

Volumen 8 | Número 1 | Junio 2017

Revista **Tlamati** Sabiduría



UAGro
Dirección General de
Posgrado e Investigación

<http://tlamati.uagro.mx>

ISSN: 2007-2066

Comité Editorial

Consejo Editorial

Dr. Javier Saldaña Almazán (Presidente)
Dra. Berenice Illades Aguiar (Secretaria)
Dr. Justiniano González González (Vocal)
M. C. José Luis Aparicio López (Vocal)
Dr. Crisólogo Dolores Flores (Vocal)
Dr. Oscar Talavera Mendoza

Editores responsables

Dr. Oscar Talavera Mendoza
Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

Editores por áreas del conocimiento

Dr. Elías Hernández Castro
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. José Legorreta Soberanis
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. José Francisco Muñoz Valle
Universidad de Guadalajara

Dr. José María Sigarreta Almira
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Rodrigo Carramiñana
Southern Illinois University

Dra. Laura Sampedro Rosas
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Ricardo Sánchez García
Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Luisa Concepción Ballester
Southern Illinois University

Responsable de la Edición

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

Coordinación Editorial

Lic. Isabel Rivero Cors

Corrección de estilo

M. C. Magdalena Martínez Durán

Auxiliares de Edición

Q.B.P. Juan Carlos Cruz Martínez
Lic. Tania Alejandra Reyes González



Fotografía de la portada: *Microensoñación* (2017). Obra pictórica de María de los Angeles Garibay Marcelo

Ciencias Agropecuarias

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Ciencias Exactas y Matemáticas

Ciencias Exactas y Matemáticas

Ciencias Ambientales y Desarrollo Regional

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Tlamati Sabiduría; Volumen 8, Número 1, Enero – Junio 2017 es una publicación semestral editada por la Universidad Autónoma de Guerrero, a través de la Dirección General de Posgrado e Investigación. Domicilio: Javier Méndez Aponte No. 1, Col. Servidor Agrario, C.P. 39070. Tel: (01 747) 471 93 10 ext. 3091. Chilpancingo, Guerrero, México.
Site de la revista: <http://tlamati.uagro.mx>
E-mail: tlamatisabiduria@uagro.mx
Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2009-040817000000-102. ISSN 2007-2066. Este número se publicó el 30 de Junio del 2017. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación para fines didácticos.



Comité Editorial de Revisores por Área de la Ciencia

BIOLOGÍA Y QUÍMICA

Dr. Eneas Alejandro Chavelas Adame

Dr. Oscar Del Moral Hernández

BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dr. Francisco Palemón Alberto

Dr. Gerardo Huerta Beristaín

Dr. Jaime Olivares Pérez

Dr. Luis Miguel Camacho Díaz

CIENCIAS SOCIALES

Dr. Ángel Ascencio Romero

Dra. América Libertad Rodríguez Herrera

Dra. Columba Rodríguez Alviso

Dra. Cristina Barroso Calderón

Dra. Dulce María Quintero Romero

Dra. Margarita Jiménez Badillo

Dra. Rocío López Velasco

FÍSICO MATEMÁTICAS Y CIENCIAS DE LA TIERRA

Dr. Francisco Julián Ariza Hernández

Dr. Jorge Sánchez Ortiz

Dr. Juan Carlos Hernández Gómez

Dr. Marco Antonio Taneco Hernández

Dr. Martín Patricio Árciga Alejandre

Dra. Ernestina Felicia Castells Gil

HUMANIDADES Y CIENCIAS DE LA CONDUCTA

Dr. Camilo Valqui Cachi

Dr. Osvaldo Ascencio López

Dra. Flor M. Rodríguez Vásquez

Dra. Ma. Gloria Toledo Espino

MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Dr. Sergio Paredes Solís

Dra. María Eugenia Flores Alfaro

Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán

Dra. Mónica Espinoza Rojo



Contenido	Pag
Editorial	4
C iencias de la Salud	
Explorando las bases celulares y moleculares del cáncer: hacia la identificación de nuevos blancos terapéuticos	5
<i>Miguel Angel Mendoza Catalán, Edith Milena Alvarado Cuevas, Napoleón Navarro Tito, Brendan Bell y Eduardo Castañeda Saucedo</i>	
Efecto de la sobre-expresión de DNMT3B en la actividad transcripcional de genes relacionados con el cáncer	11
<i>Irlanda Peralta-Arrieta, Berenice Illades-Aguilar y Daniel Hernández-Sotelo</i>	
Metilación del gen 11 del VPH-16 como marcador de cáncer cervical	21
<i>Francisco Israel Torres Rojas y Berenice Illades Aguilar</i>	
Efecto del resveratrol sobre el nivel de expresión de los transportadores de glucosa [GLUTs] en isquemia cerebral <i>in vivo</i>	27
<i>Anahi Tornes-Reyes, Alma Ortíz-Plata, Ma Isabel Salazar Sánchez, José Pedraza-Chaverri, Penélope Aguilera, y Mónica Espinoza-Rojo</i>	
<hr/>	
C iencias Naturales	
Expresión diferencial de proteínas en el estómago de <i>Meccus Pallidipennis</i> bajo la infección por <i>Trypanosoma Cruzi</i>	33
<i>Ivette Nava Mirafuentes, José Lino Zumaquero Ríos, Donaciano Flores Robles y Pável Sierra-Martínez</i>	
Identificación proteómica de la Paramiosina, proteína inducida por la hematofagia en el estómago de la chinche <i>Meccus pallidipennis</i>, vector de la enfermedad de Chagas	38
<i>Jorge Isidoro Sotelo Cano, Alejandro Millán Vega, Eduardo Castañeda Saucedo, Donaciano Flores Robles, José Lino Zumaquero Ríos, Alicia Chagolla López y Pável Sierra Martínez</i>	
Contribución al conocimiento de las algas marinas bentónicas de Acapulco Guerrero, México	42
<i>Nancy Dalia Garza-Moreno, Eugenio Castro-Solís, Silvia Alemán Mundo y Mario Treviño y Díaz Barriga</i>	
<hr/>	
C iencias Agropecuarias	
Diversidad genética de poblaciones nativas de papaya (<i>Carica papaya</i> L.) del estado de Guerrero, México	47
<i>Guadalupe Reyes García, Francisco Palemón Alberto, Blas Cruz Lagunas, Agustín Damián Nava, Elías Hernández Castro, Dolores Vargas Álvarez, Gémima Díaz Villaseñor y Silvia Alemán Mundo</i>	
C iencias Sociales y Humanidades	
Diagnóstico de Centros Digitales en el estado de Guerrero, México	53
<i>Juan Baltazar Cruz Ramírez, Felicidad del Socorro Bonilla Gómez, Ángel López Martínez, José Efrén Marmolejo Valle, Juan Silvestre Salinas Valadez y Pavel Ernesto Alarcón Ávila</i>	
Transmigrantes del Estado de Guerrero en Carolina del Sur, USA	58
<i>Alaide Aurora Salgado Galván, Dora María Ocampo Herrera y Elvia Garduño Teliz</i>	



Editorial

Una de las cuestiones fundamentales con las publicaciones tradicionales o virtuales está relacionada con la productividad o producción científica y los criterios y definiciones para la validación de la evidencia presentada por los investigadores. Se define la producción científica como el conjunto de productos derivados de la actividad de investigación de los profesores investigadores. Entre éstos productos encontramos a los artículos en revistas con arbitraje e indexados, memorias de congreso, libros, capítulos de libros, ponencias en eventos, formación de recursos humanos, premios y distinciones, arbitrajes de proyectos y publicaciones, patentes y productos registrados, entre otros.

En el caso específico de Tlamati Sabiduría se entienden por artículos aquellos que contengan resultados de trabajos de investigación o desarrollo de proyectos. Los artículos de investigación reportan estudios originales que no hayan sido publicados con anterioridad, teorías o técnicas, resultados de estudios extensos y que conducen a una ampliación del conocimiento. Actualmente y de acuerdo a las definiciones académicas internacionales, Tlamati publica los artículos como Artículo Arbitrado, que son aquellos que se publican en revistas que cuentan con ISSN (International Standard Serial Number) y que hayan sido aceptados por el comité editorial de la misma.

Esta situación nos obliga a retomar la cuestión de la validación de la producción publicada hasta ahora. Con la publicación de éste número, Tlamati Sabiduría cumple con las condiciones para empezar el proceso de ser una publicación indexada en primera instancia por algún índice internacional de publicaciones que se caracterizan por estar en páginas electrónicas y una vez cumplido éste proceso, se empezará el de ser reconocida por el CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) como publicación indexada.

Revisando éste proceso, encontramos que Tlamati empezó en 2014 ya como publicación virtual. En éste año se publicaron 4 números regulares con 10 artículos por número, con la misma cantidad de números regulares y artículos para 2015; en 2016 se publicaron 3 números regulares con 10 artículos por número y en 2017 se publicaron 2 números regulares con 10 artículos por número. Es de hacer notar que todos los números regulares cumplen con los requisitos necesarios para ser una publicación indexada.

En el caso de números especiales, Tlamati Sabiduría ha visto incrementado su impacto al convertirse en el instrumento principal de difusión de los resultados de los Coloquios de Jóvenes Talentos CONACYT y los encuentros de Jóvenes Talentos en Investigación de Bachillerato de la Universidad Autónoma de Guerrero, así como las Memorias del Congreso Internacional de Cómputo CICOM y otros eventos académicos.

En éste rubro, en 2014 se editaron 4 números especiales, que son: el del 2º Encuentro de Jóvenes Investigadores, el del 1er. Encuentro de jóvenes en la investigación de Bachillerato, el del 1er. Congreso de Posgrado e Investigación organizado por la Universidad Autónoma de Guerrero y el del 4to. Congreso Internacional de Cómputo CICOM 2014.

En 2015 se editaron 3 números especiales, que son: el del 3º Encuentro de Jóvenes Investigadores, el del 2do. Encuentro de jóvenes en la investigación de Bachillerato y el del Encuentro Internacional de Investigadores, Diálogos Multidisciplinarios en Escenarios de Innovación en la Educación Basada en Competencias.

En 2016 se editaron 3 números especiales, que son: el del 4º Encuentro de Jóvenes Investigadores, el del 3er. Encuentro de jóvenes en la investigación de Bachillerato y el del 6to. Congreso Internacional de Cómputo CICOM 2016.

En 2017 se editaron 3 números especiales, que son: el del 5to. Encuentro de Jóvenes Investigadores, el del 4to. Encuentro de jóvenes en la investigación de Bachillerato y el del Foro Internacional: Migración, Desarrollo y Sustentabilidad,

Desde 2014 a la fecha se han publicado 13 números regulares y 13 números especiales, con más de 1000 artículos publicados y más de 2000 autores entre estudiantes e investigadores tanto nacionales como internacionales.

Se pueden encontrar referencias de Tlamati en artículos nacionales e internacionales, así como en varias Tesis Académicas. Así mismo, ha servido como instrumento para poder graduar a alumnos de Posgrado que requieren publicar artículos en revistas arbitradas y ha sido la primera experiencia formal de publicación de varios estudiantes.

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez





Explorando las bases celulares y moleculares del cáncer: hacia la identificación de nuevos blancos terapéuticos.

Miguel Angel Mendoza Catalán¹
 Edith Milena Alvarado Cuevas²
 Napoleón Navarro Tito¹
 Brendan Bell²
 Eduardo Castañeda Saucedo¹

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.U. Zona Sur. C. P. 39070. Chilpancingo, Guerrero, México. Tel: +(52) 7471-066-864

²Universidad de Sherbrooke. Facultad de Medicina. Quebec, Canadá

*Autor de correspondencia
 catalan_mike@yahoo.com.mx

Resumen

El cáncer es un grupo de enfermedades de etiología y evolución muy diversa, que hace complicada la tarea de desarrollar estrategias efectivas para el tamizaje, diagnóstico temprano y tratamiento de esta enfermedad. El cáncer es un proceso evolutivo y existen dos procesos celulares muy importantes para su desarrollo, los cuales han sido estudiados por su potencial como blancos terapéuticos: la migración celular y la apoptosis. Inhibir la migración celular evitaría la diseminación de las células tumorales, y la inducción de la apoptosis permitiría matar selectivamente a las células cancerosas. Las proteínas denominadas GTPasas de la familia Rho, son consideradas como potenciales blancos terapéuticos, ya que inhibir su función podría impedir la invasión de las células tumorales, sin embargo, se desconoce si esto podría ser aplicado a cualquier tipo de cáncer. Por otro lado, recientemente se encontró que la proteína TAF6 delta podría matar selectivamente a las células cancerosas, pero se desconoce el mecanismo mediante el cual esta proteína ejerce su efecto. En nuestro grupo de trabajo utilizamos modelos experimentales y técnicas bioquímicas y moleculares para estudiar el papel de las GTPasas Rho y de la proteína TAF6delta. Utilizamos líneas celulares de cáncer de mama para evaluar el papel de las GTPasas Rho en la migración celular, mediante ensayos de migración e invasión in vitro. Por otro lado, utilizamos líneas celulares de diversos tipos de cáncer para inducir experimentalmente la sobre-expresión de TAF6delta y evaluar su efecto sobre la muerte celular y la expresión de genes. Nuestros resultados preliminares muestran que la inhibición de las GTPasas Rho inhibe la migración de células de cáncer de mama poco agresivas, pero no la de células muy agresivas. La sobreexpresión de TAF6delta en líneas celulares de cáncer activa la vía de señalización NOTCH e induce apoptosis.

Palabras clave: cáncer, bases celulares, blancos terapéuticos.

Abstract

Cancer is a group of diseases of very diverse etiology and evolution, which complicates the task of developing effective strategies for screening, early diagnosis and treatment of this disease. Cancer is an evolutionary process and there are two very important cellular processes for its development which have been studied for their potential as therapeutic targets, as follows: cell migration and apoptosis. Inhibiting cell migration would prevent the spread of tumor cells and the induction of apoptosis would selectively kill cancer cells. The proteins called GTPasas of the Rho family

Como citar el artículo:

Mendoza Catalán, M. A., Alvarado Cuevas, E. M., Navarro Tito, N., Bell, B. y Castañeda Saucedo, E. (2017). Explorando las bases celulares y moleculares del cáncer: hacia la identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Tlamati*, 8(1), 5-10.

are considered as potential therapeutic targets, since inhibiting their function could prevent the invasion of tumor cells, however, it is unknown if this could be applied to any type of cancer. On the other hand, it was found recently that TAF6 delta protein could selectively kill cancer cells, but the mechanism by which this protein exerts its effect is unknown. In our working group we used experimental models and biochemical and molecular techniques to study the role of Rho GTPasas and TAF6delta protein. We use breast cancer cell lines to evaluate the role of Rho GTPasas in cell migration, through in vitro invasion and invasion assays. On the other hand, we use cell lines of various types of cancer to experimentally induce the over-expression of TAF6delta and evaluate its effect on cell death and gene expression. Our preliminary results show that inhibition of Rho GTPasas inhibits the migration of non-aggressive breast cancer cells, but not that of very aggressive cells. Overexpression of TAF6delta in cancer cell lines activates the NOTCH signaling pathway and induces apoptosis.

Key words: cancer, cellular bases, therapeutic targets.

Introducción

El cáncer es un grupo de enfermedades de etiología y evolución muy diversa, que hace complicada la tarea de desarrollar estrategias efectivas para el tamizaje, diagnóstico temprano y tratamiento de esta enfermedad. Además, el cáncer es un proceso evolutivo que se desarrolla a través de etapas bien caracterizadas, que van desde la adquisición de alteraciones genéticas o epigenéticas por las células del organismo, hasta la formación de tumores que invaden tejidos aledaños y en etapas avanzadas, migran a órganos distantes donde establecen un tumor secundario, llevando en la mayoría de los casos a la muerte del paciente. Existen dos procesos celulares muy importantes para el desarrollo, los cuales han sido ampliamente estudiados por su potencial como blancos terapéuticos: la migración celular y la apoptosis. El proceso de migración celular es necesario para que las células del tumor primario puedan desplazarse e invadir tejidos aledaños, llegar a los vasos sanguíneos y posteriormente establecer el tumor secundario (Ilina y Friedl, 2009). Este proceso es regulado de manera importante por un grupo de proteínas denominadas GTPasas Rho, las cuales modulan el reordenamiento del citoesqueleto para permitir la movilidad de las células (Heasman y Ridley, 2008). Estas proteínas son consideradas como potenciales blancos terapéuticos, ya que inhibir su función

inhibe la migración celular en modelos experimentales in vitro e in vivo y podría impedir la invasión de las células tumorales en los pacientes (Fritz y Kaina, 2006; Vega y Ridley, 2008). También se ha mostrado que la sobreexpresión de una de estas proteínas denominada Rac1 está relacionada con la resistencia de células de cáncer de mama en cultivo al tratamiento con un agente quimioterapéutico (Dokmanovic, Hirsch, Shen, y Wu, 2009; Zhao, Wang, Jiang y Yang, 2011).

Por otro lado, se ha demostrado que una isoforma de la proteína TAF6delta, la cual forma parte de la maquinaria basal de transcripción y cuya expresión es inducida en respuesta a estímulos apoptóticos (Bell, Scheer y Tora, 2001), juega un papel importante en la regulación de la apoptosis y la expresión de genes en ausencia o presencia de la proteína p53 (Wilhelm, Pellay, Benecke y Bell, 2008; Wilhelm, E., Kornete, Targat, Vigneault-Edwards, Frontini, Tora, Benecke y Bell, 2010). Al analizar el efecto de TAF6 δ en diversas líneas celulares cancerosas se encontró que incrementa la muerte celular, sin embargo las bases moleculares para esta inducción de apoptosis por TAF6 δ son actualmente desconocidas.

El objetivo de este proyecto es evaluar el efecto de la inhibición de las GTPasas Rac1 y RhoA sobre la migración de células de cáncer de mama en cultivo en respuesta

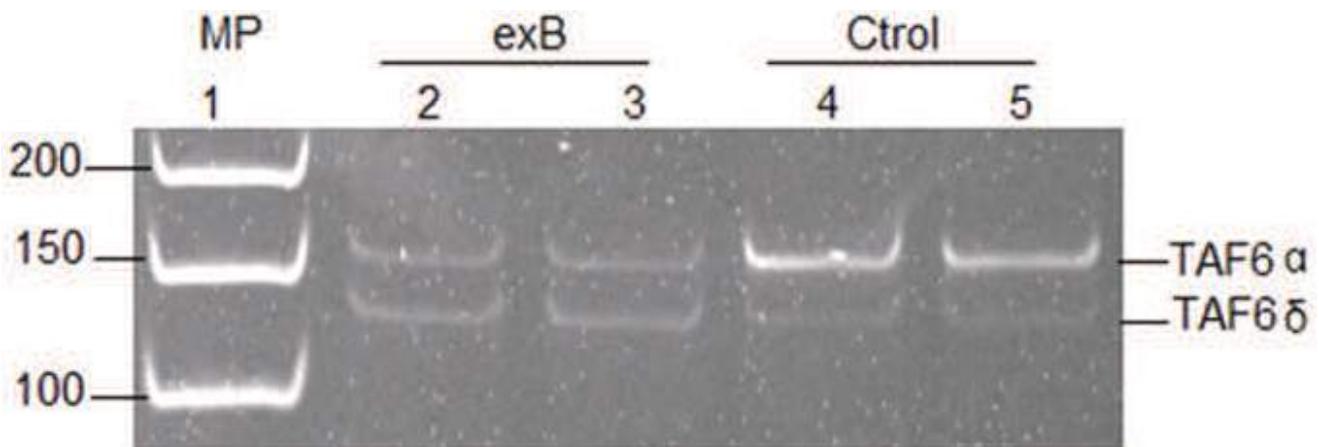


Figura 1. Expresión de TAF6delta en células Hela transfectadas con los oligonucleótidos SSOs. Gel de poliacrilamida al 15% en el que se muestran la sobreexpresión de TAF6delta tras la transfección con los oligos SSOs. Carril 1: marcador de peso 1Kb; carril 2 y 3 sistema SSOs, exB y carriles 4 y 5 SSOs control.

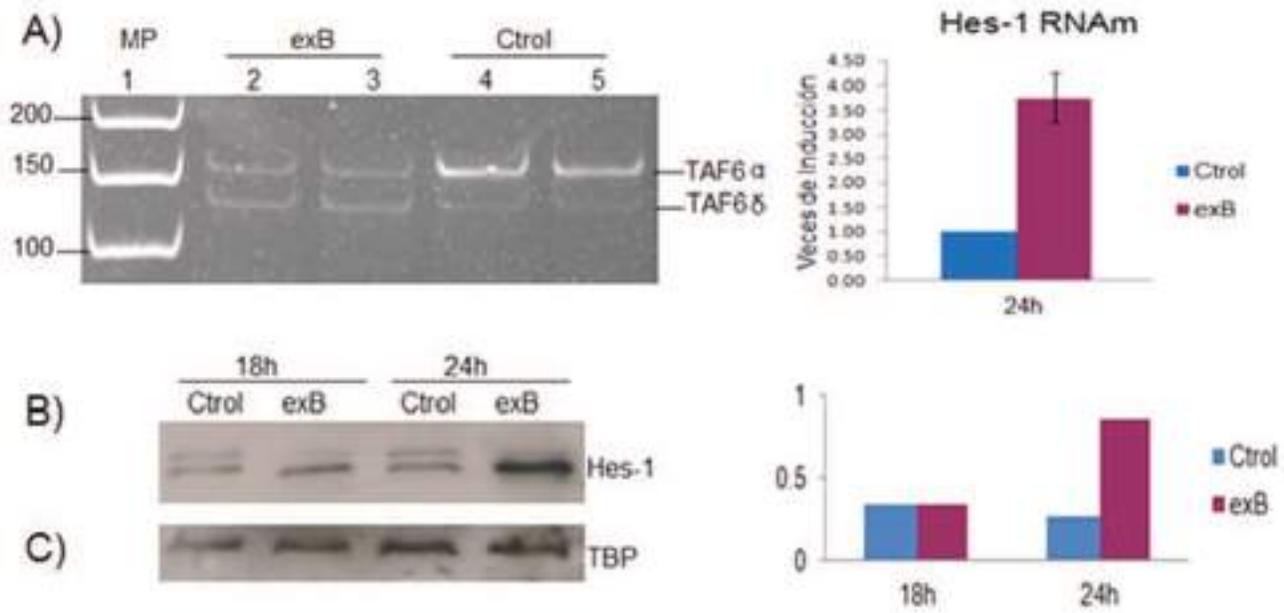


Figura 2. Expresión de Hes-1 en células HeLa tras la sobreexpresión de TAF6delta. (A) Nivel del RNAm mediante RT-PCR en tiempo real de Hes-1, 24h post-transfección del sistema SSOs. Columna 1 y 2: repeticiones por triplicado de cada una. SSOs control (barras azules) y SSOexB (barras vinotinto). (B) Expresión proteica mediante western blot de Hes-1, 18h y 24h post-transfección del sistema SSOs (C) Densitometría del western blot, cuantificada por ImageJ.

a leptina. Y por otro lado, evaluar el efecto de la sobreexpresión de TAF6delta sobre la expresión de Hes1 y ciclina D1.

Material y Métodos

Cultivo de células

Las líneas celulares HeLa (carcinoma cervical), Saos-2 (cáncer de hueso), A549 (cáncer de pulmón) y MCF-7 y MDA-MB-231 (ambas de carcinoma mamario) se cultivaron en monocapa en medio *Dulbecco's modified Eagle's medium/F12* (Gibco) suplementado al 5% con suero fetal de Bovino a 37°C y con 5% de CO₂.

Sobreexpresión de TAF6delta.

Los cultivos de células HeLa, Saos-2 y A549, a una

confluencia del 50% fueron transfectadas con oligonucleótidos de cambio de splicing (SSOs) los cuales favorecen la síntesis de la isoforma TAF6delta. Los oligonucleótidos utilizados son "SSO T6-3" 5'-CUGUGCGAUCUCUUUGAUGC-3' que flanquea la región 3' del exón 2 alternativo de TAF6 y como control negativo se usó el oligo inespecífico 5' -AUGGCCUCGACGUGCGCGCU-3', y fueron transfectados a una concentración final de 100nM con lipofectamina 2000 (Invitrogen).

Western blot (WB)

Los niveles de las proteínas blanco de TAF6delta (ciclina 1, HES1, Notch 1 y Notch 2) fueron analizados

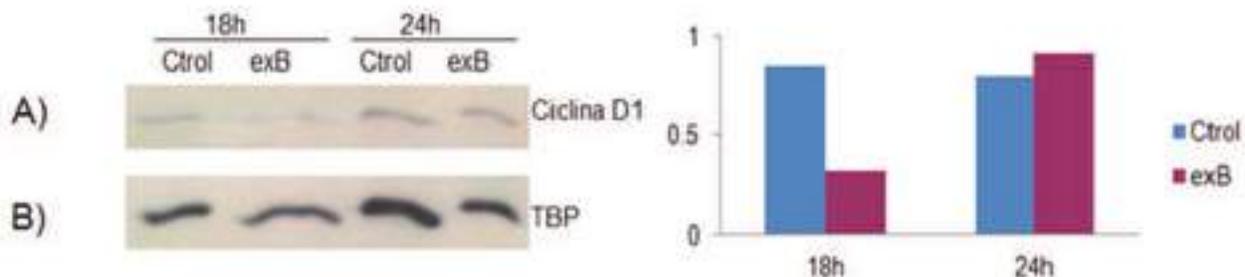


Figura 3. Expresión de Ciclina D1 en células HeLa tras la sobreexpresión de TAF6delta. (A) Expresión proteica mediante western blot a 18h y 24h post-transfección del sistema SSOs (B) Cuantificación por ImageJ.

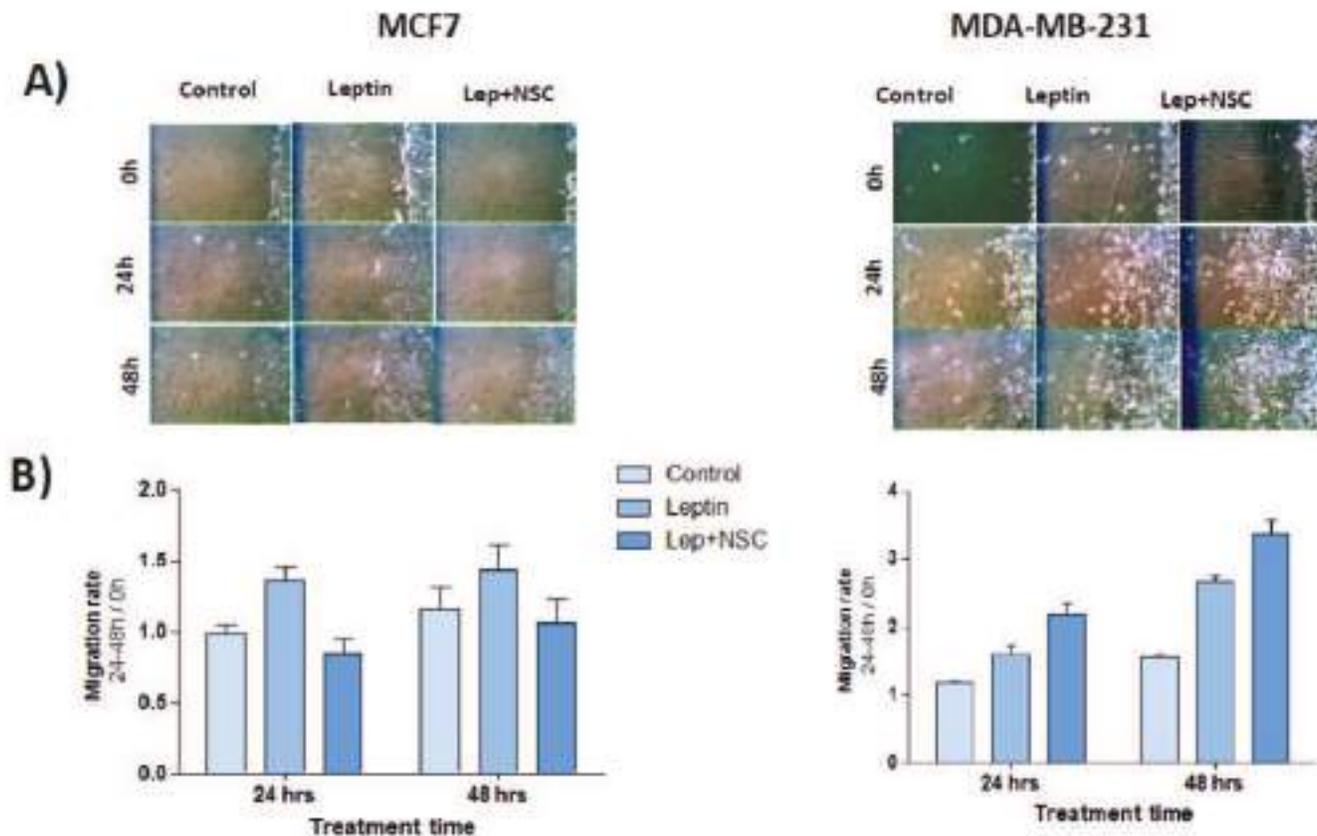


Figura 4. Efecto de la inhibición de Rac1 en la migración de células MCF7 y MDA-MB231. A) Ensayo de migración en placa. B) Promedio de la migración en los ensayos de migración en placa. Control: células tratadas con vehículo. Lep: leptina, 50ng/ml para MDA-MB231 y 400ng/ml para MCF7 cells. NSC: inhibidor químico de Rac1 NSC23766, 25uM.

por Western blot. Se obtuvieron las proteínas totales de las células transfectadas con los oligonucleótidos SSOs, fueron separadas en geles de poliacrilamida al 10%, transferidas a una membrana de nitrocelulosa y las membranas incubadas con los anticuerpos dirigidos contra las proteínas de interés y revelados con el kit ECL (Amersham Pharmacia Biotech). Las membranas serán expuestas a placas radiográficas para visualizar el resultado.

RT-PCR

Los niveles del RNAm de los genes blanco de TAF6delta (ciclina D1 y HES1) se analizaron por RT-PCR. El RNAm de las células transfectadas con los oligonucleótidos SSOs se mediante el método de Trizol (Invitrogen). Se sintetizó el cDNA utilizando la transcriptasa reversa AMV-RT (Roche). La amplificación de los fragmentos de interés se realizó por PCR utilizando 95°C, 3 min; 25 ciclos de 94°C por 1 min, 58°C por 45 seg, 68°C por 50 sec; extensión final a 68°C por 5 min con los siguientes oligonucleótidos para TAF6; 5'-ATGGGCATCGCCAGATTTCAGG-3' y reverse 5'-AAGGCGTAGTCAATGTCACTGG-3'(Wilhelm et al., 2008).

Ensayos de migración en placa.

Las células MCF-7 o MDA-MB-231 se sembraron en placas de 6 pozos (Sarstedt) hasta alcanzar 100% de confluencia. Se realizó una incisión longitudinal en la monocapa con una punta de plástico, se realizó un lavado para eliminar las células despegadas y se incubó por 24h o 48h en presencia o no de leptina. Las células fueron observadas y fotografiadas cada 4 horas bajo un microscopio invertido. Las imágenes digitales se utilizaron para calcular la distancia recorrida por las células en los diferentes periodos de tiempo.

Ensayos de migración en cámara de Boyden.

Las células se sembraron en el compartimento superior de cámaras de Boyden (BD Biosciences), sobre un filtro de 8µm recubierto con fibronectina, en medio sin suero. En el compartimento inferior de la cámara se agregará medio con suero. Las células serán tratadas con o sin leptina, permitiendo la migración de las células a través del filtro por 12-48 horas. Las células que migraron hacia la parte inferior del filtro serán contadas bajo un microscopio de luz visible.

Ensayos de invasión en Matrigel.

Para los ensayos de invasión, se procedió como en el apartado anterior, pero los filtros fueron recubiertos con una matriz protéica (Matrigel, BD Biosciences) para evaluar la capacidad de las células de invadir esta matriz.

Resultados*Sobreexpresión de TAF6delta en células Hela.*

Las células Hela fueron transfectadas con los oligonucleótidos SSOs, y como se muestra en la Figura 1, los niveles del RNAm de TAF6delta incrementan en las células transfectadas, demostrando la eficiencia del sistema de estudio.

Efecto de la sobreexpresión de TAF6delta sobre los niveles del RNAm y de la proteína de la Hes1 y ciclina D1.

Estudios preliminares de microarreglos sugieren que la sobreexpresión de TAF6delta da como resultado el incremento en los niveles del RNAm de la ciclina D1 y de Hes1. Para corroborar estos resultados, los niveles del mRNA y proteína de Hes1 fueron analizados en las células Hela tras la inducción de la expresión de TAF6delta, mediante RT-PCR y Western blot respectivamente. Encontramos que la sobreexpresión de TAF6delta induce un incremento de los niveles de Hes1, tanto a nivel de mensajero como de proteína (véase figura 2).

Por otro lado, medimos los niveles de la proteína ciclina D1 en las células que sobreexpresan TAF6delta, encontrando que a las 18 horas hay una disminución en los niveles de ciclina D1 y un ligero incremento de la proteína a las 24 horas (véase figura 3)

Efecto de la inhibición de Rac1 y de RhoA en la migración de células MCF7 y MDA-MB-231.

En ensayos preliminares encontramos que la leptina, una hormona producida por los adipocitos, induce la migración de las células MCF-7 y MDA-MB-231. Utilizando ensayos de migración en placa, encontramos que la inhibición química de Rac1 reduce la migración de las células MCF-7 en respuesta a leptina, sin embargo, en las células MDA-MB-231, la inhibición de Rac1 resulta en un incremento en la migración inducida por leptina (véase figura 4).

Por otro lado, encontramos que la inhibición química de RhoA reduce la migración tanto de las células MCF-7 como de las MDA-MB-231 (véase figura 5). Para validar estos resultados, utilizamos ensayos de migración en cámara de Boyden, y encontramos que al igual que en los ensayos de migración en placa, la inhibición química de Rac1 reduce la migración inducida por leptina en células MCF-7 y aumenta la migración en células MDA-MB-231, mientras que la inhibición química de RhoA reduce la migración en ambas líneas celulares (véase figura 6A).

Efecto de la inhibición de Rac1 y de RhoA en la invasión de células MCF7 y MDA-MB-231.

Para determinar el efecto de la inhibición de las proteínas Rac1 y RhoA en la invasividad de las células MCF-7 y MDA-MB-231, utilizamos ensayos de invasión en Matrigel. Encontramos que al igual que en los ensayos de migra-

ción, la inhibición química de Rac1 reduce la invasión inducida por leptina en células MCF-7 y la aumenta en células MDA-MB-231, mientras que la inhibición química de RhoA reduce la invasión en ambas líneas celulares (véase figura 6B)

Discusión y Conclusión

Nuestros resultados muestran que TAF6delta regula la expresión de Hes1, un gen blanco de la vía NOTCH. La vía NOTCH es una vía que está implicada en la diferenciación celular y desarrollo embrionario, sin embargo también se ha identificado como una vía que se encuentra hiperactiva en cánceres humanos. Nuestros resultados sugieren que la proteína TAF6delta podría servir como vínculo entre la vía NOTCH y la maquinaria basal de transcripción, y que esto podría estar implicado en la regulación de la apoptosis de células cancerosas. Por otro lado, demostramos que la inhibición de Rac1 impide la migración de células de cáncer de mama poco agresivas, pero no la de las células más agresivas. Mientras que la inhibición de RhoA reduce la migración de ambos tipos celulares. Resultados de otros grupos de trabajo sugieren que Rac1 y RhoA tienen efecto antagónico en la migración celular. Además, existen evidencias que las vías intracelulares que llevan a la activación de Rac1 y de RhoA pueden estar alteradas de manera diferencial en diferentes etapas de cáncer. Nuestros resultados sugieren que estas proteínas pueden ser blanco terapéutico, sin embargo su uso dependería del estado de progresión de los tumores.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo técnico de Ángel Salmerón Hernández, Ramón Antaño Arias, Javier Ramírez Ricardo, José Armando Salvador Chavelas, Itzel Carranza Mendoza, Abdiel Galeana Guzmán y Emmanuelle Wheilman para la realización de los experimentos. Este trabajo ha sido posible gracias al financiamiento otorgado al Dr. Eduardo Castañeda Saucedo por el CONACYT mediante el programa de ciencia básica (proyecto clave 100888) y el financiamiento interno de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Referencias

- Bell, B., Scheer, E. y Tora, L. (2001). Identification of hTAF(II)80 delta links apoptotic signaling pathways to transcription factor TFIID function. *Molecular Cell*, 8(3), 591-600.
- Dokmanovic, M., Hirsch, D. S., Shen, Y. y Wu, W. J. (2009). Rac1 contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells: Rac1 as a potential therapeutic target for the treatment of trastuzumab-resistant breast cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(6), 1557-69.
- Fritz, G. y Kaina, B. (2006). Rho GTPases: promising cellular targets for novel anticancer drugs. *Current Cancer Drug Targets*, 6(1), 1-14.
- Heasman, S. J. y Ridley A. J. (2008). Mammalian Rho GTPases: new insights into their functions from in vivo studies. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(9), 690-701.
- Iliina, O. y Friedl, P. (2009). Mechanisms of collective cell migration at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(18), 3203-3208.

- Vega, F. M. y Ridley, A. J. (2008). Rho GTPases in cancer cell biology. *FEBS Letters*, 582(14), 2093-2101.
- Wilhelm, E., Pellay, F. X., Benecke, A. y Bell, B. (2008). TAF6delta controls apoptosis and gene expression in the absence of p53. *PLoS One*, 3(7), e2721.
- Wilhelm, E., Kornete, M., Targat, B., Vigneault-Edwards, J., Frontini, M., Tora, L., Benecke, A. y Bell, B. (2010). TAF6delta orchestrates an apoptotic transcriptome profile and interacts functionally with p53. *BMC Molecular Biology*, 11, 10.
- Zhao, Y., Wang, Z. Jiang, Y. y Yang, C. (2011). Inactivation of Rac1 reduces Trastuzumab resistance in PTEN deficient and insulin-like growth factor I receptor over-expressing human breast cancer SKBR3 cells. *Cancer Letters*, 313(1), 54-63. -101.



Efecto de la sobre-expresión de DNMT3B en la actividad transcripcional de genes relacionados con el cáncer

Irlanda Peralta-Arrieta^{1*}
 Berenice Illades-Aguiar¹
 Daniel Hernández-Sotelo¹

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Laboratorio de Biomedicina Molecular Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.U. Zona Sur. C. P. 39070. Chilpancingo, Guerrero, México. Tel: + (52) 7471-066-864.

*Autor de correspondencia
peralta_ireland@yahoo.com.mx

Resumen

La metilación anormal de promotores de genes supresores de tumor y reparadores de DNA es un proceso epigenético que lleva a su silenciamiento transcripcional y es además un evento común observado en cáncer. DNMT3B es una DNA metiltransferasa que se encuentra sobre-expresado en varios tipos de cáncer y tumores primarios y es responsable de la metilación anormal de genes relacionados con cáncer. A pesar de que se conocen 5 genes como blancos de DNMT3B, los elementos que explican la metilación sitio-específica están actualmente en proceso de ser explicados. En esta investigación se pretende encontrar genes blancos de DNMT3B y analizar qué elementos en su región promotora además de la presencia de islas CpG son elementos importantes para entender la relación DNMT3B/gen metilado. En ese sentido se pretende encontrar, secuencias comunes en promotores metilados y factores de la transcripción que formando complejo con DNMT3B en el promotor del gen blanco. Actualmente en este estudio, se tienen como genes candidatos para el análisis de genes blanco de DNMT3B al gen reparador de DNA, MSH2 y al supresor de tumor, CDKN2A, los cuales participan en procesos biológicos claves en el desarrollo de cáncer como es reparación del DNA, y regulación del ciclo celular y la vía de p53 respectivamente. Además de contar con una isla CpG en su promotor, estos dos genes son regulados por el factor de la transcripción c-myc el cual es un factor que puede interactuar con DNMT3B, formar complejo en su promotor y favorecer la metilación de sus genes blanco.

Palabras clave: DNMT3B, cáncer, metilación

Abstract

Abnormal methylation of promoters of genes suppressors of tumor and repairers of DNA is an epigenetic process that leads to its transcriptional silencing and is also a common event observed in cancer. DNMT3B is a DNA methyltransferase that is over-expressed in several types of cancer and primary tumors and it is responsible for the abnormal methylation of cancer-related genes. Although 5 genes are known as targets of DNMT3B, the elements that explain site-specific methylation are currently in the process of being explained. This research aims to find white genes of DNMT3B and analyze which elements in its promoter region besides the presence of CpG islands are important elements to understand the relationship DNMT3B / methylated gene. In that sense it is intended to find, common sequences in methylated promoters and factors of the transcription that forms complexed with DNMT3B in the promoter of the target gene. Currently in this study, the DNA repair gene, MSH2 and the tumor suppressor, CDKN2A, which participate in key biological processes in the development of cancer such as DNA repair, are candidates for the analysis of DNMT3B target genes and regulation of the cell cycle and p53 pathway respectively. In addition to having a CpG island in its promoter, these two genes are regulated by the c-myc transcription factor which is a factor that can interact with DNMT3B, form a complex in its promoter and favor the methylation of its target genes.

Key words: DNMT3B, cancer, methylation

Como citar el artículo:

Peralta-Arrieta, I., Illades-Aguiar, B. y Hernández-Sotelo, D. (2017). Efecto de la sobre-expresión de DNMT3B en la actividad transcripcional de genes relacionados con el cáncer. *Tlamati*, 8(1), 11-20.

Introducción

La metilación del DNA es un proceso epigenético importante en la regulación de la expresión de genes (Bird, 2002). La metilación ocurre en las citosinas, en el contexto de dinucleótidos CpG (Bestor, 2000), los cuales se agrupan en regiones llamadas “islas CpG” en los promotores de genes. Una isla CpG se define como una región de más 200 pb con un contenido de G+C del 50% (Gardiner-Garden y Frommer, 1987). Aproximadamente el 70% de los promotores de genes humanos se asocian a una isla CpG, entre los cuales se encuentran genes constitutivos, oncogenes y genes supresores de tumor (Deaton y Bird, 2011). Se ha considerado a las islas CpG como una región reguladora que tienen como característica que no se encuentran metilada en una célula somática normal. Sin embargo, durante el desarrollo de cáncer las islas CpG de genes involucrados en el control del ciclo celular (*Rb*, *p1^{INK4a}*, *BRCA1*, por citar algunos) son metilados anormalmente llevando a su silenciamiento transcripcional y dando origen y progresión a procesos tumorales (Jones y Baylin, 2002).

Las DNA metiltransferasas (DNMTs) son las enzimas responsables del establecimiento y mantenimiento de los patrones de metilación en el genoma. DNMT1 o DNMT de mantenimiento, mantiene los patrones de metilación durante la replicación del DNA (Jurkowska, Jurkowski y Jeltsch, 2011). Las DNMTs *de novo* (DNMT3A y DNMT3B) tienen preferencia por los CpGs no metilados y establecen los patrones nuevos de metilación durante el desarrollo embrionario (Chen, Ueda, Dodge, Wang, y Li, 2003). DNMT3B está sobre-expresada en muchos tipos de cáncer,

y es la principal DNMT que contribuye con el fenotipo oncogénico a través del silenciamiento transcripcional de genes supresores de tumor y reparadores de DNA por metilación (Esteller, 2007; Linhart, Lin, Yamada, Moran, Steine, Gokhale, Lo, Cantu, Ehrich, He, Meissner, y Jaenisch, 2007). Hasta ahora, se han identificado solo 5 genes blanco de DNMT3B los cuales tienen un papel importante en la progresión de tumores (MTSS1, HOXB13, Igf2, Sfrp2 y MAL) (Linhart et al., 2007; Ghoshal, Motiwala, Claus, Yan, Kutay, Datta, Majumder, et al., 2010; Fan, Chen, Zhang, Quan, Su, Qiu, et al., 2012; Teneng, Tellez, Picchi, Klinge, Yingling, Snider, Liu y Belinsky., 2014). Sin embargo, los factores que regulan la metilación sitio-específica por DNMT3B son poco claros e incompletos. Existen evidencias que señalan que la interacción de DNMTs con factores de la transcripción (Di Croce, Veronica, Raker, Corsaro, Fazi, Faretta y Fuks, 2002; Brenner, Deplus, Didelot, Lorient, Viré, De Smet, Gutierrez., et al., 2005; Hervouet, Vallette y Cartron., 2009, 2010), secuencias comunes en promotores metilados (Handa y Jeltsch, 2005), secuencias que flanquean CpGs (Feltus, Lee, Costello, Plass y Vertino, 2006) y el contenido de CpGs en los promotores de genes (Weber, Hellmann, Stadler, Ramos, Paabo, Rebhan, Schubeler, 2007) puede dirigir la metilación sitio-específica de promotores de genes. En base a lo anterior e identificando que genes relacionados con el desarrollo de cáncer son regulados de forma negativa por DNMT3B (además de los ya reportados), tendremos herramientas que nos ayudarán a entender de forma más clara la relación DNMT3B/gen metilado, ya que conocer el papel de la metilación del DNA es esencial para entender el proceso de la enfermedad, en este caso el cáncer. Además,

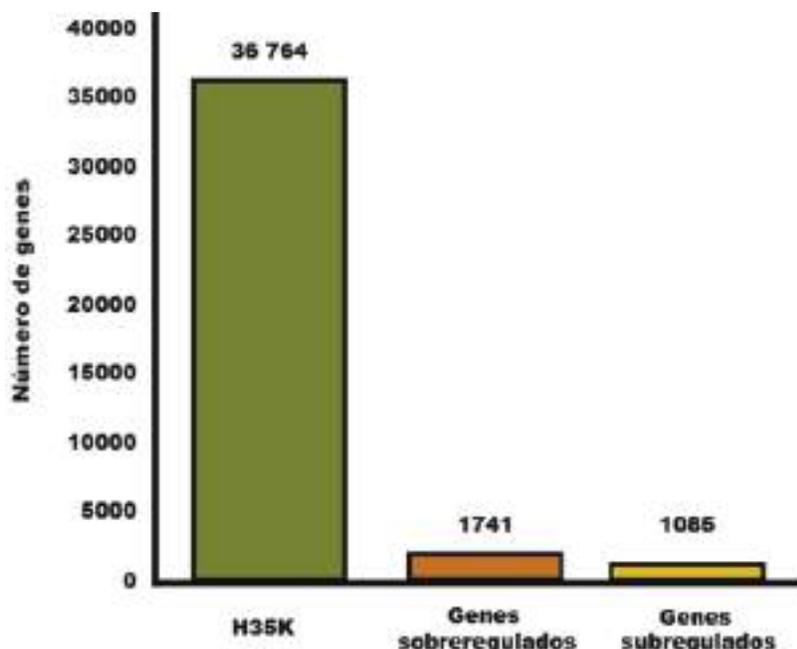


Figura 1. Cambio en la expresión de genes al sobre-expresar a DNMT3B en HaCaT. Se sobre-expresó a DNMT3B en HaCaT para valorar mediante un microarreglo que genes son regulados negativamente por DNMT3B. De los 36764 genes del microarreglo de genoma humano completo H35K, 1741 genes fueron sobreexpresados y 1085 subregulados.

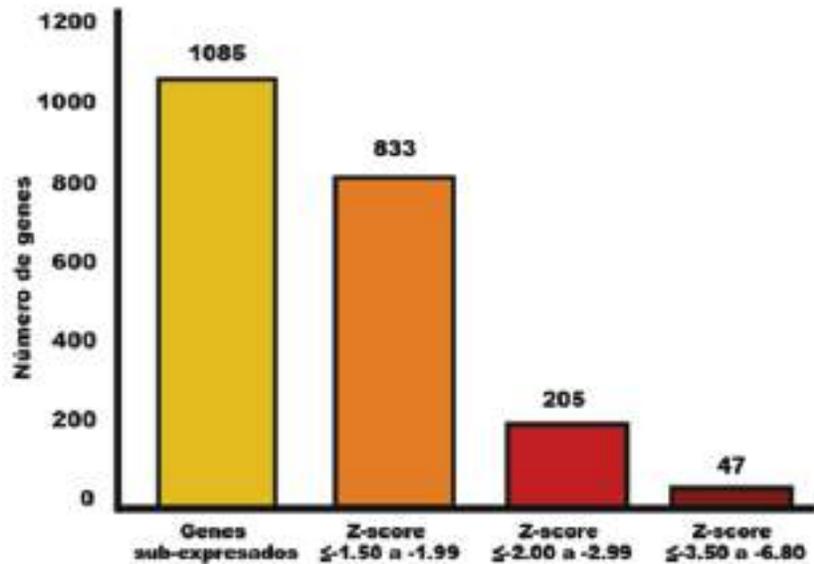


Figura 2. Genes que disminuyeron su expresión al sobre-expresar a DNMT3B en HaCaT. De los 1085 genes subregulados por DNMT3B se hicieron 3 grupos en base al valor del Zscore.

esclarecer este proceso epigenético permitirá la búsqueda de fármacos dirigidos contra DNMT3B, y así inducir la expresión de genes que se encuentren silenciados por metilación de su promotor en un tipo de cáncer.

Material y métodos

Línea celular

Las línea celular humana HaCaT (*Epidermal keratinocyte cell line, human adult low calcium temperature*) se cultivaron con medio DMEM/F12 1:1 (Sigma-Aldrich) suplementados con 10% de suero fetal bovino (FBS, PAA Laboratories GmbH, Austria), 120 U/mL de penicilina

(Penprocilin 800,000 U, Lakeside, México), 150 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomicina (Sulfestrep, Pisa Laboratories, México) y 40 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina (Schering Plough, México) y se incubarán a 37°C con 5% de CO_2 .

Transfecciones

Para los experimentos de transfección alrededor de 665,000 células se sembraron en placas de 60 mm en el medio correspondiente suplementado con 10% FBS. Las células HaCaT fueron transfectadas transitoriamente usando lipofectamina (Lipofectamine 2000 Invitrogen) con 3.5 μg del vector de expresión de DNMT3B (pHMT3B) por 4 horas (el vector pHMT3B fue proporcionado por el Dr.

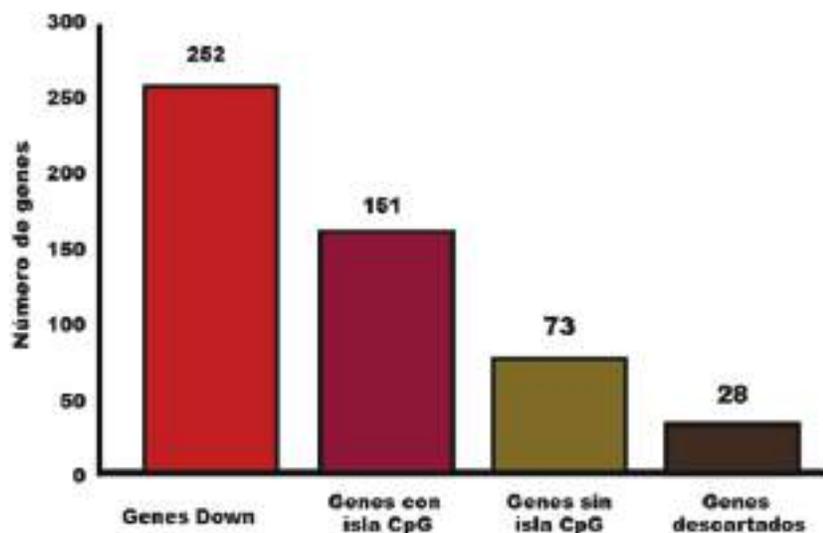


Figura 3. Total de genes con y sin isla CpG en su promotor. De los 252 genes con un Zscore de -2.00 a -6.8 se realizó el análisis *in silico* para la búsqueda de isla CpG en el promoto del gen. De estos, 151 genes presentan isla CpG y 73 genes no presentan isla.

Tabla 1. GO del proceso biológico de los genes con un Zscore de ≤ -2.00 a -6.80 con isla CpG

Nombre GO	Genes de referencia (Homosapiens) (21804)	Genes Zscore ≤ -2.00 a -6.80 (n= 146)	Esperado	Sub/sobre	P Bonferroni
Proceso biológico					
Proceso apoptótico (GO: 0006915)	697	5	4.67	+	1.00E00
Inducción de apoptosis (GO: 0006917)	228	2	1.53	+	1.00E00
Adhesión biológica (GO: 0022610)	890	3	5.96	-	1.00E00
Adhesión celular (GO:0007155)	890	3	5.96	-	1.00E00
Adhesión célula-célula (GO: 0016337)	506	2	3.39	-	1.00E00
Adhesión célula-matriz (GO: 0007160)	115	1	0.77	+	1.00E00
Organization celular o biogénesis (GO: 0071840)	1137	11	7.61	+	1.00E00
Organización de la cromatina (GO: 0006325)	257	3	1.72	+	1.00E00
Proceso celular (GO: 0009987)	5952	48	39.85	+	1.00E00
Comunicación celular (GO:0007154)	3221	26	21.57	+	1.00E00
Señalización célula-célula	835	5	5.59	-	1.00E00
Ciclo celular (GO:0007049)	1399	15	9.37	+	1.00E00
Meiosis (GO: 0007126)	100	1	0.67	+	1.00E00
Mitosis (GO: 0007067)	528	4	3.54	+	1.00E00
Regulación del ciclo celular (GO: 0051726)	13	1	0.09	+	1.00E00
Proliferación celular (GO:0008283)	45	2	0.3	+	1.00E00
Segregación de cromosoma (GO:0007059)	181	2	1.21	+	1.00E00
Procesos del desarrollo (GO: 0032502)	2846	23	19.06	+	1.00E00
Diferenciación celular (GO:0030154)	93	1	0.62	+	1.00E00
Muerte (GO:0016265)	699	5	4.68	+	1.00E00
Muerte celular (GO:0008219)	697	5	4.67	+	1.00E00
Proceso metabólico (GO: 0008152)	8613	68	57.67	+	1.00E00
Recombinación del DNA (GO: 0006310)	87	2	0.58	+	1.00E00
Reparación del DNA (GO: 0006281)	191	2	1.28	+	1.00E00
Replicación del DNA (GO: 0006260)	221	1	1.48	-	1.00E00
No clasificados	9422	52	63.09	-	1.00E00

Daniel Hernández Sotelo (UCQB-UAG)). Las células se cosecharon 48 h postransfección y se realizó la extracción del RNA total mediante el kit de extracción Direct-Zol RNA miniPrep (Zymo Research). La integridad estructural del RNA se confirmó por electroforesis en gel de agarosa al 1% y se cuantificó (Nanodrop 2000).

Microarreglo

Para el análisis de la expresión de genes, se usó un microarreglo con 36 764 genes del genoma humano (Microarreglos de humano 35 K-Genoma completo). El microarreglo se obtuvo y procesó en la unidad de Microarreglos del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM a cargo del Dr. Jorge Ramírez. Para el análisis del microarreglo se obtuvo el RNA total del orden de 30 µg de las células HaCaT que sobre-expresaron DNMT3B y de las células HaCaT no tratadas (control). Las muestras fueron marcadas como C y P, la muestra C se marcó con el fluoróforo Cy3, la P con el fluoróforo Cy5 y se hibridizó el chip H35K. El análisis estadístico de los resultados se hizo tomando como referencia la muestra marcada como C y como condición experimental la muestra marcada como P. El análisis de la expresión de genes fue realizado con el programa estadístico genArise, desarrollado en la Unidad de Informática del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Autónoma Nacional de México [UNAM] para

evaluar el grado de variación en la expresión génica (Z-score). Con ese criterio, los genes con un valor de Zscore mayor o menor a dos desviaciones estándar fueron los que se consideraron expresados diferencialmente.

Análisis *in silico*

Seleccionamos los genes que de acuerdo a los datos del microarreglo fueron subregulados por la sobre-expresión de DNMT3B. De estos genes se realizó un análisis *in silico* para buscar islas CpG en su promotor. Para lo cual se obtuvo la secuencia completa del gen de la base de datos Ensembl Genome Browser (Ensembl, 2015). Posteriormente se identificaron todos los sitios de inicio de la transcripción y se predijo el promotor de cada gen, se consideraron 3000 pb (2000 pb hacia el extremo 5' y 1000 pb al 3') relativo al sitio de inicio de la transcripción usando el programa ExPASy Bioinformatics Resource Portal (Swiss Institute of Informatics [SIB], 2014)). Como primer criterio de la selección de genes para nuestro análisis consideramos aquellos que tuvieran isla CpG en su promotor usando el programa MethPrimer (Plus CpG Island Prediction) (Peking Union Medical College Hospital [PUMCH], 2014), los criterios para considerar una isla CpG fueron una longitud de >200 pb, >50 GC% y una relación esperada/observada de >0.6. Posteriormente se realizó un GENE ONTOLOGY (GO) de todos los genes que tuvieron isla

Tabla 2. GO de la vía de los genes con un Zscore de ≤ -2.00 a -6.80 con isla CpG.

Nombre GO	Genes de referencia (Homosapiens) (21804)	Genes Zscore ≤ -2.00 a -6.80 (n=146)	Esperado	Sub/sobre	P Bonferro-ni
Vía					
Vía de señalización de PDGF	132	5	0.88	+	3.76E-01
Vía feedback loops 2 de p53	47	3	0.31	+	7.16E-01
Vía de p53	81	3	0.53	+	1.00E+00
Vía de señalización de Wnt	297	2	1.99	+	1.00E+00
Vía de señalización de VEGF	58	3	0.39	+	1.00E+00
Vía de Ras	73	2	0.49	+	1.00E+00
Vía de Cinasa PI3	47	2	0.31	+	1.00E+00
Vía de señalización de integrina	175	3	1.17	+	1.00E+00
Vía de señalización de FGF	115	3	0.77	+	1.00E+00
Vía de señalización del endotelio	79	2	0.53	+	1.00E+00
Vía de señalización del receptor EGF	123	2	0.82	+	1.00E+00
Vía de señalización de de caderina	153	2	1.02	+	1.00E+00
Angiogénesis	152	4	1.02	+	1.00E+00
No clasificados	19446	122	130.21	-	1.00E+00

Tabla 3. GO de genes con Zscore \leq -2.00 a -6.80 con isla CpG.

Símbolo del gen (ID)	Z-score	Proceso biológico	Vía
1. TUBA4A (ENSG00000127824)	-6.792568	Segregación cromosómica, ciclo celular, mitosis	
2. RPS6KA3 (ENSG00000177189)	-4.330745	Ciclo celular, comunicación celular	Vía de Ras, Vía de señalización PDGF s
3. PAPLN (ENSG00000100767)	-4.224023	Adhesión célula-célula, adhesión célula-matriz, adhesión celular, comunicación celular	
4. PGRMC1 (ENSG00000101856)	-4.16715	Comunicación celular	
5. ECE1 (ENSG00000117298)	-3.431365	Comunicación celular	Vía de señalización endotelial
6. ERBB3 (ENSG00000065361)	-3.425798	Proliferación celular, adhesión célula-célula, proceso apoptótico, muerte celular, adhesión celular	
7. NSD1 (ENSG00000165671)	-3.358409	Organización de la cromatina	
8. PPM1B (ENSG00000138032)	-3.191615	Comunicación celular	
CDK9 (ENSG00000136807)	-3.128962	Cell cycle, cell communication, mitosis	
9. SLC22A2 (ENSG00000112499)	-3.04728	Comunicación celular, señalización célula-célula	
10. FGF4 (ENSG00000075388)	-2.948159	Ciclo celular, comunicación celular	Vía de FGF
11. DBF4 (ENSG0000016169)	-2.721753	Ciclo celular	
12. ADIPOR1 (ENSG00000159346)	-2.71476	Comunicación celular	
13. GNG3 (ENSG00000162188)	-2.69523	Comunicación celular	Vía de señalización de Wnt
14. CDKN2A (ENSG00000147889)	-2.693064	Ciclo celular	Vía de p53
15. PDE10A (ENSG00000112541)	-2.611827	Comunicación celular	
16. MSH2 (ENSG00000095002)	-2.515924	Regulación del ciclo celular, ciclo celular, reparación DNA, recombinación de DNA, Meiosis	
17. CDH2 (ENSG00000170558)	-2.503473		Vía de señalización de Wnt, vía de señalización de cadherina
18. VEGFC (ENSG00000150630)	-2.387484	Ciclo celular, comunicación celular	
19. CBX8 (ENSG00000141570)	-2.320587	Organización de la cromatina, proceso apoptótico	
20. RCCD1 (ENSG00000166965)	-2.300347	Ciclo celular, mitosis	
21. SPRY2 (ENSG00000136158)	-2.273044	Comunicación celular	Señalización del receptor EGF, señalización de FGF
22. PABPC5 (ENSG00000174740)	-2.261433	Ciclo celular, replicación del DNA	
23. RBL1 (ENSG00000080839)	-2.258828	Ciclo celular	Vía feedback loops 2 p53
24. PIK3R2 (ENSG00000105647)	-2.235933	Comunicación celular	Vía de señalización de integrina, vía de p53, vía feedback loops 2 de p53, señalización de VEGF, vía PI3 cinasa, Angiogénesis, señalización de PDGF
25. BRAFF (ENSG0000015)	-2.217979	Ciclo celular, comunicación celular, inducción de apoptosis	Vía de señalización de integrina, vía de VEGF, vía de Ras, Angiogénesis, vía de PDGF
26. TAC3 (ENSG00000166863)	-2.217151	Comunicación celular	
27. TOM1L1 (ENSG00000141198)	-2.190353	Comunicación celular	
28. PTK2 (ENSG00000169398)	-2.15297	Proliferación celular, diferenciación celular, adhesión celular, comunicación celular, proceso apoptótico, señalización célula-célula	Vía de señalización de integrina, VEGF, y angiogénesis

Tabla 3. GO de genes con Zscore ≤-2.00 a -6.80 con isla CpG (Cont..)

29. ATR (ENSG00000175054)	-2.142932	Ciclo celular, comunicación celular, organización de la cromatina, apoptosis, reparación de DNA, recombinación de DNA, inductor de apoptosis	Vía de p53 y vía feedback loops 2 de p53
30. SH3GL1 (ENSG00000141985)	-2.129474	Comunicación celular y señalización célula-célula	
31. UBE2Z (ENSG00000159202)	-2.121392	Segregación cromosomica, ciclo celular, mitosis	
32. OLFM3 (ENSG00000118733)	-2.112171	Comunicación celular	
33. TTC7A (ENSG00000068724)	-2.100998	Comunicación celular	
34. VAV3 (ENSG00000134215)	-2.095619	Comunicación celular	Vía de señalización de PDGF
35. FGF2 (ENSG00000138685)	-2.028312	Comunicación celular, señalización célula-célula	Vía de señalización de FGF, Angiogénesis
36. MEGF11 (ENSG00000157890)	-2.021867	Comunicación celular	
37. ELK4 (ENSG00000158711)	-2.007778	Ciclo celular, comunicación celular	Vía de señalización de PDGF

CpG, para tener una visión general en que procesos biológicos o vías participan y poder seguir haciendo la discriminación de genes usando el programa PANTHER classification system (Gene Ontology Consortium, 2014). En este caso seleccionamos aquellos genes que tuvieran que ver con procesos o vías que favorecen el desarrollo de cáncer. Finalmente se hizo una búsqueda bibliográfica para valorar si los genes seleccionados tienen relación con su silenciamiento transcripcional por metilación de su promotor o si tienen alguna relación en el desarrollo de cáncer (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2014).

Resultados

Análisis de expresión de genes

Con el fin de buscar genes blancos de DNMT3B, se realizó un ensayo de sobreexpresión de DNMT3B en la

línea celular HaCaT y un análisis de cambio de la expresión de genes a base de un microarreglo. Los posibles genes blanco de DNMT3B se eligieron a base de los siguientes criterios: 1) Genes que disminuyan su expresión según los datos del microarreglo, 2) los genes presentaron una isla CpG en su promotor, 3) según el *gene ontology* los genes están dentro de funciones en procesos biológicos o en vías que tienen que ver con el desarrollo de cáncer, y 4) existe algún antecedente de regulación por metilación o estar involucrados en el desarrollo de algún tipo de cáncer. En base a lo anterior el análisis del microarreglo H35K nos indicó que de los 36 764 genes que tiene, 1741 se encontraron sobrerregulados y 1085 subregulados (véase figura 1). Se realizaron 3 grupos de genes en base a su Zscore: Zscore ≤-1.50 a -1.99, Zscore ≤-2.00 a -2.99 y Zscore ≤-3.03 a -6.80 (véase figura 2). Seleccionamos los genes con un Zscore <-2.00 a -6.80 para el análisis de las islas CpG en su promo-

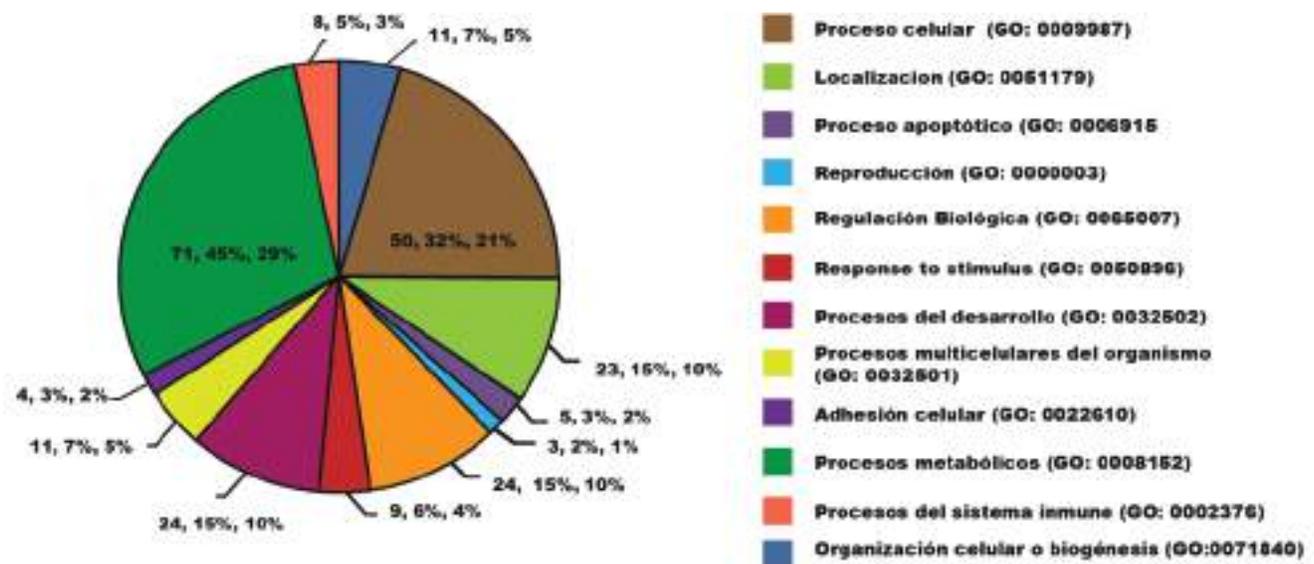


Figura 4. Gene ontology (GO): Distribución en la ontología del Proceso biológico de los genes que disminuyeron su expresión (Zscore -2.00 a -6.80).

Tabla 4. Referencias bibliográficas de análisis de metilación relación con cáncer de genes con Zscore ≤ -2.00 a -6.80 con isla CpG (candidatos a análisis de metilación).

Símbolo del gen (ID)	Z-score	Proceso biológico	Vía	Antecedente con cáncer o metilación	Regulados por c-myc
1. ECE1 (ENSG00000117298)	-3.431365	Comunicación celular	Señalización endotelial	Funke-Kaiser et al. (2003). En la isoforma ECE-1c.	Sin dato
2. NSD1 (ENSG00000165671)	-3.358409	Organización de la cromatina		Berdasco et al. (2009). Human neuroblastoma and glioma cell	Sin dato
3. SLC22A2 (ENSG00000112499)	-3.04728	Comunicación celular, señalización célula, célula		Aoki et al. (2008) is regulated by DNA methylation in Kidney Yang et al. (2012) Renals tumors: the epigenetic suppression of the organic cation transporters in Tsc-associated mouse renal tumours may contribute to the lack of response to metformin treatment.	Sin dato
4. FGF4 (ENSG00000075388)	-2.948159	Ciclo celular, comunicación celular	Vía de señalización de FGF	Hartmann et al. (2009). DNA Methylation Markers Predict Outcome in Node-Positive	Sin dato
5. CDKN2A (ENSG00000147889)	-2.693064	Ciclo celular	Vía de p53	Bilgrami et al. (2014); Guerrero-Preston et al. (2014); Liau et al. (2014); Mishra et al. (2010); Chiaki Banzai. et al. (2013). Mishra et al. (2010), prostate cancer cell lines; Loss et al. (2010) in breast cancer cell line	Si
6. MSH2 (ENSG00000095002)	-2.515924	Regulación del ciclo celular, ciclo celular, reparación y recombinación de DNA, Meiosis		Hinrichesen et al. (2014); Gomes et al. (2014); Ling et al. (2012).	Si
7. CDH2 (ENSG00000170558)	-2.503473		Vía de señalización de Wnt y caderina	Yamashita et al. (2006), methylation -silenced genes in gastric cancer cell lines; Kober et al. (2011) genes hypermethylated in colorectal cancer.	Sin dato
8. VEGFC (ENSG00000150630)	-2.387484	Ciclo celular y comunicación celular		Dai W., et al. (2013), ovarian cancer.	Sin dato
9. CBX8 (ENSG00000141570)	-2.320587	Organización de la cromatina y proceso apoptótico		Geng et al. (2012), in NSCLC.	Sin dato
10. SPRY2 (ENSG00000136158)	-2.273044	Comunicación celular	de señalización del receptor de EGF y FGF	Velasco et al. (2011), methylation in endometrial carcinoma.	Sin dato
11. RBL1 (ENSG00000080839)	-2.258828	Ciclo celular	Vía feedback loops 2 de p53	McKie et al. (2005), methylation in prostate cancer. Mishra DK., et al. 2010 (prostate cancer cell lines)	Sin dato
12. TOM1L1 (ENSG00000141198)	-2.190353	Comunicación celular		Bocklandt et al. (2011). DNA emthylation patterns change with increasing age.	Sin dato
13. VAV3 (ENSG00000134215)	-2.095619	Comunicación celular	Vía de señalización de PDGF	Loss et al. (2010) in breast cancer cell line.	Sin dato
14. FGF2 (ENSG00000138685)	-2.028312	Comunicación celular y comunicación célula-célula	Vía de FGF y Angiogénesis	Sin dato	Sin dato

tor. Con este criterio se tienen 252 genes, de los cuales 151 presentan isla CpG, 73 no presentan isla CpG en su promotor y se descartaron 28 genes debido a que no se encontró la secuencia del gen en la base de datos (véase figura 3). Los genes que presentan isla CpG pueden indicar que la disminución de su expresión se debió probablemente a la metilación del promotor por DNMT3B.

Gene ontology (GO)

Antes de realizar la ontología de los genes con islas CpG, se realizó la ontología de los 252 genes que disminuyeron su expresión utilizando el programa Panther. De manera general se encontró, que los genes se encuentran distribuidos en diferentes procesos biológicos, como es: procesos celulares (50/32%), localización (23/15%), proceso apoptótico (5/3%), reproducción (3/2%), regulación biológica (24/15%), respuesta a estímulos (9/6%), procesos del desarrollo (24/15%), procesos multicelulares (11/7%), adhesión biológica (4/3%), procesos metabólicos (71/45%), sistema inmune (8/5%) y organización celular (11/7%) (véase figura 4). En cuanto a las vías, los genes se distribuyeron en vías como: la vía de señalización de PDGF, FGF, p53, Ras, Wnt, ésta última por ejemplo tienen un papel importante en los procesos de regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular (véase figura 5). Cabe mencionar que algunos genes se encontraban en más de un proceso biológico o vía de señalización. Posteriormente valoramos la función biológica y vías de los 151 genes con isla CpG para identificar la categoría ontológica sobre-representada por cada gen (véanse tabla 1 y 2). En base a los datos anteriores, se buscaron que genes eran los que representaban las vías y procesos biológicos mencionados anteriormente (véase tabla 3), de esta manera seleccio-

namos un total de 37 genes, los cuales su valor de Zscore iba de ≤ -2.00 a -6.79 .

Genes candidatos

De los 37 genes seleccionados, se realizó una búsqueda bibliográfica para continuar con la eliminación de los genes, se consideraron dos criterios en este caso, el primero era que ya haya un antecedente de análisis de metilación para los genes o bien que tuvieran alguna relación con el desarrollo y/o progresión de algún tipo de cáncer. En este sentido seleccionamos 14 genes (véase tabla 4). Actualmente se tienen considerados a dos genes como posibles candidatos para los futuros análisis de metilación y como genes blancos de DNMT3B en nuestro análisis, considerados en base al criterio de presentar isla CpG en su promotor, participar en procesos biológicos importantes para el desarrollo de cáncer, y tener antecedentes de ser regulados por metilación de su promotor. Los posibles genes candidatos son: MSH2, un reparador de DNA y CDKN2A, un supresor de tumor. Cabe mencionar que la lista puede aumentar considerando otros criterios. Cabe mencionar también que como en el estudio se pretende buscar interacción de DNMT3B con factores de la transcripción que regulen los genes candidatos, existe la evidencia de que MSH2 y CDKN2A son regulados por el factor de la transcripción c-myc, actualmente se sabe que este factor de la transcripción es capaz de formar complejo con DNMT3B en la región promotora de sus genes blanco favoreciendo la metilación del gen y por tanto su silenciamiento transcripcional. En este sentido, este criterio hace de estos genes sean seleccionados para futuros análisis, además de que su silenciamiento transcripcional por metilación de su promotor es alta en diversos tipos de cánceres.

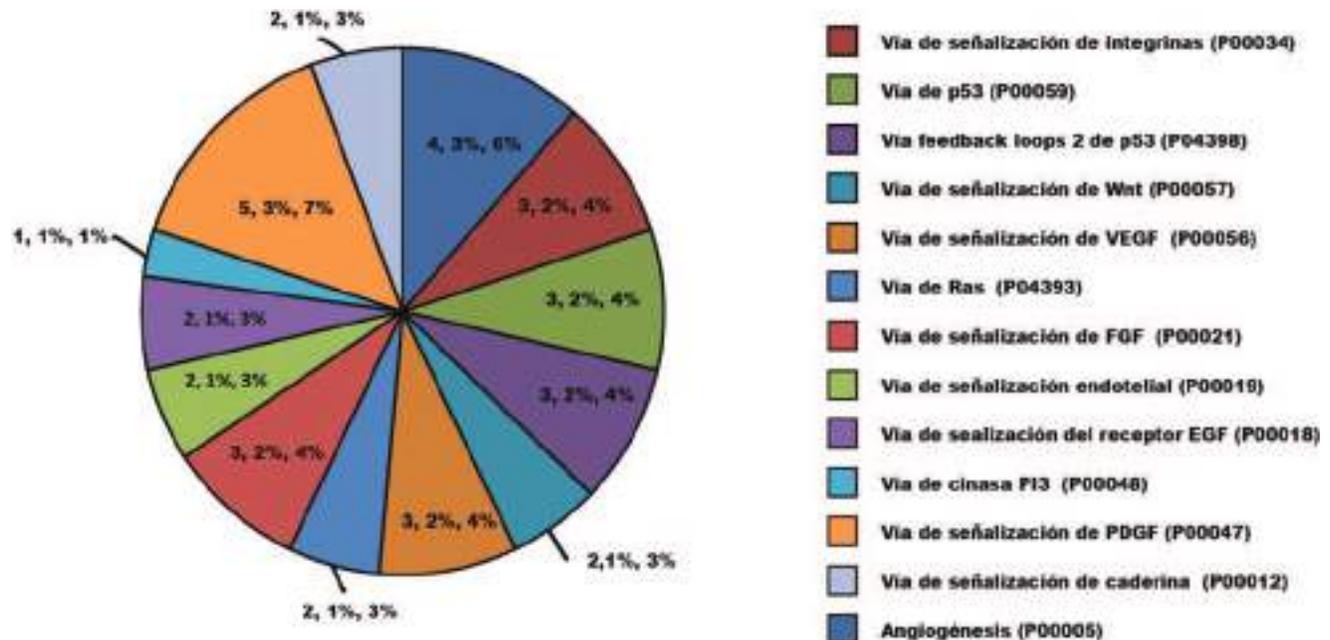


Figura 5. Gene ontology (GO). Distribución en la ontología de vía de los genes que disminuyeron su expresión (Zscore - 2.00 a -6.80).

Discusión y conclusión

La selección de los genes que son metilados en cáncer es un proceso complejo. En la actualidad conocemos que el número de CpGs presentes en un promotor, la presencia de secuencias específicas y los factores de la transcripción presentes en dicho promotor son los elementos que nos ayudan a entender que genes son metilados. El conocer a mayor profundidad los elementos que regulan la metilación anormal puede generar oportunidades terapéuticas para algunos tipos de cáncer humano y para entender mejor el papel de la metilación del DNA en distintos procesos biológicos. El gen reparador de DNA (MSH2) y a un supresor de tumor (CDKN2A) parecen ser posibles genes blanco de DNMT3B para la búsqueda y análisis de los elementos mencionados anteriormente y esclarecer si todos estos elementos en conjunto pueden explicar el hecho de que DNMT3B seleccione sus genes blancos llevando a la metilación sitio específico.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Jorge Ramírez, Lorena Chávez, José Luis Santillán y Simón Guzmán por el procesamiento y análisis estadístico del microarreglo, encargado de la unidad de Microarreglos del departamento de Fisiología Celular de la UN

Referencias

- Bestor, T.H. (2000). The DNA methyltransferases of mammals. *Human Molecular Genetics*, 9, 2395-2402.
- Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16, 6-21.
- Brenner, C., Deplus, R., Didelot, C., Lorient, A., Viré, E., De Smet, C., Gutierrez, A., Danovi, D., Bernard, D., Boon, T. P., Pelicci, G., Amati, B., Kouzarides, T. de Launoit, Y., Croce, L.D., Fuks, F. (2005). Myc represses transcription through recruitment of DNA methyltransferase corepressor. *European Molecular Biology Organization*, 24, 336-346.
- Chen, T., Ueda, Y., Dodge, J.E., Wang, Z. y Li, E. (2003). Establishment and maintenance of genomic methylation patterns in mouse embryonic stem cells by Dnmt3a and Dnmt3b. *Molecular and Cellular Biology*, 23, 5594-5605.
- Deaton, A.M. y Bird, A. (2011). CpG islands and the regulation of transcription. *Genes & Development*, 25, 1010-1022.
- Di Croce, L., Raker, V. A., Corsaro, M., Fazi, M. F., Faretta, M., Fuks, F., Lo Coco, F., Kouzarides, T., Nervi, C., Minucci, S., Pelicci, P.G., (2002). Methyltransferase Recruitment and DNA Hypermethylation of Target Promoters by an Oncogenic Transcription Factor. *SCIENCE*, 295, 1079-1082.
- Ensemblr (Febrero, 20, 2015). *Ensemblr Genome Browser*. Obtenido de <http://www.ensembl.org/index.html>
- Esteller, M. (2007). Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylation. *Human Molecular Genetics*, 16(1E), 50-59.
- Fan, H., Chen, L., Zhang, F., Quan, Y., Su, X., Qiu, X., Zhao, Z., Kong, K. L., Dong, S., Song, Y., Chan, T. H., Guan, X. Y. (2012). MTSS1, a novel target of DNA methyltransferase 3B, functions as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 31, 2298-2308.
- Feltus, F. A., Lee, E. K., Costello, J. F., Plass, C. y Vertino, P. M. (2006). DNA motifs associated with aberrant CpG island methylation. *GENOMICS*, 87, 572-579.
- Gardiner-Garden, M. y Frommer, M. (1987). CpG islands in vertebrate genomes. *Journal of Molecular Biology*, 196, 261-282.
- Gene Ontology Consortium (2014) *Panther classification system*. Obtenido de <http://www.pantherdb.org/>
- Ghoshal, K., Motiwala, T., Claus, R., Yan, P., Kutay, H., Datta, J., Majumder, S., Bai, S., Majumder, A., Huang, T., Plass, C. y Jacob, S.T. (2010). HOXB13, a target of DNMT3B, is methylated at an upstream CpG island, and functions as a tumor suppressor in primary colorectal tumors. *PLoS One*, 5, e10338.
- Handa, V., Jeltsch, A. (2005). Profound flanking sequence preference of Dnmt3a and Dnmt3b mammalian DNA methyltransferases shape the human epigenome. *Journal of Molecular Biology*, 348, 1103-1112.
- Hervouet, E., Vallette, F. M. y Cartron, P. F. (2009). Dnmt3/transcription factor interactions as crucial players in targeted DNA methylation. *Epigenetics*, 4, 487-499.
- Hervouet, E., Vallette, F. M. y Cartron, P. F. (2010). Dnmt1/Transcription factor interactions: an alternative mechanism of DNA methylation inheritance. *Genes Cancer*, 1, 434-443.
- Jones, P. A. y Baylin, S. B. (2002). The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 3, 415-428.
- Jurkowska, R. Z., Jurkowski, T. P. y Jeltsch, A. (2011). Structure and function of mammalian DNA methyltransferases. *Chembio chem*, 12, 206-222.
- Linhart, H. G., Lin, H., Yamada, Y., Moran, E., Steine, E. J., Gokhale, S., Lo, G., Cantu, E., Ehrlich, M., He, T., Meissner, A. y Jaenisch, R. (2007). Dnmt3b promotes tumorigenesis in vivo by gene-specific de novo methylation and transcriptional silencing. *Genes & Development*, 21, 3110-3122.
- Swiss Institute of Informatics (2014). *ExpASY Bioinformatics Resource Portal*. Obtenido de <http://expasy.org/proteomics>
- Peking Union Medical College Hospital (2014). *Plus CpG Island Prediction*. Obtenido de <http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi>
- National Center for Biotechnology Information (2014) *PubMed*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- Teneng, I., Tellez, C. S., Picchi, M. A., Klinge, D. M., Yingling, C. M., Snider, A. M., Liu, Y., Belinsky, S. A. (2014). Global identification of genes targeted by DNMT3b for epigenetic silencing in lung cancer. *Oncogene*, 34(5), 621-30
- Weber, M., Hellmann, I., Stadler, M. B., Ramos, L., Paabo, S., Rebhan, M., Schubeler, D. (2007). Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nature Genetics*, 39, 457-466.



Metilación del gen I1 del VPH-16 como marcador de cáncer cervical

Francisco Israel Torres Rojas^{1*}
 Berenice Illades Aguiar¹

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Laboratorio de Biomedicina Molecular Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.U. Zona Sur. C. P. 39070. Chilpancingo, Guerrero, México. Tel: + (52) 747 4710901

*Autor de correspondencia
 trisrael5@yahoo.com.mx

Resumen

Se procesaron un total de 14 muestras positivas a infección únicamente por VPH-16, de las cuales 5 fueron diagnosticadas citológicamente como citología normal (CN), 6 como lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LEIBG) y 3 muestras de cáncer. La variante identificada más frecuente en estas muestras fue la variante E-G350. Después de la secuenciación se pudo observar el cambio de citosina a timina en todas aquellas citosinas que no se localizan en el contexto 5' CpG3' y en las citosinas que se encuentran en un dinucleótido CpG pero que carecen de metilación. Las citosinas metiladas se mantienen como citosinas después de la modificación con bisulfito, la mayoría de las muestras con un diagnóstico de citología normal permanecen sin metilación en el fragmento de la región L1 analizada, esta metilación incrementa conforme la lesión progresa. Un hallazgo interesante es que el sitio 6366 carece de metilación en las muestras de LEIBG y en 2 muestras de cáncer, lo que parece indicar que solo los sitios 6388, 6456 y 6580 pueden indicar progresión. También es el hecho de que la muestra portadora de la variante AA-c y diagnosticada como LEIBG, presenta un mayor grado de metilación que el resto de las muestras catalogadas en el mismo grupo de lesión, lo anterior puede ser consecuencia de la alta capacidad de progresión a cáncer que se le ha atribuido a mencionada variante, aunque cabe señalar que la muestra de cáncer portadora de esta variante no presenta metilación en la posición 6366.

Palabras clave: cáncer, lesión escamosa. VPH

Abstract

A total of 14 infection-positive samples were processed only for HPV-16, of which 5 were cytologically diagnosed as normal cytology (CN), 6 as a low-grade squamous intraepithelial lesion (LEIBG) and 3 cancer samples. The most frequent variant identified in these samples was the variant E-G350. After sequencing, change of cytosine to thymine could be observed in all those cytosines that are not located in the 5' CpG3' context and in the cytosines that are found in a CpG dinucleotide but lack methylation. Methylated cytosines remain as cytosines after modification with bisulfite, most of the samples with a normal cytology diagnosis remain without methylation in the fragment of the L1 region analyzed; this methylation increases as the lesion progresses. An interesting finding is that the 6366 site lacks methylation in the LEIBG samples and in 2 cancer samples, which seems to indicate that only the 6388, 6456 and 6580 sites may indicate progression. It is also a fact that the carrier sample of the variant AA-c and diagnosed as LEIBG, presents a higher degree of methylation than the rest of the samples cataloged in the same group of lesion; this may be a consequence of the high capacity of progression to cancer that has been attributed to this variant, although it should be noted that the cancer sample carrying this variant does not present methylation at position 6366.

Keywords: cancer, squamous lesion. HPV

Como citar el artículo:

Torres Rojas, F. I., Illades Aguiar, B. (2017). Metilación del gen I1 del VPH-16 como marcador de cáncer cervical. *Tlamati*, 8(1), 21-26.

Tabla 1. Variantes del VPH-16 localizadas en las muestras.

Clave de la muestra	Cambio Nucleotídico respecto a la variante Prototipo	Variante
CQ129	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CQ771	Timina por Guanina posición 350	E-G350
TH805	Timina por Guanina posición 350	E-G350
TH90	G145T, T183G, T286A, A289G, C335T, T350G y A532G	AA-c
CQ359	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CQ2971	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CQ2308	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CQ2545	G145T, T183G, T286A, A289G, C335T, T350G y A532G	AA-c
MC1	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CQ3544	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CQ1239	Guanina por Adenina posición 176	E-A176/g
CC80	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CC186	Timina por Guanina posición 350	E-G350
CC188	G145T, T286A, A289G, C335T, T350G y A532G	AA-a

Macias, Tewari, Hagmar, Lie, Barrera-Saldana, Wiley y Bernard 2004).

En un estudio realizado por Brandsma y colaboradores donde se evaluó la metilación del ADN del VPH-16, se encontró una alta frecuencia de metilación en sitios CpG en particular en el gen *E5* y región *L2/L1*. De este modo la progresión neoplásica se asoció generalmente con un número creciente de sitios CpG metilados y al aumento de la proporción de moléculas de VPH-16 metilados en estas regiones (Brandsma, Sun, Lizardi, Tuck, Zelterman, Haines, Martel, Harigopal, Schofield y Neapolitano 2009).

Recientemente se ha reportado que la metilación en el gen *L1* del VPH-16 se asocia positivamente con el diagnóstico histológico (Oka, Kajita, Nishimura, Ohbayashi y Sudo, 2013).

Nosotros intentamos demostrar que la determinación de la metilación en 4 sitios de *L1* puede ser un factor clave para identificar el diagnóstico citológico y el riesgo de progresión a cáncer en lesiones precursoras.

Materiales y Métodos

Obtención de muestras

La recolección de muestras y el diagnóstico citológico, fueron realizadas por el servicio de diagnóstico oportuno de CaCU y detección de VPH en el Laboratorio de Citopatología e Histoquímica de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas [UACQB] de la Universidad Autónoma de Guerrero [UAGro].

Se obtuvieron muestras exo-endocervicales de la zona de transformación escamo cilíndrica de mujeres que acudieron a mencionado servicio de detección.

Las muestras de cáncer fueron captadas en el Instituto

Estatal de Cancerología “Dr. Arturo Beltrán Ortega”

Extracción de ADN genómico

El ADN fue extraído mediante el método estándar SDS-proteinasa K-fenol-cloroformo. Brevemente, se agregará proteinasa K hasta una concentración final de 100ug/ml y se incubó a 65°C durante 20 minutos. Se agregó la mezcla fenol/cloroformo/alcohol isoamílico [25:24:1] y se centrifugó para recuperar la fase acuosa. Lo anterior se realizó por 3 veces. Se agregó cloroformo/alcohol isoamílico [24:1], se centrifugó y recuperó la fase acuosa a la cual se agregó LiCl, nuevamente se centrifugó y recuperó el sobrenadante. El ADN se precipitó agregando NaCl 5M e isopropanol agitando lentamente, por inversión. El ADN se incubó a -20°C toda la noche para posteriormente realizar un lavado con etanol al 70%, se centrifugó y desechó el sobrenadante. Una vez seco, el ADN fue resuspendido en agua desionizada.

Determinación de la variante del VPH

El diagnóstico citológico fue realizado por citología en base líquida en el Laboratorio de Citopatología de la UACQB y la tipificación viral por INNO-LiPA HPV genotyping Extra.

La identificación de variantes del VPH-16 se realizó mediante secuenciación de productos de PCR positivos al gen E6 del VH-16, dichos fragmentos fueron obtenidos con el uso de los iniciadores F048 (5'GAACCGAAACCGGTTAGTAT3') y R622 (5'CAGTTGTCTCTGGTTGCAAA3'), las condiciones de PCR fueron las descritas por Casas, Galván, Ordoñez, López, Guido y Berumen en 2009, el producto de PCR fue marcado y secuenciado mediante Big Dye Terminator v3.1

Tabla 2. Metilación del gen *L1* en muestras positivas a VPH-16

CLAVE	Dx Cit	Var	Sitio_6366	Sitio_6388	Sitio_6456	Sitio_6580
CQ129	CN	E-G350	U	U	U	U
CQ771	CN	E-G350	U	U	U	U
TH805	CN	E-G350	U	M	M	U
TH90	CN	AA-c	U	U	U	M
CQ359	CN	E-G350	U	U	U	U
CQ2971	LEIBG	E-G350	U	M	U	U
CQ2308	LEIBG	E-G350	U	M	U	U
CQ2545	LEIBG	AA-c	M	M	UM	M
MC1	LEIBG	E-G350	U	M	U	M
CQ3544	LEIBG	E-G350		UM	U	U
CQ1239	LEIBG	E-A176/g	U	M	U	U
CC80	Cáncer	E-G350	U	M	M	M
CC186	Cáncer	E-G350	U	M	M	M
CC188	Cáncer	AA-a	U	M	M	M

Resultados

Se procesaron un total de 14 muestras positivas a infección únicamente por VPH-16, de las cuales 5 fueron diagnosticadas citológicamente como citología normal (CN), 6 como lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LEIBG) y 3 muestras de cáncer.

Las variantes identificadas en estas muestras se enlistan en la tabla 1, siendo la variante más frecuente la variante E-G350.

Después de la secuenciación se pudo observar el cambio de citosina a timina en todas aquellas citosinas que no se localizan en el contexto 5' CpG3' y en las citosinas que se encuentran en un dinucleótido CpG pero que carecen de metilación (véase figura 1).

Las citosinas metiladas se mantienen como citosinas después de la modificación con bisulfito, esto sólo puede observarse en la secuenciación (véase figura 2).

Como puede observarse en la tabla 2, la mayoría de las muestras con un diagnóstico de citología normal permanecen sin metilación en el fragmento de la región L1 analizada, esta metilación incrementa conforme la lesión progresa.

Discusión y conclusiones

Un hallazgo interesante es que el sitio 6366 carece de metilación en las muestras de LEIBG y en 2 muestras de cáncer, lo que parece indicar que solo los sitios 6388, 6456 y 6580 pueden indicar progresión.

Un punto más a recalcar es el hecho de que la muestra portadora de la variante AA-c y diagnosticada como LEIBG, presenta un mayor grado de metilación que el resto de las muestras catalogadas en el mismo grupo de

lesión, lo anterior puede ser consecuencia de la alta capacidad de progresión a cáncer que se le ha atribuido a mencionada variante, aunque cabe señalar que la muestra de cáncer portadora de esta variante no presenta metilación en la posición 6366.

La importancia de la metilación en L1 ha sido previamente descrita como un indicador de integración viral y de progresión, como nosotros en este estudio lo podemos corroborar, sin embargo es importante señalar, que aun no existe un estudio que ponga de manifiesto el efecto de mencionada metilación en la expresión de oncoproteínas virales o en la interacción de factores de la transcripción con la región L1 del genoma del VPH-16.

La metilación en otras regiones del genoma del VPH-16 debe ser analizada en busca de encontrar una homogeneidad más concreta en cuanto a metilación del virus en la progresión del cáncer cérvicouterino lo cual, hasta ahora, no ha podido ser logrado.

Agradecimientos

El presente trabajo forma parte del proyecto de investigación "Identificación de un panel de Biomarcadores en Cáncer Cérvico Uterino" financiado por el Fondo Sectoriales Mixtos bajo el numero 201579.

Referencias

- Amarante, M. K. y Watanabe, M. A. (2009). The possible involvement of virus in breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 135, 329-337
- Arias, H., Peyton, C., Joste, N. Vargas, H. y Wheeler, C. M. (2006). Human Papillomavirus Type 16 Integration in Cervical Carcinoma In Situ and in Invasive Cervical

- Cancer. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(5), 1755-1762.
- Badal, V., Chuang, L. S. H., Tan, E. H., Badal, S., Villa, L. L., Wheeler, C. M., Li, B. F. y Bernard, H. U. (2003). CpG methylation of human papillomavirus-16 DNA in cervical cancer cell lines and in clinical specimens: genomic hypomethylation correlates with carcinogenic progression. *Journal of Virology*, 77, 6227-6234.
- Brandsma, J., M. (2009). Distinct Human Papillomavirus Type 16 Methyloemes in Cervical Cells at Different Stages of Premalignancy. *Virology*, 389(1-2), 100-107
- Casas, L., Galván, S. C., Ordoñez, R. M., López, N., Guido, M., y Berumen, J. (1999). Asian-american variants of human papillomavirus type 16 have extensive mutations in the E2 gene and are highly amplified in cervical carcinomas. *International Journal of Cancer*, 83(4), 449-455.
- Cornet, I., Gheit, T., Franceschi, S., Vignat, J., Burk, R. D., Sylla, B. S., Tommasino, M., Clifford, G. M., y the IARC HPV Variant Study Group. (2012) Human Papillomavirus Type 16 Genetic Variants: Phylogeny and Classification Based on E6 and LCR. *Journal of Virology*, 86 (12), 6855-6861.
- Dueñas, A., Lizano, M., Candelaria, M., Cetina, L., Arce, C., y Cervera, E. (2005). Epigenetics of cervical cancer. An overview and therapeutic perspectives. *Molecular Cancer*; 4 (25), 1-24
- Kalantari M., Calleja-Macias, I. E., Tewari, D., Hagmar, B., Lie, K., Barrera-Saldana, H.A., Wiley, D.J. y Bernard, H. U. (2004). Conserved Methylation Patterns of Human Papillomavirus Type 16 DNA in Asymptomatic Infection and Cervical Neoplasia. *Journal of Virology*, 78 (23), 12762-12772
- National Center for Biotechnology Information (2014). *Standard Nucleotide BLAST*. Obtenido de http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PRO-GRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LO C=blasthome
- Oka, N., Kajita, M., Nishimura, R., Ohbayashi, C., Sudo, T. (2013). L1 Gene Methylation in High-Risk Human Papillomaviruses for the Prognosis of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *International Journal of Gynecological Cancer*; 23, 235-243.
- Salozhin, S., Prokhorchuk, E. y Georgiev, G., (2005). Methylation of DNA One of the Major Epigenetic Markers. *Biochemistry*, 70(5), 526-528.
- Vinokurova S., Wentzensen N., Kraus I. Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kissel'ov F, Dürst M, Schneider A, von Knebel Doeberitz M. (2008). Type-Dependent Integration Frequency of Human Papillomavirus Genomes in Cervical Lesions. *Cancer Research*, 68, 307-313.
- Zheng, Z. M. y Baker, C. C. (2006). Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Frontiers in Bioscience*, 11, 2286-302.



Efecto del resveratrol sobre el nivel de expresión de los transportadores de glucosa [GLUTs] en isquemia cerebral *in vivo*

Anahi Tornos-Reyes^{1,2,*}
 Alma Ortíz-Plata³
 Ma Isabel Salazar Sánchez⁴
 José Pedraza-Chaverri⁵
 Penélope Aguilera²
 Mónica Espinoza-Rojo¹

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Biología Molecular y Genómica, Av. Lázaro Cárdenas s/n. CU SUR. Col. La Haciendita, Chilpancingo, México. Tel: +(52) 747 1223974.

²Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez". Laboratorio de Patología Vascular Cerebral,

³Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez". Laboratorio de Neuropatología Experimental.

⁴Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Inmunología

⁵Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Biología.

*Autor de correspondencia
 atreyes_25@hotmail.com

Resumen

La isquemia resulta de la oclusión de una arteria cerebral importante, generando alteraciones metabólicas celulares, que se exacerba durante la perfusión. La disminución del flujo sanguíneo cerebral restringe la entrega de oxígeno y glucosa, disminuyendo el metabolismo energético e induciendo excitotoxicidad por glutamato. Antioxidantes como el Resveratrol [RSV] previenen el daño isquémico, mejorando el metabolismo energético al aumentar la función mitocondrial en las neuronas, proceso mediado por los transportadores de glucosa [GLUTs]. Nosotros investigamos si el RSV regula la expresión del ARNm de los GLUTs después de isquemia cerebral. Ratas Wistar macho (250-350 gr) se dividieron en: 1.Sham; 2.Control: (CT); 3.vehículo (VH), etanol 50%; 4.RSV 1 mg/kg, iv; 5.isquemia / perfusión (I/R), oclusión de la arteria cerebral media (2 h) seguido de perfusión (2, 4 y 24hrs.); 6.I/R-VH, y 7.I/R-RSV (administrada al inicio de la perfusión). Los experimentos de RT-PCR en tiempo real mostraron que a **2h/2hR** existe una tendencia en el aumento de la expresión los GLUTs, principalmente de GLUT1 (1.7 veces en relación al CT). El VH y el RSV disminuyeron el ARNm de los tres GLUTs tanto en el grupo CT como en I/R. Tras **2h/4hR** y **2h/24hR** disminuyó la expresión de los tres GLUTs por debajo del CT, en tanto que la administración del RSV después de 4hR regreso a niveles basales la expresión de GLUT1 (2.41 ± 0.17), GLUT3 (2.97 ± 0.18) y GLUT4 (1.14 ± 0.36) mientras que a las **2h/24hR** el RSV no tuvo efecto. La administración aguda del RSV al inicio de la R fue capaz de modificar la expresión del ARNm de los GLUTs después de un evento isquémico, el efecto más evidente del RSV fue a 2h/4hR ya que previno la disminución del ARNm de los tres GLUTs inducida por I/R.

Palabras clave: Isquemia cerebral, GLUTs, Resveratrol

Como citar el artículo:

Tornos-Reyes, A., Ortíz-Plata, A., Salazar Sánchez, M. I., Pedraza-Chaverri, J., Aguilera, P. y Espinoza-Rojo, M. (2017). Efecto del resveratrol sobre el nivel de expresión de los transportadores de glucosa [GLUTs] en isquemia cerebral *in vivo*. *Tlamati*, 8(1), 27-32.

Abstract

Ischemia results from the occlusion of an important cerebral artery, generating cellular metabolic alterations, which is exacerbated during reperfusion. Decrease in cerebral blood flow restricts delivery of oxygen and glucose and decreasing energy metabolism and inducing excitotoxicity by glutamate. Antioxidants such as Resveratrol [RSV] prevent ischemic damage, improving energy metabolism by increasing mitochondrial function in neurons, a process mediated by glucose transporters [GLUTs]. We investigated whether RSV regulates the expression of ARNm of GLUTs after cerebral ischemia. Male Wistar rats (250-350 gr) were divided into: 1. Sham; 2. Control: (CT); 3. Vehicle (VH), 50% ethanol; 4. RSV 1 mg / kg, iv; 5. ischemia / reperfusion (I / R), occlusion of the middle cerebral artery (2 h) followed by reperfusion (2, 4 and 24 hrs.); 6. I / R-VH, and 7. I / R-RSV (administered at the beginning of reperfusion). Real-time RT-PCR experiments showed that at **2hI / 2hR** there is a tendency in the increase of GLUTs expression, mainly of GLUT1 (1.7 times in relation to CT). VH and RSV decreased the ARNm of all three GLUTs in both the CT and I / R groups. After **2hI / 4hR** and **2hI / 24hR** the expression of the three GLUTs decreased below the CT, while the administration of the RSV after 4hR returned to basal levels the expression of GLUT1 (2.41 ± 0.17), GLUT3 (2.97 ± 0.18) and GLUT4 (1.14 ± 0.36) while at **2hI / 24hR** the RSV had no effect. The acute administration of RSV at the beginning of the R was able to modify the expression of the ARNm of GLUTs after an ischemic event, the most evident effect of RSV was at 2hI / 4hR since it prevented the reduction of the ARNm of the three GLUTs induced by I / R.

Keywords: cerebral ischemia, GLUTs, Resveratrol

Introducción

En México la prevalencia del accidente cerebrovascular [ACV] es del 11.5% (Cabrera Rayo, Martínez Olazo, Laguna Hernández, Juárez Ocaña, Rosas Barrientos, Loria Castellanos, Medellín García et al., 2008) y se encuentra entre las 7 principales causas de muerte, ocupando el 3° lugar dentro de esta lista (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática [INEGI], 2010). Según su etiología el ACV se clasifica en hemorrágico e isquémico, siendo este último el responsable de más del 80% de los casos (Diez-Tejedor, Del Brutto, Álvarez-Sabín, Muñoz, Abiusi, 2001; Cabrera Rayo et al. 2008). La isquemia cerebral [I] es el resultado de la oclusión de una arteria cerebral importante en la mayoría de los casos es la arteria cerebral media [ACM] (Cabrera Rayo et al. 2008) e implica una cascada de eventos metabólicos que comienzan durante el insulto y prosiguen en la reperfusion [R] periodo de recuperación del flujo sanguíneo. El deterioro del flujo sanguíneo cerebral restringe el suministro de oxígeno, disminuye el meta-

bolismo de la glucosa e induce excitotoxicidad por glutamato y estrés oxidativo. La regulación del estrés oxidativo es importante sobre todo durante R, ya que la entrada de glucosa a la célula genera la producción de ERO's, en un ambiente en donde la actividad antioxidante endógena se encuentra disminuida. Con base en lo anterior surge la necesidad de combinar estrategias terapéuticas, de manera que se puedan minimizar los daños ocasionados por el estrés oxidativo celular asociado a la IC y la R. Estudios recientes revelan que el uso de una mezcla de antioxidantes resulta efectivo para minimizar los daños ocasionados por la trombólisis seguida de un infarto de miocardio, demostrando la utilidad de los antioxidantes en la aplicación clínica como tratamiento (Hicks, Montes-Cortes y Cruz-Dominguez, 2007). Adicionalmente, hemos demostrado que la administración del extracto de ajo envejecido y el resveratrol [RSV] al inicio de la R previenen el daño ocasionado por la oclusión de la arteria cerebral media [OACM] en el modelo experimental en rata (Cervantes, Montes de Oca Balderas, Gutiérrez-Baños, Orozco-Ibarra,

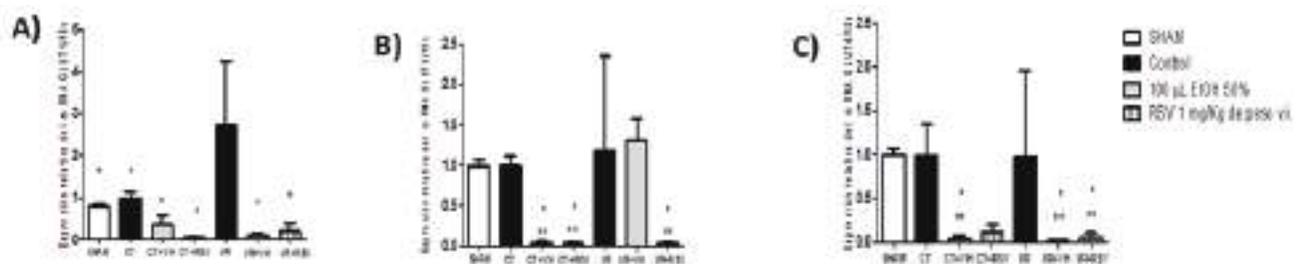


Figura 1. Efecto de la administración de RSV en la expresión relativa de los GLUTs a 2hI/2hR. Se utilizaron ratas de la cepa Wistar agrupados en dos categorías 1) Control: animales con cirugía pero sin oclusión de la arteria cerebral (SHAM), animales sin ningún tipo de tratamiento (CT), animales control tratados con etanol utilizado como vehículo (CT+VH), control tratados con RSV (CT+RSV); 2) Experimental, animales sometidos a 2 horas de isquemia y 2 horas de reperfusion (**2hI/2hR**) por oclusión de la arteria cerebral media, sin ningún tratamiento (I/R), animales con I/R tratados con vehículo (I/R+VH) y con tratamiento con RSV (I/R+RSV). El nivel de expresión relativa de ARNm en la corteza frontoparietal en el hemisferio ipsilateral (IP) se determinó por RT-PCR en tiempo real. Se realizó un análisis de variancia Anova de una vía Tukey A) GLUT1: * $P < 0.05$ vs I/R; B) GLUT3: * $P < 0.05$ vs. I/R; ** vs I/R+VH; ** vs CT RSV; C) GLUT4 * $P < 0.05$ vs. CT; ** vs I/R.

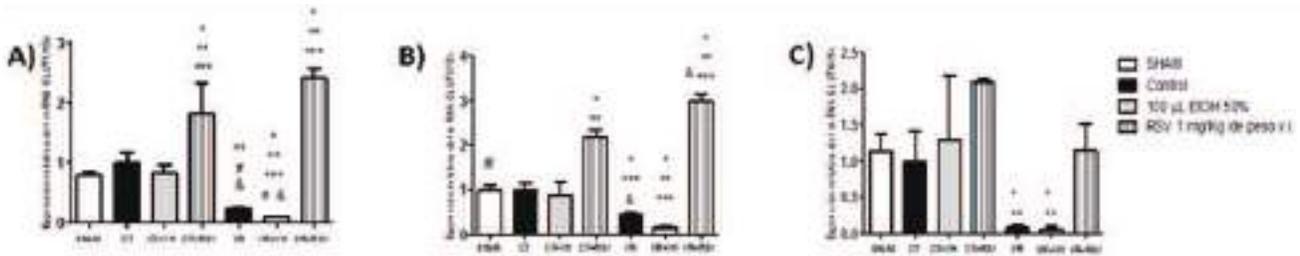


Figura 2. Efecto de la administración de RSV en la expresión relativa de los GLUTs a 2h/4hR. Se utilizaron ratas de la cepa Wistar agrupados en dos categorías 1) Control: animales con cirugía pero sin oclusión de la arteria cerebral (SHAM), animales sin ningún tipo de tratamiento (CT), animales control tratados con etanol utilizado como vehículo (CT+VH), control tratados con RSV (CT+RSV); 2) Experimental, animales sometidos a 2 horas de isquemia y 4 horas de reperusión (2h/4hR) por oclusión de la arteria cerebral media, sin ningún tratamiento (I/R), animales con I/R tratados con vehículo (I/R+VH) y con tratamiento con RSV (I/R+RSV). El nivel de expresión relativa de ARNm en la corteza frontoparietal en el hemisferio ipsilateral (IP) se determinó por RT-PCR en tiempo real. Se realizó un análisis de varianza Anova de una vía Tukey A) **GLUT1** *P < 0.05 vs SHAM, ** vs CT, *** vs CT+VH, # vs CT+RSV, & vs I/R+ RSV. B) **GLUT3** #P < 0.05 vs SHAM, ** vs CT, ** vs CT+VH, *** vs CT+RSV, & vs I/R+ RSV. C) **GLUT4** *P < 0.05 vs I/R, ** vs CT+RSV.

Fernández-Rojas, Medina-Campos, Espinoza-Rojo, Ruiz-Tachiquín et al., 2013). Además, se le ha atribuido un efecto neuroprotector contra la lesión provocada por la I/R al restaurar significativamente la actividad del complejo respiratorio mitocondrial (Yousuf, Atif, Ahmad, Hoda, Ishrat, Khan e Islam, 2008), recuperar el contenido de ATP (Li, Yan, Yang, Chen, Li, Jiang y Zhang, 2010) y restablecer la actividad ATPasa Na^+/K^+ . Lo anterior, nos permite inferir que el efecto del antioxidante puede relacionarse con el aumento y/o regulación en la captación de glucosa, derivado posiblemente de la regulación de la expresión de sus proteínas transportadoras de glucosa [GLUTs]. Entonces debido a que la I/R provoca alteraciones en la expresión de los transportadores de glucosa en cerebro en un proceso dependiente del estado redox, en el presente estudio se evaluó el efecto del RSV sobre la regulación de ARNm de GLUT1, GLUT3 y GLUT4.

Materiales y métodos

Modelo animal

Se emplearon ratas machos de la cepa Wistar de 250-320 g de peso procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suarez". Durante el procedimiento experimental se siguieron las reglas de uso y manejo de animales establecido por la Norma Oficial Mexicana para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) y a los principios éticos para las investigaciones médicas descritos por Helsinki (Asociación Médica Mundial).

Modelo experimental

Las ratas fueron divididas en: 1.Sham; 2.Control: [CT]; 3.vehículo [VH], etanol 50%; 4.RSV 1 mg/kg, iv; 5.isquemia / reperusión [I/R], oclusión de la arteria cerebral media (2 h) seguido de reperusión (2, 4 y 24hrs.); 6.I / R-VH, y 7.I / R-RSV (administrada al inicio de la reperusión). La isquemia cerebral transitoria se indujo

mediante OACM empleando el método descrito por Longa, et al. (1989). Las ratas del grupo VH, RSV y I/R se sacrificaron al término de los diferentes tiempos de R (2, 4, y 24 horas). Posteriormente se obtuvo la corteza frontoparietal de cerebros de ratas (n = 8 por grupo).

Diseño experimental

Se realizaron ensayos de RT-PCR en tiempo real para determinar el efecto del RSV en la expresión del ARNm de GLUT1, GLUT3 y GLUT4. ARN total fue extraído de la corteza parietal cerebral utilizando reactivo TRizol, posteriormente se realizó reverso transcripción y PCR en tiempo real por triplicado a 95 ° C durante 10 min y se sometieron a 40 ciclos empleando un detector ABI PRISM 7500 Sequence Detector System (Applied Biosystems) de como control interno del ensayo se determinó la expresión del RNA ribosomal de la subunidad 18S. Los valores de ciclo umbral (Ct) se determinaron por análisis automatizado utilizando el método comparativo $2^{-\Delta\Delta C_t}$. (Livak y Schmittgen 2001) de cuantificación relativa para determinar los niveles de expresión génica.

Ensayos enzimáticos

Ensayo de atrapamiento de radical peróxido (ROO \cdot)

El ensayo para medir el porcentaje de atrapamiento del radical peróxido, se realizó a partir de una mezcla que contenía compuestos azoderivados de AAPH [2,2'-azo-bis(2-amidino-propano) dihidrocloruro], para generar radicales peróxidos (ROO). El grado de protección antioxidante se cuantifica utilizando el antioxidante Trolox como estándar. Los resultados de las muestras de ensayo se publican como "equivalentes de Trolox" (Huang, Ou, Hampsch-Woodill, Flanagan y Prior, 2002).

Ensayo de atrapamiento de anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

El sistema xantina oxidasa fue usado para determinar la capacidad antioxidante del etanol (Bielski, Shlue, y Bajuk, 1980; Owen y Johns 1999). La generación de $\text{O}_2^{\cdot-}$ y la actividad de la xantina oxidasa fueron medidas como el

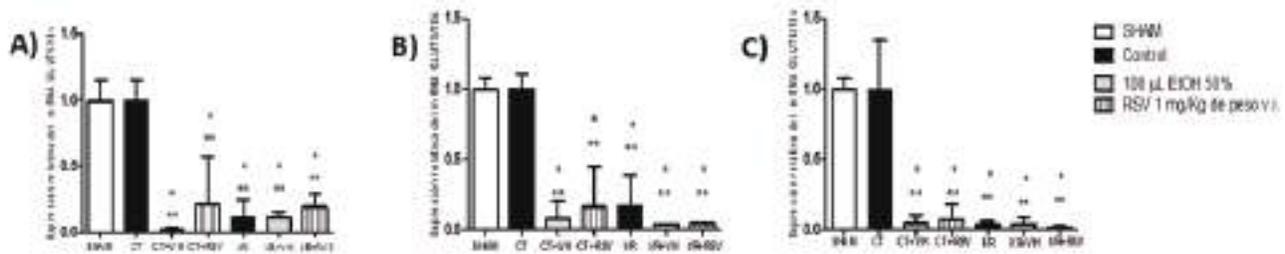


Figura 3. Efecto de la administración de RSV en la expresión relativa de los GLUTsa 2hI/24hR. Se utilizaron ratas de la cepa Wistar agrupadas en dos categorías 1) Control: animales con cirugía pero sin oclusión de la arteria cerebral (SHAM), animales sin ningún tipo de tratamiento (CT), animales control tratados con etanol utilizado como vehículo (CT+VH), control tratados con RSV (CT+RSV); 2) Experimental, animales sometidos a 2 horas de isquemia y 24 horas de R (2hI/24hR) por oclusión de la arteria cerebral media, sin ningún tratamiento (I/R), animales con I/R tratados con vehículo (I/R+VH) y con tratamiento con RSV (I/R+RSV). El nivel de expresión relativa de ARNm en la corteza frontoparietal en el hemisferio ipsilateral (IP) se determinó por RT-PCR en tiempo real. Se realizó un análisis de varianza Anova de una vía Tukey A) GLUT1 *P < 0.05 vs SHAM, ** vs CT. B) GLUT3 *P < 0.05 vs SHAM, ** vs CT. C) GLUT4

grado de reducción del NTB y la producción de ácido úrico, usando un espectrofotómetro (Du-640 serie Beckman). La densidad óptica fue registrada a 295 nm (producción de ácido úrico) y 560 nm (producción de O_2^-).

Resultados

Expresión del ARNm de los GLUTs a 2hI/24hR en corteza cerebral

La expresión de los GLUTs en el grupo control fue considerada con un valor de 1, para realizar las respectivas comparaciones. Los resultados obtenidos muestran que la I/R produjo una elevación estadísticamente significativa de la expresión del ARNm principalmente de GLUT1 (2.7 ± 1.5) (véase figura 1A), mientras que la expresión de GLUT3 (1.17 ± 1.17) (véase figura 1B) y GLUT4 (0.98 ± 0.97) (véase figura 1C) se mantuvieron a nivel ba-

sal. Observamos que la administración del VH y el RSV disminuyeron el nivel de expresión del ARNm de los 3 genes tanto en el grupo CT como en el I/R. La disminución en la expresión del ARNm fue por debajo del nivel basal; con la excepción en la expresión del ARNm de GLUT3 en el grupo I/R+VH (1.2 ± 0.28) en donde el nivel de expresión fue similar al grupo I/R.

Expresión del ARNm de los GLUT's a 2hI/4hR en corteza cerebral

En el grupo control, observamos que la administración del RSV indujo un aumento en la expresión del RNAm de GLUT1 en un 83% (1.8 ± 0.51), GLUT3 en un 117% (2.17 ± 0.18), mientras que GLUT4 se mantuvo en niveles basales (1.0 ± 0.04). Por otro lado, la I/R disminuyó la expresión de GLUT1 (0.23 ± 0.01), GLUT3 (0.45 ± 0.04) y GLUT4 (0.07 ± 0.03). Esta disminución se previno en el grupo I/R+RSV tras la administración del RSV, observándose una expresión de 2.41 ± 0.17 para GLUT1, 2.97 ± 0.19 para GLUT3 y 1.15 ± 0.37 para GLUT4 (Tukey $P > 0.05$, 2hI/4hR vs I/R+RSV).

Expresión del ARNm de los GLUTs a 2hI/24hR en corteza cerebral

Observamos que en el grupo sometido a I/R, la expresión de los 3 transportadores se mantuvo por debajo de los niveles basales. La expresión de GLUT1 (1.10 ± 0.13) un 89%, GLUT3 (1.16 ± 0.22) un 83% y GLUT4 (0.03 ± 0.03) un 96% comparado con el CT. Por otro parte, la administración del RSV exacerbó la disminución causada por la I/R en la expresión del ARNm de GLUT1, GLUT3 y GLUT4. Este mismo efecto de los GLUTs, se observó en los grupos CT tratados con el VH [GLUT1 (0.02 ± 0.00), GLUT3 (0.08 ± 0.11) y GLUT4 (0.04 ± 0.05)] y el RSV [GLUT1 (0.21 ± 0.35), GLUT3 (0.16 ± 0.27) y GLUT4 (0.07 ± 0.10)].

Capacidad antioxidante del etanol

Para entender el efecto del etanol, evaluamos su capacidad antioxidante. Encontramos que el etanol es capaz de

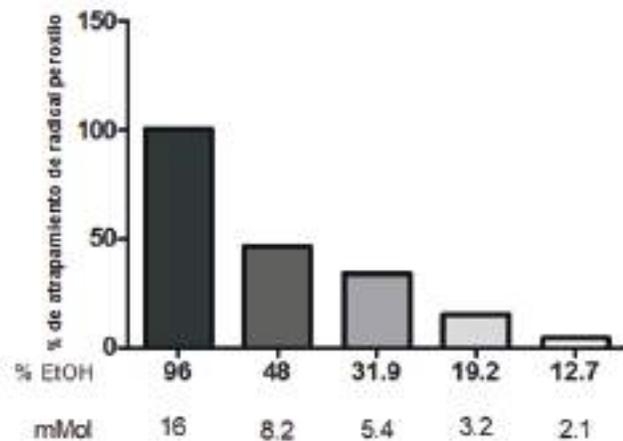


Figura 4. Porcentaje de atrapamiento de radical peroxilo. Se realizó el método ORAC a partir de diluciones en concentraciones decrecientes para determinar la capacidad antioxidante del etanol.

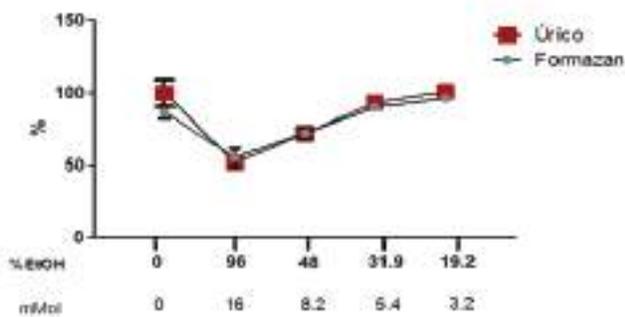


Figura 5. Porcentaje de atrapamiento de anión superóxido. Se utilizó el sistema Xantina Oxidasa para determinar la capacidad antioxidante del etanol a través del porcentaje de formación de úrico y formazán, a partir de soluciones en concentraciones decrecientes de etanol

atrapar el radical peróxido (véase figura 4) de 100 a 13 % (163 - 36 mM) y radical O_2^- (Figura 5) de 100 a 33 % (163 - 57 mM)

Discusión y conclusión

El aumento del RNAm de los GLUTs a 2h/2hR puede estar influenciado por el Factor inducible por Hipoxia [HIF-1]. Este factor es capaz de regular de la expresión de los GLUTs en condiciones de hipoxia/isquemia (Chavez y Lamanna 2002). Se ha demostrado que HIF-1 α se acumula en la primera hora de recuperación después de isquemia global transitoria inducida en corteza cerebral (Chavez y Lamanna, 2002) y que el mRNA de HIF-1 α se induce en la corteza adyacente al núcleo isquémico después de un infarto. Mientras que a 2h/4hR y a 2h/24hR se produce una disminución en la expresión de los GLUTs la cual creemos es ocasionada por el restablecimiento del flujo sanguíneo ya que bajo condiciones de normoxia (concentraciones de O_2 ~20-50 mM) HIF-1 reduce su vida media a 5 min y es degradado vía proteosoma, impidiendo que el complejo proteínico HIF-1 se pegue al promotor y se expresen los GLUTs. Por otro lado, se ha demostrado que el mRNA tanto de GLUT1 como de GLUT3 disminuyen con el aumento de los niveles de glucosa en sangre. En resumen nuestros resultados mostraron que la I/R provoca alteraciones en el nivel de expresión del mRNA de los GLUT's en la corteza frontoparietal ipsilateral a la lesión, incluyendo a GLUT4 del cual existen pocos estudios y que el incremento en la expresión de los GLUTs después de un trauma es parte de una respuesta de estrés neuronal para restablecer la energía requerida y activar procesos de reparación (Hamlin et al. 2001).

En relación al RSV los resultados muestran que fue capaz de regular el aumento en la expresión de los GLUTs provocado por 2h/2hR. Nosotros proponemos que la disminución del RNAm puede deberse al efecto antioxidante de RSV el cual disminuye el nivel de ERO's propiciando la regulación de la actividad de factores de transcripción sensibles a estrés oxidante que tienen como genes diana a los GLUTs. La inducción de 2h/4hR provocó disminución del mRNA en los GLUTs por debajo del nivel basal; entretanto la administración del RSV en ratas sometidas a I/R produjo un aumento en la expresión del mRNA de los

GLUTs. No se sabe con exactitud el mecanismo de acción del RSV; sin embargo con nuestros hallazgos podemos deducir que el RSV es capaz de actuar de acuerdo a las necesidades del entorno, modificando la respuesta de los GLUTs en base a los requerimientos celulares. Por otro lado, el RSV no previno la disminución del mRNA de los GLUTs provocada por 2h/24hR, tomando en cuenta la farmacocinética del RSV, podemos argumentar que la ausencia de efecto del RSV sobre la expresión de los GLUTs después de 24 horas de R se debe a su alta absorción y baja biodisponibilidad. A diferencia de otros trabajos, nosotros notamos que el VH (EtOH) mostraba un patrón de comportamiento similar al RSV sobre la expresión de los GLUTs por lo que decidimos evaluar su efecto antioxidante. Los resultados muestran que efectivamente el EtOH es capaz de atrapar radical peróxido y anión superóxido y que el efecto es dosis-dependiente, entre más concentrado se encuentre el etanol, mayor será su capacidad para atrapar ERO's; sin embargo sospechamos que el EtOH tiene mecanismos de acción diferentes al RSV.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular y Genómica de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la UAG, en Chilpancingo, Guerrero; en colaboración con la Dra. Penélope Aguilera del Laboratorio de Patología Vascular Cerebral del INNN "Manuel Velasco Suárez", México D.F. Agradecemos a la Dra. Alma Ortiz Plata (Investigadora del INNN "Manuel Velasco Suárez") por realizar la cirugía de OACM para inducir isquemia cerebral, y al Dr. José Pedraza Chaverri (Investigador de la Facultad de Química, UNAM) por su colaboración en el desarrollo de los ensayos enzimáticos.

Referencias

- Bielski, B., asShlue, G. y Bajuk, S., 1980. Reduction of nitro blue tetrazolium by CO_2^- and O_2^- radicals. *J Phys Chem.*, 84, pp.830-833.
- Cabrera Rayo, A., Martínez Olazo, O., Laguna Hernández, G., Juárez Ocaña, R., Rosas Barrientos, V., Loria Castellanos, J. Medellín García, R., Cerón Juárez, R., Sánchez Mata, F., Álvarez Torrecilla, L. y Rumbo Nava, U. (2008). Epidemiología de la enfermedad vascular cerebral en hospitales de la Ciudad de México. Estudio multicéntrico. *Med Int Mex*, 24(2), pp.98-103.
- Cervantes, M. I., Montes de Oca Balderas, P., Gutiérrez-Baños, J. de J., Orozco-Ibarra, M., Fernández-Rojas, B., Medina-Campos, O. N., Espinoza-Rojo, M. Ruiz-Tachiquín, M., Ortiz-Plata, A., Salazar, M.I., Rubio-Osornio, M., Castañeda-Saucedo, E., Pedraza-Chaverri, J., Calzada, F. y Aguilera, P. (2013). Comparison of antioxidant activity of hydroethanolic fresh and aged garlic extracts and their effects on cerebral ischemia. *Food Chem.*, 1(140(1-2)), pp.343-52.
- Chavez, J. C. y LaManna, J. C. (2002). Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: potential role of insulin-like growth factor-1. *J Neurosci.* Oct 15;22(20):8922-31.
- Díez-Tejedor, E., Del Brutto, O., Álvarez-Sabín, J., Muñoz, M., Abiusi, G. (2001). Clasificación de las enfermedades cerebrovasculares. Sociedad Iberoamericana de Enfermedades Cerebrovasculares. *Rev. neuronal.*, 33(5), pp.455-464.

- Hicks, J.J. Montes-Cortes, D. H. y Cruz-Dominguez, M. P. (2007). Antioxidants decrease reperfusion induced arrhythmias in myocardial infarction with ST-elevation. *Front. Biosci.*, 12(1), pp.2029–2037.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A. y Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agric. Food Chem.*, 50(16), pp.4437–4444.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2010) Mortalidad. Obtenido de: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107>
- Li, C., Yan, Z., Yang, J., Chen, H., Li, H., Jiang, Y. y Zhang, Z. (2010). Neuroprotective effects of resveratrol on ischemic injury mediated by modulating the release of neurotransmitter and neuromodulator in rats. *Neurochemistry international*, 56(3), pp.495–500.
- Livak, K. J. y Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, 25(4), pp.402–8
- Owen, P. y Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *J Ethnopharmacol*, 62(2), pp.149–60.
- Yousuf, S. Atif, F., Ahmad, M., Hoda, N., Ishrat, T., Khan, B. e Islam, F. (2008). Resveratrol exerts its neuroprotective effect by modulating mitochondrial dysfunctions and associated cell death during cerebral ischemia. *Brain Res.*, 1250, pp.242–253.



Expresión diferencial de proteínas en el estómago de *Meccus Pallidipennis* bajo la infección por *Trypanosoma Cruzi*

Ivette Nava Mirafuentes^{1*}
 José Lino Zumaquero Ríos²
 Donaciano Flores Robles³
 Pável Sierra-Martínez¹

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Control Biológico de la Unidad de Investigación Especializada en Microbiología (UIEM). Calle sin Nombre No. 13, Col. Las Colinas, Petaquillas, Guerrero, México. C. P. 39105, Tel: +(52) 747 1224631

² Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Laboratorio de Parásitos y Vectores.

³ Universidad Autónoma de Guerrero Laboratorio de Biología Molecular de la Unidad de Investigación Especializada en Microbiología (UIEM).

*Autor de correspondencia
 ivettenami21@gmail.com

Resumen

Los triatomíneos (Triatominae, Reduviidae), son hematófagos estrictos transmisores del parásito *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, constituyendo un problema de salud pública en Latinoamérica. Su sistema digestivo está dividido en tres regiones: anterior, medio y posterior sitio donde se completa el ciclo biológico de *T. cruzi*. La información sobre los mecanismos moleculares asociados con la interacción de *T. cruzi* en el estómago del insecto vector es escasa, atribuyéndosele a este órgano un papel pasivo de almacenamiento alimenticio. Sin embargo, no se debe pasar por alto que aquí ocurre la diferenciación de tripomastigote sanguíneo a epimastigote, además, los parásitos se enfrentan a componentes existentes en esta fracción como enzimas digestivas, defensinas y aglutininas. Es por eso que el presente trabajo tiene como objetivo identificar la expresión diferencial de proteínas en el estómago de *Meccus pallidipennis* que se estén expresando o modifiquen su expresión bajo la infección por *T. cruzi*. 20 Adultos hembra de *Meccus pallidipennis*, se utilizaron para la disección y obtención del estómago a las 24 hrs, 3, 5, y 7 días postalimentación. Para el grupo experimental de triatomíneos se realizó la alimentación con sangre de ratón BALB/c infectada por *T. cruzi*. El extracto total de proteínas del estómago fue analizado mediante SDS-PAGE. Se evidenció que bajo la infección por *T. cruzi* un importante grupo de proteínas (De aproximadamente 23.4, 124.6, 127.3, 144.5, 150.8, 160.6, 164.1 y 171.2 kDa de peso molecular) no son expresadas con respecto al grupo control sano de cada tiempo. El análisis de electroforesis SDS-PAGE evidencia, que existe una serie de cambios en el perfil de expresión de proteínas en el estómago de *Meccus pallidipennis* bajo la infección por *T. cruzi* posiblemente implicadas en el proceso de diferenciación del parásito, por lo que es necesario seguir investigando utilizando técnicas de proteómicas que permitan identificar y caracterizar dichas proteínas, lo que permitirá en un futuro, esclarecer la relación parásito-vector.

Palabras clave: *Meccus pallidipennis*, *Trypanosoma cruzi*, proteínas, infección

Como citar el artículo:

Nava Mirafuentes, I., Zumaquero Ríos, J. L., Flores Robles, D. y Sierra-Martínez, P. (2017). Expresión diferencial de proteínas en el estómago de *Meccus Pallidipennis* bajo la infección por *Trypanosoma Cruzi*. *Tlamati*, 8(1), 33-37.

Abstract

The triatomines (*Triatominae*, *Reduviidae*) are strict hematophagous transmitters of the parasite *Trypanosoma cruzi*, etiological agent of Chagas disease. These parasites constituting a public health problem in Latin America. Its digestive system is divided into three regions: anterior, middle and posterior. Posterior region is where the biological cycle of *T. cruzi* is completed. Information on molecular mechanisms associated with interaction of *T. cruzi* within stomach of the insect vector is scarce, with a passive role of food storage attributed to this organ. However, it should not be overlooked that here occurs the differentiation of sanguineous trypomastigote to epimastigote. In addition, parasites face to existing components in this fraction such as digestive enzymes, defensins and agglutinins. Due to this reason, present study aims to identify differential expression of proteins within stomach of *Meccus pallidipennis* that are expressing or modifying their expression under *T. cruzi* infection. 20 female adults of *Meccus pallidipennis*, were used for dissection, and further obtaining from the stomach at 24 hrs, 3, 5, and 7 days post-feeding. For the experimental group of triatomines, mouse's blood infected with *T. cruzi*. was used as food with BALB/c. Total stomach protein extract was analyzed by SDS-PAGE. It was evidenced that under *T. cruzi* infection an important group of proteins (approximately 23.4, 124.6, 127.3, 144.5, 150.8, 160.6, 164.1 and 171.2 kDa of molecular weight) are not expressed related to the healthy control group of each time. SDS-PAGE electrophoresis analysis evidences that there are a series of changes of the expression profile of proteins within the stomach of *Meccus pallidipennis* under *T. cruzi* infection. These series of changes of the expression profile of proteins are possibly involved in the parasite differentiation process, so it is necessary continue investigating using proteomic techniques that allow to identify and characterize these proteins, which will allow in the future to clarify the parasite-vector relationship.

Keywords: *Meccus pallidipennis*, *Trypanosoma cruzi*, proteins, infection

Introducción

Los triatominos (*Triatominae*, *Reduviidae*), son hematófagos estrictos (Tartarotti, A.-Oli y Ceron 2006). *M. pallidipennis* es responsable de aproximadamente el 74% de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en México (Martínez-Ibarra., Noguera-Torres, García-Benavidez, Vargas-Llamas, Bustos-Saldaña y Montañez-Valdez, 2012). Las diferentes regiones del sistema digestivo del insecto vector son importantes para el desarrollo de *T. cruzi*, en el estómago los tripomastigotes se transforman en epimastigotes y esferomastigotes, en la región media, los epimastigotes se adhieren a la membrana perimicrovellosa [PMM] y se propagan por fisión binaria, mientras que en el recto se adhieren a la cutícula rectal y se transforman en tripomastigotes metacíclicos que son eliminados en las heces y la orina, fuente de infección del hospedador vertebrado (Azambuja, Ratcliffe y Garcia; 2005; García, Genta, de Azambuja y Schaub, 2010). Se ha sugerido que la unión a la PMM es importante para la división del parásito. Aparentemente este proceso involucra moléculas de fosfolípidos de glicoinositol [GIPs] que se encuentran en gran cantidad en la superficie de los epimastigotes (García et al., 2010). Este mecanismo parece coordinar el crecimiento y la diferenciación de epimastigotes en tripomastigotes, por lo que se sugiere que deben estar implicadas vías de señalización mediadas por receptores de superficie del parásito, que son activados por ligandos presentes en los tejidos de vectores, en este sentido, algunas glicoproteínas presentes en la PMM parecen ser ligandos del parásito (García, Ratcliffe, Whitten, Gonzalez y Azambuja, 2007; Silva-Neto, Fampa, Donato y Carneiro, 2010). Borges, Machado, García y Azambuja (2006) reportaron que la actividad de la catepsina D en el intestino medio es mayor entre 1 y 3 días después de la infección por *T. cruzi*. En cuanto a los factores derivados de la microbiota intestinal Azambuja, Feder, D. y García (2004) aislaron la bacteria *Serratia marcescens* biotipo Ala con actividad hemolítica y

tripanólítica. Otros determinantes es el sistema inmune humoral del vector. Hasta ahora lisozimas y defensinas han sido identificados (García, Castro, Figueiredo y Azambuja, 2010). Ursic-Bedoya, Nazzari, Cooper, Triana, Wolff, y Lowenberger (2008) caracterizaron e identificaron 2 nuevos genes que codifican a lisozimas, A (RpLys-A) que se expresa en el tracto intestinal a los 7 y 14 días postinfección por *T. cruzi* y lisozima B (RpLys-B) que se expresa principalmente en la grasa corporal a las 8 y 24 hrs. después de una infección bacteriana, se han observado isoformas de defensinas en *R. prolixus*, los genes de la def 1 y 4 se expresan en altos niveles en el estómago mientras que la def 2 y 3 se expresan preferentemente en el intestino medio (García, Castro et al., 2010). Estos reportes sugieren que existen factores dentro del intestino de los triatominos que modulan la multiplicación y diferenciación de los parásitos *in vivo*, lo que permitirá el diseño de nuevos métodos de control de la enfermedad de Chagas (López-Ordóñez, Panzera, Tun-Ku, Ferrandis y Ramsey, 2009).

Hasta la fecha no se ha dado énfasis al estudio del proteoma del estómago atribuyéndole solo una función de almacenamiento de sangre, sin embargo, hemos observado que hay proteínas que se están expresando diferencialmente y que participan en la digestión de la sangre o que posiblemente, modulen la dinámica de interacción de *T. cruzi* con los triatominos.

Materiales y métodos

Insectos

Hembras adultas de *Meccus pallidipennis*, fueron obtenidas del Laboratorio de Parásitos y Vectores de la BUAP, cultivadas a 27± 3 °C y humedad de 75 ± 5% (Martínez-Ibarra et al., 2012). Se utilizaron 20 insectos, en condiciones de ayuno. El grupo control fue alimentado con sangre de ratón cepa BALB/c sano libre de infección. El grupo

experimental fue alimentado con sangre de ratón BALB/c previamente infectado por *T. cruzi*.

Parásitos

Se utilizó la cepa NINOA de *T. cruzi* proporcionado por el Centro Nacional de Cardiología, DF, México, para conservar la viabilidad de la cepa se realizaron pases mensuales en medio LIT (Infusión de Hígado y Triptosa) a 28 °C a resguardo del Laboratorio de Parásitos y Vectores.

Parasitación de los ratones BALB/c con la cepa NINOA de T. cruzi.

Se utilizaron 5 ratones BALB/c de 5 semanas de edad, proporcionados por el Bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla [BUAP]. Para la inoculación vía intraperitoneal, se realizó el conteo de parásitos de *T. cruzi* en la cámara de Neubauer, posteriormente se realizaron las diluciones para obtener 1×10^7 parásitos/ml. La parasitemia se vigiló cada semana, para ello, se tomó una gota de sangre periférica de la cola del ratón, y se realizaron frotis por deslizamiento seguido de la tinción de Giemsa y posterior observación al microscopio con aumento de 100X. El número de parásitos se estimó en 100 campos (Brenner Z, 1962; Monteón, Godínez, Cruz-Zetina, Balmes, López y Hernández, 2009).

Establecimiento del grupo experimental y control de M. pallidipennis

Posterior al proceso de inanición de 3 semanas, los triatominos se colocaron dentro de recipientes individuales de aislamiento junto con los ratones BALB/c infectados para la alimentación de los triatominos hasta su retiro voluntario, los insectos fueron pesados antes y después de la ingesta de sangre, sirviendo como parámetro para establecer si se logró la alimentación de los mismos y finalmente fueron sacrificados y disectados a las 24 hrs, 3, 5, y 7 días postalimentación. Se realizó el mismo procedimiento para el grupo control con la diferencia que fueron alimentados con sangre de ratón BALB/c libre de infección (Monteón et al., 2009).

Disección del sistema digestivo de Meccus pallidipennis alimentados con sangre.

Se colocaron los especímenes en una caja de Petri que contiene algodón impregnado con acetato de etilo para su sacrificio y se agregó PBS 1X pH 7.4, con ayuda del microscopio estereoscópico se realizó la disección, para retirar la cutícula abdominal dejando descubierta la capa de tejido graso que recubre el sistema digestivo, esta fue retirada y finalmente se realizaron los cortes para separar el intestino en sus diferentes secciones anterior, medio y posterior, se tomó la fracción del estómago (anterior) para realizar una serie de lavados con PBS 1X pH 7.4 y así eliminar los restos de sangre. Los estómagos se guardaron en una tubo Eppendorf con 1 mL de PBS 1X pH 7.4 a -20 °C hasta su uso (Garibay-García, Cázares-Raga, Chagolla-López, Sierra-Martínez, Rodríguez-López y Hernández, 2009).

Extracción y cuantificación de proteínas totales del estómago de Meccus pallidipennis.

Para la extracción de proteínas totales de la fracción del estómago a las 24hrs, 3, 5, y 7 días postalimentación se agregó 5 mL de regulador de lisis frío (250 mM sacarosa, 2 mM KH_2PO_4 , 8 mM K_2HPO_4 , 1 mM EDTA) y con una solución de inhibidores de proteasas (IA, PMSF, TLCK, NEM), posteriormente se maceró el tejido en un tubo Eppendorf con un pistilo homogenizador de plástico estéril, durante 5 min. El extracto celular se guardó a -20 °C hasta su uso (Garibay-García et al., 2009). Las proteínas totales de cada tiempo en estudio se cuantificaron utilizando el método de Bradford mediante el uso de un biofotómetro marca Eppendorf (Bradford, 1976).

Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE-SDS).

Una vez realizada la cuantificación de proteínas de extracto total, se tomó una concentración de 25µg de cada tiempo y se preparó la muestra utilizando una relación 1:1 de buffer de muestra reductor (2X) para ser sometida a ebullición durante 5 min. El análisis se realizó, utilizando geles de poliacrilamida en presencia de duodecil-sulfato de sodio (Laemmli UK, 1970) al 10 %, el corrimiento electroforético se realizó a 100 V.

Tinción con Azul brillante Coomassie.

Los geles SDS-PAGE 10%, se tiñeron con azul brillante de Coomassie R-250 (500 mL de metanol, 400 mL de agua desionizada, 100 ml de ácido acético y 2.5 gramos de Azul de Coomassie R-250) en agitación por 1 noche. Posteriormente se destiñó y se secó al ambiente en papel celofán.

Determinación de peso molecular de proteínas.

Para calcular el peso molecular de las proteínas se utilizó el estándar “Prestained SDS-PAGE Standards #161-0318” marca BIO-RAD constituido por 8 proteínas de 7.1, 20.6, 28.9, 34.8, 49.1, 80, 124, 209 kDa usadas como marcador de peso molecular (Con base al inserto Precision Plus Protein Standards, BIO-RAB). El peso molecular desconocido de las bandas de interés se estimó por el análisis de regresión lineal o por interpolación en la curva del log de PM contra Rf de las proteínas estándar.

Resultados

Análisis comparativo de las proteínas totales del estómago de Meccus pallidipennis inducidas o modificada su expresión debido a la infección por T. cruzi.

La ingesta de sangre infectada por *T. cruzi* indujo cambios en el patrón de expresión de proteínas totales en el estómago de la chinche, los cuales fueron analizados mediante SDS-PAGE al 10% a diferentes tiempos de postalimentación. Se señala con asteriscos rojos a las proteínas que presentaron una expresión diferencial en la condición control libre de infección, a las 24 hrs se evidenció las proteína de 23.4 y 144.5 kDa, a los 3 días las proteínas de 164.1y 171.2 kDa, para el día 5 se evidencia la banda de 127 kDa y para el día 7 la banda de 124.6kDa. Las proteínas que se ven modificadas en su nivel de expresión en el perfil experimental se representan con asteriscos color negro (véase figura 1).

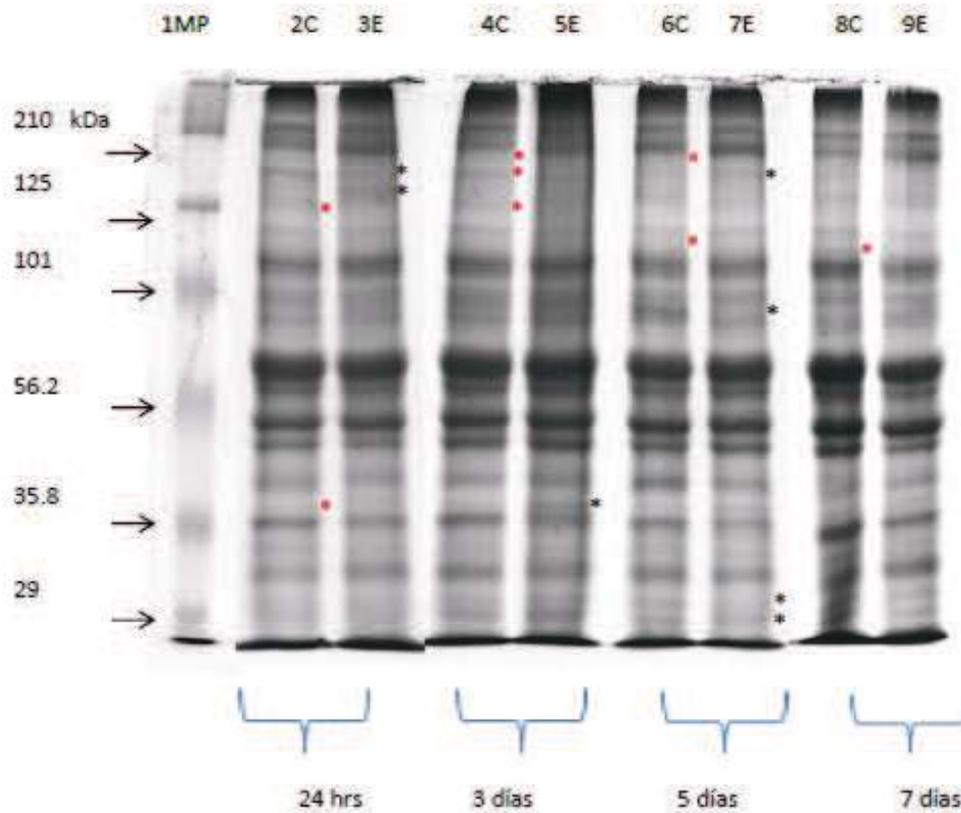


Figura 1. Proteínas totales de los estómagos de *Meccus pallidipennis*, correspondientes al grupo control libre de infección por *T. cruzi* (C)/ grupo experimental infectado por *T. cruzi* (E) analizados a los tiempos 24 hrs, 3, 5 y 7 días postalimentación. Las proteínas totales del estómago fueron analizadas en geles de SDS-PAGE al 10% y teñidos con Azul de Coomassie. Carril 1.- Marcador de peso molecular. Carril 2, 4, 6 y 8 extracto total de los estómagos libre de infección. Carril 3,5, 7 y 9 extracto total de estómagos infectados por *T. cruzi*. Se cargaron 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de proteína en cada carril. Los asteriscos rojos muestran la expresión diferencial de proteínas en una sola condición, los asteriscos negros muestran la variación en la expresión de proteínas en la condición experimental con respecto al control.

Discusión y conclusión

La dinámica de la interacción de *T. cruzi* en triatomos comienza tras la ingesta de sangre infectada, los parásitos se enfrentan a componentes como enzimas digestivas, hemolisinas, aglutininas, la microbiota y factores antimicrobianos presentes en el intestino del insecto vector (García, Castro et al., 2010), de acuerdo al reporte de Henriques, Castro, Gomes, García y de Souza (2012) sugieren que a los 7 días los parásitos se alojan en el estómago, predominando epimastigotes, para los 14 días se alojan a lo largo del intestino medio, predominando epimastigotes y esferomastigotes, para el día 21 y 28 la infección se establece en el recto, predominando tripomastigotes metacíclicos que constituye la forma infecciosa, concluyendo el ciclo biológico del parásito, sin embargo, no se ha dado énfasis al estudio de la fracción del estómago confirmando solo una función pasiva de almacenamiento de sangre. Estudios demuestran que insecto vector no actúa como un anfitrión pasivo si no que existe una respuesta ante la infección por *T. cruzi* (García, Castro et al., 2010; Silva-Neto et al., 2010; Kollien y Schaub, 2000). Hasta la fecha solo lisozimas y defensivas se han identificado como péptidos anti-

microbianos (López, Morales, Ursic, Wolff y Lowenberger, 2003; Schaub, 2009). El presente estudio demostró que existen diferencias en el perfil de expresión de proteínas totales del estómago de *Meccus pallidipennis* bajo la infección por *T. cruzi* y libre de infección, mediante SDS-PAGE, evidenciando la ausencia de proteínas en la condición experimental, a las 24 hrs las proteínas de 23.4 y 144.5 kDa, al tercer día las proteínas de 164.1 y 171.2 kDa, para el día 5 la proteína de 127.3 kDa y a los 7 días la proteína de 124.6 kDa. Por su parte Araújo, Wanick, Stock, Mayer, Jansen y Schaub (2006) demostraron que los genes de la *def 1* y *Lys 1* se expresan en el tracto digestivo de *Triatoma brasiliensis*, a los 5 días después de la alimentación, pero la expresión fue mayor en el estómago que en el intestino medio. Estos resultados evidencian cambios en el perfil de expresión de proteínas en el estómago, pero la presencia del parásito *T. cruzi*, en la fracción del estómago modifica la expresión proteica, dando la pauta para seguir investigando el fenómeno de interacción parásito-vector empleando técnicas de purificación y caracterización de proteínas.

Referencias

- Araújo, C.A.C., Wanick, P. J., Stock, P., Mayer, C., Jansen, A. M. y Schaub, G. A. (2006). Sequence characterization and expression patterns of defensin and lysozyme encoding genes from the gut of the reduviid bug *Triatoma brasiliensis*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 36, 547–560.
- Azambuja, P., Feder, D. y Garcia, E.S. (2004). Isolation of *Serratia marcescens* in the midgut of *Rhodnius prolixus*: Impact on the establishment of the parasite, *Trypanosoma cruzi*, in the vector. *Experimental Parasitology*, 107, 89-96.
- Azambuja, P., Ratcliffe, N.A., Garcia, E.S. (2005). Towards an understanding of the interactions of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* within the reduviid insect host *Rhodnius prolixus*. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 77, 397-404.
- Borges, E.C., Machado EM, Garcia ES.y Azambuja P. (2006). *Trypanosoma cruzi*: effects of infection on cathepsin D activity in the midgut of *Rhodnius prolixus*. *Exp. Parasitol*, 112, 130–133.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem.* 72, 248-254.
- Brener, Z. (1962). Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 4(6), 389-396.
- García, E.S., Castro, D.P., Figueiredo, M.B., Azambuja, P. (2010). Immune homeostasis to microorganisms in the guts of triatomines (Reduviidae): a review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105, 605–610.
- García, E.S., Genta, F.A., de Azambuja, P., Schaub, G.A. (2010). Interactions between intestinal compounds of triatomines and *Trypanosoma cruzi*. *Trends Parasitol*, 26, 499–505.
- García, E.S., Ratcliffe, N.A., Whitten, M.M., Gonzalez, M.S. y Azambuja, P. (2007). Exploring the role of insect host factors in the dynamics of *Trypanosoma cruzi*-*Rhodnius prolixus* interactions. *J. Insect Physiol*, 53, 11–21.
- Garibay-García J. A., Cázares-Raga F. E., Chagolla-López A., Sierra-Martínez P., Rodríguez-López M. H. y Hernández-Hernández F. (2009). Identificación de la serpina 4A como una proteína regulada por la hematofagia en el mosquito *Aedes aegypti*. *Ciencia y Tecnología*, 119-128.
- Henriques C., Castro D.P., Gomes L.H.F., Garcia E.S., y de Souza W. (2012) Bioluminescent imaging of *Trypanosoma cruzi* infection in *Rhodnius prolixus*. *Parasites & Vectors* 5: 214. [PubMed]
- Kollien, A.H. y Schaub, G.A. (2000). The development of *Trypanosoma cruzi* in Triatominae. *Parasitol. Today* 16, 381–387.
- Laemmli U. K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227(5259), 680-685.
- Lopez, L., Morales, G., Ursic, R., Wolff, M. y Lowenberger, C. (2003). Isolation and characterization of a novel insect defensin from *Rhodnius prolixus*, a vector of Chagas' disease. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33, 439–447.
- López-Ordóñez T, Panzera F, Tun-Ku E, Ferrandis I, Ramsey JM. (2009). Contribuciones de la genética y la proteómica al estudio de la enfermedad de Chagas. *Salud Publica Mex*, 51(3), S410-S423.
- Martínez-Ibarra, J.A., Noguera-Torres, B., García-Benavidez, G., Vargas-Llamas, V., Bustos-Saldaña, R., Montañez-Valdez, O.D., (2012) Bionomics of populations of *Meccus pallidipennis* (Stål), 1872 (Hemiptera: Reduviidae) from Mexico. *Journal of Vector Ecology* 37, 474–477.
- Monteón V., Godínez S., Cruz-Zetina G., Balmes J., López R. y Hernández O. (2009) Caracterización biológica de aislados mexicanos de *Trypanosoma cruzi*: metaciclo-génesis, parasitemia y resistencia contra benznidazol. *Rev Biomed*, 20, 206-214.
- Schaub, G.A. (2009). Interactions of trypanosomatids and triatomines. *Adv. Insect Physiol.* 37, 177–242.
- Silva-Neto M., Fampa P., Donato C. y Carneiro A. B. (2010). Atella. Cell Signaling During *Trypanosoma cruzi* Development in Triatominae. *The Open Parasitology Journal*, 4, 188-194.
- Tartarotti, E, v, A.-Oli., M. T. y Ceron, C. R. (2006). Blood meals to molt, feeding time and postfeeding defecation delay of *Meccus Pallidipennis* (ST). *Braz. J. Biol.* 66 (2B), 703–708.
- Ursic-Bedoya, R.J., Nazzari, H., Cooper, D., Triana, O., Wolff, M., Lowenberger, C. (2008). Identification and characterization of two novel lysozymes from *Rhodnius prolixus*, a vector of Chagas disease. *J. Insect Physiol*, 54, 593–603.



Identificación proteómica de la Paramiosina, proteína inducida por la hematofagia en el estómago de la chinche *Meccus pallidipennis*, vector de la enfermedad de Chagas.

Jorge Isidoro Sotelo Cano¹
Alejandro Millán Vega²
Eduardo Castañeda Saucedo³
Donaciano Flores Robles⁴
José Lino Zumaquero Ríos⁵
Alicia Chagolla López⁶
Pável Sierra Martínez^{1*}.

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad de Investigación Especializada en Microbiología (UIEM). Laboratorio de Control Biológico. Calle sin Nombre No. 13, Col. Las Colinas, Petaquillas, Guerrero, México. C.P. 39105. Tel: + (52) 747 1224631.

²Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad de Investigación Especializada en Microbiología. Laboratorio de Biología Celular.

³Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Laboratorio de Biología Celular del Cáncer.

⁴Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad de Investigación Especializada en Microbiología. Laboratorio de Biología Molecular.

⁵Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Laboratorio de Parásitos.

⁶Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato. Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Unidad de Investigación Especializada en Microbiología.

*Autor de correspondencia
pavelierra6@hotmail.com

Resumen

Meccus pallidipennis son insectos del orden Hemiptera, mismos que son vectores de la enfermedad de Chagas. Estos insectos son hematófagos estrictos y su sistema digestivo está dividido en tres regiones: anterior (estómago), media y posterior. Hasta el momento no se han identificado proteínas en el estómago de estos organismos involucradas en la digestión de la sangre que ingieren durante su alimentación. En este trabajo mediante estrategias proteómicas identificamos una proteína que mostró expresión diferencial en los diferentes tiempos analizados. Se utilizaron estómagos de machos alimentados con sangre de conejo siendo disectados a los 7, 15, 50 y 70 días postalimentación. Las proteínas totales fueron separadas por SDS-PAGE en geles al 10%. Se seleccionó una banda de ~100 kDa para su identificación por Cuadrupolo-ToF MS/MS, identificando una proteína de la familia de las miosinas, la Paramiosina, proteína que tiene actividad motora y se encuentra involucrada en procesos de contracción y relajación, hasta el momento solo se puede sugerir su función en base a la homología que presenta con las proteínas identificadas en *Sarcoptes scabiei*, *Dermatophagoides farinae* y *Boophilus microplus*, organismos que tienen contacto con sangre durante su alimentación.

Palabras clave: paramiosina, *Meccus pallidipennis*, proteómica, hematofagia

Como citar el artículo:

Sotelo Cano, J. I., Millán Vega, A., Castañeda Saucedo, E., Flores Robles, D., Zumaquero Ríos, J. L., Chagolla López, A. y Sierra Martínez, P. (2017). Identificación proteómica de la Paramiosina, proteína inducida por la hematofagia en el estómago de la chinche *Meccus pallidipennis*, vector de la enfermedad de Chagas. *Tlamati*, 8(1), 38-41.

Abstract

Meccus pallidipennis are insects of order Hemiptera which are vectors of Chagas disease. These insects are strict hematophagous and their digestive system is divided into three regions: anterior (stomach), middle and posterior. So far, proteins involved in the digestion of the blood they ingest during their feeding have not been identified within the stomach of these organisms. In this study, by mean of use of proteomic strategies we identified a protein that showed differential expression in different times analyzed. Stomachs of males fed with rabbit blood were dissected at 7, 15, 50 and 70 days post-feeding. Total of proteins were separated by SDS-PAGE in 10% gels. A band of ~ 100 kDa was selected for identification by Quadrupolo-ToF MS / MS, identifying a protein of the family of myosins known as Paramiosina, a protein that has mobile activity and is involved in processes of contraction and relaxation. At this moment, we can suggest its function based on the homology that this proteint presents with proteins identified in *Sarcoptes scabiei*, *Dermatophagoides farinae* and *Boophilus microplus*, organisms that have contact with blood during their feeding.

Keywords: *Meccus pallidipennis*, proteomics, hematophagy

Introducción

La subfamilia Triatominae está organizada en 6 tribus con 19 géneros, se encuentra integrada por insectos hematófagos capaces de transmitir el parásito *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. En México se piensa que esta enfermedad es poco común, debido a los pocos casos documentados, sin embargo es probable que al igual que en otras enfermedades exista un subregistro por falta de un diagnóstico adecuado (Rodríguez Do-

mínguez, 2002). Los triatominos presentan un desarrollo hemimetabólico con fases de huevo, cinco estadios ninfales y adulto, siendo hematófagos estrictos. A nivel de digestión se requiere de una completa serie de adaptaciones fisiológicas para los hematófagos obligados, debido a que la sangre es una fuente nutricionalmente rica, pero es altamente alcalina, y muchas de las proteínas están dentro de las células sanguíneas. La saliva de los insectos hematófagos contiene sustancias anticoagulantes, antihistamínicas, vasodilatadoras y antiplaquetarias que facilitan el proceso

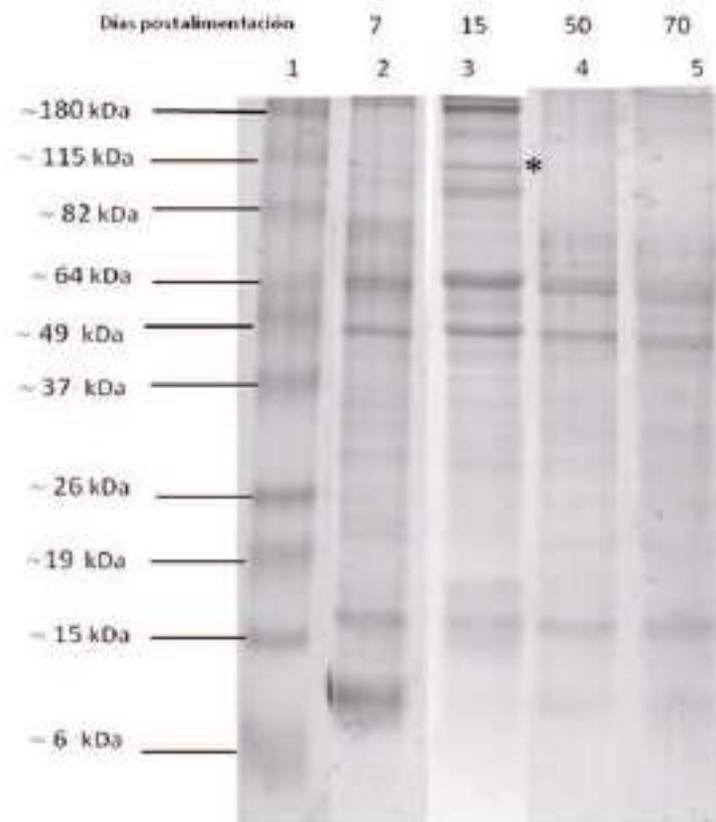


Figura 1.- Proteínas totales de los estómagos de *Meccus pallidipennis*. Carril 1.- Marcadores de peso molecular. Carril 2.- a los 7 días. Carril 3.- a los 15 días. Carril 4.- a los 50 días. Carril 5.- a los 70 días. Se señala con un asterisco la banda seleccionada para su identificación por Quadrupolo-TOF.

Tabla 1.- Identificación por Cuadrupolo-TOF/MS de la proteína de interés.

Nombre	P.M* (Da)	Cobertura' (%)	Mowse score^	Organismo	Localización©	Función celular
Paramiosina¹	102.455	62	166	<i>Sarcoptes scabiei</i>	Citoplasma	Actividad motora
Paramiosina¹	81,372	62	165	<i>Dermatophagoi- des farinae</i>	Filamentos gruesos	Miosina Contracción/ relajación muscu- lar.
Paramiosina¹	101.992	75	143	<i>Boophilus mi- croplus</i>		

de alimentación sobre el huésped vertebrado, que en promedio tarda entre 10 y 20 minutos, el volumen de sangre que pueden ingerir las ninfas oscila entre 8 y 9 veces su peso corporal, y en los adultos de 2 a 4 veces. Los triatominos requieren una hemolisina para lisar las células sanguíneas y un sistema para acidificar la sangre ingerida antes de poder ser digerida. Estos insectos deben hacer uso de catepsinas como proteasas, las cuales solo son activas a pH ácido (Schofield y Galvão, 2009).

Los hemípteros, no presentan una membrana peritrófica verdadera, sin embargo, su epitelio intestinal no está en contacto directo con el bolo sanguíneo, debido a la presencia de una membrana perimicrovellosa (Albuquerque-Cunha, Gonzalez, García, Mello, Azambuja, Almeida, de Souza, et al., 2009). Una vez que los Triatomas han ingerido sangre, esta permanece sin ser digerida en el estómago, como es conocida la región anterior del intestino, el cual está dividido en tres regiones: anterior, medio y posterior. Durante la ingesta se liberan hormonas diuréticas que eliminan el exceso de agua e iones los cuales son transportados a través de la membrana del estómago; la hemolinfa es conducida hacia los túbulos de Malpighi y posteriormente al recto, mientras que la sangre concentrada entra en pequeñas porciones en la región digestiva del intestino (Kollien y Billingsley, 2002).

Las nuevas técnicas de espectrometría de masas se basan en la digestión de las proteínas separadas en gel y el análisis de los péptidos para determinar con gran precisión su masa y/o obtener su secuencia de aminoácidos. La técnica más utilizada por sencillez y capacidad de procesamiento de múltiples muestras es la identificación de la huella peptídica, que se realiza por digestión con tripsina y análisis de la masa de los péptidos resultantes por espectrometría de masas MALDI-TOF. (Casado-Vela, Cebrián, Gómez del Pulgar, Sánchez-López, Vilaseca, Menchén, Diema et al., 2011).

Materiales y métodos.

Insectos

Meccus pallidipennis, fueron proporcionados por el Laboratorio de Parásitos y Vectores de la escuela de Biología dependiente de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla [BUAP]. Se utilizaron 90 machos adultos que se alimentaron con sangre de conejo durante 20 minutos al inicio del estudio, para posteriormente ser sacrificados a los 7, 15, y 70 días postalimentación, descartando los que no se alimentaron. El estómago se colocó en una caja de

Petri y se agregaron 5 mL de PBS frío 1X pH 7.4 para eliminar los restos de sangre. Los estómagos se guardaron en un tubo Eppendorf junto con 1 mL de PBS 1x pH 7.4 y se almacenaron -20 °C hasta su uso.

Extracción de proteínas.

Se agregó 1 mL de PBS frío 1X pH 7.4 junto con 5 mL de regulador de lisis frío (250 mM sacarosa, 2 mM KH₂PO₄, 8 mM K₂HPO₄, 1 mM EDTA) (Fruttero, Rubiolo y Canavoso, 2009) y una solución de inhibidores de proteasas (IA 10 mM, PMSF 10mM, TLCK 10mM, NEM 10 mM; SIGMA) a los estómagos, posteriormente fueron macerados en un tubo Eppendorf con un pistilo homogenizador de plástico y estéril, dando golpes durante 5 minutos. El homogenado celular se guardó a -20°C hasta su uso.

Cuantificación de proteínas.

Las proteínas se cuantificaron utilizando el método de Bradford (Bradford, 1976)

SDS y espectrometría de masas.

El análisis se realizó mediante la separación de las proteínas en relación a su peso molecular, utilizando geles de poliacrilamida en presencia de dodecil-sulfato de sodio (PAGE-SDS) unidimensional al 10 %. Para las proteínas de cada una de las secciones se colocó 40 µg de proteína y se tiñeron con azul de Coomassie coloidal. Para calcular el peso molecular de las proteínas se utilizó un grupo de proteínas conocidas usadas como marcadores de peso molecular (Invitrogen). Para la identificación de las proteínas de interés resueltas por PAGE-SDS, se seleccionó una banda que al ser teñida con azul de Coomassie mostró una mayor concentración y una expresión diferencial. La banda se cortó con una navaja estéril, portando guantes para evitar contaminación, y se colocó en un tubo para microcentrífuga de 1.5 mL, se etiquetó y almaceno a -20 °C. La banda se envió para su identificación por Cuadrupolo-TOF MS/MS al Departamento de Biotecnología y Bioquímica del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato. El coeficiente carga/masa (m/z) obtenido por Cuadrupolo-TOF se analizó en bases de datos accesibles en los sitios del National Center for Biotechnology Information [NCBI] (2014) y Expsay Proteomics Server (Swiss Institute of Bioinformatics [SIB] 2014). La proteína identificada se analizó mediante el programa computacional MASCOT (Matrix Science, 2014)

Resultados

La alimentación con sangre indujo cambios en el patrón de expresión de proteínas de los estómagos de la chinche, los cuales fueron analizadas mediante SDS-PAGE al 10 % a diferentes tiempos postalimentación (véase figura 1).

En el espectro de la banda de 100 kDa se observó un patrón de 28 péptidos de los cuales 4 alinearon con los péptidos de las bases de datos identificando a una proteína de la familia de las paramiosinas, proteínas implicadas en funciones como: contracción y relajación muscular, con actividad motora y en algunos casos como un alérgeno importante (véase tabla 1), mientras que 6 péptidos no alinearon con ninguna proteína conocida.

Discusión y conclusiones

En el trabajo realizado por Silva, Mury, Oliveira, Oliveira, Silva y Dansa-Petretski en 2007, reportaron que el ciclo digestivo en estos insectos comprende aproximadamente 21 días, tiempo en el cual degradan toda la sangre ingerida. Una vez que los triatomas han ingerido alimento, la sangre permanece sin digerirse en el estómago, posteriormente la sangre concentrada entra en pequeñas porciones en la región digestiva del intestino (Kollien y Billingsley, 2002; Balczun, Siemanowski, Pausch, Helling, Marcus, Stephan, Meyer et al., 2012). Esto es lo que se ha reportado que ocurre en el estómago de los triatomas, al que únicamente se le considera como un sitio de almacenamiento, sin embargo en el presente trabajo se aporta evidencia que sugiere que en el estómago se expresan proteínas que pueden tener como finalidad la digestión del alimento ingerido. En este trabajo se reporta por primera vez, en *Meccus pallidipennis*, una proteína que pertenece a la familia de las paramiosinas, proteínas filamentosas presentes en el músculo de los invertebrados, con una estructura secundaria de α -hélice superenrollada que forma homodímeros. Es una proteína reportada en organismos como: *Sarcoptes scabiei*, *Dermatophagoides farinae*, *Boophilus microplus*, siendo los dos primeros ácaros y el último la garrapata común quienes tienen contacto con sangre durante su alimentación, sugiriendo que dicha proteína está relacionada con la digestión de la sangre ingerida, ya que hasta el momento no se han reportado trabajos que describan la expresión de proteínas en el estómago relacionadas con la hematofagia en este organismo.

Referencias

Albuquerque-Cunha, J. M., Gonzalez, M. S., García, E. S., Mello, C. B., Azambuja, P., Almeida, J. C. A., de Souza,

- W. y Nogueira, N. F. S. (2009). Cytochemical characterization of microvillar and perimicrovillar membranes in the posterior midgut epithelium of *Rhodnius prolixus*. *Arthropod Struct Dev*, 38(1): p. 31-44.
- Balczun C., Siemanowski J, Pausch JK, Helling S, Marcus K, Stephan C, Meyer HE, Schneider T, Cizmowski C, Oldenburg M, Höhn S, Meiser CK, Schuhmann W, Schaub GA. (2012). Intestinal aspartate proteases TiCatD and TiCatD2 of the hematophagous bug *Triatoma infestans* (Reduviidae): Sequence characterization, expression pattern and characterization of proteolytic activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*; 42: 240-250.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem.* 72:248-254.
- Casado-Vela J, Cebrián A, Gómez del Pulgar M, Sánchez-López E, Vilaseca M, Menchén L, Diema C, Sellés-Marchart S, Martínez-Esteso MJ, Yubero N, Bru-Martínez R, Lacal JC. 2011. Lights and shadows of proteomic technologies for the study of protein species including isoforms, splicing variants and protein post-translational modifications. *Proteomics*, 11, 590–603.
- Fruttero Leonardo L, Edilberto R. Rubiolo, Lilia'n E. Canavoso. 2009. Biochemical and cellular characterization of lipophorin–midgut interaction in the hematophagous *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*; 39: 322–331.
- Kollien, A. H. y Billingsley, P. F. (2002). Differential display of mRNAs associated with blood feeding in the midgut of the bloodsucking bug, *Triatoma infestans*. *Parasitol Res.* 88(12): p. 1026-33.
- Matrix Science (2014). MASCOT software. Obtenido de: <http://www.matrixscience.com/>
- National Center for Biotechnology Information (2014). ANALYZE. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/analyze/>
- Rodríguez Domínguez J. 2002. Las enfermedades Transmitidas por vector en México. *Rev. Fac. Med. UNAM*; Vol 45: 126-141.
- Swiss Institute of Bioinformatics (2014). ExPASy. Obtenido de: <http://www.expasy.org/>
- Schofield C. J. y Galvão C. (2009). Classification, evolution, and species groups within the Triatominae, *Acta Tropica* 110 88–100.
- Silva, J.R., Mury FB, Oliveira MF, Oliveira PL, Silva CP. y Dansa-Petretski M. (2007). Perimicrovillar membranes promote hemozoin formation into *Rhodnius prolixus* midgut. *Insect Biochem Mol Biol*, 37(6): p. 523-31.



Contribución al conocimiento de las algas marinas bentónicas de Acapulco Guerrero, México

Nancy Dalia Garza-Moreno ¹
Eugenio Castro-Solís¹
Silvia Alemán Mundo²
Mario Treviño y Díaz Barriga¹

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ecología Marina. Gran Vía Tropical No. 20 Fracc. Las Playas CP 39390. Tel. y fax 01 (744) 4832780.

² Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Filosofía y Letras.

**Autor de correspondencia*
garza_moreno@hotmail.com

Resumen

El presente estudio ficoflorístico fue de tipo exploratorio y de reconocimiento en la Bahía de Acapulco, Guerrero, México, ubicado en el Pacífico Tropical Mexicano. Las especies de macroalgas que habitan en regiones rocosas y en el litoral fueron colectadas a mano con ayuda de espátulas y navajas de campo y en el sublitoral a buceo libre durante 2008 y 2009, entre los meses de abril a mayo, dando como resultado un total de 157 muestras, representadas en 26 géneros, de las cuales el 45% fueron Rhodophytas, 36% Chlorophytas y 19% Phaeophytas.

Palabras clave: Macroalgas marinas, Bahía de Acapulco, México

Abstract

This ficofloristic study was exploratory and recognition type, at the Bay of Acapulco, Guerrero, Mexico. This Bay is located at the Mexico's tropical pacific. Macroalgae that inhabits in rocky regions of the shore were collected by hand using specialized knives and spatulas. Sub-shore Macroalgae were collected using skin diving technics across 2008 and 2009, between the months of April and May. As a result, 157 samples represented in 26 genus were collected, from which 45% were Rhodophytes, 36 % Chlorophytes and 19 % Phaeophytes.

Keywords: Sea macroalgae, Acapulco Bay, Mexico

Como citar el artículo:

Garza-Moreno, N. D., Castro-Solís, E., Alemán Mundo, S. y Treviño y Díaz Barriga, M. (2017). Contribución al conocimiento de las algas marinas bentónicas de Acapulco Guerrero, México. *Tlamati*, 8(1), 42-46.

Introducción

Las aguas marinas han sostenido y conformado la existencia de vida en la tierra desde sus orígenes. Las comunidades bénticas marinas asociadas a los litorales rocosos intermareales son muy importantes desde un punto de vista ecológico y científico, y son indispensables para el funcionamiento ecológico de las zonas costeras.

Según el *Artículo 2* del Convenio de Diversidad Biológica (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 1992), por **diversidad biológica** se entiende: “...la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, incluidos, entre otras cosas, los ecosistemas terrestres y marinos y otros ecosistemas acuáticos, y los complejos ecológicos de los que forman parte; comprende la diversidad dentro de cada especie, entre las especies y de los ecosistemas”. Entre los principales ecosistemas marinos se incluyen, entre otras, las praderas de algas.

El incremento de las actividades humanas, incluyendo la sobreexplotación pesquera y la propagación de especies no autóctonas, son los factores responsables del perjuicio que sufre la biodiversidad. Además, el cambio climático podría acelerar a corto plazo el ritmo de pérdida o disminución de ésta.

Por otro lado, las fluctuaciones climáticas y el “estrés ambiental” como por ejemplo “El Niño”, han sido señalados como factores importantes que regulan y estructuran las comunidades asociadas a las plataformas rocosas intermareales de los litorales tropicales del Pacífico mexicano y de Hong Kong (Carballo, Olabarria y Osuna, 2002).

El estudio de la diversidad de las algas mexicanas iniciado el siglo pasado, fueron realizados por naturalistas extranjeros, cuyas colecciones han sido resguardadas en Museos como el de Copenhague, Estocolmo, Londres y el de Madrid, en el que se conservan las colecciones más an-

tiguas de México (Ortega, Godínez y Garduño, 2001).

Los estudios por investigadores mexicanos, en el que se incluyen registros para ambas costas mexicanas (Pacífico y Atlántico), lo encontramos en “*El Catálogo onomástico (nomenclátor) y bibliografía indexada de las algas betónicas marinas de México*” de González González, Gold-Morgan, León-Tejera, Candelaria, León-Álvarez, Serviere-Zaragoza y Fragoso (1996).

Hasta 1993, se tenían registradas 2 117 especies de algas para los litorales mexicanos del Atlántico (601-28.4%) y del Pacífico (1 516 - 71.6%) (González González et al., 1996; Ortega et al., 2001). Entre las especies del litoral Pacífico, el mayor porcentaje corresponde a las algas rojas (Rhodophyta) y el menor a las algas cafées (Phaeophyta), (Correa, 1996; López, 1994; Senties, 1985).

Específicamente los estudios ficológicos para el Pacífico Mexicano, iniciaron con Taylor (1945), seguidos por Dawson (1949, 1953, 1954, 1956, 1960, 1961, 1962, 1963a, 1963b), Hollenberg (1977), Aguilar Rosas y Aguilar Rosas (1994) y Pedroche, Silva, Aguilar, Dreckmann y Aguilar (2005, 2008).

Para el estado de Guerrero, los reportes son para la Bahía de Zihuatanejo: Candelaria Silva (1985), González González et al. (1993), Senties (1985) y Mateo-Cid y Mendoza-González (1986).

Particularmente para Acapulco solo encontramos a: Dawson (1952), Rebolledo (1991) y López Gómez (1993).

Como se puede observar, para el estado de Guerrero, particularmente para Acapulco, aún queda mucho por investigar y considerables extensiones del litoral, por estudiar.

Debido a lo anterior el Cuerpo Académico “Ecología Marina y Recursos Ambientales UAGro-67”, con el apoyo de los estudiantes que cursan el 3er semestre de la licenciatura en Ecología Marina, inició en 2008 los estudios rela-



Figura 1. Ubicación del estado de Guerrero



Figura 2. Localidades de muestreo. Bahía de Acapulco

cionados al conocimiento de la ficoflora de Acapulco, estableciendo 20 estaciones de muestreo del litoral del Puerto de Acapulco y algunos lugares cercanos. El presente estudio abarca el período 2008 - 2009.

Área de estudio

El estado de Guerrero se ubica en la costa central Mexicana del Océano Pacífico; entre los 16°18' y los 18°48' de latitud norte y los 98°03' y los 102°12' de longitud oeste (véase figura 1).

La línea perimetral del estado de Guerrero mide aproximadamente 1 597 km, de los cuales 500 son litorales (5.9% de línea costera total del país) y su extensión superficial es de 64 282 km². En la mayor parte de su territorio el clima es cálido subhúmedo Aw y en las zonas montañosas es templado subhúmedo. La temperatura media anual es de 18 a 26° C y la precipitación media anual histórica es de 1 106 mm (SMN: periodo 1941-2002). Posee 3 regiones hidrológicas: la del Río Balsas, de mayor extensión territorial con 117 406 Km², la Costa Grande con 12 132 Km² y la Costa Chica con 39 936 Km². (Perevotchikova y García Jiménez 2006).

El litoral de estado de Guerrero es bajo y arenoso con prominencias rocosas. Bahías (tales como Acapulco y Zihuatanejo) y lagunas costeras. El municipio de Acapulco, reconocido mundialmente por sus playas y clima cálido, se localiza al sur de la capital del estado, entre los paralelos 16°41' y 17°13' de latitud norte y entre los 99°32' y 99°58' de longitud oeste, cuenta con 78 Km de litoral y proporciona una gran variedad de ecosistemas para el crecimiento de macroalgas marinas.

Se aplicaron técnicas específicas de colecta y de toma de datos en 20 puntos específicos georreferenciados, el desarrollo de la colecta se realizó en un ambiente óptimo de seguridad. En la figura 2 se pueden observar la ubica-

ción de las estaciones de muestreo y en la Tabla 1 las coordenadas geográficas.

Material y métodos

La fuente de información para la integración de la base de datos del presente trabajo fue la colección de macroalgas depositadas en el Laboratorio de Biología de la Facultad de Ecología Marina (FEM) de la Universidad Autónoma de Guerrero, durante los meses de marzo a junio de 2008 y 2009.

La colecta de los ejemplares se llevó a cabo a través de la organización de equipos de trabajo para realizar recorridos a pie por el litoral de Acapulco. Los ejemplares se recolectaron manualmente en la zona intermareal, con ayuda de espátulas y navajas de campo durante los períodos de marea baja y un geoposicionador GPS map 60CS marca GARMIN.

Debido a la cercanía de las instalaciones de la FEM a las estaciones de muestreo, el material fue depositado en bolsas plásticas de polietileno con agua de mar, debidamente etiquetada y transportadas en hieleras al laboratorio para su identificación.

Una vez en el laboratorio se procedió a su identificación. Se fotografiaron frescas al estereoscopio y microscopio, con cámara Stylus 790 SW (Olympus), y posteriormente se transfirieron a frascos color ámbar de 225 ml, fijándose en alcohol al 70% (debido a que no se cuenta con medidas de seguridad en el laboratorio y a la sensibilidad desarrollada al formol). Parte de cada muestra fue herborizada, depositándose en el Laboratorio de Biología. La determinación se basó en las descripciones de Taylor (1945), Dawson (1954) y Guiry y Guiry (2016).

Resultados

El presente estudio, dio como resultado un total de 157

Tabla 1. Coordenadas de muestreo

Playa / hotel	Latitud	Longitud	Playa / hotel	Latitud	Longitud
Condesa	16° 51' 25"	99° 52' 04'	Palapa	16° 50' 43"	99° 51' 08"
Fiesta Americana	16° 51' 23"	99° 52' 00'	Casa Inn	16° 50' 37"	99° 51' 06"
Presidente	16° 51' 12"	99° 51' 48'	Hyatt	16° 50' 39"	99° 51' 05"
Calinda	16° 51' 18"	99° 51' 39'	Manzanillo	16° 50' 29"	99° 54' 39"
El Cano	16° 51' 11"	99° 51' 39'	Tlacopanocha	16° 50' 43"	99° 54' 28"
Copacabana	16° 51' 06"	99° 51' 24'	Asta Bandera	16° 51' 31"	99° 53' 11"
Plaza Francia	16° 51' 03"	99° 51' 19'	Morro	16° 51' 17"	99° 52' 14"
Plaza España	16° 50' 50"	99° 51' 11'	Papagayo	16° 51' 27"	99° 53' 14"
CICI	16° 50' 56"	99° 51' 15'	Los Cocos	16° 50' 21"	99° 54' 34"
Casa /cultura	16° 50' 50"	99° 51' 11'	Playa Honda	16° 50' 28"	99° 54' 38"

muestras, representadas en 26 géneros de macroalgas: *Dicyota sp.*, *Padina sp.*, *Padina pavonica*, *Chnoospora sp.*, *Enteromorpha sp.*, *Enteromorpha ramulosa*, *Caulerpa sp.*, *Caulerpa racemosa*, *Bryopsis sp.*, *Codium sp.*, *Chaetomorpha sp.*, *Cladophora sp.*, *Ulva intestinalis*, *Ulva lactuca*, *Ceramium sp.*, *Laurencia sp.*, *Polysiphonia sp.*, *Amphiroa sp.*, *Jania sp.*, *Gracilaria sp.*, *Centroceras sp.*, *Hypnea sp.*, *Gracilaria sp.*, *Dermonema sp.*, *Corallina sp.*, y *Tayloriella sp.*, recolectadas en el litoral rocoso de la Bahía de Acapulco, entre los 0.3 a 2.0 m de profundidad.

Las Rhodophytas representaron el mayor porcentaje de presencia con el 45%, seguida por las Chlorophytas con el 36% y las Phaeophytas con el 19%. (véase gráfica 2).

Las Chlorophytas reportadas con mayor distribución son: *Ulva lactuca* y *Enteromorpha sp.*, con el 21.05% cada una y las menos representativas fueron: *Bryopsis sp.*, y *Enteromorpha ramulosa* con el 1.75 % cada una.

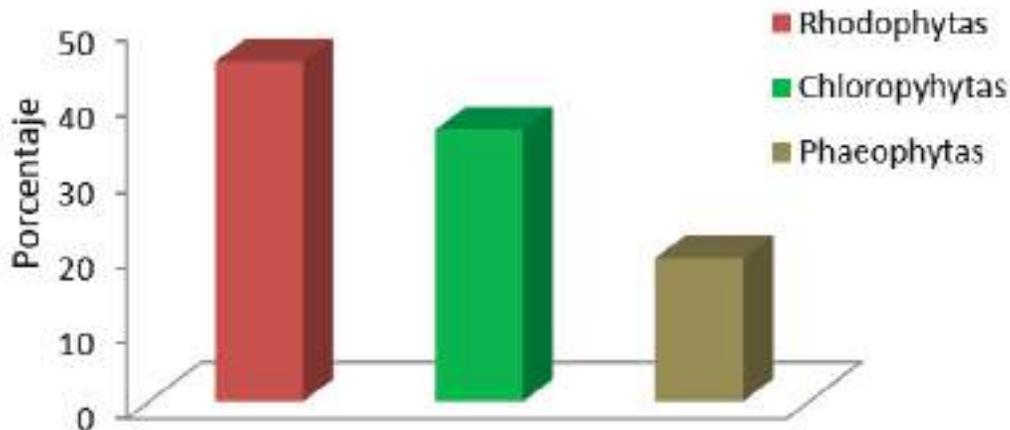
Para las Phaeophytas se reporta con mayor distribución a *Padina sp.*, con el 40%.

Para las Rhodophytas, *Hypnea sp.*, y *Dermonema sp.*, con el 14.28 cada una, con mayor distribución y *Tayloriella sp.*, con la menor distribución con solamente el 1.42 %.

En la tabla 1 se detalla un análisis comparativo de las algas encontradas en las investigaciones realizadas para Acapulco.

Conclusión

Son muchas las razones por las que el estudio de las macroalgas son importantes, ya que además de su papel fundamental en la producción del oxígeno atmosférico y su influencia en procesos globales como el cambio climático, estos organismos son importantes en la fijación del bióxido de carbono a través de la fotosíntesis que se realiza en los océanos por éstos y otros organismos autótrofos.



Gráfica 2. Presencia de grupos algales

Los estudios realizados para el estado de Guerrero son escasos, en especial para Acapulco, por lo que el presente estudio, contribuye al conocimiento de las macroalgas marinas de la región y sitúa las bases para continuar el listado ficoflorístico de Acapulco, además de promover colectas futuras e investigaciones asociadas, que coadyuven a la elaboración de planes de conservación así como al uso y manejo sustentable de éstos organismos marinos.

Otro aspecto importante a resaltar es el surgimiento e importancia del uso de las macroalgas ya que se consideran indicadores biológicos de las condiciones y calidad de los cuerpos de agua, como la eutrofización; mientras que otras son tolerantes a los hidrocarburos. También existen algas de interés comercial, en la industria farmacéutica, alimenticia e industrial ya que se extraen componentes para la elaboración de agar, medicinas, carragenanos, alginatos, harinas, etc.

Sin embargo, en Acapulco Gro. no se tiene un conocimiento de su posible potencial, de ahí la importancia de continuar con estos estudios.

Referencias

- Aguilar-Rosas, R. y M. A. Aguilar-Rosas. (1994). Estudio florístico de las algas marinas bentónicas del ejido San José, Baja California, México. *Ciencias Marinas*. 20 (4), 511-534.
- Candelaria Silva, C. (1985). *Macroalgas de Guerrero*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Carballo, J. L., Olabarría, C. y Osuna, T. G. (2002). Analysis of four macroalgal assemblages along the Pacific Mexican coast during and after the 1997-98. El Niño. *Ecosystems*. 5 (8), 749-760.
- Correa, M. Z. (1996). *La división Chlorophyta en las costas de Michoacán, México*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Dawes, C.J. (1986). *Botánica Marina*. Editorial Limusa S.A., México D.F. 1ra Edición.
- Dawson, E. Y. (1949). Resultados preliminares de un reconocimiento de las algas marinas de la costa pacífica de México. *Revista De La Sociedad Mexicana De Historia Natural*. 9 (3-4), 215-254.
- (1953). Marine red algae of Pacific Mexico. I. Bangiales to Corallinaceae subfamily Corallinoideae. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 17(1), 1-239.
- (1954). Marine red algae of Pacific Mexico. II. Cryptonemiales. *Allan Hancock Pacific Expedition*, 17(2), 241-397.
- (1956). *How to know the seaweeds*. Pictured key nature series. Ed. W. C. Brown Co. 197 p.
- (1960). Marine red algae of Pacific Mexico. III. Cryptonemiales, Corallinaceae subfamily Melobesioideae. *Pacific Naturalist* 2(1): 3-125.
- (1961). Marine red algae of Pacific Mexico. IV. Gigartinales. *Pacific Naturalist*. 2(5): 191-343.
- (1962). Marine red algae of Pacific Mexico. VII. Ceramiales: Ceramiaceae, Delesseriaceae. *Allan Hancock Pacific Expeditions*. 26(1): 1-207.
- (1963a). Marine red algae of Pacific Mexico. VI. Rhodymeniales. *Nova Hedwigia*. 5, 437-476.
- (1963b). Marine red algae of Pacific Mexico. VII. Ceramiales: Dasyaceae, Rhodomelaceae. *Nova Hedwigia*. 6, 401-481.
- González-González, J., Gold-Morgan, M., León-Tejera, H., Candelaria, S.C., León-Álvarez, D., Serviere-Zaragoza, E. y Fragoso, T.D. (1996). *Catálogo Onomástico (Nomenclátor) y Bibliografía Indexada de las Algas Bentónicas Marinas de las Costas de México*. Cuadernos del Instituto de Biología UNAM. 29, 9-491.
- Guiry, M.D. y Guiry, G.M. (Junio 22, 2016). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Obtenido de <http://www.algaebase.org>
- Hollenberg, G. J. y J. N. Norris. (1977). The red algae Polysiphonia (Rhodomelaceae) in the northern Gulf of California. *Smithsonian Contr. Marine Sciences*. 1, 1-21.
- López Gómez, N. D. (1993). *Caracterización de la ficoflora sublitoral de Acapulco y Zihuatanejo, Gro.* Tesis Profesional Facultad Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- López S., B. (1994). *Contribución al estudio de las algas marinas bentónicas del estado de Michoacán, México*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
- Mateo-Cid, E. y Mendoza-González, A. C. (1986). Flora marina bentónica de las costa noroeste del estado de Sonora, México. *Phytologia* 60(6), 414-427.
- Organización de las Naciones Unidas. (1992). *Convenio sobre la diversidad biológica en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, (Rio de Janeiro, 3 a 14 de junio de 1992)*. ONU
- Ortega, M., Godínez, J. L. y Garduño G. (2001). *Catálogo de algas bentónicas de las costas mexicanas del Golfo de México y Mar Caribe*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. Cuaderno 34
- Pedroche, F.F., Silva, P.C., Aguilar, R.L.E., Dreckmann, K.M. y Aguilar, R.R. (2005). *Catálogo de las Algas Marinas Bentónicas del Pacífico de México. I. Chlorophycota*. Universidad Autónoma de Baja California / Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa / University of California, Berkeley. México.
- (2008). *Catálogo de las Algas Marinas Bentónicas del Pacífico de México. II. Phaeophycota*. Universidad Autónoma de Baja California / Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa / University of California, Berkeley. México.
- Perevochtchikova M. y F. García Jiménez. (2006). *Análisis cualitativo de la red hidrométrica actual del estado de Guerrero*. México. Investigaciones geográficas, UNAM.
- Rebolledo R., (1991). *Identificación de algunos géneros de macroalgas de la bahía de Acapulco, Guerrero, México*. Memorias de docencia e investigación. Universidad Autónoma de Guerrero.
- Senties G., A. (1985). *Estudio florístico preliminar de la Familia Rhodomelaceae (Ceramiales, Rhodophyta) en las costas del estado de Michoacán*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Taylor, W.R. (1945). *Pacific marine algae of the Allan Hancock Expeditions to the Galapagos Islands*. Allan Hancock Pacific Expeditions



Diversidad genética de poblaciones nativas de papaya (*Carica papaya* L.) del estado de Guerrero, México

Guadalupe Reyes García^{1*}
Francisco Palemón Alberto¹
Blas Cruz Lagunas¹
Agustín Damián Nava¹
Elías Hernández Castro²
Dolores Vargas Álvarez³
Gémima Díaz Villaseñor¹
Silvia Alemán Mundo⁴.

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Periférico Poniente s/n. Col. Villa de Guadalupe. AP. 69. Iguala, Gro. C. P. 40010. Tel: +52 (733) 333 4776.

² Universidad Autónoma de Guerrero. Maestría en Sistemas de Producción Agropecuaria

³ Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas

⁴ Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Filosofía y Letras

*Autor de correspondencia
zary1313@yahoo.com.mx

Resumen

La *Carica papaya* L. es de importancia económica a nivel local, regional, estatal, nacional e internacional. La fruta se consume en todo el año, ya sea en fresco o en jugo. El cultivo se adapta a diversas condiciones ambientales. El objetivo del presente trabajo de investigación fue coleccionar y evaluar las características agronómicas y componentes de rendimiento de las poblaciones nativas de papaya de diversas localidades del estado de Guerrero. Se coleccionaron frutos directamente en campo y se identificaron acorde a la región de origen. El experimento se estableció en el Campo experimental Unidad Tuxpan, ubicado en el km 2.5 de la carretera Iguala - Tuxpan. El material genético se evaluó bajo el diseño experimental de Bloques Completos al Azar con cuatro repeticiones. Se cuantificaron las variables tipo de sexo, peso de fruto, diámetro y longitud de fruto, grosor y color de la pulpa. Los datos registrados se analizaron con el programa SAS Versión 9.0. Los resultados indican que existe variabilidad genética entre las poblaciones nativas de papaya en los cuatro caracteres evaluados, se identificaron plantas hermafroditas, existe alta correlación positiva entre variables. Finalmente es posible seleccionar material genético con buen potencial genético para llevar a cabo futuros trabajos de investigación.

Palabras clave: *Carica papaya* L., poblaciones nativas, componentes de rendimiento, plantas hermafroditas.

Abstract

Papaya (*Carica papaya* L.) is of economic importance at the local, regional, state, national and international levels. This fruit is consumed throughout the year, either fresh or in juice. Crop is adapted to various environmental conditions. Objective of this study was to collect and evaluate agronomic characteristics and performance components of native populations of papaya from diverse localities at the state of Guerrero, México. Fruits were collected directly in the field and identified according to the region of origin. Experiment was established at the experimental Tuxpan Unit, located at km 2.5 of Iguala - Tuxpan highway. Genetic material was evaluated under the experimental design of Com-

Como citar el artículo:

Reyes García, G., Palemón Alberto, F., Cruz Lagunas, B., Damián Nava, A., Hernández Castro, E., Vargas Álvarez, D., Díaz Villaseñor, G. y Alemán Mundo, S. (2017). Diversidad genética de poblaciones nativas de papaya (*Carica papaya* L.) del estado de Guerrero, México. *Tlamati*, 8(1), 47-52.

plete Random Blocks with four repetitions. Variables type, as follows: sex, fruit weight, diameter and length of fruit, thickness and color of the pulp were quantified for this study. Recorded data was analyzed with the SAS Version 9.0 program. Results indicate that there are genetic variability among native populations of papaya in the four characters evaluated; hermaphroditic plants were identified and there is a high positive correlation between variables. Finally, it is possible to select genetic material with good genetic potential to carry out future research work.

.Keywords: *Carica papaya* L., native populations, yield components, hermaphroditic plants

Introducción

La papaya (*Carica papaya* L.) es un frutal de gran producción en el mundo. México es el quinto productor con 616,215 toneladas (FAOSTAT, 2012). El género *Carica* incluye 22 especies, todas nativas de América tropical, de las cuales únicamente 11 producen fruta comestible: *Carica parviflora* (ADC) Solms., *C. quercifolia* (St.Hill) Hieron, *C. candicans* A.Gray, *C. stipulata* Badillo, *C. pubescens* Lenné et Koch., *C. weberbaueri* Harms., *C. goudotiana* Tr. Et planch., *C. monoica* Desf., *C. chaul* flora Jaq., *C. sphaerocarpa* García et Hernandez y *C. papaya* L., esta última destaca sobre las demás por ser la de mayor importancia económica (Mosqueda y Molina, 1973).

En México se cosecha 20,946 ha de papaya, con una producción anual de 919 mil toneladas (FAOSTAT, 2008). Los principales estados productores son: Veracruz, Chia-

pas, Michoacán y Oaxaca (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2008). La introducción de nuevas variedades implica riesgos perjudiciales y benéficos; sin embargo, es una alternativa para identificar germoplasma con características comerciales para el mercado, para la investigación y validación con los productores (Alonso, Tornet, Ramos, Farrés, Castro y Rodríguez, 2008). La papaya criolla tiene una amplia tradición de cultivo en los pequeños productores. Los tipos de papaya genéticamente mezclados, se han generado de híbridos comerciales al cruzarse de manera natural en huertos comerciales (Food and Agriculture Organization [FAO], 2005; Vázquez García, Román Avendaño, y Ariza Flores, 2008). En el estado de Guerrero aun existe gran diversidad genética de poblaciones nativas de papaya y se puede encontrar diversidad genética en altura de planta, diámetro de tallo, tamaño y forma de fruto, grosor y color de pulpa, peso, longitud y diámetro de fruto, entre otros atributos. Acorde con estos antecedentes el objetivo fue: Colectar y valorar las características agronómicas y componentes de rendimiento de frutos de las poblaciones nativas de papaya procedentes en las regiones del estado de Guerrero (véase tabla 1).

Materiales y métodos

El experimento se estableció en el Campo Experimental Tuxpan, ubicado en el kilómetro 2.5 Carretera - Iguala Tuxpan. La cual consistió de valorar el comportamiento agronómico de 22 genotipos de papaya bajo el diseño experimental de Bloques Completos al Azar, con cuatro repeticiones, distancia entre matas e hileras fue de dos metros, cada unidad experimental fue conformada por 5 plantas.

Se realizaron diversas labores culturales entre las más prioritarios fueron el deshierbe, cajeteo, fertilización y eliminación hojas senescentes. La colecta de frutos de papaya en el experimento se realizó cuando el fruto presentó franjas de color amarillo en cada colecta y repetición, se colocaron en una bolsa de papel con su número de identificación, posteriormente se llevaron al laboratorio para medir sus características como peso, diámetro y longitud de fruto, grosor de pulpa; adicionalmente, se identificaron plantas según sexo y color de pulpa. Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SAS versión 9.0, realizándose el análisis de varianza y comparación de medias (Tukey con $\alpha = 0.01\%$).

Resultados y discusión

Al efectuar el análisis de varianza de las cuatro variables cuantificadas en las 22 poblaciones nativas de papaya,

Tabla 1. Colectas de papaya evaluadas en campo

Colecta	Localidad	Región
1	Testigo 1	Norte
2	Brasilia	Costa Grande
3	Las tortolitas	Acapulco
4	Acahuizotla 1e	Centro
5	Mexcaltepec	Norte
6	Taxco el viejo	Norte
7	Santa Barbara	Norte
8	Tanipatlan	Norte
9	La Monera	Norte
10	Apipilulco	Norte
11	Tomas Gómez	Norte
12	Ahuehuepan	Norte
13	Testigo 2	Norte
14	Los callejones	Costa Grande
15	Testigo 3	Norte
16	Acahuizotla 1 f	Centro
17	Huerto de las Flores	Norte
18	Alcholoa	Norte
19	Cruz Prieto	Norte
20	Pelillo	Acapulco
21	Las Tortolitas	Acapulco
22	El Porvenir	Costa Grande

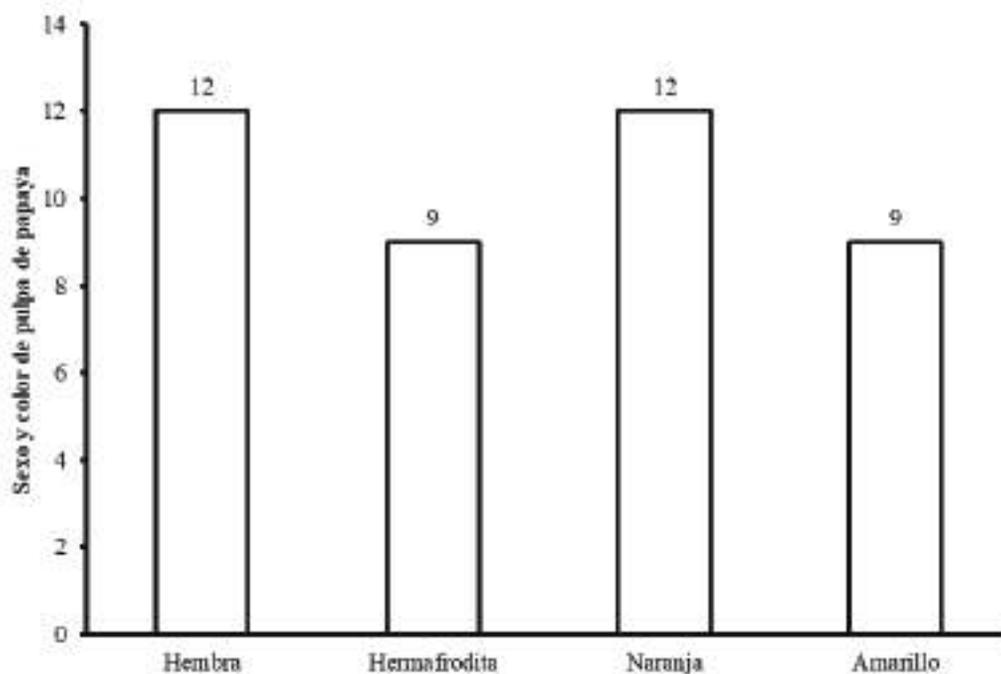


Figura 1. Frecuencia de colectas acorde al tipo de sexo y color de pulpa de las colectas de papaya. Periodo 2013 - 2014. Tuxpan, Gro.

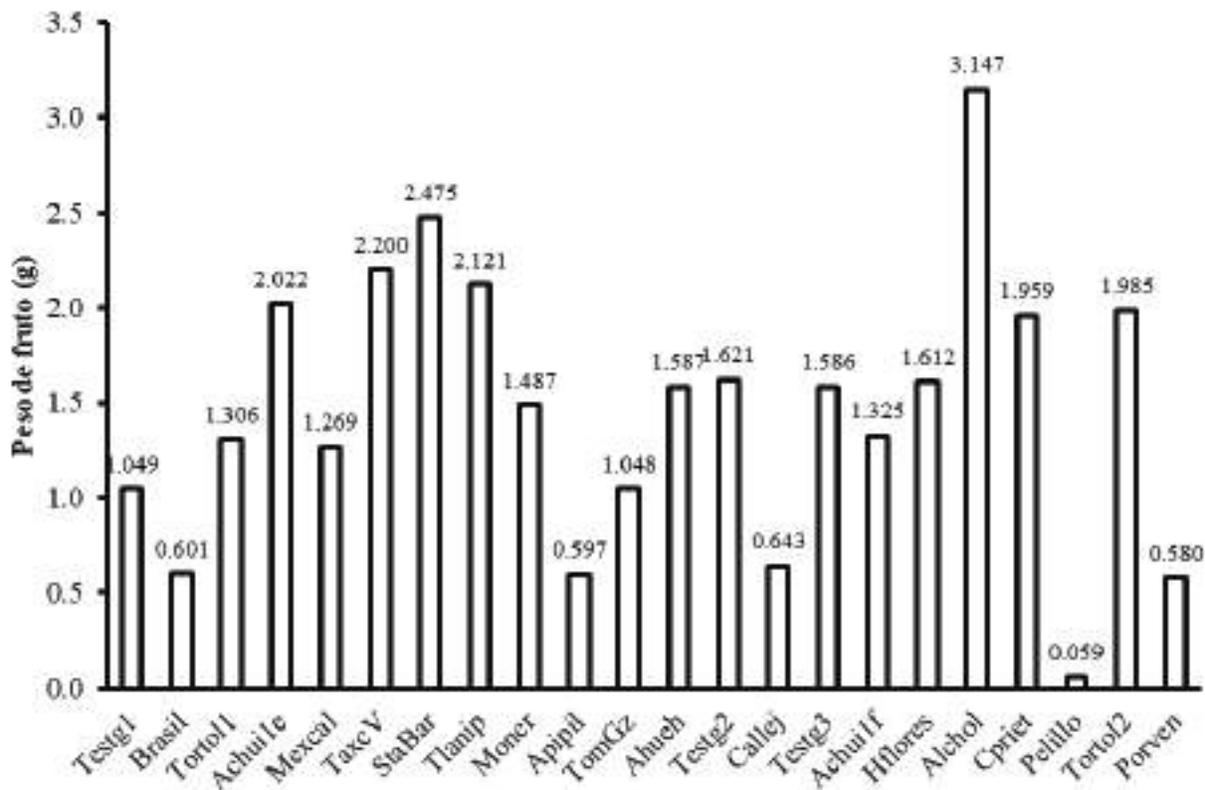


Figura 2. Comparación de medias para el peso de fruto de las poblaciones nativas de papaya. Periodo 2013 - 2014. Tuxpan, Gro.

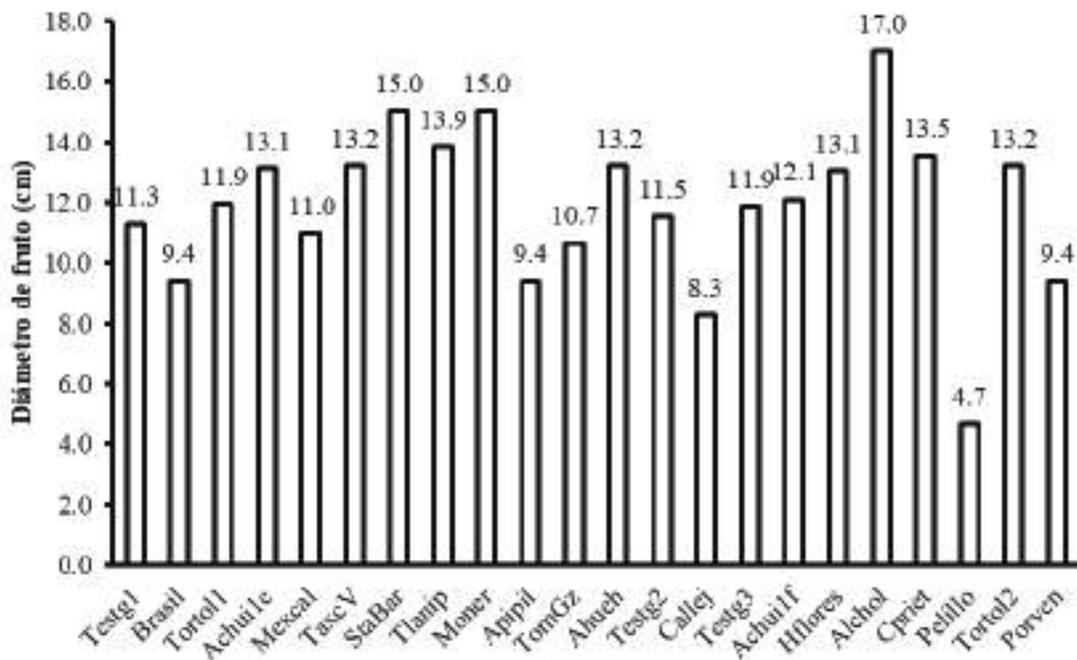


Figura 3. Comparación de medias para el diámetro de fruto de las poblaciones nativas de papaya . Periodo 2013 - 2014. Tuxpan, Gro.

se observaron diferencias altamente significativas, y los coeficientes de variación fueron inferiores al 40 %; estos resultados indican que los datos son confiables (véase tabla 2).

Respecto a las variables cualitativas, observaron 12 genotipos con sexo de tipo hembra y nueve hermafroditas, adicionalmente se identificaron nueve poblaciones nativas de color de pulpa amarilla y 12 de color naranja (véase figura 1).

Estos resultados indican que existe la posibilidad de seleccionar genotipos con sexo de tipo hermafrodita, ya que no necesitarían de plantas machos para su cruzamiento, polinización, fecundación y producción de frutos.

Al comparar los promedios de las poblaciones nativas

de papaya se observó variabilidad genética entre los materiales; sin embargo, la colecta alcholoa fue la que presentó mayor peso de fruto; mientras que los menores fueron registrados en las colectas Brasilia, Apipilulco, Callejones, Pelillo y Porvenir. El 54.54 % de las colectas superaron el promedio general (1.47 kg) y el 45.46 % fue inferior en dicho promedio para la variable peso de fruto (véase figura 2).

Las colectas que pesaron entre 1.3 a 1.6 kg se aproximaron al peso de la fruta de papaya variedad maradol y los de mayor peso son típicos de poblaciones nativas de papaya.

Respecto el diámetro de fruto se observó variación fenotípica; donde 11 colectas mostraron valores mayores a

Tabla 2. Cuadrados medios de cuatro variables cuantificadas en las poblaciones de papaya. Periodo 2013 -2014. Tuxpan, Gro.

Caracteres	Rep	Trat	Error	Media	CV (%)
PDF	0.3799	2.1115 **	0.2907	1.47	36.75
DDF	4.9078	28.0553 **	2.8255	11.87	14.15
LDF	14.2727	179.5476 **	18.9632	27.50	15.84
GDF	0.1358	0.9605 **	0.0982	2.41	13.00
GL	3	21	63		

Rep: Repetición; Trat: Tratamientos; CV (%): Coeficiente de variación en porcentaje; PDF: Peso de fruto; DDF: Diámetro de fruto; LDF: Longitud de fruto; GDF: Grosor de fruto; GL: Grados de libertad.

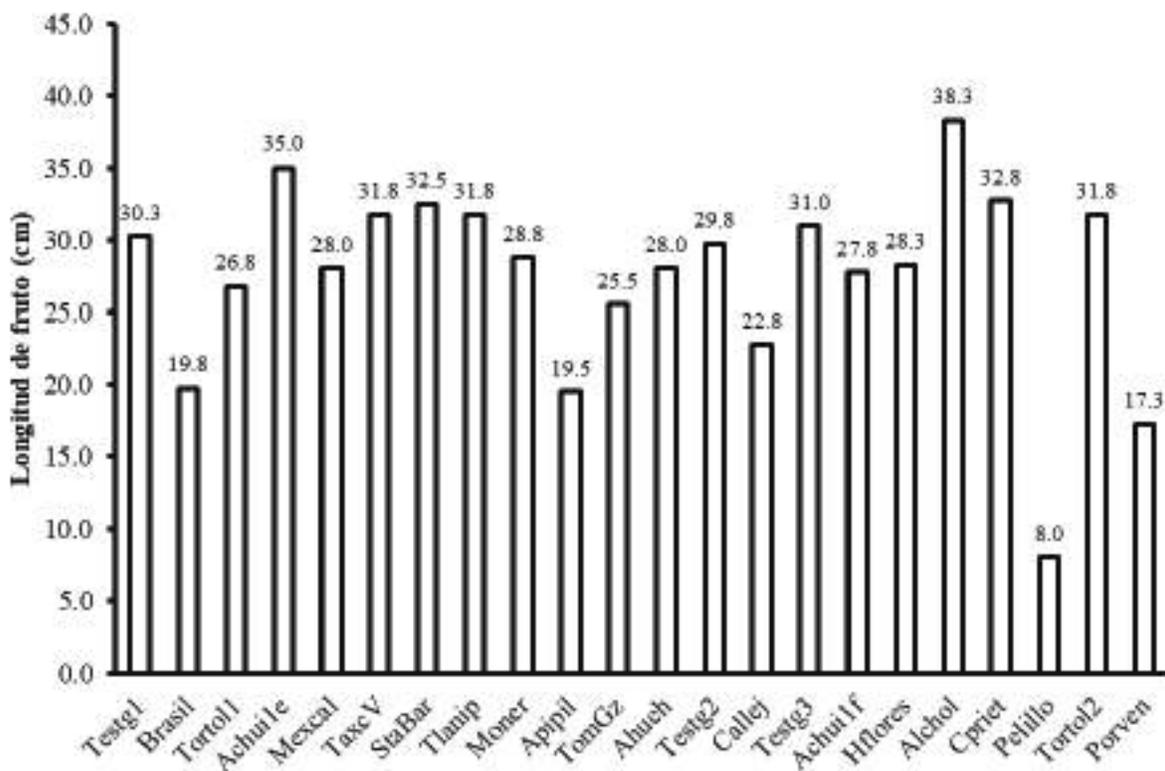


Figura 4. Comparación de medias para la longitud del fruto de las poblaciones nativas de papaya . Periodo 2013 - 2014. Tuxpan, Gro.

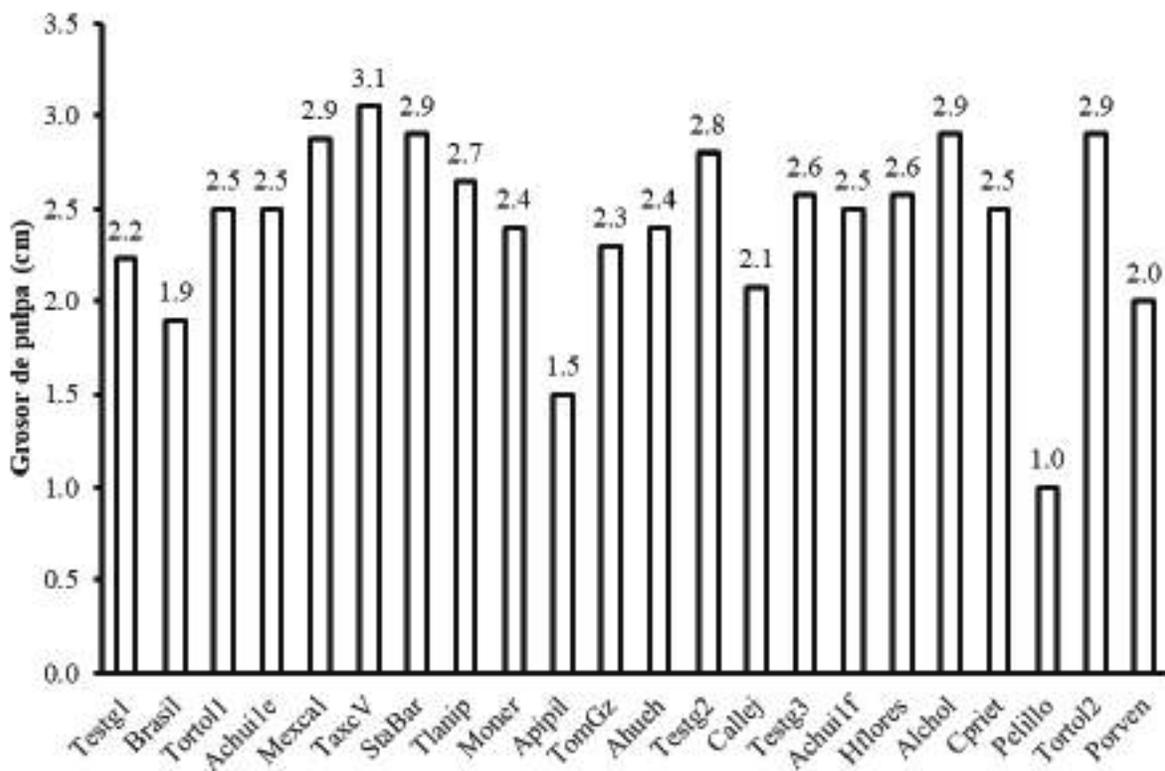


Figura 5. Comparación de medias para el grosor de pulpa de las poblaciones nativas de papaya . Periodo 2013 - 2014. Tuxpan, Gro.

Tabla 3. Análisis de correlación de cuatro variables cuantificadas en las poblaciones de papaya. Periodo 2013 - 2014.

	PDF	DDF	LDF	GDP
PDF	1.000	0.8902 **	0.8594 **	0.7592 **
DDF		1.000	0.8416 **	0.7474 **
LDF			1.000	0.7948 **
GDP				1.000

PDF: Peso de fruto; DDF: diámetro de fruto; LDF: longitud de fruto; GDP: Grosor de pulpa.

11.9 cm equivalente 50.0 %, dos accesiones son semejantes al valor promedio (11.9 cm), el 40.91 % de las poblaciones nativas de papaya mostraron menor diámetro de fruto (véase figura 3).

Estos resultados sugieren que el germoplasma de papaya es de gran importancia económica, ya que los frutos delgados y cortos son los más demandados en el extranjero, por lo que es importante realizar futuros estudios sobre este cultivo, principalmente en la selección de plantas con buenas características agronómicas y componentes de rendimiento.

Respecto la longitud de fruto, se observó que la colecta alcohola mantuvo el mayor valor promedio; mientras que la población nativa llamado Pelillo fue el que presentó menor valor (véase figura 4). Al comparar los valores promedio de las colectas, se observó que 15 poblaciones nativas registraron mayor valor comparado con el promedio general (27.50 cm), equivalente al 68.18 % y el 31.82 % mostraron valores inferiores a dicho promedio.

Estos resultados indican que existen variabilidad genética en longitud de fruto de la papaya. Es importante seleccionar material genético con sexo de tipo hermafrodita de las poblaciones como Tortolitas 1 y 2, Acahuizotla 1e y 1f, mexcaltepec, Taxco el viejo, los callejones y los testigo 2 y 3, es posible que alguno de estos materiales muestre mayor grosor de pulpa y peso de fruto.

Al comparar los promedios de las 22 poblaciones nativas de papaya, se observó que el 59.09 % del material genético registró valores mayores al promedio general (2.41 cm); mientras que dos de ellos fueron semejantes a dicho promedio; en cambio, el 31.81 % mostró menor grosor de pulpa (véase figura 5).

Estos resultados sugieren que es conveniente seleccionar material genético con características sobresalientes como plantas hermafroditas con frutos de mayor peso y grosor de pulpa, para lograr producir frutos que exige el mercado local, estatal, nacional e internacional.

Acorde al análisis de correlación las variables peso de fruto, diámetro de fruto, longitud de fruto y grosor de pulpa, exhibieron una correlación altamente significativa y positiva, con probabilidades mayores al 70 % (véase tabla 3).

Conclusión

Los frutos de las poblaciones nativas de papaya procedentes de las regiones Costa Grande, Centro y Norte del estado de Guerrero, difieren en el tipo de sexo, peso de fruto, diámetro de fruto, longitud de fruto y grosor de pulpa; por lo tanto, existe la posibilidad de seleccionar y utilizar este germoplasma para futuros trabajos de investigación.

Referencias

- Alonso, M., Tornet, Y., Ramos, R., Farrés, E., Castro, J. y Rodríguez, M. C. (2008). Evaluación de tres cultivares de papaya del grupo Solo en caracteres de crecimiento y productividad. *Cultivos Tropicales*. 29(2), 59-64.
- FAOSTAT. (2008). *Base de Datos Cultivos Tropicales. Estadísticas actualizadas el 16 de noviembre de 2009*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 29(2), 59-64.
- FAOSTAT. (2012). *Bases indicadoras de producción mundial y comercio internacional de papaya*. FAO. Obtenido de <http://faostat.fao.org>.
- Food and Agriculture Organization. (2005). Situación actual y perspectivas a plazo medio para las frutas tropicales. *Servicio de Materias Primas, Productos Tropicales y Hortícolas en México*. FAO.
- Mosqueda, V. R y Molina, G. J. (1973). Formas sexuales, sus frecuencias y sus relaciones con otras características en *Carica papaya* L. *Agrociencia*, (11), 78-83.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (Junio 6, 2008). *Cierre de la producción agrícola por cultivo. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Producción Agrícola. Ciclo: Cíclicos y Perennes. Modalidad: Riego + Temporal. Papaya*. SIAP. Obtenido de http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=289
- Vázquez García, E., Román Avendaño, E. E. y Ariza Flores, R. (2008). Fenología y unidades calor de genotipos de papaya en el sur de Tamaulipas, México. *Fitotecnia Mexicana*. 31(3), 45-48.



Diagnóstico de Centros Digitales en el estado de Guerrero, México

Juan Baltazar Cruz Ramírez^{1*}
 Felicidad del Socorro Bonilla Gómez¹
 Ángel López Martínez¹
 José Efrén Marmolejo Valle¹
 Juan Silvestre Salinas Valadez¹
 Pavel Ernesto Alarcón Ávila¹

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. Coordinación General de Educación Virtual. Av. Javier Méndez Aponte s/n. Fracc. Servidor Agrario. Chilpancingo, Guerrero, México. C. P. 39070. Tel: +52(747) 471 9310

**Autor de correspondencia*
cruzramirez@uagrovirtual.mx

Resumen

Actualmente existen tres modelos principales de centros digitales en México, implementados por el Gobierno Federal para el desarrollo de la conectividad, sistemas y contenidos integrados enfocados en abreviar la brecha digital y favorecer el desarrollo comunitario y el abatimiento a la pobreza, estos son: Módulos de Servicio Digitales (MSD), Centros Comunitarios Digitales (CCD) y Centros Comunitarios de Aprendizaje (CCA). Estos modelos son administrados por diferentes instancias federales y cada uno de ellos es independiente en sus objetivos, administración, financiamiento, pero no así en sus funciones, en donde podemos encontrar más similitudes que diferencias. Se diagnóstico el estado en que se encuentran la mayoría de los CCA instalados en el estado de Guerrero. Se encontró que la mayoría de los casos los Centros digitales instalados por el Gobierno Federal en el Estado de Guerrero, están inmersos en el abandono, subutilización y envueltos en cuestiones de orden político que no permiten que estos centros funcionen como es debido. Como solución se propone implantar un Modelo para la educación y negocios en centros digitales.

Palabras clave: centros digitales, conectividad, Internet

Abstract

In present times, we found three main models of digital centers at México, implemented by the Federal Government for development of connectivity, systems and integrated content focused on shortening the digital breach, promoting community development and dejection of poverty. These models are, as follows: Modules Digital Service (MSD), Digital Community Centres (CCD) and Community Learning Centers (CCA). These models are managed by different federal and state agencies and each of them are independent in their objectives, administration, financing, but not in their functions, where we find more similarities than differences. Main objective of this study is a diagnosis of these digital centers at the state of Guerrero. Most of these digital centers installed by the Federal Government are abandoned, underutilized, and involved in political issues. These factors that do not allow these centers to function in proper manner. As a solution, we proposed to implement a model for education and business in digital centers.

Keywords: digital centers, connectivity, Internet

Como citar el artículo:

Cruz Ramírez, J. B., Bonilla Gómez, F. S., López Martínez, A., Marmolejo Valle, J. E., Salinas Valadez, J. S. y Alarcón Ávila, P. E. (2017). Diagnóstico de Centros Digitales en el estado de Guerrero, México. *Tlamati*, 8(1), 53-57.

Introducción

Existe una enorme inversión por parte del Gobierno Federal en programas para el desarrollo de conectividad, sistemas tecnológicos e infraestructura relacionada con las Tecnologías de Comunicación e Información (TIC), respaldados muchos de ellos por instancias del sector privado, que llevan años de replicar estos modelos y propuestas de apoyo tecnológico, sin tener un ápice de conocimiento de las necesidades y realidades de las localidades más pequeñas y dispersas en el país, en donde, aún y cuando estadísticamente y en el papel encontramos que cuentan con éstos servicios. En realidad, son entidades que nunca han funcionado como centros de carácter social, productivo, comercial y educativo, menos aún como un elemento de impacto en las posibilidades de accesibilidad y comunicación para las que fueron instaladas (véase figura 1). De esta manera, las insuficiencias comunitarias reales no son atendidas más que en los reportes y estadísticas gubernamentales, pero nunca en su accionar diario como un trabajo comunitario en el que la población se involucre y participe en la definición de sus propias necesidades y soluciones, transformando, detectando y dando respuesta a sus problemas mediante un soporte real a la formación de los recursos humanos, la transmisión de contenidos en cursos de capacitación enfocados y diseñados para una realidad y un modelo de estabilidad para el aprovechamiento y usabilidad de estos centros de aprendizaje.

Los modelos gubernamentales para el desarrollo de conectividad, sistemas y contenidos integrados.

Actualmente existen tres modelos principales implementados por el Gobierno Federal para el desarrollo de la conectividad, sistemas y contenidos integrados enfocados en abreviar la brecha digital y favorecer el desarrollo comunitario y el abatimiento a la pobreza, estos son:

- Módulos de Servicio Digitales [MSD]
- Centros Comunitarios Digitales [CCD]
- Centros Comunitarios de Aprendizaje [CCA]

Estos modelos son administrados por diferentes instancias federales y cada uno de ellos es independiente en sus objetivos, administración, financiamiento, pero no así en sus funciones, en donde podemos encontrar más similitudes que diferencias.

Módulos de Servicio Digitales

El proyecto de Módulos de Servicio Digitales (MSD) del Programa de Acceso a Servicios Digitales en Bibliotecas Públicas [PASDBP] contó con la presencia del empresario Bill Gates, quien a través de una videoconferencia anunció el donativo de cerca de 30 millones de dólares para dotar de computadoras, soporte técnico y capacitación a personal de bibliotecas públicas, así como la donación en especie de la empresa Microsoft México por otros casi diez millones de dólares en programas de software donados para los Módulos de Servicios Digitales (PASDBP, 2015).

Centros Comunitarios Digitales (CCD)

El lanzamiento de los CCD es parte de la propuesta e-

México. Éstos son actualmente administrados por la Coordinación de la Sociedad y el Conocimiento de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes [SCT]. Los CCD fueron pensados para tener su propio efecto regionalizado en función de la comunidad a la que atienden, del espacio, del tiempo y de su proyecto educativo, mediante estándares básicos que deben atenderse (SCT, 2015).

Centros Comunitarios de Aprendizaje (CCA)

Los CCA se crearon en alianza con el gobierno federal, a través de la Secretaría de Desarrollo Social [SEDESOL], bajo la responsabilidad de los gobiernos estatales y municipales, con el objeto de abrir oportunidades para el desarrollo de las comunidades, siendo su principal objetivo el desarrollo de habilidades para llevar a cabo proyectos productivos o para el acceso a mejores fuentes de empleo que permitan movilidad social, una elevación en el índice de la calidad de vida, y la inclusión en la sociedad (SEDESOL, 2015).

Analizando los criterios utilizados por las instancias administradoras de estas entidades, podemos encontrar que la principal intención de éstas propuestas gubernamentales usualmente se limita al *aspecto técnico de proveer la instalación e infraestructura* para que estos establecimientos tengan acceso a Internet, mediante una serie de propuestas variadas y casi nunca completamente funcionales, debido al incumplimiento de las condiciones básicas en las localidades (falta de energía eléctrica, hardware y software adecuado, locales e instalaciones propicias entre otras), en donde son instalados estos centros. La mayoría de estos centros están contemplados al interior de locales oficiales de dependencias tales como la Secretaría de Educación Pública [SEP], la Secretaría de Salubridad y Asistencia [SSA], El Instituto Nacional de Educación para Adultos [INEA], y el Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal [INAFED] entre otras, mismas que por su carácter oficial, no ofrecen acceso al público en general y son usadas a discreción de los encargados. Uno de los puntos coincidentes en éstas propuestas es la de instalar estos centros en localidades con alto índice de pobreza y marginación, en donde estas condiciones son un factor importante en el poco aprovechamiento de estos centros, situación que aunada a la falta de un programa de desarrollo, seguimiento, administración y sostenimiento financiero de estos centros, así como del personal a cargo de ellos, se conjunta con un desconocimiento del entorno social, productivo y del bajo nivel para el manejo de las Técnicas de la Información y Comunicación [TIC] por parte de los habitantes de estas comunidades, para crear un escenario poco conveniente para un proyecto de este tipo. Es necesario aclarar que la parte esencial, esto es, el encargado de ser el enlace operativo de estos centros, casi nunca tiene asegurada la permanencia en ese cargo, ya no digamos un plan de capacitación, financiamiento y administración a largo plazo.

De esta manera, las insuficiencias comunitarias reales no son atendidas más que en los reportes y estadísticas gubernamentales, pero nunca en su accionar diario como un trabajo comunitario en el que la población se involucre y participe en la definición de sus propias necesidades y soluciones, transformando, detectando y dando respuesta a sus problemas mediante un soporte real a la formación de

los recursos humanos, la transmisión de contenidos en cursos de capacitación enfocados y diseñados para una realidad y un modelo de estabilidad para el aprovechamiento y usabilidad de estos centros de aprendizaje.

Objetivos

Objetivo general

Diagnosticar el estado en que se encuentran los centros digitales comunitarios (MSD, CCD, CCA) en el estado de Guerrero en las áreas de .

Objetivos particulares

Establecer estrategias enfocadas en activar centros comunitarios digitales y de aprendizaje en municipios de extrema pobreza.

Establecer estrategias enfocadas en atender los aspectos centrales para el éxito de los centros digitales, como son: asesoría en la conectividad, infraestructura, administración y usabilidad de los centros

Establecer estrategias enfocadas en la apropiación, mantenimiento y funcionalidad de los centros digitales por parte de la comunidad en el mediano y largo plazo.

Análisis del problema

Situación de los Centros de aprendizaje en el Estado de Guerrero.

Aún y cuando los centros comunitarios digitales y de aprendizaje instalados en el estado de Guerrero bajo estos programas federales, no tienen un seguimiento formal de los objetivos específicos a alcanzar, e incluso se ignora cuál es el uso que se les da en la mayoría de los casos. Debido a la lejanía y a la extrema pobreza y alta marginación de las comunidades en donde están instalados estos centros en el Estado de Guerrero, en donde las necesidades primarias tales como alimentación, vivienda, seguridad, agua potable, alcantarillado, energía eléctrica no están totalmente cubiertas para la población que las habitan, encontramos que estos centros están amenazados para funcionar correctamente (INEGI, 2014)..

Aún y cuando usualmente se requiere de un compromiso firmado por los responsables municipales de estos centros para su funcionamiento y sustentabilidad, en la práctica no hay una responsabilidad directa sobre cómo son administrados y cuáles son las sanciones cuando no se cumplen los compromisos que asumen las instancias responsables de la operación de los centros, tales como el salario del encargado, pago de energía eléctrica y conectividad, entre otros. Debido a la situación de extrema marginalidad que hay en la mayoría de las 8 regiones del Estado de Guerrero (Zona Centro, Zona Norte, Acapulco, Tierra Caliente, Montaña, La Sierra, Costa Grande y Costa Chica), encontramos que estos centros comunitarios cuentan con características muy especiales relacionadas con las condiciones socio-económicas imperantes y estas características afectan la supervivencia y usabilidad de estos centros de aprendizaje.

Capacitación y recursos educativos.

De acuerdo a Cruz, Bonilla y Marmolejo (2015), encontramos que en un contexto rural de alta marginalidad, los cursos propuestos por las instancia académicas encargadas de dar capacitación en estos centros, se pueden ver

como una incongruencia debido al desconocimiento de la realidad en la que los pobladores de estas zonas marginales se desenvuelven cada día. Como hemos indicado anteriormente, la mayoría de los centros instalados bajo estos programas adolecen de un seguimiento de los objetivos específicos para la usabilidad y aprovechamiento de estos centros, e incluso se ignora cuál es el uso que se les da en la mayoría de los casos (PASDBP, 2015; SCT, 2015; SEDESOL, 2015). Aún y cuando se han hecho varios estudios a nivel local en diferentes estados de la república mexicana sobre la situación de los Centros Comunitarios de Aprendizaje (Hernández Flores, Alonso Ortega, Landeros Guerra y Carrillo Pérez, 2011; Flores Guerrero, López de la Madrid y de la Torre García, 2012), la situación que guardan estos centros en el Estado de Guerrero todavía no habían sido reportadas formalmente.

Metodología a desarrollar

Se aplicó el Modelo de diagnóstico Tleamacalli (Cruz et al., 2015) para analizar las áreas de Operatividad, Infraestructura, Usabilidad, Administración, Rentabilidad y Desarrollo de los centros de cómputo de acceso público, en una primera etapa a CCA en el estado de Guerrero. Posteriormente se contacto con los administradores de los CCA y se hizo una evaluación *in situ* en 6 casos en específico, reportados como CCA funcionales por el Gobierno Federal en las estadísticas oficiales (SEDESOL, 2015), como elementos representativos de la situación de estos centros en el estado de Guerrero, como sigue:

- Caso 1. Potoinchan. Zona de la Montaña.
- Caso 2. Copanatomyac. Zona de la Montaña.
- Caso 3. San Juan del Reparó. Confluencia de la Zona Acapulco, Zona Centro y Zona Costa Chica.
- Caso 4. La Palma. Confluencia de la Zona Acapulco, Zona Centro y Zona Costa Chica.
- Caso 5. Nueva Cuadrilla. Zona de la Sierra
- Caso 6. Vallecitos. Zona de la Sierra

Mediante la evaluación primaria de las condiciones estructurales y funcionales que afectan significativamente el impacto de estos centros en su operación cotidiana, se desarrolló un análisis comparativo entre las estadísticas reportadas y la situación real en que están estos centros

Resultados

De acuerdo al Anuario Estadístico de la Universidad Autónoma de Guerrero 2014-2015 (UAGro, 2014), el total de la matrícula de primer ingreso para los programas de Licenciatura fue de 8,064 alumnos de un total de 29,883. De estos, 27,823 (93.01% del total de alumnos matriculados) están inscritos en UA de las regiones de Acapulco, Centro y Norte, en donde están las ciudades más pobladas del estado de Guerrero.

Esto nos deja un total de 2,060 (6.99 % del total de alumnos matriculados) inscritos en las UA de las regiones de Costa Chica, Costa Grande, Montaña y Tierra Caliente (sin contar la recién creada Región de La Sierra). Estas Regiones son las que el más alto índice de pobreza tienen no solo en el estado de Guerrero, sino en el país y en caso de Cochoapa el Grande, del mundo (INEGI, 2015).

El gobierno federal reporta 64,809 Centros Digitales en total, instalados y funcionando en el país. En el estado de

Tabla 1. Municipios en Guerrero con CCA funcionales (Fuente: Elaboración propia)

MUNICIPIO	LOCALIDAD
ARCELIA	EL ESCONDIDO
APAXTLA DE CASTREJON	TLATZALA
COYUCA DE BENÍTEZ	ATOYAQUILLO, TIXTLANCINGO
COYUCA DE CATALAN	AMUCO DE LA REFORMA
CUALAC	CHIAUCINGO
CUTZAMALA DE PINZÓN	ZACAPUATO
HUAMUXTITLAN	SAN MIGUEL TOTOLAPA
METLATONOC	COCUILOTLATZALA
PEDRO ASCENCIO DE ALQUISIRAS	IXTLAHUACATENGO
PETATLAN	LAS MESAS
SAN MARCOS	LAS MESAS
TEPECOACUILCO DE TRUJANO	SABANA GRANDE
ACATEPEC	AGUA TORDILLO, BARRANCA POBRE, CAXITEPEC, ESCALERILLA ZAPATA, TIERRA BLANCA, XILOTLANCINGO
ZAPOTITLAN TABLAS	AYOTOXTLA
QUECHULTENANGO	QUECHULTENANGO TLANICUILULCO, JOCUTLA, SANTA CRUZ
COYUCA DE CATALÁN	PASO DE ARENA
PETATLAN	PETATLAN, JULUCHUCA
MARQUELIA	MARQUELIA, BARRA DE TECOANAPA

Guerrero, la Secretaría de Desarrollo Social en Guerrero (SEDESOL), quienes administran los CCA en el estado, reportan 242 CCA instalados. De estos, encontramos únicamente 32 (.04% del total nacional) funcionando de manera precaria y que son utilizados básicamente para diversión y redes sociales (véase tabla 1).

En los 6 centros analizados *in situ*, encontramos que condiciones tales como la formación académico-profesional de los encargados de los centros, los cambios de administración local, la falta de capacitación administrativa y tecnológica, el abandono en que se encuentran y el poco impacto social y económico que tienen estos centros, entre otras características analizadas, obstaculizan el desarrollo y usabilidad de estos centros. A estas condiciones debemos agregar la falta de disponibilidad de los servicios vitales para el centro, tales como la energía eléctrica, hardware y software adecuado, malas condiciones físicas y servicios de conectividad con muchos problemas. Véase el archivo fotográfico (SUVUAGro, 2016), en: <https://www.flickr.com/photos/131348423@N06/>

De acuerdo a las estadísticas analizadas (UAGro, 2015; INEGI, 2010) encontramos que la presencia de instancias académicas de Nivel Superior es inexistente en estas zonas, lo que afecta de manera sustancial el acceso a la educación superior. Así mismo, debido a las condiciones sociales y geográficas de éstas localidades del estado de Guerrero, así como las particularidades antes citadas, son un

obstáculo para la movilidad de estudiantes y profesores, lo que hace difícil asistir a sus clases de forma tradicional. Esta situación afecta de manera sustancial el incremento de la matrícula estudiantil, siendo además un elemento importante en la deserción escolar de los ya inscritos. Encontramos que estos elementos se deben atender en primera instancia, antes de establecer el plan de mantenimiento y supervivencia del centro.

Conclusiones

Mediante el fortalecimiento de estos centros digitales, a través del Sistema de Universidad Virtual en primera instancia, se establecerá una alternativa diferente a la tradicional para la impartición y difusión de los programas educativos ofrecidos por la Universidad Autónoma de Guerrero. Mediante esta alternativa, se podría apoyar también a las localidades del estado de Guerrero en donde no existen campus tradicionales. Esto permitiría ampliar el incremento de alumnos matriculados en educación superior en una tasa de crecimiento de 320 alumnos anuales (el 4% del total de alumnos de la UAGro) si se logra habilitar en primera instancia a los 32 CCA funcionales y seguir habilitando los CCA restantes a mediano plazo. La activación propuesta por el SUVUAGro está planteada como una respuesta a la falta de apoyo para la usabilidad, aprovechamiento, formación, administración y desarrollo de los centros comunitarios digitales y de aprendizaje, mediante la

evaluación primaria de las condiciones estructurales y funcionales que afectan significativamente el impacto de estos centros en su operación y un posterior desarrollo de instrumentos tecnológicos interactivos y enlazados a bibliotecas digitales, laboratorios virtuales, librerías de objetos de aprendizaje, centros multimedia y aulas de aprendizaje virtuales, que entre otras propuestas, son apenas algunos de los componentes de una integralidad enfocada en los objetivos a mediano plazo del sistema de UAGro Virtual. Estos objetivos están planteados no solo como una instancia que imparta la educación a distancia en sus diferentes modalidades y propuestas, sino como una instancia integradora, propositiva y desarrolladora de las funciones sustantivas de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Agradecimientos

Se agradece al personal académico y administrativo del Sistema de Universidad Virtual de la Universidad Autónoma de Guerrero: así como a la Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Guerrero. El Modelo de Educación y Negocios en Centros Digitales es financiado por la Embajada de Estados Unidos de América a través del Alumni Engagement Innovation Fund 2016.

Referencias

Cruz, J., Bonilla, F. y Marmolejo, J. (2015). El modelo Tleamacalli como nodo periférico del bachillerato virtual de la Universidad Autónoma de Guerrero. *6to. Coloquio Nacional de Educación a Distancia*. UANL
 Flores Guerrero, K. López de la Madrid, M. C., y de la

Torre García, E. (2012). Centros comunitarios digitales del sistema e-méxico: Caso de Gómez Farías, Jalisco. *X congreso nacional de investigación educativa*.
 Hernández Flores, E., Alonso Ortega M. C., Landeros Guerra, M S. y Carrillo Pérez, H. G. (2011). Estudio de mercado del centro comunitario de aprendizaje en San Felipe, Guanajuato. *Cuadernos de Educación y Desarrollo*, 3(28).
 Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (2014). *Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos 2014*. INEGI.
 Programa de Acceso a Servicios Digitales en Bibliotecas Públicas, (Febrero 20, 2015). *Programa de Acceso a Servicios Digitales*. Consejo Nacional de Cultura. Obtenido de: http://dgb.conaculta.gob.mx/info_detalle.php?id=33
 Secretaría de Comunicaciones y Transportes, (Febrero 20, 2015). *Directorio de centros comunitarios digitales por localidad*. SCT. Obtenido de: http://www.telecomm.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=220&Itemid=65
 Secretaría de Desarrollo Social, (Febrero 20, 2015). Centros Comunitarios de Aprendizaje. SEDESOL. Obtenido de: <http://www.microrregiones.gob.mx/ccs.php>
 Universidad Autónoma de Guerrero (2014). *Anuario Estadístico 2014-2015*. UAGro
 Universidad Autónoma de Guerrero (2015). *Modelo Educativo. Hacia una educación de calidad con inclusión social*. UAGRO
 Sistema de Universidad Virtual UAGro (Enero, 6, 2016). Galería Fotográfica. Obtenido de: <https://www.flickr.com/photos/131348423@N06/>



Transmigrantes del Estado de Guerrero en Carolina del Sur, USA.

Alaíde Aurora Salgado Galván^{1*}
Dora María Ocampo Herrera¹
Elvia Garduño Teliz¹

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Lenguas Extranjeras. Cerrada del Venado 09, Acapulco, Guerrero, México. C. P. 39690. Tel +52(747) 1173497

*Autor de correspondencia
aroruala@hotmail.com

Resumen

México y Estados Unidos, dos naciones desiguales, socio-cultural, política y económicamente. La gran brecha de diferencia nos sugiere que fueran dos mundos alejados y contrarios. Sin embargo, ambas naciones se unen bajo un mismo fenómeno social, la migración donde emerge la comunidad migrante transnacional. Esta nueva comunidad se compone de aquellos cuyas actividades y patrones de vida se llevan a cabo tanto en una sociedad receptora como la de origen. Sus vidas traspasan las fronteras nacionales y se congregan a dos sociedades en un mismo campo social.

El presente trabajo tiene como objetivo: describir el proceso transnacional migratorio y los cambios culturales atribuibles a este suceso en ambos lados de la frontera entre México y Estados Unidos, específicamente en dos comunidades, la primera localizada al Suroeste del Estado de Guerrero y la segunda en Carolina del Sur, E.U.

La investigación se desarrolló desde un ámbito exploratorio-descriptivo, permitió especificar las características y propiedades más significativas de personas, grupos y poblados de las zonas de estudio. Además, se apoyó con técnicas específicas en recolección de información a través de la observación, entrevistas estructuradas y semiestructuradas, mismas que fueron sometidas a un proceso de codificación, tabulación y análisis.

Palabras clave: migración internacional y transnacionalismo

Abstract

Mexico and the United States of America: two unequal, sociocultural, political and economic nations. The big gap difference suggests that they were two distant and contrary worlds. However, both nations are together under one social phenomenon, migration from transnational migrant community emerges. This new community consists of those whose activities and life patterns are carried out both in a host society as the source. Their lives beyond national borders and bring together two societies in the same social field.

This study aims to describe the transnational process involving the migration and the attributable to this event on both sides of the border between Mexico and the United States, specifically in two communities' cultural changes, the first located in the southwest of the State of Guerrero and the second in South Carolina, EE.UU.

The research conducted from an exploratory-descriptive field, allowed to specify the characteristics and most significant properties of persons, groups and towns in the study areas. In addition, it leaned with specific techniques in gathering information through observation and semi-structured interviews, which were subjected to a process of coding, tabulation and analysis.

Keywords: International migration, transnationalism.

Como citar el artículo:

Salgado Galván, A. A., Ocampo Herrera, D. M. y Garduño Teliz, E. (2017). Transmigrantes del Estado de Guerrero en Carolina del Sur, USA. *Tlamati*, 8(1), XX-XX.

Introducción.

La migración internacional es el desplazamiento de personas de un país a otro para ejercer su residencia. Cuando las personas migran, llevan consigo sus conocimientos, costumbres, ideologías; por eso no se puede reducir la migración a un hecho de competencia salarial entre trabajadores nacionales e inmigrantes y de flujos monetarios simplemente, sino que en ella concurren muchos factores a tener en cuenta para su estudio (Gómez, 2010).

Estos factores han llamado la atención de investigadores, académicos y políticos en el ámbito internacional.

Las migraciones internacionales representan hoy en día más de 200 millones de personas, es decir, cerca de 3% de la población mundial (Departamento de Asuntos Económicos y Sociales. Naciones Unidas, 2009).

Dentro de los flujos de migración internacional existen diferentes modalidades como: las migraciones políticas, migraciones de reunificación familiar, migraciones laborales entre otras (Anglejan, 2009).

Este trabajo de investigación se enfoca principalmente en los trabajadores migrantes internacionales, donde su principal motivo es la migración laboral, donde buscan incrementar su calidad de vida a través de trabajos bien remunerados.

Actualmente, los principales destinos receptores de migrantes laborales son Estados Unidos y los países de la Unión Europea. La migración hacia la Unión Europea se aceleró de manera notable durante las dos últimas décadas, y de forma aún más agudizada hacia ciertos países como lo son España o Irlanda. En relación a Estados Unidos, aparte de ser la primera economía mundial, también es el primer país de recepción de inmigrantes en el mundo: en el 2006 tenía más de 37 millones de extranjeros (Valenzuela, 2008). Entre los países que aportan inmigrantes a Estados Unidos se encuentra México.

En opinión de dos reconocidos expertos en el tema migratorio mencionan que, la migración entre México y Estados Unidos es un fenómeno centenario y muy probablemente es el flujo migratorio contemporáneo con mayor antigüedad en el ámbito mundial (Durand y Mansey, 2003).

Estados Unidos se ha convertido en un polo de atracción económica, y de destino de las crecientes corrientes migratorias para los mexicanos, fundamentalmente por su amplio mercado de trabajo y sus altos niveles salariales en comparación con los locales, así como las mayores posibilidades de superación laboral y económica. Este polo de atracción es principalmente para gente con un bajo nivel escolar, acostumbrada al trabajo de campo y los oficios, que cubren los vacíos laborales, es decir, los trabajos más pesados en el campo, la construcción y en las industrias, que los norteamericanos ciertamente no aceptan, también, por la cercanía geográfica y la amplia frontera que Estados Unidos comparte con México.

De acuerdo a Tuiran (2006), actualmente, México es una de las principales naciones expulsoras en el mundo. Cada año ingresan a Estados Unidos cientos de miles de mexicanos que buscan establecer su residencia en ese país, atraídos por el "sueño americano". Una de las percepciones cada vez más arraigadas en la sociedad mexicana es que la migración (indocumentada o documentada) hacia Estados Unidos, constituye un medio muy efectivo para

mejorar la condición socioeconómica de las familias.

De acuerdo al Consejo Nacional de Población, [CONAPO] (en Díaz y Juárez, 2008), el Estado de Guerrero se encuentra en un alto grado de intensidad migratoria y se orienta en su mayoría hacia los Estados Unidos de Norteamérica, comparándolo con Jalisco y San Luis Potosí, que pertenecen a la región tradicional de migración mexicana a los E.U

Entre los principales destinos receptores de Guerrerenses en Estados Unidos se encuentra Chicago, Sur de Wisconsin, norte de Indiana, sur de California, Texas, Carolina del Sur y Nueva York (Instituto Nacional de Geografía e Informática [INEGI], 2010).

Existen diferentes factores del Estado de Guerrero que intensifican la migración internacional, tanto de manera transitoria como permanente hacia Estados Unidos, entre ellos se encuentran las condiciones de pobreza, marginación, rezago social, falta de empleos, bajas tasas de educación, falta de oportunidades y la desigualdad. Esto implica que año tras año cientos de guerrerenses opten por dejar sus lugares de origen para insertarse a sociedades diferentes, es aquí donde emerge un tipo de población conocida como migrante transnacional.

Pries (1992), concibe a este migrante como un fenómeno social, que provoca el surgimiento de realidades sociales cualitativamente nuevas, más allá de los acostumbrados arraigos espaciales de la región de llegada y destino.

Esta nueva comunidad transnacional, se compone con aquellos cuyas actividades y patrones de vida se llevan a cabo tanto en una sociedad receptora como en una de origen. Sus vidas traspasan las fronteras nacionales y se congregan dos sociedades en un mismo campo social.

Los autores Basch, Glick y Szanton (1992), acuñaron y definieron el concepto de migración transnacional como: los procesos en los que los inmigrantes forjan y mantienen relaciones sociales con múltiples entramados y estratificaciones, que unen sus sociedades y de origen y las anfitrionas. Llamamos a este proceso transnacionalismo, para enfatizar que los inmigrantes ahora, construyen campos sociales que trascienden las fronteras geográficas, culturales y políticas. Un elemento esencial es la multiplicidad de roles y compromisos que los transmigrantes mantiene tanto en su sociedad originaria como en la receptora.

Los estudios que se han desarrollado durante la última década sobre la migración transnacional y las formas de vida transnacionales representan un importante aporte para la reflexión sobre los cambios producidos en nuestras sociedades, como producto de los procesos globalizadores.

¿Existen cambios sociales que presentan los habitantes de Julián Blanco que se desplazan hacia Carolina del Sur, E.U. y de los que regresan de Carolina del Sur para Julián Blanco, México?

La movilidad migratoria como proceso transnacional de los pobladores de la comunidad Julián Blanco, Guerrero, México influye en la vida cotidiana del pueblo y en el lugar destino, Carolina del Sur, USA.

Esta relación es descrita desde la experiencia de los mismos inmigrantes en la comunidad receptora, Carolina del Sur, Estados Unidos. Y la manera en que se han ido construyendo para consumir una estancia atemporal que mitigue sus necesidades esenciales de techo, comida y ves-

tido.

El presente trabajo de investigación, tiene como objetivo general: describir el proceso transnacional que viven los migrantes originarios de la comunidad Julián Blanco del Estado de Guerrero, México en Carolina del Sur, Estados Unidos, para identificar los cambios sociales que presentan los habitantes que se desplazan hacia E.U.

El artículo presenta cuatro secciones, la primera muestra una breve introducción de las palabras clave, segundo los materiales y métodos, tercero los resultados del trabajo de investigación y la cuarta sección las conclusiones.

Metodología a desarrollar

La investigación se desarrolló desde un ámbito exploratorio-descriptivo de manera bidireccional. El universo abarcó la comunidad Julián Blanco, municipio de Chilpancingo de los Bravos, México y el municipio de Carolina del Sur, Estados Unidos.

El tipo de investigación, permitió especificar las características más significativas de diferentes personas y de las comunidades objeto de estudio, donde se pudo medir y analizar diversos aspectos del fenómeno a investigar.

En este mismo sentido, se realizó un trabajo de campo en las comunidades objeto de estudio, donde se apoyó de técnicas en la recolección de información como: entrevistas personales y cuestionarios abiertos, la cuales fueron aplicadas a los habitantes y actores clave (párroco de la iglesia, medico, comisario, etc.) Finalmente, los resultados de estos instrumentos de investigación fueron sometidos a un proceso de codificación, tabulación y análisis, con el fin de obtener información relevante de los migrantes en Carolina del Sur, las personas que habían regresado de E.U. a la comunidad de Julián Blanco y la percepción de habitantes y algunos actores clave sobre los migrantes que retornan a Julián Blanco. Se diseñaron las preguntas de acuerdo a las necesidades del estudio.

Se realizó un trabajo de observación etnográfica en los hogares de los municipios objeto de estudio, a través de la contemplación y participación directa, observando las pautas de conducta y utilizando entrevistas informales, ya que el objetivo de esta técnica, es mantener a los participantes hablando de cosas de su interés y cubrir aspectos de importancia para la investigación (Woods, 1987).

Para obtener datos precisos de tema de investigación, se emplearon fuentes secundarias extraídas de diferentes organismos e instituciones como el Consejo Nacional de Población (CONAPO), Departamento de Asuntos Económicos y Sociales (2009), entre otros.

Para identificar los conceptos más relevantes y actualizados de las variables de investigación, se analizaron bases de datos de revistas científicas indexadas como la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC) y ScientificElectronic Library Online (SciELO).

Resultados

Ubicación geográfica e historia de la comunidad Julián Blanco

La localidad Julián Blanco es una comunidad de medio rural, se ubica a escasos 45 minutos del municipio de Chilpancingo y pertenece a la región Centro.

También conocido como Dos Caminos, alcanzó su

jerarquía política después de la independencia de México, fue el primer lugar en la región en contar con una capilla ubicada sobre el altosanto que quedo al rebajar el terreno para alojar el camino, en un rincón repechado al cerro, en donde las elegantes palmas inclinaban sus penachos para saludar a los viandantes (Benitez, 1991). Su nombre proviene de la época de la Conquista, cuando el Virrey Luis de Velazco ordenó construir en 1592 el primer camino de herradura de la ciudad de México a Acapulco. En el sitio en donde actualmente, está el quiosco del pueblo, había una ceiba enorme bajo la cual los viajeros descansaban y pernoctaban. Justo allí, el camino se dividía en dos: el que iba hacia Costa Grande y el que iba a la Costa Chica.

De acuerdo, a la INEGI (2010), la comunidad Julián Blanco se compone de 1955 habitantes, sin embargo, en la aplicación de los instrumentos de investigación que se realizaron en el Centro de Salud de la comunidad en donde se obtuvo una estadística diferente de 2279 habitantes.

Actividad económica

La principal actividad económica de las familias de los migrantes de Julián Blanco es la agricultura con un 63%, le sigue la ganadería con un 15%, comercio 5% y 17% otros (profesores, dueños de transporte público y trabajadores de dependencias de gobierno).

El producto agrícola que más cosechan es el maíz con un 80%, frijol con un 16% y otros 4%.

En cuestión de la actividad ganadera los habitantes realizan el ganado equino con un 76%, ganado vacuno 10%, ganado porcino 12% y el ganado avícola con 2%.

Los habitantes que practican el comercio venden ropa del extranjero de marcas reconocidas a los habitantes de Julián Blanco. Esta vestimenta se los envían sus familiares migrantes, o también los que regresan de los E.U. traen ropa para comercializar.

Características de la migración en el municipio de Julián Blanco

La comunidad presenta una actividad migratoria constante hacia los Estados Unidos en especial hacia Carolina del Sur con un 94% y Chicago. 6%. Su principal objetivo de estos desplazamientos es, mejorar las condiciones de vida y de trabajo ante la falta de empleos en la región y lo inproductivo que resulta el cultivar la tierra.

El tipo de migración que realizan es de forma colectiva (98%) y en menor medida de manera individual (2%). El párroco de la iglesia menciona que la migración es de familias extensas, los habitantes de Julián Blanco, nunca viajan solos, sino que cruzan la frontera en familia o con amigos de la comunidad. Cruzar la frontera suele ser largo y peligroso, sin embargo, ellos mantienen respeto y fe hacia el apóstol Santiago, donde mencionan que "El señor Santiago ha salvado vida de una veintena de migrantes cuando estos cruzaban la línea".

De acuerdo a Rivera (2015), relata que, en el momento de su cruce con su familia:

"...todos pudieron haberse hundido en un pantano y morir ya que, en el momento de estar cruzando al otro lado, una patrulla fronteriza le salió al paso y todos los inmigrantes para evadirla, cambiaron de rumbo, gracias a un anciano con bastón que les indicaba que esperaran y que

después siguieran derecho sin atravesar ese campo y al rodear el lugar se dieron cuenta que era un pantano y que, si hubieran atravesado sin ser advertidos por alguien, pudieron haber muerto. No sabría si quien nos guió fue el señor Santiago porque estaba muy oscuro, pero era poco probable que fuera alguien de la ciudad porque estábamos muy lejos, sólo sé que cuando me vine al pueblo me encomendé a él y que por su ayuda no nos metimos al pantano.

Las principales actividades que desempeñaron en E.U. los migrantes que regresaron a Julián Blanco son: trabajo de construcción con un 70%, trabajo agrícola 27% y comercio 3% (cajeros, acomodadores en las tiendas de auto-servicio).

En relación al dinero que envían los migrantes el 59% lo utilizan para alimentación, 23% para remodelación de sus casas, 10% otros (ropa, deudas y juguetes) y el 8% para educación.

Para determinar las encuestas que se llevaron a cabo en USA, se les pregunto a los encuestados de Julián Blanco si tenían familiares o amigos en Carolina del Sur y si contestaban de manera afirmativa, se les preguntaba su ubicación exacta y muchos coincidían en la localidad de Bluffton.

Ubicación geográfica e historia del Estado de Carolina del Sur

Carolina de Sur es uno de los 50 estados de los Estados Unidos de América. Se localiza en la región Sur del país, a pesar de su pequeña extensión territorial, es uno de los líderes nacionales de producción de textil y el segundo mayor productor de tabaco en los Estados Unidos, solo superado por Carolina del Norte.

Carolina del sur limita al norte con Carolina del Norte, al este con el Océano Atlántico y al suroeste con Georgia. El litoral de Carolina del Sur tiene una extensión cerca de 301 kilómetros. Contándose todas las regiones bañadas por el mar bahías, estuarios e islas oceánicas, este número se incrementa hasta 4628 Km. El principal río de Carolina del Sur es el Santee, cuya cuenca hidrográfica cubre cerca del 40% del estado.

De acuerdo con American Community Survey (2006), la población de Carolina del Sur en el 2000 era de 4,012,012 habitantes, un crecimiento del 15.7% en relación a la población del estado en el año 1990. El crecimiento natural de la población entre 2000 y 2005 fue de 97,715 habitantes, 295,425 nacimientos, 197,710 fallecimientos y el crecimiento poblacional causado por la inmigración fueron de 36,401 habitantes.

El nombre de Carolina se remonta al 30 de octubre de 1629, cuando el Rey Carlos I le concedió una patente a Sir. Robert Heath de las tierras al sur de 36 grados y al norte de 31 grados, en honor a la Reina Carolina. La región que actualmente constituye Carolina del Sur formó parte inicialmente de la colonia inglesa de Carolina, nombrada en homenaje al Rey Carlos II de Inglaterra. En 1712, la colonia de Carolina se separó en dos Carolina del Norte y Carolina del Sur.

Características de los inmigrantes en Estados Unidos

El 68% de los entrevistados trabaja en la construcción, 15% en la agricultura, 10% en el sector restaurantero y el 7% otros (repcionista, cajero, fabricas).

La edad promedio de los inmigrantes entrevistados

oscila entre 30 a 40 años, de los cuales la mayoría son hombres, jefes de familia, quienes ante las escasas oportunidades económicas optaron por salir de su comunidad de origen.

En relación al nivel de estudios por parte de los inmigrantes, el 46% termino su preparatoria, 38% secundaria, 15% primaria y 1% licenciatura.

Antes de emigrar, trabajaban en Julián Blanco en la agricultura cosechando maíz y también como choferes de autobuses de viajes y comerciantes.

El 96% de los entrevistados mencionaron que se trasladaron a Carolina del Sur para aumentar su calidad de vida y el otro 4% se fueron porque querían ahorrar para un buen futuro.

Cultura e identidad en el espacio transnacional Carolina del Sur-Julián Blanco

Entre Julián Blanco y Carolina del Sur existen espacios transnacionales creados a través de los vínculos entre quienes se han ido, quizá definitivamente, pero mantienen un contacto permanente con la comunidad de origen.

El 99% de los que viven en Julián Blanco saben que los habitantes de la comunidad hacen vida en Carolina del Sur o tienen familiares como: primos, sobrinos, hermanos, hijos, etc.

De los que viven en Carolina de Sur saben que Julián Blanco está su casa materna o paterna con algunos familiares como esposas, hijos o padres de la tercera edad que se encuentran en condiciones delicadas de salud esperando su regreso.

Esto es suficiente para asegurar que existe un vínculo, que, por ser un espacio compartido entre dos naciones, o de dos Estados-nación, es un vínculo transnacional y que éste se manifiesta en espacios de la vida mexicana en Carolina del Sur.

El 99% de los inmigrantes entrevistados en Carolina del Sur rechazaron la idea de preferir otra nacionalidad, solamente, el 1% menciono que sí querían la nacionalidad de E.U. y relataron que la cambiarían porque en México existen autoridades de gobierno corruptos que no generan las oportunidades laborales suficientes. En este mismo sentido, se identificó que el 98% de los inmigrantes les gusta la cultura norteamericana y el 100% menciona que se han adaptado a la vida estadounidense, aunque al principio el proceso fue difícil. Esta posición de los inmigrantes es ambivalente; no se trata de personas que no saben lo que quieren, sino de personas cuya identidad ha sido tocada por dos culturas y que se sienten parte de ambas. Están muy lejos del prejuicio con el que los ven los que no han migrado, que es el de que han perdido su identidad y su cultura.

En cuestión de la vestimenta el 97% usan ropa de moda y manufacturada en E.U. y el 3% dijeron que siguen usando ropa típica mexicana, una familia comento que no usa de otra ropa que no sea mexicana y que cada vez que saben que algún familiar o amigo con papeles que visita Julián Blanco y pretende regresar a E.U. le piden de favor que les traiga ropa típica del Estado de Guerrero.

El 96% de los inmigrantes han modificado su alimentación desde que empezaron a vivir en E.U, por lo que ahora hacen combinación de comida mexicana y estadounidense y el 4% sigue realizando comidas tradicionales de Julián

Blanco. Cabe destacar que dentro de este porcentaje se encuentran las esposas de los inmigrantes.

Entre los aspectos que más recuerdan de Julián Blanco relacionado a la alimentación son: el sabor de la comida, tienen grabado en la mente un espacio importante de su pueblo natal, un lugar de venta de comidas llamado Tacos Doña Mari, del que incluso el grupo musical local, los Andariegos 2K compuso y editó un video de una canción y se compartió en el internet, el que es visto en Carolina del Sur y en Julián Blanco y lo identifican con mucho orgullo.

Los fines de semana en Carolina del Sur algunas familias realizan convivios y preparan los platillos típicos del Estado de Guerrero como el pozole y tacos de guisado e intentan copiar la receta de la fonda Tacos Doña Mary, pero no lo han logrado, pues el sabor de los tacos de la señora de Julián Blanco continua en el imaginario de los habitantes que residen en Carolina del Sur, manteniendo ese vínculo con el pueblo de origen.

En cuanto a gustos musicales, sólo el 3% dijeron que modificaron sus gustos y el 97% que continúan escuchando la misma música que antes de migrar, ya que gustan de la música de banda o ranchera.

Se les preguntó que si pensaban que su estancia en Estados Unidos ha cambiado sus actitudes y valores, a lo que el 93% dijeron que sí y el 7% que no; caso en el que podría calificarse este cambio de actitudes en sentido positivo precedentes a migrar, pues en las especificaciones, los que dijeron haber cambiado, señalaron que en Estados Unidos se hicieron respetuosos del medio ambiente, de las reglas y de las leyes, las que en su lugar de origen no atendían. Dijeron que el primer cambio fue el cuidado del medio ambiente, la separación de basura, y la responsabilidad en el trabajo y con la familia.

Ahora sobre esta dimensión de la vida transnacional, los familiares de migrantes entrevistados en Julián Blanco o que alguna vez han ido, consideran que los que se han ido, ellos mismos tuvieron cambios en sus actitudes y valores, y mencionan a la responsabilidad como la principal; sin embargo, el 100% estuvieron de acuerdo en que, sus familiares o ellos mismos no modificaron sus costumbres a raíz de la migración.

Una dimensión muy importante en las prácticas transnacionales es la religión; Existen evidencias de que los inmigrantes modifican sus creencias religiosas una vez en Estados Unidos. En el caso de los migrantes de Julián Blanco, el 17% cambio de religión, y el 87% mantienen sus creencias religiosas católicas y tienen un fervor especial al Señor Santiago y le festejan cada año el 25 de julio, día en que se organizan para festejarle la llamada "Fiesta grande".

Además, el Señor Santiago es un santo que forma parte de los objetos que los migrantes llevan consigo en su viaje y es al santo que se encomiendan para que lleguen con bien a Estados Unidos. Antes de irse hacen un voto de fe, una promesa al Señor Santiago, realizan una misa para irse, otra para agradecer que pasaron, después de varios días uno se entera que ya paso. La Fe que le tienen al Sr. Santiago los ayuda a preservar su integridad, de los peligros al cruzar la frontera, el río, el autobús, los secuestradores y de todos esos males los mantiene la Fe que le tienen al Sr. Santiago (García, 2015).

De los festejos cívicos, el día de la independencia solamente el 2% de los habitantes lo festeja y el 98% no, sin

embargo, el 100% de los entrevistados celebra la independencia de Estados Unidos, si bien señalaron que lo hacen porque es un día de asueto, situación por lo que tienen el día libre y sólo se suman a los festejos. De cualquier forma es importante, porque en torno a la fiesta religiosa del señor Santiago sí se organizan y la celebración se lleva a cabo aunque sea entre semana y no tengan día libre.

En la identidad, la lengua juega un papel central, sobre todo cuando se habla de dos estados-nación, que aunque vecinos, son tan diversos en su cultura y por lo tanto en su identidad. En este caso, el 67% dijeron dominar el inglés de forma suficiente para comunicarse en sus empleos y en su vida cotidiana, el 25% que lo hablan muy poco y el 8% no domina el idioma. Y la forma de comunicarse en la casa en Estados Unidos, el 89% que solamente hablan el español y el 11% una mezcla de los dos idiomas, el "Spanglish" un lenguaje híbrido que se está arraigando entre los migrantes de habla hispana en países anglosajones.

Ciudadanía y valores cívicos en el espacio transnacional

De ser y de pertenecer existen diversas formas, pero la más explícita es la ciudadanía, que en el caso de los inmigrantes no se refiere únicamente a un estatus migratorio, sino a la forma de sentirse parte de una colectividad, a respetar las leyes y los valores de esa sociedad en la que buscan insertarse, y con ella acceder a derechos.

Entre los migrantes alcanzar el estatus de ciudadanía es un sueño. Un sueño hecho realidad porque con esa condición llega la tranquilidad, la confianza, la certidumbre; sin embargo, por las respuestas de los entrevistados, mucho antes de tener ese estatus reproducen los valores cívicos de esa sociedad, situación que se puede apreciar en su participación en el festejo cívico más importante de Estados Unidos, el día de la independencia (4 de julio), que como se vio anteriormente ya es parte importante de las celebraciones de los inmigrantes, aunque para la gran mayoría la condición de ciudadanía todavía sea un sueño lejano de concretarse.

El 70% de los encuestados mantienen su condición de ilegal, 19% tienen documentos en trámite y 11% ya adquirieron ciudadanía. En cuanto al significado que tiene para los inmigrantes, el estatus de ciudadano implica estabilidad, más oportunidades laborales, optar por una licencia de manejo, acceder a la educación, regresar a visitar al pueblo, y todo esto junto, un sueño hecho realidad.

Aunque adquirir la ciudadanía es un anhelo para todos los inmigrantes, el 83% de los entrevistados señalaron que regresarían a Guerrero, 68% que en algún momento lo harán, pero volverán de nuevo a Estados Unidos y 16% dijeron que esperan retornar por lo menos para morir en la tierra donde nacieron.

La gente participa económica y socialmente en ambos lados, mantienen una presencia, aunque no se encuentren en Julián Blanco, pero se mantienen presentes al construir o remodelar una casa en el pueblo, al patrocinar corridas de toros para las fiestas, al enviar remesas o donativos a la iglesia.

Este anhelo de pertenecer a ambos lugares se manifiesta también de la siguiente manera. Algunos de los entrevistados han comprado propiedades tanto en Carolina del Sur como en Julián Blanco.

Sobre los valores cívicos y formación ciudadana se entrevistó a la autoridad civil de Julián Blanco, quien por cierto en ninguna ocasión ha viajado como migrante a Estados Unidos. El comisario del pueblo señaló que, los inmigrantes se vuelven más religiosos, manifiestan mayor fervor que cuando estaban en la comunidad y que eso se traduce en las cooperaciones que mandan para festividades como la del Señor Santiago, pero sus responsabilidades como ciudadanos se transforman, porque para las mejoras del pueblo no envían apoyos.

El comisario resaltó de la actitud de los inmigrantes cuando regresan de visita a Julián Blanco es que se dirigen con mayor respeto a los demás, que lo que aprecia es que vuelven con un tono de voz modulado, “en fin, parecen más educados”.

Las redes en el espacio transnacional

El funcionamiento de complejas redes sociales y familiares entre los países de origen y destino han contribuido a propiciar que los migrantes tengan a la mano y con cierta rapidez información y oportunidades en países vecinos o distantes, conformando mercados laborales de facto que trascienden las fronteras nacionales.

Las redes migratorias son conjuntos de lazos interpersonales que conectan a los migrantes con otros migrantes que los precedieron y con no migrantes en las zonas de origen y destino mediante nexos de parentesco, amistad y paisanaje. Las conexiones dentro de la red constituyen una forma de capital social del que las personas pueden beneficiarse para acceder a diversas formas de capital financiero: empleo en el extranjero, pago de coyotes, salarios más altos y la posibilidad de hacer ahorros y enviar remesas (Durand y Arias, 2005).

De acuerdo a los resultados de las entrevistas, para insertarse en los flujos migratorios, los pobladores de Julián Blanco han utilizado cuando menos tres tipos de redes sociales y migratorias: redes familiares, redes tejidas por amigos y paisanos y redes de traficantes o coyotes.

La señora Sara De la Sancha (2015), en entrevista en Julián Blanco comentó que su hijo migrante ayuda al pueblo contratando gente que desee trabajar en el área de construcción en Estados Unidos, que se llevaba cinco personas por año, y que algunos les han salido sucios (con antecedentes en Estados Unidos), hablaba con un conocimiento muy detallado del tema, aunque dijo que ella no ha cruzado la frontera, lo que constata que la información no solo es de acá para allá, también de allá para acá. En este mismo sentido, la manera en que consiguieron trabajos en E.U. el 58% fue por recomendación de un pariente o paisano, el 28% a través de un amigo y el 14% por parte de un controlista.

Se comprobó como regla general que los migrantes ya establecidos en Carolina del Sur, a la llegada de los nuevos paisanos se les brinda quince días de techo y comida para que logren establecerse, hecho que reafirma la solidaridad y hermandad al reconocer sus necesidades.

Conclusiones

La comunidad de Julián Blanco presenta un alto grado de intensidad migratoria hacia los Estados Unidos al municipio de Carolina del Sur. Este vínculo entre localidad de origen y localidad de llegada ressignifica la identidad y la

cultura de los habitantes de Dos Caminos, misma que también reconceptualiza el espacio y el territorio, porque las expresiones culturales y la reafirmación de su identidad la llevan a cabo en un espacio transnacional, generando nuevas prácticas sociales de ser y de pertenecer; es decir, han desarrollado una cultura transnacional que tiene su expresión en Carolina del Sur y en Julián Blanco.

Las preguntas centrales que guiaron la investigación estaban enfocadas en saber de qué manera los migrantes guerrerenses, en específico de la comunidad de estudio, transportaban su cultura y creencia a los Estados Unidos, en particular, a Carolina del Sur.

Una de esas prácticas sociales reinterpretadas son las celebraciones religiosas, la más importante en el caso de esta diáspora migratoria es el festejo Santiago Apóstol.

Las deducciones que se pueden hacer en este aspecto resignificado de la religión en el festejo a Santiago Apóstol, es que los inmigrantes refuerzan su fe al patrono del lugar, al ser él a quien le atribuyen su llegada sana y salva a la localidad de destino final. Como ceremonia religiosa importante de los inmigrantes, se llega a celebrar en una comunidad ajena a estas creencias, lo que permite reafirmar la identidad y la pertenencia, a un espacio y a un territorio que aun que lejano permanece en su imaginario.

En Julián Blanco es significativo que la mayoría de migrantes mantengan su Fe católica y su confianza al santo patrono por proveerles fortaleza, cohesión social y unidad familiar, vínculos indisolubles a lo largo del tiempo.

Consecuentemente, en esta investigación se conocieron elementos para afirmar que más allá de la Fe, lo que ha permitido a los habitantes de Julián Blanco llegar a su destino con bien, encontrar trabajo pronto y en las mejores condiciones. Estos elementos conforman una intrincada red de relaciones sociales en la que participan parentela y amigos, tejida a lo largo de varios decenios de migración, propiciando bienestar en la comunidad receptora y comunidad destino.

La red ha servido de cobijo, respaldo, protección, y como se ha visto también, es una distinción que ha privilegiado a los habitantes de Julián Blanco. En ese sentido, se han concentrado en una población.

La inquebrantable búsqueda de niveles de bienestar ha impulsado a los migrantes a través de todos los tiempos a desplazarse para cumplir anhelos, sueños de mejorar los estándares de rezago social y esto no se detendrá por que el ser humano por naturaleza es errabundo.

Los migrantes forman grupos compactos en las ciudades de llegada, la fama de los pioneros alcanza a las nuevas generaciones, a las que les ha sido fácil encontrar trabajo aún sin una recomendación directa de un familiar, un paisano o un amigo, como se vio en alguna parte de este estudio.

Al migrar no sólo llevan al señor Santiago en sus oraciones, realizan una misa para pedir bienestar al dejar su comunidad y al arribar al destino. Estas plegarias incluyen mandas de que al lograr llegar con bien mantendrán su fe, celebrarle su fiesta, mantener su veladora prendida, incluso, poner ese nombre a alguien de su descendencia.

Las redes migratorias contribuyen a los procesos de adaptación en el nuevo ambiente y por el trabajo de campo, ahora se conoce que los pobladores migrantes de Julián Blanco han conformado una red que disminuye los costos del viaje, búsqueda de trabajo y estancia al momento de la

llegada y consiguen que para los nuevos migrantes, su proceso de adaptación sea sin estrés por la certeza de que hay un familiar o un amigo esperándolos.

Se puede afirmar que el contacto con una cultura diferente ha permeado en su actitud y sus valores, sobre todo en sus estilos de vida, en sus hábitos alimenticios, en sus gustos musicales, en sus formas de vestir y en su comportamiento ante los demás. Y también se ha podido establecer cómo han impactado estos cambios en la comunidad de origen, debido al vínculo permanente entre los que se fueron y los que se quedaron.

Resulta significativo conocer el caso de un migrante que modificó su creencia religiosa y cambió su veneración por el señor Santiago, sin embargo, su estilo de vida en cuanto a su vestimenta y alimentación continúan inalterables. La prueba fehaciente a la pertenencia a su comunidad se ve reflejada en las pláticas matrimoniales que año tras año lleva a cabo con su pareja en la comunidad de origen.

Esta singularidad hace reflexionar sobre la sistematización de las prácticas transnacionales y pensar en que habría que establecer un instrumental teórico para conocer diferentes escalas en los cambios culturales e identitarios de los migrantes internacionales.

Un hallazgo interesante fue conocer como los migrantes resignifican su identidad y cultura para poder adaptarse a una nueva realidad social, lo que implica prácticas sociales con algunas modificaciones, pero manteniendo su esencia.

Estos migrantes que se pudieron conocer en Carolina del Sur conservan un vínculo estrecho con su lugar de origen a pesar de que varios no han podido retornar desde que salieron y es fácil sostener esa relación porque se reagrupan en el país al que llegan, así que los lazos de parentesco y amistad se consolidan al recibir de esa red de relaciones, así como el apoyo que requieren para adaptarse a una nueva sociedad.

Se resalta la alegría y el respeto de los pobladores de la comunidad hacia sus paisanos migrantes, a quienes año tras año esperan emotivos para la celebración del santo patrono, o simplemente los tienen presentes en fotografías en sus viviendas ya que su situación migratoria les impide hacer ese viaje tan anhelado.

La construcción de viviendas al estilo estadounidense es otra prueba fehaciente de la influencia de los migrantes, quienes en su mayoría realizan envíos económicos a sus familias con el fin de construir viviendas con la esperanza de retornar algún día.

Los inmigrantes de la comunidad de Julián Blanco del Estado de Guerrero son piezas clave en la formación social que se ha creado como un espacio de dimensiones difusas donde se desarrolla un transnacionalismo que emerge en un contexto cultural diferente.

Este trabajo de investigación pretende ser un hilo conductor que lleve a otros análisis que profundicen el seguimiento del fenómeno migratorio en el Estado de Guerrero para conocer otras tendencias, otras aspiraciones, otras necesidades que en la medida del tiempo surgen.

Referencias

- American Community Survey (2006). *Selected characteristics of the native and foreign born*. Oficina de Censo de los Estados Unidos.
- Anglejan, S. (2009). Migraciones internacionales, crisis económica mundial y políticas migratorias ¿Llego la hora de retornar? *Oasis*. 14, 7-36.
- Basch, G. Glick, N y Szanton, B. (1992). *Proyectos transnacionales, poscolonial predicamentos y desterritorializado Estado-nación*. Utrech. Gordon y Breach.
- Benítez, J. (1991). *Guía histórica y descriptiva de la carretera México-Acapulco*. University of Texas.
- De la Sancha, S. (2015). *Entrevista personal habitante de Julián Blanco*. Aplicación de los Instrumentos de trabajo de campo.
- Departamento de Asuntos Económicos y Sociales. Naciones Unidas. (2009). *Trends in international migrant stock: the 2008 revision*. UN database, New York. United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division.
- Díaz, A. y Juárez, M. (2008). Migración internacional y remesas: impacto socioeconómico en Guerrero. *Papeles de Población*. 14, 113-133.
- Durand, J. y Arias, P. (2005). *La Vida en el norte. Historia e iconografía de la migración México-Estados Unidos*. El Colegio de San Luis. Universidad de Guadalajara. Distrito Federal. México.
- Durand, J. y Mansey, S. (2003). *Clandestinos. Migraciones México-Estados Unidos en los albores del Siglo XXI*. Porrúa. Colección América Latina y el Nuevo Orden Mundial. México.
- García, P. (2015). *Entrevista personal al sacerdote de la Iglesia de Julián Blanco*. Aplicación de los Instrumentos de trabajo de campo.
- Gómez, J. (2010). La migración internacional: teorías y enfoques, una mirada actual. *Semestre Económico*. 13.
- Instituto Nacional de Geografía e Informática. (Agosto 19, 2016). Tabuladores básicos. Censo de Población y Vivienda 2010. INEGI Obtenido de <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/TabuladosBasicos/Default.aspx?c=27302>
- Pries, L. (1992). Migración laboral internacional y espacios sociales transnacionales: bosquejo teórico empírico. *Sociología del Trabajo*. 33, 103-130.
- Rivera, R. (2015). *Entrevista personal a migrante en la comunidad de Julián Blanco*. Aplicación de los Instrumentos de trabajo de campo.
- Tuiran, R. (2006). La migración mexicana hacia Estados Unidos: las reformas en puerta y los retos futuros. *Papeles de Población*. 12, 9-31.
- Valenzuela, M. (2008). La migración México-Estados Unidos. *Revista Académica del CISAN-UNAM*. 3(2), 205-213.
- Woods, P. (1987). *La escuela por dentro: la etnografía en la investigación educativa*. Educere. Universidad de los Andes Mérida. Scielo. España. Barcelona.