarón, pero su alto costo y limitaciones de sostenibilidad han impulsado la búsqueda de alternativas (Tacon y Metian 2008). En este sentido, los subproductos agrícolas como las hojas de agave obtenidas a partir de la producción de mezcal y pasta de cártamo de la extracción de aceite, representan una alternativa, ambos ingredientes aportarían metabolitos bioactivos con efecto antioxidante y modulador del microbiota, lo que favorecería el crecimiento, la supervivencia y la respuesta inmune en camarones bajo condiciones de estrés (Rahman et al. 2017). Un reto común en el uso de ingredientes vegetales son los compuestos antinutricionales, como inhibidores de tripsina, ácido fítico, saponinas y taninos, que afectan la digestibilidad y pueden inducir estrés oxidativo en camarones (Punia y Singh 2024). Para superar estas limitantes, se propone el ensilado de hojas de agave para reducir antinutrientes (Martens et al. 2014) y la obtención de un concentrado proteico de pasta de cártamo para incrementar su valor nutricional (Madrigal y Ortega 2002). Por lo tanto, el objetivo es evaluar el uso de la inclusión de hojas de agave y concentrado de proteína de cártamo en dietas para camarón blanco *P. vannamei* sobre variables productivas para ser utilizadas en un cultivo comercial.

## Material es y métodos

Se obtuvieron hojas de agave (*Agave cupreata*, *A. angustifolia* y *A. potatorum*) de productores locales de mezcal del Estado de Puebla y pasta de cártamo de Grupo Aceites Del Mayo, S.A. de C.V. en Navojoa, Sonora, como materias primas. Las hojas de agave serán sometidas a un proceso de ensilado siguiendo lo reportado por Alcantar-Morales et al. (2024). Por su parte, la pasta de cártamo se procesó para obtener un concentrado proteico (Madrigal y Ortega 2002) y se calculó el rendimiento de proteína utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento de proteína (\%)} = \frac{\text{Peso CP (g)} \times \text{Proteína CP (\%)}}{\text{Peso harina (g)} \times \text{Proteína harina (\%)}} \times 100$$

Las hojas de agave se caracterizaron mediante análisis proximal (AOAC 1999), azúcares totales utilizando el método de antrona (Luo et al. 2017) y reductores (Miller 1959). Asimismo, se evaluaron compuestos antinutricionales saponinas (Hiai et al. 1976), ácido fítico (Vaintraub y Lapteva 1988) e inhibidores de tripsina (Kakade et al. 1974). Con estos ingredientes se formularán teóricamente dietas experimentales para *P. vannamei* que cumplan con los requisitos de nutricionales para que no se vean afectados los valores de productividad (crecimiento y supervivencia).

## Resultados

### Concentrado de proteína

**Rendimiento:** El concentrado proteico obtenido presentó un contenido de proteína del  $66.61 \pm 0.9$  %, registrando un rendimiento de 31.67 %, lo que indica la eficiencia del proceso para incrementar significativamente la fracción proteica respecto a la materia prima original.

### Hojas de Agave

**Análisis proximal:** No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el contenido de proteína entre las hojas de *A. cupreata*, *A. angustifolia* y *A. potatorum* con alrededor de 4.2%. El contenido de humedad, cenizas, lípidos y fibra fue mayor en las hojas de *A. cupreata*.

**Azúcares totales y reductores:** El análisis de azúcares en las hojas de agave mostró diferencias significativas entre las especies evaluadas. En general, *A. potatorum* y *A. cupreata* presentaron las concentraciones más altas de azúcares totales, reductores y fructanos, mientras que *A. angustifolia* registró los valores más bajos. Estos resultados indican que las especies difieren en su potencial como fuente de carbohidratos con posibles implicaciones en su valor nutricional y funcional.

**Factores antinutricionales:** En cuanto a los compuestos antinutricionales, se observaron variaciones notables entre especies. *A. potatorum* presentó los niveles más elevados de inhibidores de tripsina y saponinas, mientras que *A. angustifolia* destacó por su mayor contenido de ácido fítico. Al conocer la composición, podemos evitar superar los niveles en la dieta considerando la tolerancia de antinutrientes en camarón.

## Discusión

La obtención de un concentrado proteico de cártamo con más del 66% de proteína confirma su potencial como fuente alternativa para sustituir parcialmente la harina de pescado hasta un 15% (Gyan et al. 2021). Por su parte, la diferencia en la composición química en las hojas de agave podría atribuirse a factores como la edad de la planta, la región geográfica y condiciones climáticas del agave (Ortega et al. 2019). Los antinutrientes pueden afectar la digestión y el aprovechamiento de nutrientes en el camarón, es importante conocer cuánto se puede incluir en la dieta sin causar efectos negativos (Punia y Singh 2024). Si bien se detectaron inhibidores de tripsina, saponinas y ácido fítico, los valores se encuentran dentro de rangos considerados seguros cuando se emplean inclusiones menores al 5% en la dieta, considerando los niveles de

tolerancia en dietas acuícolas (Reddy et al. 1982; Sessa y Lim 1992; Lozano-Olvera et al. 2024). Además, procesos como el ensilado permiten reducir significativamente el contenido de antinutrientes, mejorando la digestibilidad y disponibilidad de nutrientes (Martens et al., 2014).

## Conclusiones

Las hojas de agave y concentrado de proteína de cártamo muestran un perfil químico con potencial para ser utilizado en la alimentación acuícola. Su uso en proporciones bajas permitiría aprovechar un residuo agroindustrial, reduciendo el impacto ambiental.

## Referencias bibliográficas

- Alcantar-Morales SL, Ramírez-Ortiz A, Gallardo-Martínez D, Favela-Torres E, Cruz-Guerrero A, Viniegra-González G (2024) Kinetics and microbiology of pulp silage from decorticated Agave salmiana leaves. Mexican Journal of Biotechnology, 9(4), 14–29.
- AOAC (1999) Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International. In: Gaithersburg, USA.
- Gyan WR, Yang Q, Tan B, Xiaohui D, Chi S, Liu H, Zhang S (2021) Effects of replacing fishmeal with dietary dried distillers grains with solubles on growth, serum biochemical indices, antioxidative functions, and disease resistance for *Litopenaeus vannamei* juveniles. Aquaculture Reports, 21, 100821.
- Hiai S, Oura H, Nakajima T (1976) Color reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid. Planta Medica, 29(2), 116-122. [DOI: 10.1055/s-0028-1097639]
- Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE, Puski G (1974) Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure.
- Luo D, Qu C, Lin G, Zhang Z, Xie J, Chen H, Liang J, Cailan L, Wang H, Su Z (2017) Character and laxative activity of polysaccharides isolated from *Dendrobium officinale*. J. Funct. Foods. 34, 106–117.
- Madrigal LV, Ortega ME (2002) Obtención de un concentrado proteico de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) para su uso en reemplazantes de leche para becerras. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 36(3), 211-216.
- Martens SD, Hoedtke S, Avila P, Heinritz SN, Heinritz SN, Zeyner A, Zeyner, A (2014) Effect of ensiling treatment on secondary compounds and amino acid profile of tropical forage legumes, and implications for their pig feeding potential. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94(6), 1107–1115.
- Ortega Z, Castellano J, Suárez L, Paz R, Díaz N, Benítez AN, Marrero MD (2019) Characterization of Agave americana L. plant as potential source of fibres for composites obtaining. SN Applied Sciences, 1, 1-9.
- Punia N, Singh D (2024) Priyanka, “Approaches to Use Anti-Nutritional Factors Containing Plant Based Protein-Rich Aquafeeds,”. Uttar Pradesh Journal of Zoology, 45, 72-82.
- Rahman NA, Khatoon H, Yusuf N, Banerjee S, Haris NA, Lananan F, Tomoyo K (2017) *Tetraselmis chuii* biomass as a potential feed additive to improve survival and oxidative stress status of Pacific white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. International Aquatic Research, 9, 235-247.
- Tacon, A. G, Metian, M. J. A (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. 285(1-4), 146-158.
- Vaintraub IA, Lapteva NA (1988) Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. Analytical biochemistry, 175(1), 227-230.

## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS DE LAS ALGAS *Laurencia johnstoni* y *Sargassum lapazeanum* SOBRE ADIPOCITOS Y SU IMPACTO EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA.

María F. Torres-Rojas<sup>1\*</sup>, Javier Leonardo-Guerrero<sup>1</sup>, Esther Ramírez-Moreno<sup>1</sup>, Claudia J. Hernández-Guerrero<sup>3</sup>, Laurence A. Marchat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biomedicina Molecular II, ENMH, Instituto Politécnico Nacional, CDMX, México. <sup>2</sup>Departamento de Desarrollo Tecnológico, CICIMAR, Instituto Politécnico Nacional, La Paz B.C.S., México.

\*Correo: fernandatr.ipn@gmail.com

### Resumen

La obesidad promueve el desarrollo del tejido adiposo disfuncional, que, a su vez, aumenta el riesgo de desarrollar otras enfermedades como el cáncer de mama. En este sentido, el cáncer de mama triple negativo es el de peor pronóstico. Por lo que la regulación de la adipogénesis representa una estrategia interesante para el control del cáncer. Existen muchos reportes sobre los efectos antiobesidad de productos naturales obtenidos de plantas terrestres, pero los estudios sobre las algas marinas son muy limitados. En este trabajo, queremos evaluar el potencial terapéutico de las algas mexicanas *Laurencia johnstoni* y *Sargassum lapazeanum*, en el contexto de obesidad. Nuestros resultados evidenciaron que ambas especies de algas presentan familias de metabolitos que han sido descritas con efecto antiadipogénico, pero únicamente el extracto de acetato de etilo de *L. johnstoni* afectó la adipogénesis, disminuyendo la acumulación de lípidos intracelulares, la expresión de marcadores proadipogénicos y proinflamatorios.

**Palabras clave:** obesidad, tejido adiposo disfuncional, algas, cáncer de mama, inflamación.

### Introducción

La obesidad definida por la acumulación anormal y excesiva de grasa es un grave problema de salud pública. Promueve la disfunción del tejido adiposo, caracterizada por un alto grado de inflamación y estrés oxidativo, los cuales están relacionados con el desarrollo de otras enfermedades metabólicas y cáncer (Blüher *et al.*, 2013). El cáncer de mama (CaMa) es el más común diagnosticado en mujeres y representa más de 1 de cada 10 nuevos casos cada año, además de ser la segunda causa de muerte por cáncer entre las mujeres en el mundo. Específicamente, el cáncer de mama triple negativo caracterizado por la ausencia de la expresión del receptor de estrógenos, de progesterona y HER2, representa del 15 al 20 % de los casos y es el tipo de cáncer con peor pronóstico y más agresivo (Tsang y Tse, 2020). Por lo que la regulación de la adipogénesis, y con eso de la inflamación y estrés oxidativo, podría ser una estrategia para el control del CaMa. En este contexto, se ha reportado que las algas marinas contienen metabolitos secundarios que han demostrado tener efectos en eventos alterados en la obesidad (Bermano *et al.*, 2020).

Diversas especies del alga parda *Sargassum* han sido ampliamente estudiadas en el contexto de obesidad, mostrando que presentan actividad anti-adipogénica (Lee *et al.*, 2017), supresión en el aumento de peso y niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos (Awang *et al.*, 2013), disminución en la acumulación de grasa y mejora en la esteatosis hepática (Jihui *et al.*, 2022). El alga mexicana *S. lapazeanum* no ha sido evaluada en el contexto de obesidad, pero se reportó su actividad antioxidante (Villegas *et al.*, 2022). Por otra parte, se ha reportado que el alga roja *Laurencia* tiene efecto antitumoral (Alarif *et al.*, 2012), actividad citotóxica (Barcellos *et al.*,



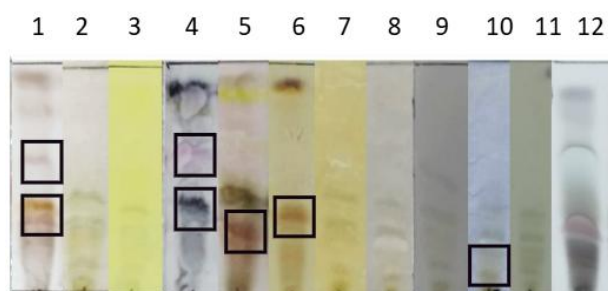
2018), apoptótica (Murad et al., 2016), antiinflamatoria y antioxidante (Jung et al., 2009). Particularmente, el alga mexicana *L. johnstoni* presenta efecto antiviral y antimicrobiano (Harizani et al., 2016), antitumoral, citotóxico y apoptótico (García et al., 2019; Arvizu et al., 2024). Por lo que en este trabajo se pretende evaluar el efecto de extractos de las algas mexicanas *L. johnstoni* y *S. lapazeanum* sobre la adipogénesis y su impacto en células de cáncer de mama triple negativo.

## Materiales y métodos

Las algas se recolectaron en la Bahía de La Paz, B. C. S.; la extracción se realizó por el método sólido-líquido por maceración (relación de 1:10 de alga en acetato de etilo) y se procesó en un rotavapor. Para caracterizar los núcleos fitoquímicos, se realizó Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una placa de sílice 60 F<sub>254</sub> y hexano-cloroformo-etanol-metanol-agua (2.9:0.9:0.3:0.3:0.15) como fase móvil, seguido de una identificación con reveladores específicos. La toxicidad de los extractos se evaluó mediante un ensayo MTT; para eso, los fibroblastos murinos 3T3-L1 (10 x 10<sup>3</sup>) fueron sembrados en placas de 96 pozos, en presencia de concentraciones crecientes del extracto de *L. johnstoni* y *S. lapazeanum* (0.3 a 300 µg/mL) por 24 y 48 h. Posteriormente, se evaluó el efecto de las concentraciones que permitían al menos el 80% de la viabilidad celular, sobre la diferenciación adipocitaria. Para eso, células 3T3-L1 (20 x 10<sup>3</sup>) fueron sembradas en placas de 12 pozos y se indujo la adipogénesis como se describió previamente (Mandujano et al., 2021). El tratamiento se aplicó cada dos días durante todo el proceso. En el día 11, se realizó la extracción de RNA con Trizol (Ambion) y se sintetizó el cDNA con la M-MLV [200 U] (Invitrogen). Finalmente, se determinó la expresión genica de los marcadores proadipogénicos (PPARγ y CEBPα), antiinflamatorios (adiponectina) e inflamatorios (TNFα, IL-6, MCP-1 e IL-1β), por q-PCR en un equipo StepOne (Applied Biosystems).

## Resultados

En los ensayos de CCF, se identificó la presencia de saponinas triterpénicas y esteroidales, aldehídos y cetonas, terpenoides y flavonoles en el extracto de *L. johnstoni*; mientras que el extracto de *S. lapazeanum* contiene saponinas triterpénicas y esteroidales, terpenoides, flavonoles y esteroides (Figura 1).



**Figura 1.** Perfil fitoquímico del extracto de acetato de etilo de *L. johnstoni* 1) Libermann-Burchard 2) Ehrlich 3) Baljet 4) Rosenthaler 5) Anisaldehído 6) DNPH 7) Cloruro férrico 8) Hidróxido de amonio 9) Molish 10) Hidróxido de sodio al 10 % 11) Dragendorff 12) Salkovsky.

En los ensayos MTT, se observó que concentraciones de hasta 3 µg/mL del extracto de *L. johnstoni* y de hasta 10 µg/mL del extracto de *S. lapazeanum* permiten una viabilidad superior al 80% de las células 3T3-L1. El extracto de *S. lapazeanum* (1, 3 y 10 µg/mL) no tuvo ningún efecto en la diferenciación adipocitaria de las células 3T3-L1, mientras que el extracto de *L. johnstoni* a 0.3, 1 y 3 µg/mL inhibió la adipogénesis, reduciendo a la mitad la acumulación de lípidos intracelulares. Asimismo, se observó una reducción significativa en la expresión del marcador proadipogénico PPARγ. En el caso de CEBPα, el efecto fue menos notorio.

Finalmente, se observó una disminución en la expresión de los marcadores TNF $\alpha$ , IL-6, MCP-1 y adiponectina, así como una mayor expresión de IL-10 en respuesta al tratamiento con el extracto de *L. johnstonii*.

## Discusión

Las familias de metabolitos identificadas en el extracto de acetato de etilo de ambas especies de algas han sido previamente reportadas con actividad anti-adipogénica, lo que sugiere el potencial de estas algas mexicanas para el control de la obesidad. Sin embargo, únicamente el extracto de *L. johnstonii* inhibió la adipogénesis, acumulación de lípidos y expresión de PPAR $\gamma$ , un factor de transcripción proadipogénico clave. Por otro lado, la disminución de la expresión de las citocinas proinflamatorias TNF $\alpha$ , IL-6 e MCP-1, podría estar relacionada con la reducción en la secreción de estas proteínas, y con esto, una menor tasa de diferenciación adipocitaria de células vecinas, así como la reducción de la adhesión, la migración y la invasión de las células cancerosas cercanas (Nieman et al., 2013; González et al., 2021). La disminución de la expresión de adiponectina podría estar relacionada con la disminución de los otros marcadores inflamatorios, ya que altos niveles en la expresión de adiponectina están vinculados con el aumento de la inflamación por medio de un proceso de retroalimentación positiva entre ésta y las adipocitocinas proinflamatorias (Luo y Liu, 2022). En conjunto, nuestros resultados sugieren que la disminución en la tasa de adipogénesis y de marcadores inflamatorios por el extracto del alga *L. johnstonii*, podría modular ciertos procesos en células de cáncer de mama, sin embargo, queda pendiente su evaluación.

## Conclusiones

El extracto de acetato de etilo del alga mexicana *L. johnstonii* contiene metabolitos que son capaces de inhibir la adipogénesis en la línea celular 3T3-L1; futuros experimentos permitirán evaluar el impacto en células de cáncer de mama.

## Agradecimientos

Este proyecto fue apoyado por la SECTEI, el IPN y la UAM. MFTR agradece a la SECIHTI (antes CONHACYT) por la beca 1038496 otorgada.

## Referencias bibliográficas

- Alarif, W. M., Al-Lihaibi, S. S., Ayyad, S. E., Abdel-Rhman, M. H., & Badria, F. A. (2012). Laurene-type sesquiterpenes from the Red Sea red alga *Laurencia obtusa* as potential antitumor-antimicrobial agents. *European journal of medicinal chemistry*, 55, 462–466.
- Arvizu-Hernandez, E., Hernandez-Guerrero, C. J., Alvarez-Rios, E., Gariglio, P., Cornejo-Garrido, J., & Ocadiz-Delgado, R. (2024). *Laurencia johnstonii* extract reverses early lesions in the K14E7HPV16 murine cervical carcinogenesis model. *Journal of medical virology*, 96(4), e29571.
- Awang, A. N., Ng, J. L., & Matanjun, P. (2014). Anti-obesity property of the brown seaweed, *Sargassum polycystum* using an in vivo animal model. *J Appl Phycol*, 26, 1043–1048.
- Barcellos Marini, M., Rodrigues de Freitas, W., Lacerda da Silva Machado, F., Correa Ramos Leal, I., Ribeiro Soares, A., Masahiko Kanashiro, M., & Frazão Muzitano, M. (2018). Cytotoxic activity of halogenated sesquiterpenes from *Laurencia dendroidea*. *Phytotherapy research: PTR*, 32(6), 1119–1125.
- Bermano, G., Stoyanova, T., Hennequart, F., & Wainwright, C. L. (2020). Seaweed-derived bioactives as potential energy regulators in obesity and type 2 diabetes. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)*, 87, 205–256.
- Blüher, M. (2013). Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 27(2), 163–177.

- García-Davis, S., Viveros-Valdez, E., Díaz-Marrero, A. R., Fernández, J. J., Valencia-Mercado, D., Esquivel-Hernández, O., Carranza-Rosales, P., Carranza-Torres, I. E., & Guzmán-Delgado, N. E. (2019). Antitumoral effect of Laurinterol on 3D culture of breast cancer explants. *Mar Drugs*, 17(4), 201.
- Gonzalez Suarez, N., Rodriguez Torres, S., Ouanouki, A., El Cheikh-Hussein, L., & Annabi, B. (2021). EGCG inhibits adipose-derived mesenchymal stem cells differentiation into adipocytes and prevents a STAT3-mediated paracrine oncogenic control of triple-negative breast cancer cell invasive phenotype. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6), 1506.
- Harizani, M., Ioannou, E., & Roussis, V. (2016). The *Laurencia* paradox: an endless source of chemodiversity. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod*, 102, 91–252.
- Lee, J. A., Cho, Y. R., Hong, S. S., & Ahn, E. K. (2017). Anti-Obesity Activity of Saringosterol Isolated from *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt Extract in 3T3-L1 Cells. *Phytotherapy research : PTR*, 31(11), 1694–1701. <https://doi.org/10.1002/ptr.5892>
- Luo, L., & Liu, M. (2022). Adiponectin: friend or foe in obesity and inflammation. *Medical review (2021)*, 2(4), 349–362.
- Mandujano-Lázaro, G., Galaviz-Hernández, C., Reyes-López, C. A., Almanza-Pérez, J. C., Giacomán-Martínez, A., López-Camarillo, C., Huang, F., & Marchat, L. A. (2021). A short S-Equol exposure has a long-term inhibitory effect on adipogenesis in mouse 3T3-L1 cells. *Applied Sciences*, 11(20), 9657.
- Murad, H., Hawat, M., Ekhtiar, A., AlJapawe, A., Abbas, A., Darwish, H., Sbenati, O., & Ghannam, A. (2016). Induction of G1-phase cell cycle arrest and apoptosis pathway in MDA-MB-231 human breast cancer cells by sulfated polysaccharide extracted from *Laurencia papillosa*. *Cancer cell international*, 16, 39.
- Nieman, K. M., Romero, I. L., Van Houten, B., & Lengyel, E. (2013). Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. *Biochimica et biophysica acta*, 1831(10), 1533–1541.
- Prabhakar, L., & Davis, G. D. J. (2022). Computational study of potential inhibitors for fat mass and obesity-associated protein from seaweed and plant compounds. *PeerJ*, 10, e14256.
- Tsang, J. Y. S., & Tse, G. M. (2020). Molecular classification of breast cancer. *Advances in anatomic pathology*, 27(1), 27–35.
- Villegas-Silva, V. A., Muñoz-Ochoa, M., Rodríguez-Montesinos, Y. E., & Arvizu-Higuera, D. L. (2022). Partial characterization and biological activity of *Sargassum lapazeanum* (Fucales, Phaeophyceae). *Hidrobiológica*, 32(3), 365–372.
- Zuo, J., Zhang, Y., Wu, Y., Liu, J., Wu, Q., Shen, Y., Jin, L., Wu, M., Ma, Z., & Tong, H. (2022). *Sargassum fusiforme* fucoidan ameliorates diet-induced obesity through enhancing thermogenesis of adipose tissues and modulating gut microbiota. *International journal of biological macromolecules*, 216, 728–740.

## DETERMINACIÓN DEL MECANISMO DE SORCIÓN DE PLOMO Y CADMIO EN MODELOS DE AGUA UTILIZANDO ASTILLAS DE MADERA MODIFICADAS

Luis Arturo Torres Castañón<sup>1\*</sup>, Celestino Odín Rodríguez Nava<sup>2</sup>, Isaías Chairez Hernández<sup>1</sup>, Felipe de Jesús Silerio Vázquez<sup>1</sup>, José Bernardo Proal Nájera<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Regional Unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional, calle Sigma 119, fraccionamiento 20 de noviembre II, C. P. 34220, Durango, México, <sup>2</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Av. Luis Enrique Erro S/N, UPALM, Zacatenco, Alcaldía Gustavo A. Madero, C.P. 07738, Ciudad de México.

\*ltorresc2401@alumno.ipn.mx

### Resumen

Se desarrolló una ruta para convertir astillas de madera en sorbente mediante alcalinización, carboxilación y dopado con zirconio. La caracterización XRD mostró un incremento de la cristalinidad de celulosa I tras la alcalinización, re-amorfización leve después de la carboxilación y formación de ZrO<sub>2</sub> al dopar. El análisis FTIR-ATR confirmó eliminación de hemicelulosa y lignina, generación de carboxilo, conversión a carboxilato coordinado con Zr y señales Zr–O. El sorbente anticipa alta durabilidad y afinidad por Pb y Cd.

**Palabras clave:** astillas de madera, biosorbente, modificación fisicoquímica.

### Introducción

Las descargas de metales pesados (Pb, Cd) en aguas residuales demandan sorbentes selectivos y de bajo costo. La valorización de residuos lignocelulósicos ofrece una alternativa viable. Este trabajo propone convertir astillas de madera en un sorbente, mediante un tratamiento de alcalinización, carboxilación y dopado con zirconio. Mediante XRD y FTIR se elucidó la evolución estructural y química, estableciendo la relación proceso con la estructura que sustenta el desempeño esperado en la remoción de metales.

### Materiales y métodos

Las astillas de madera se secaron a 40 °C durante 5 h para eliminar humedad y prevenir alteraciones estructurales. Posteriormente se molieron y se tamizaron a 500 µm. El material resultante se lavó con agua destilada por tres ciclos de 30 min hasta pH 7, con el fin de remover solutos y finos y asegurar una superficie limpia y reactiva (Ouajai & Shanks, 2005). El material tamizado se puso en contacto con Ca(OH)<sub>2</sub> 0.1–0.5 M a temperatura ambiente durante 24 h con agitación, con el objetivo de abrir la matriz lignocelulósica y generar grupos hidroxilo superficiales (Colom & Carrillo, 2002; Široký et al., 2012). El sólido alcalinizado se transfirió a una solución de ácido cloroacético 0.1 M ajustada a pH 8 durante 24 h para introducir funciones carboximetilo, de acuerdo con metodologías de funcionalización de celulosa (Heinze & Liebert, 2001; Habibi et al., 2010). Para el dopado con zirconio, el material se impregnó con ZrCl<sub>4</sub> 0.1 M (pH 2, ajustado con HCl) durante 24 h a temperatura ambiente, a fin de incorporar centros receptores basados en Zr<sup>4+</sup> que fortalezcan la afinidad por cationes mediante coordinación (Ambrosi et al., 2012; Meza-Gálvez et al., 2018; Pearson, 1963). La caracterización estructural se realizó por difracción de rayos X (XRD) en un Rigaku Miniflex 600 con radiación Cu Kα (λ = 1.5406 Å) en modo θ–2θ (2θ = 0–90°), y por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) en un Thermo Scientific™ Nicolet™ Summit

con accesorio ATR de diamante (4000–400  $\text{cm}^{-1}$ , 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolución, 32 escaneos por espectro).

## Resultados

La figura 1 y 2 muestran los patrones XRD y FTIR de las cuatro etapas de preparación: biomasa cruda, alcalinizada, carboxilada y dopada con Zr.

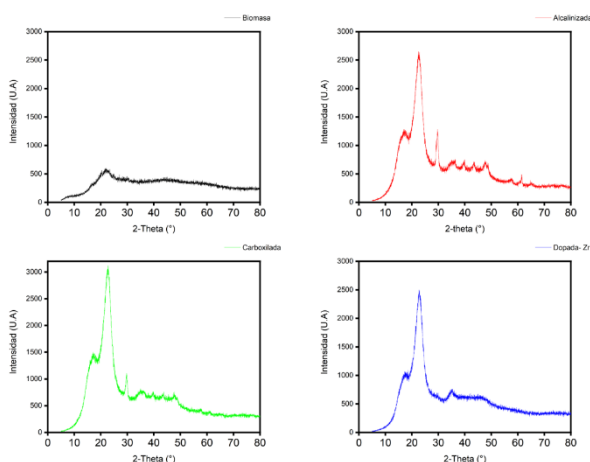


Figura 1 Patrones XRD de las astillas de madera por etapa de preparación.

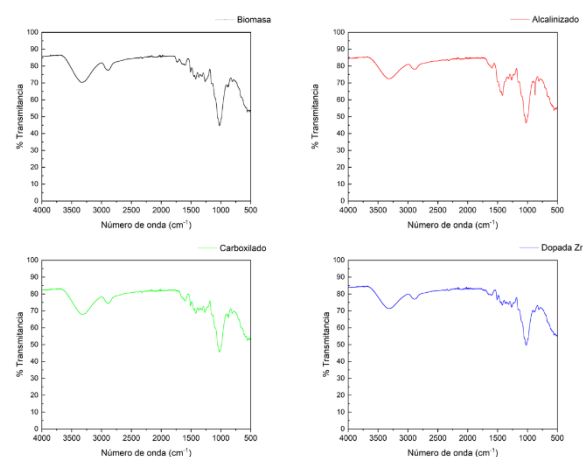


Figura 2 Espectros FTIR de astillas de madera por etapa de preparación.

La evidencia combinada de XRD y FTIR revela una secuencia de transformación estructural y química bien definida desde biomasa cruda hasta material dopado con Zr. En XRD, la biomasa muestra un halo en 15–16° (2 $\theta$ ) y un pico (200) amplio y débil en 22–23° (2 $\theta$ ), indicadores de celulosa I con baja cristalinidad por el efecto de lignina y hemicelulosa (French, 2014; Popescu et al., 2009; Segal et al., 1959). Tras la alcalinización, el (200) se intensifica y estrecha, y el halo disminuye, lo que sugiere extracción de fracciones amorfas y reordenamiento de microfibrillas (Colom & Carrillo, 2002; Ouajai & Shanks, 2005; Široký et al., 2012). La carboxilación provoca el ensanchamiento del (200) y una ligera recuperación del halo, coherentes con la introducción de grupos carboxilo y la alteración de la red de puentes de hidrógeno (Heinze & Liebert, 2001; Habibi et al., 2010; French, 2014). Finalmente, el dopado con Zr añade picos en 28.2°, 31.4° y 34.3° (ZrO<sub>2</sub>) y eleva el fondo entre 10–25° (Zr(OH)<sub>4</sub>), mientras el (200) persiste con menor contribución, confirmando un composite orgánico–inorgánico (Ambrosi et al., 2012; Basahel et al., 2015; Meza-Gálvez et al., 2018). En FTIR, la biomasa cruda exhibe una banda O–H ancha en 3330–3400  $\text{cm}^{-1}$ , señales C–H en 2920/2850  $\text{cm}^{-1}$ , un carbonilo  $\sim$ 1735  $\text{cm}^{-1}$ , bandas aromáticas de lignina en 1600–1510  $\text{cm}^{-1}$ , la región C–O–C/C–O en 1160–1030  $\text{cm}^{-1}$  y la banda  $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4) en  $\sim$ 897  $\text{cm}^{-1}$  (Pandey & Pitman, 2003; Popescu et al., 2009). Tras la alcalinización, disminuye con fuerza 1735  $\text{cm}^{-1}$  (saponificación) y emergen carboxilatos con componentes asimétrica 1590–1560  $\text{cm}^{-1}$  y simétrica 1425–1400  $\text{cm}^{-1}$ , junto con menor contribución aromática y mayor señal C–O–C (Colom & Carrillo, 2002; Ouajai & Shanks, 2005; Pandey & Pitman, 2003). La carboxilación refuerza las bandas de COO<sup>–</sup> en 1605–1580 y  $\sim$ 1420  $\text{cm}^{-1}$ , confirmando grupos –O–CH<sub>2</sub>–COO<sup>–</sup> e incrementando la hidrofilia (Heinze & Liebert, 2001; Habibi et al., 2010). El dopado con Zr desplaza las bandas de COO<sup>–</sup> a menor número de onda (1570–1560 y 1405–1390  $\text{cm}^{-1}$ ) y revela Zr–O/Zr–O–Zr en



600–500  $\text{cm}^{-1}$ , consistentes con coordinación Zr–carboxilato según el marco ácido–base dura/blanda (Ambrosi et al., 2012; Basahel et al., 2015; Meza-Gálvez et al., 2018; Pearson, 1963).

## Discusión

Los resultados de XRD y FTIR evidencian una secuencia coherente de transformación estructural y química. En biomasa, el halo 15–20° 2 $\theta$  y el pico ancho en 22–23° 2 $\theta$  reflejan celulosa I de baja cristalinidad (French, 2014; Popescu et al., 2009; Segal et al., 1959). FTIR confirma O–H ancha, C–H alifático, C=O  $\sim$ 1735  $\text{cm}^{-1}$  y bandas aromáticas (Pandey & Pitman, 2003). La alcalinización intensifica y estrecha el pico 22–23° 2 $\theta$  y reduce el halo, señal de extracción amorfa y reordenamiento (Colom & Carrillo, 2002; Ouajai & Shanks, 2005; Široký et al., 2012); en FTIR cae  $\sim$ 1735  $\text{cm}^{-1}$  y aparecen  $\text{COO}^-$  (Pandey & Pitman, 2003). La carboxilación mantiene el pico 22–23° 2 $\theta$  pero lo ensancha por defectos  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$  y refuerza  $\text{COO}^-$  en FTIR (Heinze & Liebert, 2001; Habibi et al., 2010). El dopado con Zr atenúa el pico 22–23° 2 $\theta$ , eleva el fondo y añade picos/firmas de  $\text{ZrO}_2/\text{Zr}(\text{OH})_4$ , mientras FTIR muestra desplazamientos de  $\text{COO}^-$  y bandas Zr–O, consistentes con coordinación de un ácido duro ( $\text{Zr}^{4+}$ ) a bases duras carboxilato (Ambrosi et al., 2012; Basahel et al., 2015; Meza-Gálvez et al., 2018; Pearson, 1963). En conjunto, se conforma un material con alta densidad de sitios aniónicos y ácidos de Lewis, adecuado para sorción de  $\text{Pb}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ .

## Conclusiones

La evolución estructural y funcional se sustenta en: (i) aumento de cristalinidad por alcalinización (Colom & Carrillo, 2002; Ouajai & Shanks, 2005; Široký et al., 2012); (ii) cristalinidad defectuosa por carboxilación (Heinze & Liebert, 2001; Habibi et al., 2010); y (iii) formación de fases de zirconio mayormente amorfas con coordinación carboxilato (Ambrosi et al., 2012; Basahel et al., 2015; Meza-Gálvez et al., 2018). FTIR respalda la desacetilación, generación de  $\text{COO}^-$  y su coordinación con Zr, habilitando sitios activos para sorción metálica (Pandey & Pitman, 2003; Pearson, 1963).

## Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Adriana Robledo Peralta, al Dr. Víctor Jesús Martínez Gómez y al Dr. Juan Moisés Galindo Solís por permitir el uso de los equipos XRD y FTIR. A la SECIHTI, agradecemos la beca otorgada y el apoyo institucional que hacen posible este proyecto.

## Referencias bibliográficas

- Ambrosi, M., Fratini, E., Canton, P., Dankesreiter, S., & Baglioni, P. (2012). Bottom-up/top-down synthesis of stable zirconium hydroxide nanophases. *Journal of Materials Chemistry*, 22, 23497–23505. <https://doi.org/10.1039/C2JM34111E>
- Basahel, S. N., Ali, T. T., Mokhtar, M., & Narasimharao, K. (2015). Influence of crystal structure of nanosized  $\text{ZrO}_2$  on photocatalytic degradation of methyl orange. *Nanoscale Research Letters*, 10, 73. <https://doi.org/10.1186/s11671-015-0780-z>
- Colom, X., & Carrillo, F. (2002). Crystallinity changes in lyocell and viscose-type fibres by caustic treatment. *European Polymer Journal*, 38(11), 2225–2230. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(02\)00132-5](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(02)00132-5)
- French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, 21(2), 885–896. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0030-4>
- Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479–3500. <https://doi.org/10.1021/cr900339w>

- Heinze, T., & Liebert, T. (2001). Unconventional methods in cellulose functionalization. *Progress in Polymer Science*, 26(9), 1689–1762. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00022-3)
- Meza-Gálvez, J., Olea-Mejía, O., Hernández-López, S., Viguera-Santiago, E., & Camacho-López, M. (2018). Amorphous  $\text{Zr}(\text{OH})_4$  to  $\text{t-ZrO}_2$  transformed isothermally. *Superficies y Vacío*, 31(3), 44–47. [https://doi.org/10.47566/2018\\_syv31\\_1-030044](https://doi.org/10.47566/2018_syv31_1-030044)
- Ouajai, S., & Shanks, R. A. (2005). Composition, structure and thermal degradation of hemp cellulose after chemical treatments. *Polymer Degradation and Stability*, 89(2), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.01.016>
- Pandey, K. K., & Pitman, A. J. (2003). FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(3), 151–160. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00045-1](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00045-1)
- Pearson, R. G. (1963). Hard and soft acids and bases. *Journal of the American Chemical Society*, 85(22), 3533–3539. <https://doi.org/10.1021/ja00905a001>
- Popescu, C. M., Singurel, G., Popescu, M. C., Vasile, C., Argyropoulos, D., & Willför, S. (2009). Vibrational spectroscopy and X-ray diffraction methods to establish the differences between hardwood and softwood. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 851–857. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.02.024>
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., & Conrad, C. M. (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786–794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>
- Široký, J., Benians, T. A. S., Russell, S. J., Bechtold, T., Knox, J. P., & Blackburn, R. S. (2012). Analysis of crystallinity changes in cellulose polymers using carbohydrate-binding modules. *Carbohydrate Polymers*, 89(1), 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.02.073>

## IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE RIESGO ONCOLÓGICO EN PACIENTES CON VPH E INFECCIONES CONCOMITANTES

Iridian Estefany Tovar Salas<sup>1</sup>, Miguel Angel Reyes López<sup>1</sup>, María de Lourdes Garza Rodríguez<sup>2</sup>, Diana Cristina Pérez Ibave<sup>2</sup>, Montserrat Hernández Saldaña<sup>2</sup>, Fernando Alcorta Núñez<sup>2</sup>, Oscar Vidal Gutiérrez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CBG. Boulevard del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Tamaulipas, México.<sup>2</sup> Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” (HU) de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Madero y Gonzalitos S/N, Mitras Centro, Monterrey, N.L.

[\\*itovars2100@alumno.ipn.mx](mailto:itovars2100@alumno.ipn.mx)

### Resumen

El cáncer cervicouterino es una de las principales neoplasias ginecológicas asociada a infecciones persistentes por el virus del Papiloma Humano (VPH). La persistencia viral, junto con alteraciones en la microbiota vaginal y coinfecciones por patógenos de transmisión sexual, incrementa el riesgo de progresión a lesiones intraepiteliales y cáncer invasor. Este estudio tiene como objetivo identificar biomarcadores genómicos y proteicos asociados al riesgo de persistencia viral en pacientes VPH positivas coinfectadas con otros microorganismos, incluyendo *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* y *Mycoplasma hominis*. Se trata de un estudio prospectivo, observacional y descriptivo en el que se obtienen muestras de exudado cervical de pacientes con y sin lesiones cervicales atendidas en una clínica de colposcopia del HU. La detección del VPH de los microorganismos de transmisión sexual se realiza mediante PCR en tiempo real e hibridación reversa. También se realizarán la detección de microRNAs, RNAm, lncRNA, microbiota vaginal, exosomas y la detección de proteínas virales y del huésped. Este planteamiento busca generar información sobre mecanismos moleculares que promueven la persistencia viral. Los hallazgos podrían contribuir a la identificación temprana de mujeres con mayor riesgo de progresión y a optimizar estrategias de prevención y seguimiento clínico.

**Palabras clave:** Virus del Papiloma Humano; cáncer cervicouterino; biomarcadores; coinfecciones; microbiota vaginal.

### Introducción

El cáncer cervicouterino (CC) importante causa de morbilidad en mujeres está ligado a infecciones persistentes por el VPH de alto riesgo (Latorre-Millán, 2025). Aunque la mayoría de las infecciones por VPH son transitorias, algunas progresan a lesiones precancerosas y CC, (Ming Zhao, 2024). Esta progresión se ve influenciada por factores virales y coinfecciones con infecciones de transmisión sexual (ITS) como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* y *Trichomonas vaginalis*. Las ITS modulan la respuesta inmune y generan cambios inflamatorios en el epitelio vaginal y cervical que influyen en la persistencia del VPH y el riesgo a CC. La interacción VPH - microorganismos altera el microbiota vaginal, disminuyendo *Lactobacillus spp.* y favoreciendo disbiosis lo que incrementa el riesgo de infecciones y progresión de lesiones (Norenhag, 2020). *C. trachomatis*, podría ser un cofactor crítico en la carcinogénesis cervical (Onzia AA, 2025). Los biomarcadores moleculares, como

los microRNAs, RNAm, lncRNA, exosomas y proteínas virales/del huésped, podrían predecir el riesgo de malignización (Sen Liu, 2023) (Gameiro SF, 2023) (Chen P, 2020). La identificación de perfiles específicos de biomarcadores para estratificar el riesgo de desarrollar de persistencia viral en pacientes coinfectadas es un desafío. Las tecnologías como PCR en tiempo real y secuenciación de nueva generación son herramientas prometedoras. (Basiletti J, 2022). Objetivo del trabajo: Identificar biomarcadores genómicos y proteicos asociados al incremento del riesgo de CC en pacientes VPH positivas coinfectadas con ITS.

## Materiales y métodos

Extracción y cuantificación de ADN:

El ADN se extrajo de células cervicales utilizando el kit QIAGEN® DNeasy Blood & Tissue, con modificaciones. Los pellets celulares se resuspendieron en PBS, se incubaron con proteinasa K y buffer AW1 a 56 °C durante 24 horas. Posteriormente se agregó buffer AL y etanol. La solución se transfirió a columnas de centrifugación, se lavó con los buffers AW1 y AW2 y se eluyó con buffer AE. El ADN se almacenó a -80 °C. La cuantificación y la pureza del ADN se evaluaron espectrofotométricamente (Cytation 33™, BioTek Instruments) utilizando las relaciones de absorbancias A260/A280 y A260/A230. La pureza aceptable se definió como una relación A260/A280 entre 1,8 a 2,0.

Detección del VPH (PCR en tiempo real) y Genotipificación del VPH (INNO-LiPA)

Para la detección del ADN del VPH se utilizó el kit de PCR GeneProof (GeneProof a.s.) con sondas TaqMan® dirigidas al gen L1 del VPH para la detección simultánea de VPH de alto y bajo riesgo. Las reacciones utilizaron de 200 a 1000 ng de ADN por reacción. La reacción de PCR consiste en: 96 °C durante 10 min, seguido de 45 ciclos de 95 °C durante 5 segundos y 60 °C durante 60 segundos. Consulte la Tabla 1 para obtener más información (QIAGEN® Rotor Gene-Q EQ-TC-01). Las muestras positivas para VPH se genotipificaron utilizando el kit INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II (Fujirebio Europe N.V.). Este ensayo identifica hasta 32 genotipos de VPH mediante PCR e hibridación inversa. La amplificación se realizó con 100 a 500 ng de ADN, con las siguientes condiciones de ciclado: 94 °C durante 9 min, 40 ciclos de 94 °C durante 30 s, 50 °C durante 45 s y 72 °C durante 45 s, con una extensión final a 72 °C durante 5 min. La hibridación se realizó a una temperatura de 49 a 51 °C durante 30 min, seguida de lavados, revelado (conjugado L1/L2, BCIP/NBT) y visualización de bandas frente a un estándar de referencia. Los controles internos validaron la calidad del ADN y la reacción. La Tabla 3 detalla las condiciones de reacción.

## Resultados

De un total de 142 pacientes con resultados válidos para VPH, se identificó que 87 (61.3%) fueron positivas para el VPH y 60 (42.3% del total) presentaron coinfecciones con al menos otro patógeno de transmisión sexual, destacándose con una alta frecuencia de *Ureaplasma parvum* (65.0%), *Mycoplasma hominis* (40.0%) y *Ureaplasma urealyticum* (31.7%). Cabe resaltar que casi un tercio de las pacientes coinfectadas presentaron dos o más patógenos adicionales al VPH. El análisis de los hallazgos citopatológicos demostró una clara asociación entre la coinfección y la severidad de las lesiones cervicales. Entre las pacientes con infección (VPH+/ETS+), el 47,4% presentó lesiones de alto grado (ASC-H, HSIL, NIC II/III o carcinoma), mientras que en el grupo con infección única por VPH (VPH+/ETS-), esta proporción fue significativamente menor (25,9%). Ninguna paciente del grupo control negativo (VPH-/ETS-) presentó lesiones de alto grado. Este patrón se reflejó en una razón de posibilidad de 2.62 para el desarrollo de lesiones de alto grado en el grupo con coinfección en comparación con el grupo con coinfección única por VPH. El perfil de genotipos de VPH varió sustancialmente entre los grupos de estudio. En las pacientes coinfectadas con VPH e ITS los genotipos de alto riesgo predominantes fueron el VPH-51 (48,3%), VPH-56 (45,0%) y VPH-

52 (41,7%), mientras que en el grupo con VPH positivas sin ITS se observó una mayor frecuencia de los genotipos VPH-16 (33,3%) y VPH-51 (29,6%). La edad promedio de las pacientes coinfectadas fue de 34.1 años, ligeramente menor que la del grupo con infección única por VPH (36.2 años). La mayoría de las pacientes en todos los grupos se encontraban en situación de “Casada” (n=68; 47%) o “Unión libre” (11; 7.7%). Estos resultados sugieren que la coinfección con patógenos como *Ureaplasma parvum* y *Mycoplasma hominis* se asocia con un perfil de mayor riesgo oncogénico, caracterizado por una mayor frecuencia de lesiones de alto grado y una diversidad de genotipos de VPH de alto riesgo no-16/18, lo que sustenta su potencial papel como cofactores en la persistencia viral y la carcinogénesis cervical.

## Discusión

Los resultados de este estudio revelan que la coinfección de ITS en pacientes VPH positivas, particularmente *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma* spp., es un hallazgo frecuente y clínicamente relevante que se asocia con un perfil de mayor riesgo de progresión hacia lesiones cervicales de alto grado. Los datos obtenidos mostraron que las coinfecciones están presentes en el 42.3% de las pacientes VPH+ y que estas pacientes tienen 2.62 veces mayor riesgo de desarrollar lesiones de alto grado. Un estudio reciente reportó que la coinfección con *Ureaplasma urealyticum* potencia la expresión de las oncoproteínas E6 y E7 del VPH *in vitro*. Este aumento de la expresión es inducido por un microambiente inflamatorio, el cual promueve la proliferación celular y la inhibición de la apoptosis (Y. Song, 2020). Esta propuesta ofrece una explicación molecular plausible para los resultados clínicos observados en esta cohorte, sugiriendo que estas coinfecciones no son meros espectadores sino colaboradores activos en la carcinogénesis. El perfil de genotipos del VPH observado en las pacientes coinfectadas mostró una mayor diversidad de genotipos de alto riesgo no 16/18 (como 51,56 y 52), lo cual constituye un hallazgo crítico. Esto se alinea con investigaciones que indican que ciertas comunidades microbianas cervicovaginales displásicas pueden crear un ambiente que favorece la persistencia de múltiples genotipos de VPH. Aunque los genotipos 16 y 18 son los más oncogénicos, la presencia de otros genotipos de alto riesgo en conjunto podría tener un efecto sinérgico que acelere la progresión de la enfermedad, un aspecto que requiere más investigación (Usyk, 2020). La alta prevalencia de *Ureaplasma parvum* (65%) identificada en este estudio es notable. Investigaciones recientes proponen que *U. parvum* posee más factores de virulencia en comparación con *U. urealyticum*, incluida su capacidad para inducir daño en el epitelio cervical e invadir las células del hospedero, lo que podría exacerbar los efectos carcinogénicos del VPH (M. Mardhia, 2023). Los resultados del presente análisis mostraron que la mayoría de las pacientes coinfectadas se encuentran en una relación de pareja estable (“casada” o “Unión Libre”). Este dato desmitifica la idea de que las coinfecciones son exclusivas de poblaciones con múltiples parejas sexuales recientes. Estos hallazgos refuerzan el concepto de que la disbiosis microbiana y la persistencia de estos patógenos puede ocurrir en contextos de relaciones estables, destacando la importancia de considerar la historia de infecciones microbianas que se han mantenido por períodos largos de tiempo (> 12 meses) y no solo de su comportamiento sexual reciente (Yang, 2022).

## Conclusiones

Las ITS en pacientes VPH positivas tienen mayor riesgo de evolucionar a lesiones cervicales de alto grado que las pacientes VPH positivas sin coinfecciones. La epidemiología de los VPH de alto riesgo en pacientes coinfectadas varía en comparación con las pacientes VPH positivas sin coinfecciones. Esto sugiere que las coinfecciones bacterianas podrían promover infecciones persistentes y aumentar el riesgo de CC mediante inflamación crónica. El cribado pareado de VPH e ITS podría mejorar la evaluación del riesgo y la atención personalizada. Identificar a



este grupo de alto riesgo es clave para la investigación de biomarcadores en la progresión del cáncer.

### **Agradecimientos**

A el Dr. Miguel Angel Reyes López del CBG-IPN. A la Dra. C. María de Lourdes Garza Rodríguez dl Centro Universitario Contra el Cáncer del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”. Al equipo del Servicio de Oncología y del Laboratorio LIBAC.

### **Referencias bibliográficas**

- Latorre-Millán, M. T.-B. (2025). HPV-Associated Sexually Transmitted Infections in Cervical Cancer Screening: A Prospective Cohort Study. *Viruses*, 17(2), 247.
- Chen P, Z. W. (Jul de 2020). Comprehensive analysis of aberrantly expressed long non coding RNAs, microRNAs, and mRNAs associated with the competitive endogenous RNA network in cervical cancer. *Mol Med Rep.*, 22(1), 405-415.
- Basiletti J, V. J. (23 de November de 2022). Human papillomavirus genotyping using next generation sequencing (NGS) in cervical lesions: Genotypes by histologic grade and their relative proportion in multiple infections. (U. o. Cecilia Acuti Martellucci, Ed.) *PLOS One*, 17(11).
- Gameiro SF, F. K. (Aug. de 2023). Human Papillomavirus-Associated Tumor Extracellular Vesicles in HPV+ Tumor Microenvironments. *J Clin Med.*, 12(17).
- M. Mardhia, A. Y. (2023). Role of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* as Risk Factors for Cervical Dysplasia with Human Papillomavirus. *Journal of Pure and Applied Microbiology*.
- M. Schiffman, N. W. (2013). Human Papillomavirus Infection and the Multistage Carcinogenesis of Cervical Cancer. . *Cancer Epidemiol Biomarkers*.
- Ming Zhao, P. K. (18 de October de 2024). Global pattern of persistent human papillomavirus infection in female genital tract: An update system review and meta-analysis. *iScience*, 27(10).
- Norenhag, J. D. (Jan de 2020). The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 127(2), 171-180.
- Onzia AA, M. A.-R. (2025). Associations with Prevalent Sexually Transmitted Infection Prevalence among Young Women Domestic Workers in Central Uganda. *medRxiv*.
- Sen Liu, X. Y. (June de 2023). The biogenesis, biological functions and modification of Circular RNAs. *Experimental and Molecular Pathology*, 131.
- Usyk, M. Z. (2020). Cervicovaginal microbiome and natural history of HPV in a longitudinal study. *PLoS pathogens*.
- Y. Song, X. W. (2020). HPV E7 inhibits cell pyroptosis by promoting TRIM21-mediated degradation and ubiquitination of the IFI16 inflammasome. *International Journal of Biological Sciences* , 2924-2937.
- Yang, Z. Z.-E. (2022). Vaginal microbiota and personal risk factors associated with HPV status conversion-A new approach to reduce the risk of cervical cancer? *PloS one*.

## EFFECTO ESTIMULANTE DE UN EXTRACTO FENÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y VARIABILIDAD EPIGENÉTICA DE PLÁNTULAS DE *Agave durangensis* SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO

Juan Francisco Valenzuela Agüero<sup>1</sup>, Rene Torres Ricario<sup>1</sup>, Marcela Verónica Gutiérrez Velázquez<sup>1</sup>, José Antonio Ávila Reyes<sup>1</sup>, Netzahualcóyotl Mayek Perez<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Durango, Calle sigma No. 119, Fracc. 20 de Noviembre II, C.P. Durango, México., <sup>2</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica, Boulevard del Maestro SN, Narciso Mendoza, 88710 Tamaulipas, México.

\*renetr27@gmail.com

### Resumen

La salinidad del suelo es un desafío creciente para la agricultura, afectando especies de interés económico como *Agave durangensis*, empleada en la producción de mezcal en Durango. Este estudio evaluó el potencial del propóleo como bioestimulante durante la germinación y el desarrollo temprano de plántulas bajo estrés salino. El propóleo, recolectado en La Soledad, Canatlán (Durango), fue caracterizado mediante espectrometría y HPLC-DAD, identificándose 25 compuestos fenólicos, principalmente ácidos fenólicos, flavonas, flavonoles y dihidroflavonoides. Semillas de *A. durangensis* se sometieron a NaCl (60, 80 y 120 mM) y pretratamientos con extractos etanólicos de propóleo (6, 12 y 24 mg/mL). El almacenamiento a -20 °C favoreció la extracción de compuestos fenólicos. La concentración de 6 mg/mL aumentó la germinación en 26% y la velocidad de germinación en 25.4% bajo 60 mM de NaCl, y alcanzó hasta 96% de germinación en 120 mM de NaCl. Estos resultados destacan la tolerancia de *A. durangensis* al estrés salino y el efecto potenciador del propóleo como bioestimulante natural.

**Palabras clave:** Propóleo, *Agave durangensis*, estrés salino

### Introducción

Los suelos salinos representan un desafío para la agricultura. Para el año 2050, pueden experimentar un aumento significativo debido a la sequía, afectando más del 50% de la tierra cultivable global (Ilangumaran et al. 2021). Esto subraya la necesidad de estudiar respuestas al estrés salino para el cultivo de especies como *Agave durangensis*, utilizado en la producción de mezcal en Durango y de importancia cultural, económica, y ecológica (Gallegos et al. 2024). Una estrategia potencial para cultivar plantas en suelos salinos es el uso de estimulantes naturales como el propóleo. Éste es un producto apícola con propiedades antimicrobianas y composición química diversa, que incluye aminoácidos, azúcares, vitaminas y compuestos fenólicos (Pellat 2011; Semida y Rady 2014). El objetivo del presente trabajo es evaluar el potencial del propóleo como mejorador de las respuestas de *A. durangensis* al estrés salino durante la germinación y estados tempranos del desarrollo de plántulas.

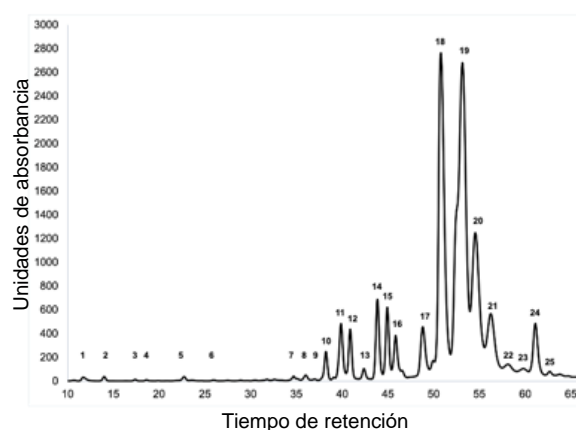
### Materiales y métodos

Se recolectaron muestras de propóleo de colmenas ubicadas en el poblado la Soledad en el municipio de Canatlán, Durango, México. Se compararon muestras almacenadas a temperatura ambiente y muestras almacenadas a -20 °C por 24 horas. Los extractos fenólicos se prepararon por maceración en etanol al 80% y se determinó, por métodos espectrométricos, el contenido de fenoles totales (Pellat 2011), flavonoides (Pellat 2011) y taninos condensados, y por HPLC-

DAD se determinó la composición de flavonoides y de ácidos fenólicos (Pellat 2011). Se utilizaron semillas de *A. durangensis* obtenidas en el Coyote municipio de El Mezquital, Durango. Se registraron los días a la germinación, semillas germinadas/día. Con esos registros se estimó el porcentaje, velocidad, y homogeneidad de germinación. Se sembraron 50 semillas de *A. durangensis* por lote experimental cada uno por triplicado en charolas de plástico de 200 cavidades con un sustrato compuesto por una mezcla 4:1 de turba y arena sílice, las cuales fueron sometidas a condiciones de salinidad al saturar el sustrato con soluciones de NaCl a concentraciones de 80, 120 y 180 mM (Semida y Rady 2014), midiendo la conductividad eléctrica para ajustar y mantener constante las condiciones de salinidad en el sustrato, así mismo, las semillas se dejaron reposando por 24 horas en extractos etanólicos de propóleo a concentraciones de 6, 12, 24 mg/mL (Semida y Rady 2014). Se evaluaron los datos morfométricos como altura de la planta, longitud de raíz, dimensiones de las hojas y los días a la aparición de la segunda hoja.

## Resultados

Se determinó la composición de flavonoides y ácidos fenólicos mediante un método en gradiente por HPLC-DAD, Los resultados de HPLC-DAD (Figura 1) indicaron una compleja composición fenólica para el propóleo analizado, revelando 25 compuestos fenólicos, entre los cuales predominaron dihidroflavonoides, derivados de ácidos fenólicos flavonoles y flavonas.



**Figura 1.** Cromatograma de HPLC-DAD para el extracto etanólico de propóleo registrado a 265 nm.

Se llevó a cabo el registro de los días a la germinación de las semillas de *Agave durangensis* (G), el número de semillas germinadas por día, con estos datos se realizó una estimación de germinabilidad (G%), estimación de la velocidad de germinación ((VG) y estimación de la homogeneidad de germinación (Tabla 2).

**Tabla 2.** Resultados del análisis de germinación de semillas de *Agave durangensis*.

Tratamiento	G (días)	G (semillas/días)				G (%)	IG (Índice de germinación)	VG (semillas/día)	CVG (%G/día)
		2	3	4	5				
C0	2	2	14	26	44	87.33	12.2±1.756	5.611±0.241	0.249±0.018
C60	3	0	7	22	40	79.33	9.6±0.3	5.16±0.484	0.234±0.004
C80	2	3	15	25	43	86.67	12.322±3.046	5.708±0.456	0.249±0.019
C120	2	2	13	33	47	93.33	12.911±0.242	5.357±0.319	0.252±0.003
CEEP6	3	0	4	24	39	78	9.333±1.127	4.282±0.816	0.233±0.01
CEEP12	3	0	2	25	35	74.67	8.4±0.855	4.238±0.816	0.236±0.002
CEEP24	3	0	3	26	37	73.33	8.867±0.885	4.218±0.818	0.237±0.005
H0	3	0	5	24	35	70.67	8.667±1.74	4.189±0.172	0.238±0.005
H60	3	0	7.7	31	43	86.67	10.856±0.583	4.108±0.111	0.244±0.01
H80	2	0	10	36	48	95.33	12.211±0.488	4.021±0.118	0.249±0.005
H120	2	0	5.3	22	41	82	9.744±0.515	4.33±0.034	0.231±0.007
EEP6-60	2	1	16	34	48	95.33	12.889±1.67	5.622±0.255	0.255±0.017
EEP6-80	2	2	17	34	43	90	12.011±0.433	5.519±0.168	0.251±0.004
EEP6-120	2	0	9.7	29	40	92	11.956±0.961	5.449±0.456	0.248±0.012
EEP12-60	2	2	17	34	43	86.67	12.506±1.521	5.738±0.445	0.264±0.003
EEP12-80	3	0	14	32	43	86	11.322±0.544	5.535±0.522	0.254±0.018
EEP12-120	3	0	11	25	44	87.33	10.911±0.571	5.473±0.361	0.24±0.006
EEP24-60	2	0	9.7	29	40	80.67	10.461±0.394	5.223±0.144	0.25±0.017
EEP24-80	2	0	14	26	45	90	11.594±0.901	5.615±0.088	0.244±0.008
EEP24-120	2	0	13	27	42	84	10.983±0.6	5.619±0.184	0.248±0.014

## Discusión

La caracterización del propóleo analizado en este estudio reveló la presencia predominante de ácidos fenólicos, dihidroflavonoides, flavonas y flavonoles, una composición semejante a la descrita por Buitrago et al. en propóleos del Huila, Colombia. De manera similar, Silva Beltrán et al. compararon muestras de México y Brasil, encontrando que, pese a sus variaciones, ambas comparten compuestos fenólicos, también identificados en el propóleo de La Soledad, Durango. Por su parte, Alcívar Saldaña et al. reportaron en Veracruz la presencia de ácidos fenólicos, dihidroflavonoides y flavonoles en propóleo y miel de *Apis mellifera*, subrayando su relevancia por las propiedades antioxidantes asociadas. En conjunto, estos hallazgos evidencian la influencia de la flora local en la composición y las propiedades fisicoquímicas y biológicas del propóleo. Hasta el momento no existen estudios sobre el uso de extractos de propóleo en semillas de *Agave durangensis* ni en otras especies de *Agave*. No obstante, investigaciones en otras plantas han demostrado efectos benéficos. En *Spinacia oleracea*, El-Yazal reportó que el remojo de semillas con extractos etanólicos de propóleo (EEP) fortalece la tolerancia al estrés salino, mejora el rendimiento y optimiza el uso de nitrógeno. De manera similar, Semida et al. evidenciaron en *Phaseolus vulgaris* que el tratamiento con EEP incrementa antioxidantes, osmoprotectores y fitohormonas, favoreciendo el desempeño de las plantas tanto en condiciones normales como bajo estrés. Investigaciones del laboratorio de Biotecnología del CIIDIR-IPN Durango demostraron que *Agave durangensis* mantiene porcentajes de germinación de 72% y 83% en poblaciones de Nombre de Dios y El Mezquital, respectivamente, bajo 100 mM de NaCl en 12 días. Sin embargo, al aplicar un pretratamiento

con extracto etanólico de propóleo (EEP), las semillas expuestas a 120 mM de NaCl alcanzaron hasta un 96% de germinación en solo 5 días, lo que representa un incremento del 13% respecto a las no tratadas.

### Conclusiones

El propóleo analizado mostró un alto contenido de compuestos fenólicos, reforzando su valor potencial para aplicaciones industriales. Su almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$  favoreció la extracción de dichos compuestos. El uso de DMSO al 1% tuvo un impacto mínimo en la germinación de semillas de *Agave durangensis* bajo estrés salino. Los efectos del propóleo variaron según la concentración de NaCl, destacando que la dosis de 6 mg/mL promovió la mayor germinación en condiciones de 60 y 80 mM de NaCl respecto a los controles.

La germinación (G) y la velocidad de germinación (VG) de *Agave durangensis* respondieron de manera diferencial al estrés salino. A 60 mM de NaCl, la VG disminuyó 21.7%, mientras que a 120 mM se observó un incremento del 6% en G respecto al control. El efecto del extracto etanólico de propóleo (EEP) fue dependiente de la salinidad, destacando que la concentración de 6 mg/mL en semillas expuestas a 60 mM de NaCl elevó G en 26% y VG en 25.4% en comparación con el control. Además, la especie mostró una notable tolerancia al nivel más alto evaluado (120 mM), alcanzando 93.3% de germinación y una VG de 12.91 semillas/día, lo que indica su potencial de supervivencia en condiciones salinas severas. La concentración más baja de extracto etanólico de propóleo (6 mg/mL) mostró el mayor efecto estimulante sobre la germinación de *Agave durangensis* bajo todas las condiciones salinas evaluadas, superando al estimulante comercial. Bajo estrés de 120 mM de NaCl, las semillas tratadas con este extracto alcanzaron hasta 96% de germinación, lo que representa un incremento del 13% en comparación con los resultados reportados por Gallegos et al. para semillas expuestas a 100 mM de NaCl.

### Agradecimientos

Al Dr. Rene Torres Ricario por el apoyo financiero a través del proyecto SIP 20250004. A la SECIHTI por la beca otorgada con folio de CVU 704351.

### Referencias bibliográficas

- Gallegos-Hernández, G., Almaráz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Ávila-Reyes, J. A., & Torres-Ricario, R. (2024). Variation of the chemical and biochemical responses to salinity during germination and early growth of seedlings of two populations of *Agave durangensis* Gentry. *Plant Science Today*. 11: 193-204.
- Ilangumaran, G., Schwinghamer, T., & Smith, D. L. (2021). Rhizobacteria From Root Nodules of an Indigenous Legume Enhance Salinity Stress Tolerance in Soybean. *Frontiers In Sustainable Food Systems*, 4: 1-17.
- Pellati F, Orlandini G, Pinetti D, Benvenuti S (2011). HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 55: 934-948.
- Semida, W. M., & Rady, M. M. (2014). Presoaking application of propolis and maize grain extracts alleviates salinity stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientia Horticulturae*, 168: 210-217.
- El-Yazal, Mohamed A. 2019. Presoaking treatment of propolis aqueous extract alleviates salinity stress in Spinach (*Spinacia oleracea* L.) Plants grown under calcareous saline soil conditions. *International Letters of Natural Sciences* 76: 23-33.



## EFEECTO DE QUERCETINA EN LA MODULACIÓN DEL CYP450 Y ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO DE RATAS OBESAS

Mercedes Uriyah Velazquez Romero<sup>1</sup>, Ángel Miliar García<sup>2</sup>, Aarón Domínguez López<sup>2</sup>,  
María Eugenia Jaramillo Flores<sup>3</sup>, Jorge Cornejo Garrido<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Celular y Productos Naturales, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía (ENMH), Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México <sup>2</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Escuela Superior de Medicina (ESM), Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México <sup>3</sup>Laboratorio de Biopolímeros, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México.

\* mvelazquezr2100@alumno.ipn.mx

### Resumen

Existe evidencia de que las enzimas citocromo P450 (CYP450) participan en el desarrollo de esteatosis y el estrés del retículo endoplásmico (RE) en la EHGNA. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la quercetina en la modulación del CYP450, utilizando un modelo murino con hígado graso no alcohólico. Después de una semana de adaptación, se formaron cuatro grupos experimentales un grupo control alimentado con dieta estándar y 3 alimentados con dieta alta en grasas que incluía el grupo control EHGNA y el grupo tratado con quercetina y pioglitazona como fármaco control durante 15 semanas. Mediante análisis histopatológicos se observó que el tratamiento con quercetina disminuyó los cambios morfológicos en el tejido hepático debido al hígado graso no alcohólico, así como el índice hepático y se evaluaron muestras sanguíneas para analizar los parámetros de glucosa, hemoglobina glicosilada, AST, ALT y triglicéridos los cuales mejoraron en comparación con el control EHGNA. Asimismo se observó un efecto inhibitor *in vitro* sobre las enzimas CYP450 en los grupos con tratamiento. Estos resultados se relacionan con un posible efecto hepatoprotector en la EHGNA.

**Palabras clave:** EHGNA, UPR, CYP450

### Introducción

La enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) es una afección caracterizada por la acumulación excesiva de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos, definida como esteatosis hepática (Murzi Pulgar et al. 2017). Se estima que esta enfermedad afecta del 25 al 30 % de la población mundial (Ezhilarasan y Lakshmi 2022). Se ha mencionado que las enzimas citocromo P450 (CYP450) participan en el desarrollo de estrés del RE en los hepatocitos debido a la esteatosis y esto se ha relacionado con una progresión de la enfermedad (Wang et al. 2021). Las enzimas del citocromo P450 se localizan en la membrana del RE y mitocondrias, se encuentran principalmente en el hígado y son responsables de catalizar el metabolismo oxidativo de una amplia variedad de sustancias así como generar simultáneamente especies reactivas de oxígeno (ROS) (Park et al., 2014; Guan et al., 2019).

Se ha observado que algunos polifenoles tienen la capacidad de inhibir la actividad de las enzimas citocromo, por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar si los polifenoles como la quercetina modulan el CYP450 y ejercen un efecto terapéutico en un modelo murino de hígado graso no alcohólico inducido por la dieta.

## Materiales y métodos

### Animales de experimentación

Se utilizaron ratas Wistar de 4 a 6 semanas de edad. El estudio inició con la primera semana de adaptación, se mantuvieron los animales con dieta estándar con acceso a alimento y agua, fotoperiodos de 12 h de luz por 12 h de oscuridad en jaulas de policarbonato.

Posterior a la semana de adaptación de manera aleatoria, se dividieron en 4 grupos experimentales, y se les administró una dieta estándar o una dieta alta en grasas junto con los tratamientos correspondientes durante 15 semanas. Posteriormente se realizó la eutanasia de los animales y se obtuvieron muestras del tejido hepático para el análisis histológico, además de muestras sanguíneas para analizar el perfil hepático.

### Estudios moleculares y ensayos de inhibición *in vitro*

Se evaluó el potencial inhibidor de la quercetina sobre los CYP450 mediante estudios de inhibición *in vitro* con el kit de detección Assay Theory Vivid® CYP450. Todos los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de una prueba post hoc de Bonferroni;  $p < 0,05$  se consideró significativo.

## Resultados

En el modelo *in vivo* la quercetina redujo la esteatosis, se observaron los hígados de los diferentes grupos experimentales y se notó una apariencia más blanquecina y grasosa en el grupo control EHGNA en comparación con el grupo sano y los grupos con tratamiento, los cuales se observaron con una apariencia normal, histológicamente se observó una menor acumulación de lípidos en el citoplasma del grupo sano y los grupos con tratamiento en comparación con el grupo control EHGNA, así como fue evidente un fenotipo menos obeso para el grupo con tratamiento (Figura 1).



**Figura 1.** Fenotipo de los diferentes grupos experimentales. SD-Sn: control sano; EHGNA: Grupo control hígado graso sin tratamiento; EHGNA+P: Grupo hígado graso tratado con pioglitazona. EHGNA+Q: Grupo hígado graso tratado con quercetina.

El tratamiento con quercetina, mejoró los parámetros bioquímicos disminuyendo los valores de glucosa, hemoglobina glicosilada, triglicéridos y aminotransferasas (Tabla 1).

**Tabla 1. Parámetros Bioquímicos de los grupos experimentales**

Parámetro	SD-sn	EHGNA	EHGNA+P	EHGNA+Q
Glucosa mg/dL	149.7± 7.03 <sup>a</sup>	284.4±23.67 <sup>b</sup>	212.5±17.12 <sup>a</sup>	203.8±16.06 <sup>a</sup>
Hemoglobina Glicosilada %	6.12±0.22 <sup>a</sup>	8.48±0.16 <sup>b</sup>	7.74±0.47 <sup>b</sup>	6.38±0.22 <sup>a</sup>
Triglicéridos mg/dL	78.75±6.88 <sup>a</sup>	172.4±26.12 <sup>b</sup>	70.11±5.29 <sup>a</sup>	150.9±20.29 <sup>b</sup>
AST U/L	60.40±18.8 <sup>a</sup>	153.8±13.92 <sup>b</sup>	129.2±15.52 <sup>b</sup>	128±12.23 <sup>b</sup>
ALT U/L	90.20±18.00	92±10.75	59±6.14	68.57±7.99
Índice Hepático%	2.144±0.04 <sup>a</sup>	2.41±0.04 <sup>b</sup>	1.77±0.05 <sup>c</sup>	2.20±0.05 <sup>a</sup>

A. Análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de un análisis post-hoc de Bonferroni. Un valor de  $p < 0,05$  se consideró significativo. Los valores se expresan como media ± SEM. Letras diferentes representan diferencias significativas.

Por último, la quercetina demostró un efecto inhibitor *in vitro* sobre las enzimas CYP450 (Tabla 2).

**Tabla 2. Inhibición del CYP450 con quercetina**

Enzima	Sustrato	IC <sub>50</sub>
CYP2E1	<i>Vivid. EOMCC</i>	48.4±0.03μM
CYP2B6	<i>Vivid. BOMCC</i>	46.1±1.26μM

A. Análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de un análisis post-hoc de Bonferroni. Un valor de  $p < 0,05$  se consideró significativo. Los valores se expresan como media ± SEM. Letras diferentes representan diferencias significativas.

## Discusión

En este trabajo se estableció un modelo de hígado graso no alcohólico inducido por una dieta alta en grasas, el modelo presentó alteración de los parámetros bioquímicos, esteatosis y aumento de la expresión de las enzimas citocromos, sin embargo, estos resultados mejoraron después del tratamiento con quercetina. En otros modelos cuando se administra quercetina se observa una reducción de los niveles de glucosa y HbA1C (Shi et al. 2019). Se ha observado que la silimarina inhibe la expresión proteica de CYP2E1 y esto se relacionó con una disminución de radicales libres en esteatohepatitis no alcohólica (Liu et al. 2019). Nuestros resultados sugieren que debido al efecto inhibitor sobre los CYP450 podría existir una menor producción de ROS y por lo tanto una disminución del estrés del RE como parte del papel hepatoprotector de quercetina.

## Conclusiones

Los polifenoles como la quercetina pueden reducir la esteatosis hepática al inhibir el CYP450 mejorando los cambios histológicos y parámetros bioquímicos alterados en la enfermedad de hígado graso no alcohólico.

## Agradecimientos

Agradecemos al IPN-Instituto Politécnico Nacional-México, proyectos SIP-20230132, SIP-20240608 y SIP20250013 y a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada a MU Velazquez Romero.

## Referencias bibliográficas

- Ezhilarasan D, Lakshmi T. A (2022) Molecular insight into the role of antioxidants in nonalcoholic fatty liver diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2022:1-9.
- Guan F, Yang X, Li J, Dong W, Zhang X, Liu N, Lu D (2019) New molecular mechanism underlying Myc-mediated cytochrome P450 2E1 upregulation in apoptosis and energy metabolism in the myocardium. *J Am Heart Assoc*. 8(1): e009871.
- Liu Y, Xu W, Zhai T, You J, Chen Y (2019) Silibinin ameliorates hepatic lipid accumulation and oxidative stress in mice with non-alcoholic steatohepatitis by regulating CFLAR-JNK pathway. *Acta Pharm Sin B*. 9(4):745-57.
- Murzi M, Cuyàs Espí B, Soriano Pastor G (2017) Definición e importancia de la enfermedad por hígado graso no alcohólico. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 1(Supl 2):2-5.
- Park C, Kim I, Hong Y, Hwang W, Cho S, Cha N, Kim H (2014) Inhibition of CYP4A reduces hepatic endoplasmic reticulum stress and features of diabetes in mice. *Gastroenterology*. 147(4):860-9.
- Shi GJ, Li Y, Cao QH, Wu HX, Tang XY, Gao XH, Yu JQ, Chen Z, Yang Y (2019) In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications: A systematic review of the literature. *Biomed Pharmacother*. 109:1085-99.
- Wang K, Tan W, Liu X, Deng L, Huang L, Wang X, Gao X (2021) New insight and potential therapy for NAFLD: CYP2E1 and flavonoids. *Biomed Pharmacother*. 137:111326.

## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TIRAPAZAMINA EN UN MODELO DE AMEBIASIS EXPERIMENTAL

Josue Fernando Velazquez Romero<sup>1</sup>, María Esther Ramírez Moreno<sup>1</sup>, Judith Pacheco Yépez<sup>2</sup>, Laurence Annie Marchat Marchau<sup>1</sup>, Gilberto Mandujano Lázaro<sup>1</sup>

Instituto Politécnico Nacional, <sup>1</sup>Nacional de Medicina y Homeopatía, <sup>2</sup>Escuela Superior de Medicina.

josuevelazquez224@gmail.com

### Resumen

La amebiasis es una enfermedad de alta prevalencia y mortalidad afectando países, como México, por lo que resulta prioritario buscar nuevas alternativas terapéuticas. La tirapazamina (TPZ) es un fármaco que se activa en condiciones hipóxicas y presenta efecto frente a microorganismos anaerobios, como *Entamoeba histolytica*, cuya actividad se ha demostrado *in vitro*. En este estudio evaluamos el efecto antiamebiano de la TPZ en un modelo de absceso hepático amebiano (AHA) en hámsteres. Los animales fueron inoculados intrahepáticamente con  $1 \times 10^6$  trofozoítos de *E. histolytica*. Tres días después recibieron nueve dosis intraperitoneales de 25 mg/kg de TPZ, aplicadas cada 48 horas. Se incluyeron animales sanos, infectados sin tratamiento y tratados con metronidazol (MTZ) como controles. Se determinó el porcentaje de lesión hepática, así como sus características macroscópicas. Los animales tratados con TPZ presentaron lesiones que comprometieron solo el 10% del hígado, resultado comparable al observado en los tratados con MTZ, mientras que los animales infectados sin tratamiento mostraron un daño del 70%. Además, el tejido hepático de los tratados con TPZ mostró características similares a los hígados sanos. Ensayos posteriores permitirán caracterizar con mayor detalle el efecto de la TPZ durante el desarrollo del absceso hepático amebiano en hámsteres.

**Palabras clave:** Tirapazamina, Quinoxalinas, Amebiasis, Absceso Hepático

### Introducción

*Entamoeba histolytica* es el parásito protozooario causante de la enfermedad infecciosa conocida como amebiasis, la cual afecta principalmente a países en vías de desarrollo, como México el cual reportó 119,000 casos en el año 2024. Los medicamentos disponibles para el tratamiento de esta enfermedad suelen provocar múltiples efectos adversos, lo que conduce con frecuencia a que los pacientes abandonen la terapia, favoreciendo así que la infección se mantenga y reaparezca, por lo que se vuelve esencial la búsqueda y desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas. Latirapazamina (TPZ) es un profármaco perteneciente al grupo de las quinoxalinas, cuyo uso inicial se centró en el ámbito oncológico debido a que se activa en condiciones anaerobias, como las vistas en tumores sólidos, por lo que inicialmente se centró su uso en este ámbito. No obstante, se ha identificado que también presenta actividad antibacteriana (Shah et al. 2013), particularmente frente a microorganismos con metabolismo anaerobio, como *E. histolytica*. En un estudio reciente, Velázquez et al. (2024) encontraron que el efecto antiamebiano *in vitro* de la TPZ está acompañado de un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), peroxidación lipídica, efecto sobre la topoisomerasa y fragmentación del DNA bajo condiciones anaerobias y aerobias. Por lo que el objetivo de esta investigación es evaluar la efectividad de TPZ en un modelo de absceso hepático amebiano en hámsteres.



## Materiales y métodos

Cultivo de trofozoítos de la cepa HM1: IMSS

Se utilizaron trofozoítos virulentos de la cepa HM1: IMSS de *E. histolytica*, los cuales se cultivaron en tubos de vidrio con tapón de rosca a 37 ° C en medio TYI-S-33 (por sus siglas en inglés, Trypticase, Yeast extract, Iron-Serum) suplementado con 15% de suero bovino adulto inactivado a 56 ° C (Diamond et al., 1978).

Animales de experimentación

Se hicieron cuatro grupos de animales de 5 ejemplares: grupo sano, grupo infectado, grupo infectado tratado con MTZ y grupo infectado tratado con TPZ, cada uno constituido por hámsteres machos de dos meses de edad y con un peso promedio de 100 g.

Inducción del absceso hepático amebiano y tratamientos

Para inducir el AHA, los hámsteres se mantuvieron en ayuno durante 8 horas y posteriormente fueron anestesiados por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (Anestosal, 4.72 mg/100 g de peso). Se efectuó la asepsia en el área abdominal con cloruro de benzalconio al 0.25 %, y se inocularon 1x10<sup>6</sup>/0.2 ml de trofozoítos virulentos en medio de cultivo de Diamond en el lóbulo izquierdo del hígado. Los animales del grupo sano recibieron 0.2 ml de medio de cultivo en lugar del inóculo. Se suturó la incisión abdominal, se aplicó mertiolate y los animales fueron monitoreados hasta su recuperación. La administración de los tratamientos se inició por vía intraperitoneal a partir del día 3, aplicándose cada 48 horas durante un total de nueve dosis. El grupo tratado con TPZ recibió 25 mg/kg de TPZ (Sigma, pureza 98 %, Cat SML0552) (Zhouhui et al. 2023) y el grupo tratado con MTZ recibió 50 mg/kg de MTZ (Sigma, pureza del 100 %, Cat M1547) (Martínez et al. 1992).

Evaluación de daño hepático

Los animales se sacrificaron al día 21 post-infección mediante punción cardiaca, tras la administración de pentobarbital sódico (Anestosal, 4.72 mg/100 g de peso), se extrajeron los hígados de los animales y se registraron fotográficamente las características macroscópicas de las lesiones hepáticas. Posteriormente, se pesó el hígado completo, se diseccionó la parte correspondiente al absceso y se determinó el porcentaje de daño hepático mediante la siguiente fórmula:

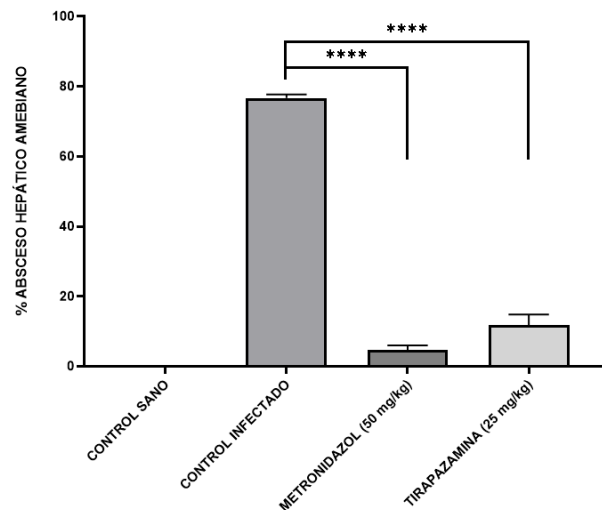
$$\% AHA = \frac{\text{Peso del absceso (g)}}{\text{Peso del hígado completo (g)}} \times 100$$

Los datos fueron analizados usando el software GraphPad Prism.

## Resultados

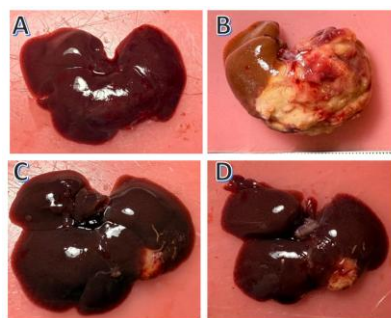
La tirapazamina evita la progresión del absceso hepático amebiano en hámsteres.

Se encontró que los animales infectados intrahepáticamente con *E. histolytica* desarrollaron un absceso que afectó 70% del hígado, mientras que los animales infectados y tratados con TPZ mostraron una lesión correspondiente al 10% del hígado y los tratados con MTZ de un 6%. Se determinó el % AHA de los diferentes grupos experimentales, encontrando diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control (Fig. 1).



**Figura 1.** Efecto de la Tirapazamina en el Absceso Hepático Amebiano. La diferencia significativa comparada con el control fue analizada por ANOVA de una vía con la prueba post hoc de Bonferroni utilizando el software GraphPad Prism. \*\*\*\*  $p < 0.0001$

Analizando las características macroscópicas de los hígados se encontró que los del grupo control sano presentaron una superficie lisa, brillante y uniforme, con una coloración marrón rojiza característica, con consistencia firmes pero flexibles al tacto, con bordes regulares y bien definidos, sin áreas de necrosis, fibrosis, congestión, hemorragia ni lesiones aparentes (Fig. 2A). En los animales infectados, los hígados mostraron una superficie irregular, con coloración pálida o amarillenta, con lesiones de tipo cavitacional con contenido espeso de color marrón que ocuparon prácticamente todo el lóbulo izquierdo, además se presentaron casos de hepatomegalia (Fig. 2B). En contraste, los animales infectados y tratados con TPZ mostraron una forma más regular del hígado, la coloración fue normal, mostraron una lesión pequeña encapsulada amarillenta localizada en el lóbulo izquierdo, visible por ambas caras del hígado, sin embargo, el tamaño de la lesión no corresponde al tiempo de evolución (Fig. 2C). Como se esperaba, los hígados del grupo tratado con MTZ presentaron forma y color más regular, con una pequeña lesión amarillenta en el borde del lóbulo izquierdo, con adherencia a vísceras en algunos sujetos de experimentación (Fig. 2D).



**Figura 2.** Características macroscópicas del Absceso Hepático Amebiano inducido en hámsteres bajo diferentes tratamientos. A) hígado de animal sano, B) hígado de animal infectado y sin tratamiento, C) hígado de animal infectado y tratado con TPZ, D) hígado de animal infectado y tratado con MTZ.

## Discusión

En un estudio previo nuestro grupo evaluó el efecto antiamebiano de la TPZ en cultivo de trofozoítos de *E. histolytica*, determinando algunos mecanismos que podrían asociarse a su

actividad biológica, sin embargo, no se conoce su efectividad en un modelo vivo. En este trabajo usamos el modelo de absceso hepático amebiano en hámster para probar el efecto de la administración intraperitoneal de 9 dosis de TPZ.

Se encontró que la TPZ afecta de manera significativa la progresión del absceso hepático en comparación con el grupo que no recibió tratamiento. La TPZ, una vez activada en condiciones de hipoxia, podría ejercer efectos citotóxicos directos sobre los trofozoítos de *E. histolytica*, tales como el daño al DNA, generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la inhibición de la topoisomerasa, similares a los observados de manera *in vitro*. Es posible que, al administrarse por vía intraperitoneal, la TPZ alcanzara el sitio de la lesión y actuara localmente contra el parásito. Adicionalmente, Campos et al. (2016), describen que durante el desarrollo del AHA ocurre una respuesta inflamatoria exacerbada, caracterizada por la liberación de citocinas proinflamatorias, especies reactivas de oxígeno y enzimas oxidantes. Dicho proceso favorece la formación de un microambiente hipóxico que pudo haber potenciado la activación de la TPZ, intensificando así sus efectos sobre los trofozoítos y contribuyendo a frenar la progresión de la lesión. Es importante mencionar que la administración de TPZ tuvo resultados similares al grupo tratado con MTZ aun cuando no se resolvió completamente el AHA bajo nuestro esquema de tratamiento. Ensayos posteriores nos permitirán caracterizar mejor el efecto de la TPZ durante el desarrollo del AHA en hámsteres.

### Conclusiones

La TPZ administrada bajo nuestras condiciones experimentales reduce en un 85% la progresión del absceso hepático amebiano en hámsteres.

### Agradecimientos

Se agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (Secihti) por la beca de Doctoral (1191930) y a la beca brinda por la Secretaría de investigación y posgrado Dirección de investigación por el proyecto 20250211.

### Referencias bibliográficas

- Campos R, Gutiérrez M, Jarillo A, Drago M, Abarca E, Ventura J, Cárdenas L, Pacheco J (2016) A review of the proposed role of neutrophils in rodent amebic liver abscess models. *Parasite* 23:6.
- Diamond L, Harlow D, Cunnick C (1978) A new medium for the axenic cultivation of *Emamoeba histolytica*, and other *Entamoeba*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (London)* 72: 43 1-432.
- Martínez P, Shibayama M, Tsutsumi, V, Martínez A (1992) Histological changes during healing of experimental amebic liver abscess treated with metronidazole. *Arch. Med. Res.* 23 (2), 209–212.
- Shah Z, Mahbuba R, & Turcotte B (2013). The anticancer drug tirapazamine has antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile*. *FEMS microbiology letters*, 347(1), 61–69.
- Wu Z, Wang Y, Li L, Zhen S, Du H, Wang Z, Xiao S, Wu J., Zhu L, Shen J, Wang Z (2023). New insights into the antimicrobial action and protective therapeutic effect of tirapazamine towards *Escherichia coli*-infected mice. *International journal of antimicrobial agents*, 62(3), 106923.

## EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN POR VÍAS ENTERAL Y PARENTERAL DE LEPTINA BCH2 Y W100E EN EL METABOLISMO DE GLUCOSA Y LÍPIDOS EN EL CONTEXTO DE OBESIDAD

Samantha Ysais Chong<sup>1</sup>, Claudia Guadalupe Benítez Cardoza<sup>1</sup>, Oscar Medina Contreras<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía Instituto Politécnico Nacional, Av. Guillermo Massieu Helguera 239, La Purísima Ticomán, Gustavo A. Madero, CDMX, <sup>2</sup>Hospital Infantil de México Federico Gómez, Calle Dr. Márquez 162, colonia Doctores, Cuauhtémoc, CDMX.

\* sysaisc2000@alumno.ipn.mx

**Resumen.** La obesidad es una problemática global de salud. La leptina, hormona reguladora del apetito y la homeostasis energética, ha sido propuesta como potencial agente terapéutico. En este estudio se evaluaron las mutantes recombinantes W100E y BCH2 en condiciones de administración parenteral y enteral, con el objetivo de analizar su estabilidad estructural, capacidad de unión y activación del receptor. Los espectros de dicroísmo circular mostraron que ambas variantes conservaron su estructura nativa en buffer enteral, diseñado para protegerlas de la proteólisis gastrointestinal. En cultivos celulares de epitelio intestinal se confirmó la presencia del receptor de leptina y se estudió la activación de la vía PI3K/AKT mediante inmunodetección de pAKT. Todas las leptinas mostraron tendencia a incrementar esta señalización, únicamente BCH2 mostró un aumento significativo en la relación pAKT/AKT a los 60 minutos, sin diferencias entre los tipos de buffer. Estos resultados indican que el buffer enteral aparentemente no afecta la conformación ni la capacidad de señalización de leptina, lo que respalda su potencial administración intragástrica. Este enfoque podría permitir alcanzar efectos tanto locales como sistémicos en modelos murinos de obesidad inducida por dieta alta en grasas.

**Palabras clave:** obesidad, leptina, señalización PI3K/AKT, anorexigénico.

### Introducción

La obesidad se caracteriza por tejido adiposo excesivo con o sin distribución y/o función anormal, y puede coexistir con algunas patologías como las dislipidemias, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (Rubino et al. 2025). La Federación Mundial de la Obesidad considera la obesidad como la pandemia del siglo XXI. México se encuentra en el lugar mundial número 31 con 36.8% de obesidad en adultos (World Obesity Federation 2022). La leptina es una hormona pleiotrópica secretada principalmente por el tejido adiposo blanco, implicada en la regulación del apetito y la homeostasis energética del organismo, al unirse a la isoforma B de su receptor a nivel hipotalámico activa la vía de señalización canónica estimulando la síntesis de neuropéptidos anorexigénicos (Obradovic et al. 2021). La activación de la vía de PI3K/AKT por leptina se ha descrito tanto en sistema nervioso como a nivel periférico (Liu et al. 2023). La leptina disminuye la lipogénesis y estimula la glucogenogénesis a nivel hepático (Hackl et al. 2019) (Pereira et al. 2021). En el estómago las células principales secretan leptina, los enterocitos humanos y murinos expresan el receptor de leptina; en intestino leptina incrementa la absorción de proteínas activando PepT1 y de carbohidratos por GLUT-2 y GLUT-5 y reduce la absorción de lípidos actuando sobre Apo A-IV, sin embargo, no se conoce cuál es la vía de señalización implicada (Kim y Kim 2021). Esta hormona ha sido estudiada como potencial agente terapéutico para la obesidad, en el Laboratorio de Investigación Bioquímica de la ENMH-IPN se han generado mutantes de leptina humana con

base a leptina W100E descrita en la literatura. Entre ellas de interés para esta investigación, leptina BCH2 (Chimal et al. 2010) ya que un estudio preliminar en ratones C57BL/6J sanos y KO ApoE, la administración parenteral por 7 días de BCH2 disminuyó 4% y 3.3% el peso corporal respectivamente y disminuyó la expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos (Palomo et al. 2016), otro estudio en C57BL/6 con obesidad inducida por dieta, la administración de BCH2 durante 28 días disminuyó el 3.1% peso corporal, redujo la glucemia a niveles del grupo control en dieta estándar y disminuyó el colesterol total, sin alteraciones en marcadores hepáticos y renales (Ysais et al. 2022).

Un grupo de investigación desarrolló un buffer que les permitió administrar leptina por vía intragástrica a ratones y posteriormente detectar elevaciones de leptina en sangre, y reportan que tras 28 días disminuyeron peso corporal a expensas de reducción en el consumo de alimento e histología gastrointestinal sin alteraciones (Bendayan y Cammisotto 2017). El objetivo general de la investigación es evaluar el efecto biológico de la administración de leptina BCH2 y W100E en el metabolismo de glucosa y lípidos en el contexto de obesidad.

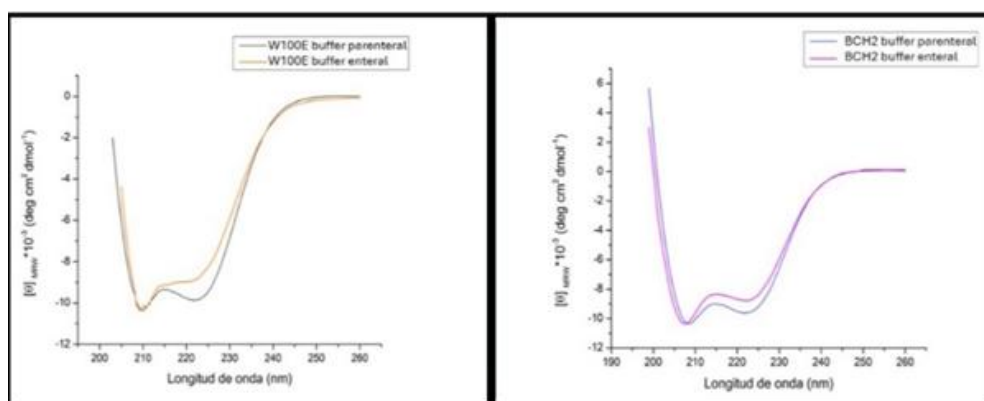
### **Materiales y métodos**

Las leptinas W100E y BCH2 fueron producidas de forma recombinante y purificadas siguiendo protocolos previamente optimizados por el grupo de trabajo (Ysais et al. 2022). Alícuotas fueron colocadas en un buffer enteral que, además del buffer parenteral (10 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 8.0), contiene 30 mM de desoxicolato de sodio y 1 mini-tab/10 mL de inhibidor de proteasas (Bendayan y Cammisotto 2017). Se obtuvieron espectros de dicroísmo circular en un espectropolarímetro Jasco J-815 ( $\lambda$  260–190 nm, 25 °C). El análisis de estructura secundaria se realizó con el servidor K2D2. La unión de la leptina a su receptor se evaluó mediante ensayos con el kit ALPCO Bioactive Leptin. Se obtuvieron proteínas totales de intestino delgado y colon de ratón C57BL/6 y se realizó la inmunodetección del receptor de leptina por western blot. Las líneas epiteliales de colon RKO y C2BBel fueron cultivadas y estimuladas con 100 ng/mL de cada una de las leptinas en los distintos buffers en una cinética de 0 a 60 min. Los controles positivos fueron LPS o insulina y como control negativo se usó el buffer parenteral. Las proteínas totales fueron extraídas para su posterior análisis por SDS-PAGE y western blot para detectar la presencia de AKT sin fosforilar y fosforilado, con GAPDH como control. Actualmente se realizan ensayos Transwell para la detección del transporte de leptina por enterocitos (RKO); en los cuales se comprobó la expresión en superficie del receptor de la leptina por inmunofluorescencia. La evaluación *in vivo* de la administración subcrónica por 28 días de las leptinas BCH2 y W100E por vía intragástrica o parenteral subcutánea en ratones C57BL/6 machos con obesidad inducida por dieta alta en grasa se encuentra pendiente. El peso será monitoreado diariamente y la glucosa en ayuno será medida semanalmente. El perfil lipídico será determinado al final del tratamiento. El tejido adiposo epididimal será macerado y será digerido con collagenasa para realizar una ELISA multiplex de citocinas proinflamatorias, antiinflamatorias y de leptina.

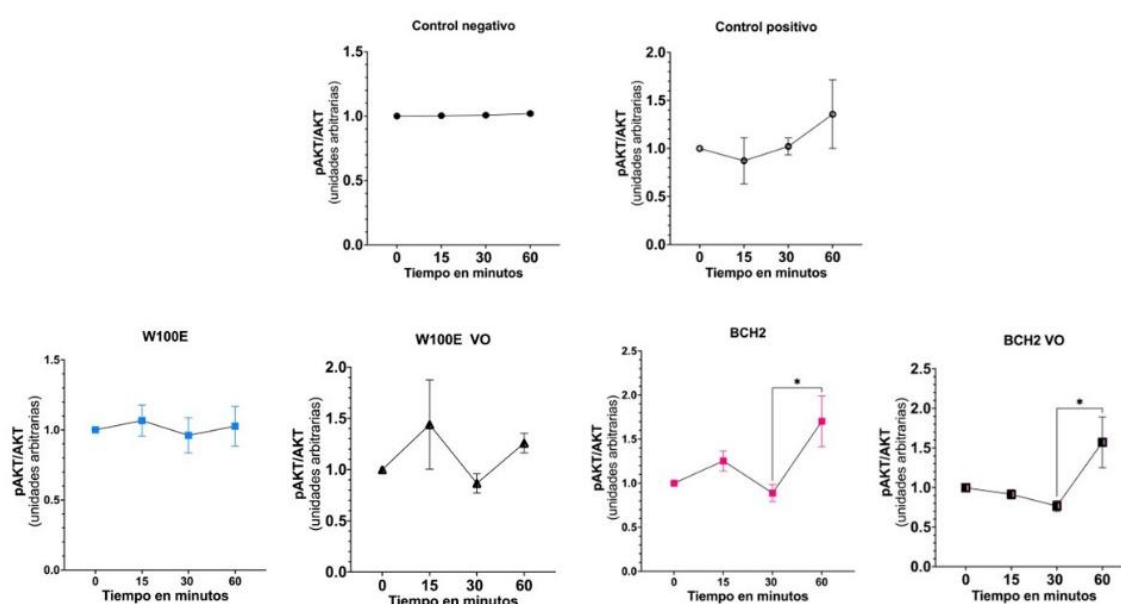
### **Resultados**

Los rendimientos de purificación fueron de 10.56 mg/l para W100E y 6.72 mg/l para BCH2. En la figura 1 se muestran los espectros de dicroísmo circular obtenidos, se observa la señal esperada para una proteína plegada en  $\alpha$ -hélices como leptina, con dos deflexiones a 222 nm y 208 nm y una tendencia positiva hacia los 190 nm, si bien los espectros no se superponen con exactitud, el porcentaje estimado de cambio inducido por el buffer enteral fue para W100E de 87.7% a 84.2% y para BCH2 de 87.7% a 87.5% de  $\alpha$ -hélices.





**Figura 1.** Espectros de dicroísmo circular de leptinas W100E y BCH2 en buffer de administración parenteral y enteral



**Figura 2.** Cinética de estimulación de células C2BBel, triplicados y barras de SEM \* $p < 0.05$

Se comprobó la expresión del receptor de leptina en células RKO por inmunofluorescencia, mismas que están siendo utilizadas para ensayo de Transwell y detección de cuánta leptina es capaz de ser transportada por los enterocitos. Por Western Blot se detectó la presencia del receptor de leptina en intestino de ratones C57BL/6.

## Discusión

Los rendimientos de purificación de las proteínas se encuentran dentro de rangos reportados tanto para W100E 10.1 mg/l (Chimal 2012) y 12.5 mg/l (Romero 2023) como para BCH2 8 mg/l (Romo 2016). Para considerar a una leptina en estructura nativa debe tener 62%  $\alpha$ -hélices + 27% de estructura indeterminada, por lo tanto, todas las leptinas conservan su estructura nativa y el cambio inducido por el buffer parenteral no resulta significativo. El buffer oral aparentemente incrementa o favorece la unión de leptina a su receptor a juzgar por los resultados del ensayo *in vitro*.

La línea celular RKO no resultó óptima para evaluar la activación de pAKT dado que presenta una mutación de ganancia de función en la subunidad catalítica de PI3K (DepMap 2025), por ello se cambió a la línea C2BBel con la cual se logró observar una tendencia de incremento

en la pAKT/AKT a los 60 min de estimulación en todos los casos exceptuando como es esperado el control negativo, de acuerdo al análisis estadístico realizado con una prueba ANOVA de una vía y prueba post hoc Tukey, únicamente leptina BCH2 en ambos buffers mostró diferencias estadísticamente significativas al tiempo 60 min lo cual nos orienta a considerar que el buffer no es factor de cambio para la activación del receptor, este resultado es esperado dado que el objetivo del buffer es únicamente proteger a la leptina de la proteólisis gástrica y duodenal y facilitar la potencial absorción por los enterocitos.

### Conclusiones

El buffer de administración enteral no modifica significativamente la estructura de leptina permitiéndole conservar su estructura nativa, en el ensayo *in vitro* este buffer aparentemente favorece la unión a su receptor, los resultados obtenidos al momento nos indican que al estimular enterocitos, el buffer no es un factor determinante para la activación del receptor determinada por la activación de la vía de señalización AKT.

### Agradecimientos

Agradecimientos al Instituto Politécnico Nacional, a la UIEEN del Hospital Infantil de México y al Cinvestav unidad Zacatenco por las facilidades y apoyo brindados para la realización de esta investigación. Así mismo, agradecimiento al SECIHTI por el apoyo de beca nacional y al programa PIFI por el apoyo BEIFI y al Proyecto SIP 20250232.

### Referencias bibliográficas

- Bendayan M, Cammisotto P (2017). Oral Administration of Leptin for the Control of Food Intake and Body Weight: Efficiency of the Approach. *Obesity*, 3(1): 1–8.
- DepMap, Broad (2025) RKO ID: ACH-000943) [online]. Available from [https://depmap.org/portal/cell\\_line/ACH-000943?tab=overview](https://depmap.org/portal/cell_line/ACH-000943?tab=overview) [fecha de revisión 02 Junio 2025].
- Hackl M, et al. (2019). Brain leptin reduces liver lipids by increasing hepatic triglyceride secretion and lowering lipogenesis. *Nat Commun* 10: 2717.
- Kim M, Kim, H. (2021). Role of Leptin in the Digestive System. *Frontiers in Pharmacol*, 12: 1–11.
- Liu Z, Xiao T, Liu H (2023) Leptin signaling and its central role in energy homeostasis. *Front. Neurosci.* 17:1238528.
- Obradovic M, et al. (2021) Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Front. Endocrinol.* 12:585887.
- Pereira S, et al. (2021) Efectos tisulares específicos de la leptina en el metabolismo de la glucosa y los lípidos, *Endocrine Reviews*, 42: 1–28.
- Rubino F, et al. (2025) Definition and diagnostic criteria of clinical obesity. *Lancet Diabetes & Endocrinol Comm.* 13 (3): 221 – 262.
- World Obesity Federation (2022) Ranking (% obesity by country) [online]. Available from <https://data.worldobesity.org/rankings/?age=a&sex=t> [fecha de revisión 29 Agosto 2025].



















