



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

“Evaluación *in silico* e *in vitro* del efecto antihelmíntico, antiinflamatorio y
citotóxico de ácidos grasos, azúcares y esteroides”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS NATURALES

P R E S E N T A:

M. en MRN. SUSAN YARACET PÁEZ LEÓN

DIRECTORA: DRA. LILIANA AGUILAR MARCELINO

CODIRECTOR: DR. ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO, 2026



CEIB
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA UAEM

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación) por la beca otorgada número **1005356** para la realización de los estudios de doctorado.

Al Programa de Doctorado en Ciencias Naturales del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CEIB-UAEM).

Al Proyecto de Ciencia Básica y de Vanguardia de la SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación) de México: «Nuevas tecnologías para la producción ganadera sostenible: control de los nematodos gastrointestinales en ovejas mediante el uso de productos y subproductos de hongos comestibles», número de proyecto CBF2023-2024-387 por el financiamiento otorgado.

A mis directores de tesis, la Dra. Liliana Aguilar Marcelino y el Dr. Alexandre Cardoso Taketa por brindarme su apoyo, confianza, consejos, su gran disposición y dirección para la realización del presente estudio.

A mi comité los doctores Abraham Madariaga Mazón, Víctor Manuel Hernández Velázquez, y Gabriel Navarrete Vázquez por su asesoría, consejos y conocimientos otorgados a lo largo de la realización del presente proyecto.

A mi comité revisor el Dr. Ramón Suárez Rodríguez y la Dra. Adriana Morales Martínez por sus valiosos comentarios.

A los compañeros y colegas que conocí a lo largo de este proyecto por todos esos momentos alegres compartidos, por las enseñanzas y consejos.

Finalmente, a mi familia por su amor incondicional en cada etapa de mi vida, por enseñarme a luchar por mis sueños y nunca rendirme sin haber dado lo mejor de mí. Los amo inmensamente.

ÍNDICE

1.	RESUMEN.....	1
2.	INTRODUCCIÓN	2
3.	MARCO TEÓRICO	4
	2.1 Patologías de estudio	4
	2.1.1 Helmintiasis de importancia pecuaria	4
	2.1.2 Control de nematodos y resistencia antihelmíntica	5
	2.2 Inflamación como proceso biológico	8
	2.2.1 Bases fisiopatológicas de la respuesta inflamatoria.....	9
	2.2.2 Células efectoras y regulación de la respuesta inflamatoria	10
	2.2.3 Mediadores inflamatorios y redes de señalización	12
	2.2.4 El óxido nítrico: naturaleza, función y regulación.....	12
	2.3 Cáncer como enfermedad multifactorial	15
	2.3.1 Desarrollo tumoral y ciclo celular.....	17
	2.3.2 Cáncer de mama.....	18
	2.3.3 Cáncer de páncreas	19
	2.4 Citotoxicidad: fundamentos biológicos.....	20
	2.5 Biomoléculas y actividad biológica	21
	2.5.1 Ácidos grasos: estructura y actividad biológica	21
	2.5.2 Azúcares y polioles bioactivos.....	24
	2.5.3 Esteroles: estructura, función y actividad biológica.....	27
	2.6 Análisis <i>in silico</i> en la evaluación de compuestos bioactivos	30
	2.6.1 Fundamentos del modelado molecular.....	30
	2.6.2 Acoplamiento molecular (<i>molecular docking</i>)	31
4.	JUSTIFICACIÓN.....	36

5.	HIPÓTESIS	36
6.	OBJETIVOS	37
5.1	Objetivo general	37
5.2	Objetivos específicos	37
7.	METODOLOGÍA	38
6.1	Estudios <i>in silico</i>	38
6.1.1	Diseño general del estudio <i>in silico</i>	38
6.1.2	Selección y preparación de ligandos	38
6.1.3	Selección de blancos moleculares	39
6.1.4	Preparación de los blancos moleculares	40
6.1.5	Acoplamiento molecular	40
6.1.5.1	Acoplamiento molecular para la actividad AH	40
6.1.5.2	Acoplamiento molecular para la actividad AA	41
6.1.6	Análisis y selección de los modos de unión	42
6.2	Pruebas <i>in vitro</i>	42
6.2.1	Diseño general de las pruebas <i>in vitro</i>	42
6.2.2	Obtención y preparación de compuestos comerciales	42
6.2.3	Evaluación de la actividad AH	42
6.2.3.1	Obtención de material biológico	42
6.2.3.2	Evaluación <i>in vitro</i> de los compuestos contra larvas L3 de <i>Haemonchus contortus</i>	43
6.2.4	Evaluación de la actividad AA	44
6.2.4.1	Cultivo celular de macrófagos RAW 264.7	44
6.2.4.2	Tratamiento de macrófagos y estimulación con LPS	45
6.2.4.3	Evaluación de la respuesta antiinflamatoria	45
6.2.5	Evaluación de la actividad citotóxica	46

6.2.5.1 Cultivo celular de líneas de cáncer	46
6.2.5.2 Tratamiento celular con los compuestos	46
6.2.5.3 Evaluación de la citotoxicidad	46
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
7.1 Acoplamiento molecular y evaluación del efecto antihelmíntico	48
7.2 Acoplamiento molecular y evaluación del efecto antiinflamatorio	55
7.3 Evaluación del efecto citotóxico	63
9. CONCLUSIONES	66
10. REFERENCIAS.....	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Casos de resistencia antihelmíntica distribuida en México (López-Rodríguez et al., 2023)	6
Cuadro 2. Ácidos grasos más comunes y su clasificación	23
Cuadro 3. Energías libres de unión de los compuestos evaluados frente a los canales de cloro activados por glutamato (GluCl).....	49
Cuadro 4. Valores de energía de afinidad de los compuestos evaluados.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico del nematodo <i>H. contortus</i> . Los huevos son excretados a través de las heces para pasar a los estadios L1, L2, y la fase infectiva L3. El hospedero ingiere las larvas L3 y estas viajan por el tracto digestivo hasta el abomaso donde mudan a larva L4, posteriormente a adultos y el ciclo se repite.	5
Figura 2. Representación esquemática del proceso inflamatorio y las principales células involucradas.	11
Figura 3. Síntesis de óxido nítrico (NO) a partir de L-Arginina mediante la enzima óxido nítrico sintasa (NOS).....	13
Figura 4. Incidencia y Mortalidad por Tipo de Cáncer en México. Fuente: Instituto Nacional de Cancerología, s.f.....	16
Figura 5. Ciclo celular en células normales y tumorales. (a) En células normales, el ciclo celular incluye G1, S, G2 y M, regulado por puntos de control que aseguran el crecimiento, la replicación correcta del ADN y su reparación antes de la división. (b) En células tumorales, la desregulación de ciclinas/CDK (D, E, A y B) y la inactivación de proteínas como p53 y Rb alteran estos controles, aceleran la progresión entre fases y evitan la reparación del ADN, favoreciendo una proliferación descontrolada. Fuente: Shi <i>et al.</i> , 2025	18
Figura 6. Estructura general de los ácidos grasos y comparación entre ácidos grasos saturados e insaturados. En la parte superior izquierda se muestra la estructura básica de un ácido graso, compuesta por una cadena hidrocarbonada alifática y un grupo carboxilo terminal. La parte superior derecha ilustra un ácido graso saturado, caracterizado por la ausencia de dobles enlaces carbono-carbono y una conformación lineal. En la parte inferior se representan ácidos grasos insaturados que contienen uno o más dobles enlaces; la configuración cis genera una curvatura característica en la cadena hidrocarbonada, mientras que la configuración trans mantiene una disposición más lineal similar a la de los ácidos grasos saturados. Estas diferencias estructurales influyen en las propiedades físicas y biológicas de los lípidos.	22
Figura 7. Representación esquemática de la reducción del azúcar xilosa al poliol xilitol	25
Figura 8. Estructura de un esteroide: numeración de átomos y designación de anillos recomendadas por la IUPAC. Fuente: Corso <i>et al.</i> , 2011	28
Figura 9. Clasificación de los algoritmos de búsqueda en acoplamiento molecular.....	33

Figura 10. Estructuras químicas de los compuestos evaluados obtenidos de la base de datos PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/). (a) ácido pentadecanoico, (b) ácido esteárico, (c) ácido palmítico, (d) ácido linoleico, (e) allitol, (f) adonitol, (g) xilitol, (h) trealosa, (i) β -sitosterol, (j) ergosterol.....	38
Figura 11. Estructuras cristalizadas de los blancos moleculares utilizados. (a) Canal de canal de glutamato regulado por cloro (GluCl) de <i>C. elegans</i> (PDB: 3RHW); y (b) Óxido nítrico sintasa murina (PDB ID: 3E65).	40
Figura 12. Estructuras tridimensionales de las proteínas empleadas en los análisis de docking molecular: (a) canal de glutamato regulado por cloro (GluCl) de <i>C. elegans</i> (PDB: 3RHW) y (b) óxido nítrico sintasa (PDB: 3E65). Los cubos coloreados representan el volumen de búsqueda (grid box) definido para los estudios de acoplamiento molecular.	41
Figura 13. Representación de los complejos proteína–ligando (a) ivermectina, (b) ergosterol, (c) β -sitosterol obtenidos mediante acoplamiento molecular en GluCl de <i>H. contortus</i>	50
Figura 14. Mortalidad de los diferentes tratamientos sobre larvas infectantes L3 de <i>H. contortus</i> . IVE (ivermectina), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), AES (ácido esteárico), ALN (ácido linoleico), ADO (adonitol), TRE (trealosa), XIL (xilitol). Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar (n = 4). * indica diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, prueba post hoc de Tukey, p < 0,05) *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001, “ns” no hubo diferencia significativa.....	51
Figura 15. Microfotografía representativa de larvas L3 de <i>H. contortus</i> utilizadas en el ensayo de mortalidad larvaria observadas bajo microscopio óptico 10x. Se observan diferentes posturas corporales, incluyendo larvas extendidas y enrolladas, indicativas de alteraciones en la motilidad. Las flechas señalan las estructuras analizadas.	52
Figura 16. Efectos de los ácidos grasos en la prueba de migración larvaria de <i>Haemonchus contortus</i> . LEV (levamisol), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), AES (ácido esteárico), ALN (ácido linoleico). Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar (n = 4). Los asteriscos indican diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, prueba post hoc de Tukey, p < 0,05): *** p < 0,001. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos tratado y control.....	53
Figura 17. Diagrama bidimensional de las interacciones moleculares entre los compuestos con mayor afinidad y el sitio activo de la iNOS (PDB ID: 3E65). (a) Inhibidor cocrystalizado AR-	

C120011; **(b)** β -sitosterol; **(c)** Ergosterol. Las líneas verdes indican enlaces de hidrógeno y las líneas rosadas interacciones hidrofóbicas (alquilo y π -alquilo).....57

Figura 18. Efecto de los compuestos sobre la producción de NO en células RAW 264.7 estimuladas con LPS a diferentes concentraciones. Los datos se expresan como media $\pm$ DE. ***p < 0.001 vs LPS+. LPS: lipopolisacárido, ADO (adonitol), XIL (xilitol), ALI (allitol), TRE (trealosa), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), AES (ácido esteárico), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), ALN (ácido linoleico).61

Figura 19. Efecto de los compuestos evaluados sobre la viabilidad celular en células estimuladas con LPS a diferentes concentraciones (5, 10, 25, 50 y 75 μ g/mL. LPS: lipopolisacárido, ADO (adonitol), XIL (xilitol), ALI (allitol), TRE (trealosa), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), AES (ácido esteárico), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico) y ALN (ácido linoleico).62

Figura 20. Viabilidad celular determinada por el ensayo de sulforodamina B en líneas celulares tumorales PANC-1, MCF-7 y línea no tumoral HaCaT. a) Efecto tras 48 h de exposición, b) efecto tras 72 h de exposición. ADO (adonitol), XIL (xilitol), ALI (allitol), TRE (trealosa), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), AES (ácido esteárico), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), ALN (ácido linoleico), DMSO (dimetilsulfóxido) y PDX (podofilotoxina). .64

1. RESUMEN

Las infecciones por nematodos gastrointestinales, particularmente aquellas causadas por *Haemonchus contortus*, representan un problema relevante en la producción pecuaria debido a su impacto en la salud animal y las pérdidas económicas asociadas. Adicionalmente, la inflamación desregulada y la proliferación celular aberrante son procesos centrales en diversas patologías crónicas, lo que resalta la necesidad de identificar compuestos con actividades antiinflamatorias y citotóxicas selectivas. En este contexto, y ante la creciente resistencia a antihelmínticos convencionales, el presente estudio evaluó el potencial antihelmíntico, antiinflamatorio y citotóxico de ácidos grasos, azúcares y esteroides mediante enfoques *in silico* e *in vitro*.

El análisis *in silico* de acoplamiento molecular permitió identificar conformaciones estables de los complejos ligando-proteína, destacando energías de unión favorables para el β -sitosterol y el ergosterol, lo que sugiere afinidad relevante hacia los blancos evaluados. En los ensayos biológicos, el ergosterol, β -sitosterol, ácido esteárico y ácido linoleico mostraron efectos inhibitorios sobre larvas infectantes (L3) de *H. contortus*, mientras que los ácidos grasos afectaron principalmente la motilidad larvaria, indicando una posible interferencia en procesos fisiológicos del nematodo. En células RAW 264.7, el β -sitosterol redujo ligeramente la producción de nitritos mientras que el resto de los compuestos presentó actividad antiinflamatoria limitada.

Respecto a la citotoxicidad, los compuestos mostraron baja potencia en las líneas MCF-7, PANC-1 y HaCaT, sin una respuesta dosis-dependiente clara ni valores confiables de CI_{50} . No obstante, se observó un incremento moderado del efecto citotóxico a tiempos prolongados, particularmente en MCF-7, así como una menor susceptibilidad en células no tumorales, lo que sugiere una selectividad biológica limitada.

En conjunto, los resultados evidencian que, aunque algunos compuestos presentan afinidad molecular y efectos biológicos específicos, su actividad antiinflamatoria y citotóxica es restringida bajo las condiciones evaluadas. Sin embargo, su impacto sobre la motilidad larvaria y su comportamiento dependiente del tiempo destacan su potencial como moduladores biológicos, justificando la realización de estudios adicionales orientados a esclarecer sus mecanismos de acción y optimizar su actividad.

2. INTRODUCCIÓN

Las infecciones causadas por nematodos gastrointestinales (NGI) representan una de las principales limitantes en la producción pecuaria a nivel mundial, siendo *Haemonchus contortus* uno de los parásitos más patógenos en rumiantes debido a su capacidad hematófaga y elevada tasa reproductiva. El control de este nematodo se ha basado principalmente en el uso de antihelmínticos de origen sintético; sin embargo, la aparición generalizada de resistencia a estos fármacos ha reducido significativamente su eficacia, generando la necesidad de identificar nuevas moléculas con actividad biológica (Flay *et al.*, 2022).

En paralelo, la inflamación constituye un proceso central tanto en la respuesta del hospedero frente a infecciones parasitarias como en diversas patologías crónicas, incluyendo el cáncer. La activación sostenida de células inmunes, como los macrófagos, puede conducir a la producción excesiva de mediadores proinflamatorios, con aumento del estrés oxidativo, contribuyendo al daño tisular y a la progresión de enfermedades (Medzhitov, 2008). Asimismo, la estrecha relación entre inflamación crónica y carcinogénesis ha sido ampliamente documentada, particularmente en tejidos como mama y páncreas, donde la desregulación de rutas celulares favorece la proliferación y supervivencia tumoral (Hanahan & Weinberg, 2011).

En este contexto, los metabolitos como ácidos grasos, azúcares y esteroides surgen como candidatos prometedores debido a su diversidad estructural y funcional. Los ácidos grasos, tales como el ácido palmítico y el ácido linoleico, han mostrado capacidad para alterar la integridad de membranas y modular procesos metabólicos en microorganismos y parásitos (Desbois & Smith, 2010). Por su parte, compuestos como el β -sitosterol y el ergosterol presentan actividades biológicas que incluyen efectos antiproliferativos y moduladores de la respuesta inmune, asociados a la alteración de la dinámica de membranas y la señalización celular (Bouic, 2001; Woyengo *et al.*, 2009). Adicionalmente, los polioles y azúcares como xilitol y trealosa participan en procesos de reconocimiento molecular y protección celular, lo que sugiere un posible papel en la interacción huésped-parásito y en la regulación de la inflamación (Richards *et al.*, 2022; Elbein *et al.*, 2003).

El desarrollo de estrategias integrales para la identificación de compuestos bioactivos ha sido fortalecido por la incorporación de herramientas computacionales. Los estudios *in silico*, particularmente el acoplamiento molecular, permiten predecir la afinidad de pequeñas moléculas

hacia blancos biológicos implicados en la viabilidad parasitaria y en rutas inflamatorias, facilitando la selección racional de candidatos (Lionta *et al.*, 2014). No obstante, la validación experimental mediante ensayos *in vitro* sigue siendo esencial para confirmar la actividad biológica y determinar perfiles de citotoxicidad en sistemas celulares relevantes, como macrófagos murinos RAW 264.7 y líneas tumorales humanas como MCF-7 y PANC-1.

Bajo este enfoque, la presente investigación propone una evaluación integral del potencial antihelmíntico, antiinflamatorio y citotóxico de una serie de ácidos grasos, azúcares y esteroides mediante aproximaciones *in silico* e *in vitro*. Este trabajo busca no solo identificar compuestos con actividad biológica significativa frente a larvas infectantes L3 de *H. contortus*, sino también analizar su efecto sobre procesos inflamatorios y su selectividad frente a células tumorales, estableciendo correlaciones entre predicciones computacionales y evidencia experimental. De esta manera, se pretende contribuir al entendimiento de los mecanismos de acción de estos metabolitos y a su posible aplicación en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

3. MARCO TEÓRICO

2.1 Patologías de estudio

El estudio de enfermedades parasitarias, procesos inflamatorios y cáncer representa un área clave en la investigación biomédica debido a su impacto en la salud animal y humana. Estos sistemas biológicos comparten mecanismos celulares y moleculares fundamentales, como la regulación de la proliferación, la integridad de membranas, la señalización celular y la respuesta al estrés.

En este contexto, la identificación de compuestos capaces de modular estos procesos constituye una estrategia relevante para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas. Particularmente, el uso de biomoléculas de origen natural ha cobrado interés debido a su diversidad estructural y potencial bioactivo.

A continuación, se describen las principales características de las enfermedades objeto de estudio, así como los mecanismos biológicos que pueden ser utilizados como blancos terapéuticos.

2.1.1 Helmintiasis de importancia pecuaria

La parasitosis gastrointestinal de los rumiantes es una enfermedad producida por una variedad de nematodos parásitos que se alojan en el tracto digestivo y que afecta normalmente a los animales jóvenes, generando lesiones y trastornos funcionales que impactan el desarrollo adecuado de los animales e incluso puede provocar la muerte de estos (González-Garduño *et al.*, 2011). El nematodo hematófago de mayor importancia es *Haemonchus contortus*, el cual se localiza en el abomaso e intestino delgado de los rumiantes y es capaz de succionar 0.05 mL de sangre al día, por lo cual, una cantidad de 5,000 larvas extraerían 250 mL de sangre diarios (Abbott *et al.*, 2012).

Se caracteriza por provocar un síndrome de mala digestión y anemia, y la enfermedad se presenta con mayor intensidad en animales jóvenes. La infección se realiza por la ingestión de pasto con larvas infectantes L3, causando pérdidas considerables en la ovinocultura de países templados, tropicales y subtropicales. El ciclo biológico (Figura 1) comienza cuando el animal ingiere larvas infectantes L3 y estas viajan por el tracto digestivo, llegando al abomaso, donde se adhieren a la mucosa y evolucionan a larvas L4; después a adultos, donde se diferencian sexualmente. Las hembras copulan y depositan sus huevos, los cuales son excretados al ambiente a través de las

heces, después de 48 h eclosionan a larvas L1 y de 2-5 días mudan a larvas L2, después a larva L3 y el ciclo comienza nuevamente (Cordero y Vázquez, 2000).

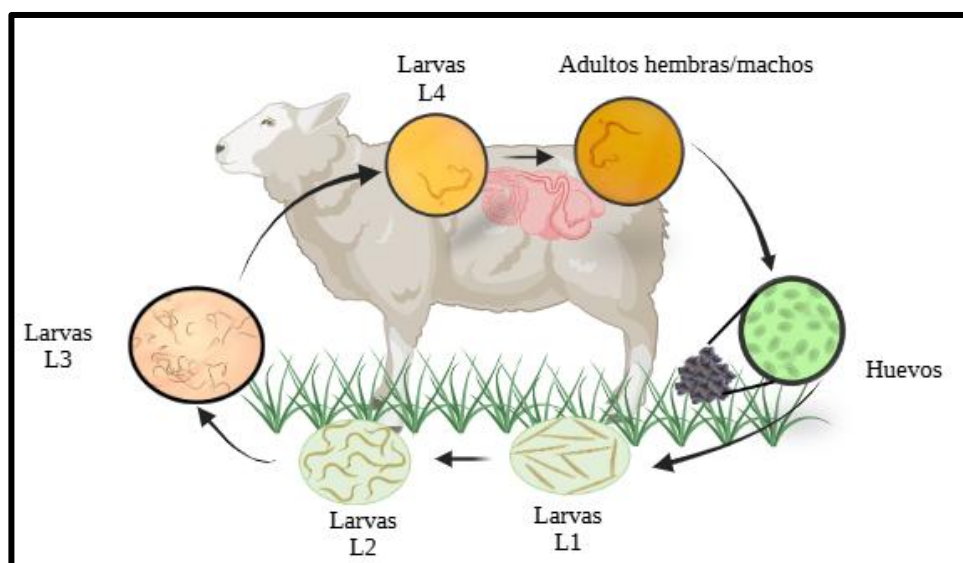


Figura 1. Ciclo biológico del nematodo *H. contortus*. Los huevos son excretados a través de las heces para pasar a los estadios L1, L2, y la fase infectiva L3. El hospedero ingiere las larvas L3 y estas viajan por el tracto digestivo hasta el abomaso donde mudan a larva L4, posteriormente a adultos y el ciclo se repite.

2.1.2 Control de nematodos y resistencia antihelmíntica

El método de control más conocido y utilizado contra los NGI es el uso de fármacos con actividad antihelmíntica, que aplicados a las dosis recomendadas (CL_{50} y CL_{90}), son letales para los parásitos y ejercen mínimos o nulos efectos sobre el huésped. Este tipo de fármacos se caracteriza por su alta eficacia, aunque también depende la susceptibilidad del nematodo al que se le aplique el fármaco (Becerra-Nava *et al.*, 2014).

Los antihelmínticos (AH) disponibles en la actualidad se agrupan de acuerdo con su naturaleza química y sus efectos sobre los parásitos en: 1) benzimidazoles, 2) imidazotiazoles y 3) lactonas macrocíclicas (Olazarán-Jenkins *et al.*, 2019). Los benzimidazoles actúan inhibiendo la polimerización de la tubulina, ocasionando alteraciones en la estructura y función de los microtúbulos, los cuales están formados por dos subunidades de tubulina, α y β . Además de verse involucrados en funciones vitales en las células, como la absorción y transporte de

nutrientes, motilidad y soporte estructural de la célula, excreción de desechos metabólicos y comunicación intercelular (Márquez-Lara, 2003).

Los imidazotiazoles actúan mediante la absorción a través de la cutícula y son agonistas colinérgicos que activan los receptores de acetilcolina (AChRs) en las células musculares de los nematodos, provocando contracciones musculares, persistentes y parálisis reversibles (Márquez-Lara, 2003). Por su parte, las lactonas macrocíclicas como la ivermectina (IVM) se une a los canales de cloro regulados por glutamato, provocando que la permeabilidad de la membrana celular aumente, lo que resulta en hiperpolarización de las células de los nematodos, parálisis y, en última instancia, provoca la muerte del parásito.

El uso de AH comerciales altamente efectivos, recomendados para el control de parásitos, tuvo como objetivo maximizar la salud, productividad y rentabilidad del rebaño, y aunque fue exitoso por varios años, hoy en día se experimentan niveles cada vez mayores de resistencia que se han generalizado en diferentes regiones de México principalmente por la movilización del ganado (Cuadro 1). La resistencia antihelmíntica (RA) es la capacidad que tiene una fracción de una población para tolerar dosis tóxicas de sustancias químicas que son letales para otras poblaciones de la misma especie. La resistencia no debe ser confundida con tolerancia, que se refiere a la falta de respuesta innata de la población parasitaria para cada fármaco antiparasitario, independientemente de la exposición previa (Suárez, 2001).

El desarrollo de la RA responde a la interacción de diversos factores, entre ellos la densidad poblacional de los NGI, el momento de aplicación del tratamiento y las condiciones climáticas, los cuales influyen en la selección y propagación de genes de resistencia.

Cuadro 1. Casos de resistencia antihelmíntica distribuida en México (López-Rodríguez *et al.*, 2023)

Lugar	Antihelmíntico	Géneros
Campeche	Ivermectina	<i>Trichostrongylus</i> spp.
	Albendazol	<i>Cooperia</i> spp.
	Levamisol	<i>Haemonchus</i> spp.

Lugar	Antihelmíntico	Géneros
		<i>Oesophagostomum</i> spp.
Chiapas	Albendazol	<i>Haemonchus contortus</i>
	Levamisol	<i>Cooperia curticei</i>
	Ivermectina	
Estado de México		<i>Cooperia</i> spp.
	Albendazol	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
	Ivermectina	<i>Haemonchus</i> spp.
Huasteca Potosina	Lactonas	<i>Haemonchus</i> spp.
	macrociclicas	<i>Trichostrongylus</i> spp.
	Bencimidazoles	<i>Oesophagostomum</i> spp.
	Imidazotiazol	<i>Cooperia</i> spp.
Tabasco	Bencimidazoles	<i>Haemonchus</i> spp.
	Imidazoles	<i>Trichostrongylus</i> spp.
	Lactonas	<i>Oesophagostomum</i> spp.
	macrociclicas	
Texcoco		<i>Cooperia</i> spp.
		<i>Haemonchus</i> spp.
Puebla	Albendazol	<i>Teladorsagia</i> spp.
Morelos	Closantel	<i>Oesophagostomum</i> spp.
		<i>Trichostrongylus</i> spp.

Lugar	Antihelmíntico	Géneros
Veracruz	Levamisol	<i>Cooperia</i> spp.
		<i>Haemonchus</i> spp.
		<i>Ostertagia</i> spp.
		<i>Oesophagostomum</i> spp.
Yucatán	Bencimidazoles	<i>Haemonchus</i> spp.
	Levamisol	<i>Trichostrongylus</i> spp.
		<i>Oesophagostomum</i> spp.

Los factores que determinan la resistencia pueden clasificarse en dos categorías. Por un lado, los factores externos, relacionados con el uso de los AH, incluyen su mecanismo de acción, el grado de eficacia, la frecuencia de los tratamientos, la dosis administrada, los esquemas de rotación y las prácticas de manejo animal. Por otro lado, los factores internos dependen de los propios NGI e incluyen características genéticas como la heredabilidad, la dominancia, el nivel de resistencia y la aptitud biológica relativa, así como rasgos biológicos, entre ellos el potencial reproductivo, el intervalo generacional, el estadio del parásito expuesto al fármaco y la proporción de la población en refugio (Torres-Vázquez *et al.*, 2007).

Por lo tanto, existe una necesidad urgente y un interés mundial significativo en el desarrollo de nuevos medicamentos y alternativas de control sustentables y sostenibles de estos parásitos.

2.2 Inflamación como proceso biológico

La inflamación es una respuesta adaptativa del organismo, aunque generalmente se asocia con daño o enfermedad, en realidad constituye un mecanismo de defensa frente a agresiones externas e internas. En términos generales, puede definirse como una respuesta protectora desencadenada por estímulos nocivos como infecciones, daño tisular o agentes químicos, cuyo principal objetivo es eliminar el agente agresor y reestablecer la homeostasis (Medzhitov, 2008; González-Costa & Padrón, 2019).

Desde una perspectiva más integradora, la inflamación es un proceso dinámico que involucra una compleja red de interacciones entre células inmunitarias, células residentes del tejido y mediadores solubles. Esta red permite que el organismo responda de manera rápida y eficiente; sin embargo, cuando se pierde el control de esta respuesta, el mismo mecanismo que protege puede convertirse en un factor determinante de daño.

Los signos clásicos de la inflamación son enrojecimiento, hinchazón, calor, dolor y pérdida de la función tisular, los cuales son consecuencia de cambios profundos a nivel inmunológico, bioquímico y fisiológico. Dichos cambios implican la liberación de mediadores proinflamatorios que promueven la vasodilatación, el aumento de la permeabilidad vascular y el reclutamiento de células del sistema inmunológico al sitio de lesión (Liu *et al.*, 2017; Rodrigues-Soares *et al.*, 2023).

Existen dos tipos de inflamación: a) la inflamación aguda, que comienza en minutos y/o horas y participan mecanismos de respuesta inmune innata. Puede ser resolutive eliminando la perturbación y promover la reparación del tejido para reestablecer su funcionalidad o bien, puede avanzar a una sepsis o síndrome de respuesta inflamatoria sistémica causada por la infección; b) inflamación crónica, la cual ocurre en días, semanas y hasta meses. Aquí el proceso inflamatorio puede empezar aun cuando no haya lesión, y no termina cuando debería terminar. Puede ser causada por infecciones que no desaparecen o por reacciones inmunitarias anormales a los tejidos normales. Con el tiempo puede derivar en daño tisular progresivo y está relacionada con diversas patologías, incluyendo enfermedades metabólicas, autoinmunes y neoplásicas (León-Pedraza *et al.*, 2015).

2.2.1 Bases fisiopatológicas de la respuesta inflamatoria

El inicio de la inflamación depende del reconocimiento de señales de peligro. Estas señales pueden derivar de patógenos y se conocen como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs del inglés *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) o bien de células dañadas denominándose patrones moleculares asociados al daño (DAMPs del inglés *Damage-Associated Molecular Patterns*). Ambas son detectadas por los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs del inglés *Pattern Recognition Receptors*), entre los que destacan los receptores tipo Toll (TLRs del inglés *Toll-Like Receptors*). A nivel experimental el lipopolisacárido (LPS), un componente de la membrana externa de bacterias Gram negativas, se ha convertido en un modelo clásico para estudiar la inflamación. Su interacción con el receptor tipo Toll 4 (TLR4, del inglés *Toll-Like Receptors*) activa cascadas de señalización intracelular que culminan en la activación del factor nuclear potenciador

de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B, del inglés *Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B cells*), promoviendo la expresión de citocinas proinflamatorias (Kawai & Akira, 2010). Este punto es particularmente relevante, ya que establece el puente entre el reconocimiento inicial del daño y la respuesta inflamatoria efectiva y es aquí donde la inflamación comienza a adquirir su carácter sistémico y regulado (Kawai & Akira, 2010).

2.2.2 Células efectoras y regulación de la respuesta inflamatoria

La inflamación no puede entenderse sin considerar a las células que participan, en este contexto, las células del sistema inmunitario innato constituyen el primer eje de respuesta frente al daño tisular o la presencia de patógenos. Estas células funcionan como una red interdependiente que se regula constantemente mediante señales locales y sistémicas.

Los neutrófilos representan la primera línea de defensa durante la inflamación aguda. Son células especializadas en la fagocitosis y destrucción de microorganismos mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS del inglés *Reactive Oxygen Species*), enzimas lisosomales y la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs, del inglés *Neutrophil Extracellular Traps*). Su rápida llegada al sitio de lesión es clave para contener la infección, aunque su activación descontrolada puede contribuir al daño tisular (Nathan, 2002).

Por otra parte, los macrófagos desempeñan un papel central no solo como células efectoras, sino también como reguladores de la respuesta inflamatoria. Son derivados de monocitos circulantes o residente tisulares y presentan una notable plasticidad funcional. En términos generales, pueden polarizarse hacia un fenotipo proinflamatorio (M1), caracterizado por la producción de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6), o hacia un fenotipo antiinflamatorio (M2) asociado con procesos de reparación tisular y resolución de la inflamación (Murray & Wynn, 2011).

Las células dendríticas, aunque menos abundantes, cumplen una función esencial como puente entre la inmunidad innata y adaptativa. Su capacidad para procesar y presentar antígenos a los linfocitos T las convierte en elementos clave para la activación de respuestas inmunes específicas (Kawai & Akira, 2010).

A su vez, los mastocitos participan principalmente en las fases iniciales de la inflamación mediante la liberación de mediadores como histamina, triptasa y citocinas, lo que contribuye a la vasodilatación y al reclutamiento celular (Galli *et al.*, 2008). Finalmente, las células endoteliales

no solo actúan como barrera física, sino que regulan activamente la adhesión y migración leucocitaria mediante la expresión de moléculas de adhesión y la producción de mediadores como el óxido nítrico (NO, del inglés *Nitric Oxide*) (Pober & Sessa, 2007).

Hasta este punto se han descrito los principales tipos celulares que participan en la respuesta inflamatoria. Sin embargo, en condiciones fisiológicas, estas células no actúan de manera aislada, sino como parte de un proceso altamente coordinado. Esta integración se esquematiza en la Figura 2, donde se resumen las etapas clave de la respuesta inflamatoria. El esquema muestra como un agente agresor, como una infección o un daño tisular, induce una lesión que desencadena la liberación de mediadores proinflamatorios, entre ellos citocinas, quimiocinas, prostaglandina E₂ (PGE₂) y NO. Estos mediadores promueven la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular, facilitando el reclutamiento y la migración de células inmunitarias hacia el sitio afectado. Entre las principales células participantes se encuentran los neutrófilos, macrófagos, células dendríticas y linfocitos, cuya acción coordinada contribuye a la eliminación del agente agresor y a la reparación tisular. Dependiendo de la magnitud y duración de la respuesta, el proceso puede culminar en la resolución de la inflamación y la restauración de la homeostasis o progresar hacia una inflamación crónica asociada con daño tisular persistente.

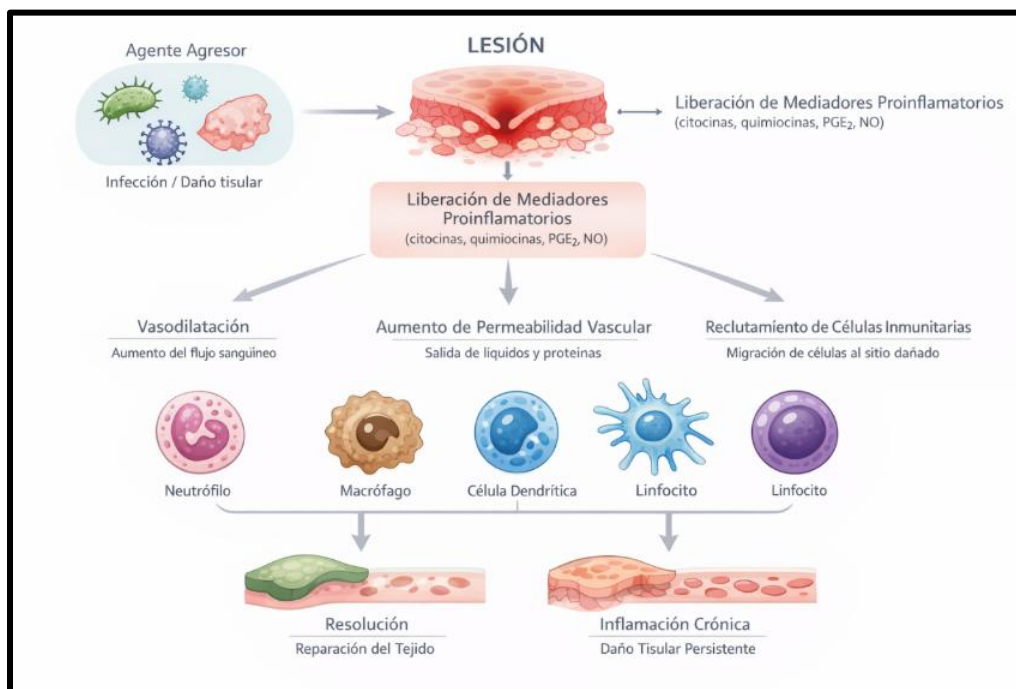


Figura 2. Representación esquemática del proceso inflamatorio y las principales células involucradas.

2.2.3 Mediadores inflamatorios y redes de señalización

La respuesta inflamatoria está regulada por una amplia variedad de mediadores químicos que actúan de manera coordinada para iniciar, amplificar y eventualmente resolver el proceso inflamatorio. Estos mediadores pueden tener efectos locales o sistémicos y, en muchos casos, presentan funciones redundantes o incluso contrapuestas.

Entre los mediadores más relevantes se encuentran las citocinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6. Estas moléculas son fundamentales para la activación del endotelio vascular, el reclutamiento leucocitario y la inducción de la respuesta de fase aguda. Además, participan en la activación de vías de señalización intracelular como NF- κ B, que regula la expresión de múltiples genes inflamatorios (Dinarello, 2011; Liu *et al.*, 2017).

Otro grupo importante de mediadores son los derivados del ácido araquidónico, incluyendo prostaglandinas y leucotrienos. Las prostaglandinas están implicadas en la generación de fiebre, dolor y vasodilatación, mientras que los leucotrienos participan principalmente en la quimiotaxis y el aumento de la permeabilidad vascular (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

El sistema del complemento también desempeña un papel relevante en la inflamación, particularmente a través de fragmentos como C3a y C5a, que actúan como potentes quimioatrayentes y amplificadores de la respuesta inmune (Ricklin *et al.*, 2016).

En paralelo, los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno generadas por células inflamatorias contribuyen a la eliminación de patógenos, aunque su producción excesiva puede provocar daño tisular significativo (Nathan & Cunningham-Bussel, 2013).

A nivel intracelular, estas señales convergen en diversas vías de señalización. La vía NF- κ B es probablemente la más estudiada, dado su papel central en la regulación de genes proinflamatorios. Otras vías relevantes incluyen MAPK y JAK/STAT, que permiten la integración de señales provenientes de citocinas y factores de crecimiento. La activación sostenida de estas vías es una característica distintiva de la inflamación crónica y está estrechamente asociada con la patogénesis de diversas enfermedades (Liu *et al.*, 2017).

2.2.4 El óxido nítrico: naturaleza, función y regulación

El NO es una molécula gaseosa altamente difusible que actúa como un mediador biológico clave en múltiples procesos fisiológicos y patológicos. A diferencia de otros mediadores clásicos, el

NO no se almacena en vesículas ni requiere receptores de membrana para ejercer su acción; su naturaleza lipofílica le permite difundirse libremente a través de las membranas celulares, actuando como una señal intracelular y paracrina de rápida acción.

Desde el punto de vista bioquímico, el NO es sintetizado a partir de L-arginina (Figura 3) mediante la acción de las enzimas óxido nítrico sintasas (NOS). Estas enzimas funcionan como dímeros, y cada monómero consta de dos dominios distintos: 1) dominio oxigenasa, que contiene sitios de unión para el grupo hemo, oxígeno molecular (O_2), tetrahidrobiopterina (BH_4) y L-arginina; y 2) dominio reductasa, que contienen sitios de unión para flavina adenina dinucleótido (FAD), flavina mononucleótido (FMN) y nicotina adenina dinucleótido fosfato (NADPH). Además, existen en tres isoformas principales: endotelial (eNOS), neuronal (nNOS) e inducible (iNOS). Estas isoformas presentan diferencias en su regulación, localización y cantidad de NO producida (Farahani *et al.*, 2025; Kim & Lee, 2025).

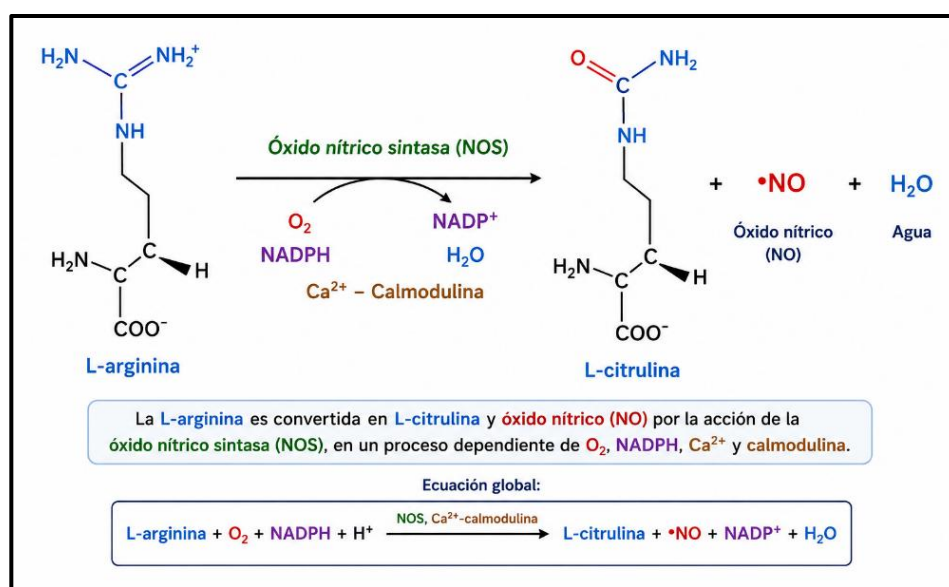


Figura 3. Síntesis de óxido nítrico (NO) a partir de L-Arginina mediante la enzima óxido nítrico sintasa (NOS)

En condiciones fisiológicas, eNOS y nNOS producen cantidades bajas y transitorias de NO, contribuyendo a funciones homeostáticas como la regulación del tono vascular, la neurotransmisión y la inhibición de la agregación plaquetaria. Sin embargo, durante procesos inflamatorios, iNOS es activada principalmente en macrófagos, neutrófilos y células endoteliales,

generando grandes cantidades de NO de manera sostenida e independiente del calcio (Kang *et al.*, 2025).

El papel del NO en la inflamación es complejo y, en muchos sentidos, paradójico. Dependiendo de su concentración, del contexto celular y del microambiente redox, puede ejercer efectos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios. En las fases tempranas de la inflamación, el NO cumple funciones protectoras. Favorece la vasodilatación, incrementa el flujo sanguíneo y facilita la extravasación de leucocitos hacia el sitio de lesión. Además, posee propiedades antimicrobianas, ya que puede reaccionar con radicales libres para generar especies reactivas capaces de eliminar patógenos. Sin embargo, cuando la producción de NO se incrementa de manera sostenida a través de iNOS se generan concentraciones elevadas que pueden alterar la función celular y promover el daño tisular (Bogdan, 2001; Pacher *et al.*, 2007; Förstermann & Sessa, 2012).

Uno de los aspectos más relevantes en el estudio del NO es su capacidad para reaccionar con ROS, dando lugar a la formación de peroxinitrito (ONOO^-), una molécula altamente reactiva con potencial citotóxico. Este compuesto puede inducir peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y daño al ADN, contribuyendo a la disfunción celular y a la progresión de enfermedades inflamatorias (Senderovic & Galijasevic, 2024).

Durante procesos inflamatorios el incremento en la producción de NO amplifica el estrés nitrosativo favoreciendo así un proceso inflamatorio crónico. Además, estudios recientes han demostrado que el NO también influye en la polarización de macrófagos. Altos niveles de NO se asocian con el fenotipo M1 proinflamatorio, mientras que su inhibición puede favorecer la transición hacia un fenotipo M2 reparador (Kang *et al.*, 2025).

Dado su papel dual, la regulación de la producción de NO es un elemento crítico en el mantenimiento del equilibrio inflamatorio, por lo que la iNOS ha sido ampliamente estudiada como un blanco terapéutico. Diversos estudios recientes han explorado el desarrollo de inhibidores selectivos de iNOS con el objetivo de reducir la producción excesiva de NO sin afectar las funciones fisiológicas de eNOS y nNOS (Maccallini *et al.*, 2024).

No obstante, la evidencia más reciente sugiere que la inhibición completa de iNOS no siempre es beneficiosa. Algunos modelos experimentales indican que el NO también puede ejercer funciones reguladoras que limitan respuestas inflamatorias excesivas, lo que plantea la necesidad

de estrategias terapéuticas más finas, orientadas a modular y no simplemente bloquear su producción (Farahani *et al.*, 2025).

La desregulación del NO ha sido implicada en múltiples patologías, incluyendo enfermedades cardiovasculares, trastornos metabólicos, enfermedades neurodegenerativas y cáncer. En particular, la disfunción endotelial asociada a alteraciones en la producción de NO constituye un evento temprano en la aterosclerosis y otras enfermedades vasculares (Fedele *et al.*, 2024).

2.3 Cáncer como enfermedad multifactorial

El cáncer representa una de las principales causas de mortalidad a nivel global, con aproximadamente 19.3 millones de nuevos casos y cerca de 10 millones de muertes en 2020, lo que lo posiciona como un problema prioritario de salud pública (Sung *et al.*, 2021; Siegel *et al.*, 2024).

De acuerdo con datos del Instituto Nacional de Cancerología (INCan) en México se registran aproximadamente 207, 154 nuevos casos de cáncer al año y alrededor de 96, 210 muertes asociadas a esta enfermedad. Entre los hombres, los tipos de cáncer con mayor incidencia son el de próstata, colorrectal y pulmón; mientras que en las mujeres predominan el cáncer de mama, cervicouterino y colorrectal.

Asimismo, la incidencia y mortalidad por cáncer muestran diferencias importantes según el tipo de neoplasia. El cáncer de mama y próstata presentan el mayor número de casos nuevos, mientras que otros tipos, como el cáncer colorrectal y de pulmón, mantienen una elevada mortalidad asociado. Estos datos reflejan la necesidad de fortalecer las estrategias de prevención, detección temprana y atención integral del cáncer en la población mexicana (Figura 4) (Instituto Nacional de Cancerología, s.f.)

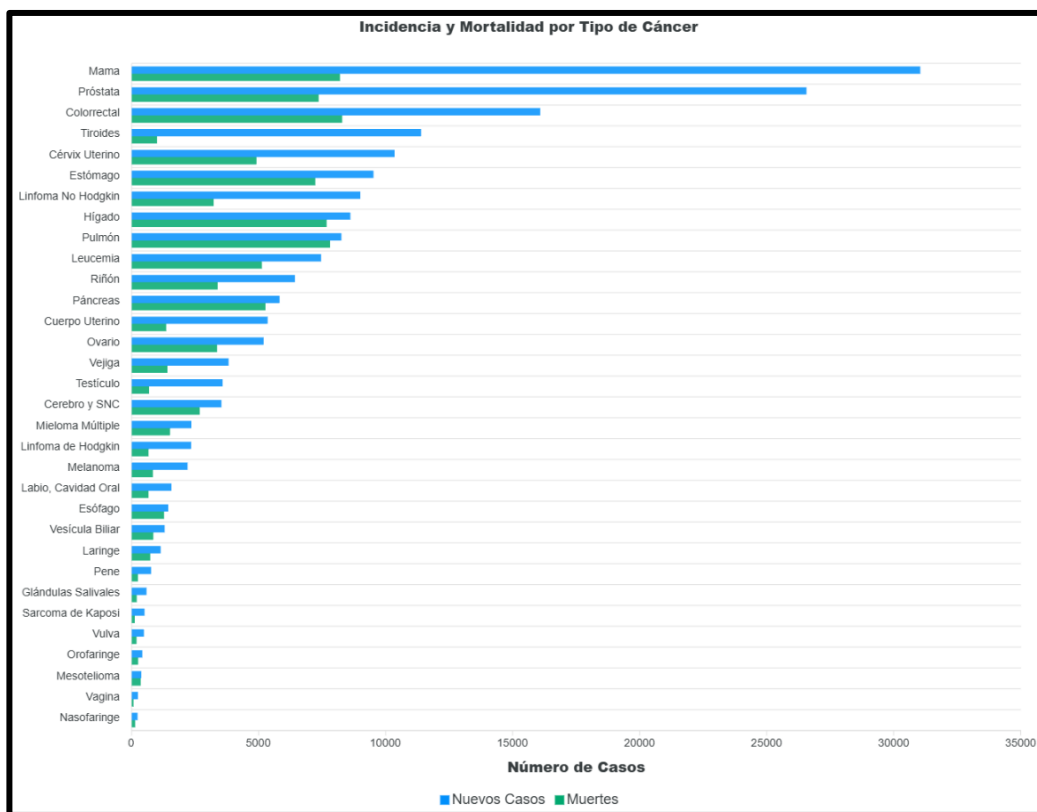


Figura 4. Incidencia y Mortalidad por Tipo de Cáncer en México. **Fuente:** Instituto Nacional de Cancerología, s.f.

El cáncer no se define como una sola enfermedad, sino que constituye un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por la acumulación progresiva de mutaciones en el genoma de las células, que afectan las diversas funciones a nivel molecular, celular, tisular y sistémico, con la consecuente muerte del paciente. Su diagnóstico y tratamiento siguen representando una problemática sin una solución concluyente y definitiva (de Vaca *et al.*, 2018).

Estas alteraciones permiten que las células tumorales adquieran una serie de capacidades funcionales conocidas como los *hallmarks of cancer* (rasgos distintivos del cáncer), entre las que destacan la proliferación sostenida, la evasión de la apoptosis, la angiogénesis y la reprogramación metabólica (Pavlova & Thompson, 2016; Hanahan, 2022). En este contexto, la interacción entre las células tumorales y su microambiente resulta fundamental, ya que influye directamente en la progresión de la enfermedad y en la respuesta a tratamientos (Quail & Joyce, 2013; Greten & Grivnikov, 2019).

Un aspecto relevante es el papel de la inflamación crónica en la carcinogénesis. Se estima que aproximadamente 20% de los tumores están asociados a procesos inflamatorios persistentes, los cuales promueven la liberación de citocinas, factores de crecimiento y especies reactivas de oxígeno que favorecen la supervivencia celular y la inestabilidad genómica (Coussens & Werb, 2002; Greten & Grivnickov, 2019). La activación sostenida de vías como NF- κ B y STAT3 contribuye a este proceso, consolidando un microambiente protumoral (Liu *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2009).

2.3.1 Desarrollo tumoral y ciclo celular

El desarrollo del cáncer es un proceso multietapa que implica la transición desde células normales hacia células malignas a través de fases conocidas como: iniciación, promoción y progresión. Durante la iniciación, mutaciones genéticas irreversibles alteran la función de genes clave; en la promoción, estas células adquieren ventajas proliferativas; y en la progresión, se desarrollan características invasivas y metastásicas (Vogelstein *et al.*, 2013; Hanahan, 2022).

El ciclo celular (Figura 5), que normalmente regula la división celular de manera estricta, se encuentra profundamente alterado en el cáncer. Este ciclo se divide en fases G1, S, G2 y M, y está controlado por complejos de ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) (Malumbres & Barbacid, 2009; Otto & Sicinski, 2017). En condiciones normales, puntos de control como G1/S y G2/M aseguran que el ADN esté intacto antes de la división celular.

Sin embargo, en células cancerosas, estos mecanismos de control se encuentran comprometidos. La inactivación de genes supresores como *TP53* y *RB*, así como la sobreexpresión de ciclinas, permite que las células continúen dividiéndose incluso en presencia de daño genético (Sherr & McCormick, 2002; Otto & Sicinski, 2017). De hecho, mutaciones en *TP53* están presentes en aproximadamente más del 50% de los tumores humanos, lo que resalta su papel central en la regulación del ciclo celular (Vogelstein *et al.*, 2013).

Este descontrol del ciclo celular no solo favorece la proliferación desmedida, sino que también contribuye a la inestabilidad genómica, un rasgo característico de las células tumorales (Malumbres & Barbacid, 2009; Hanahan, 2022).

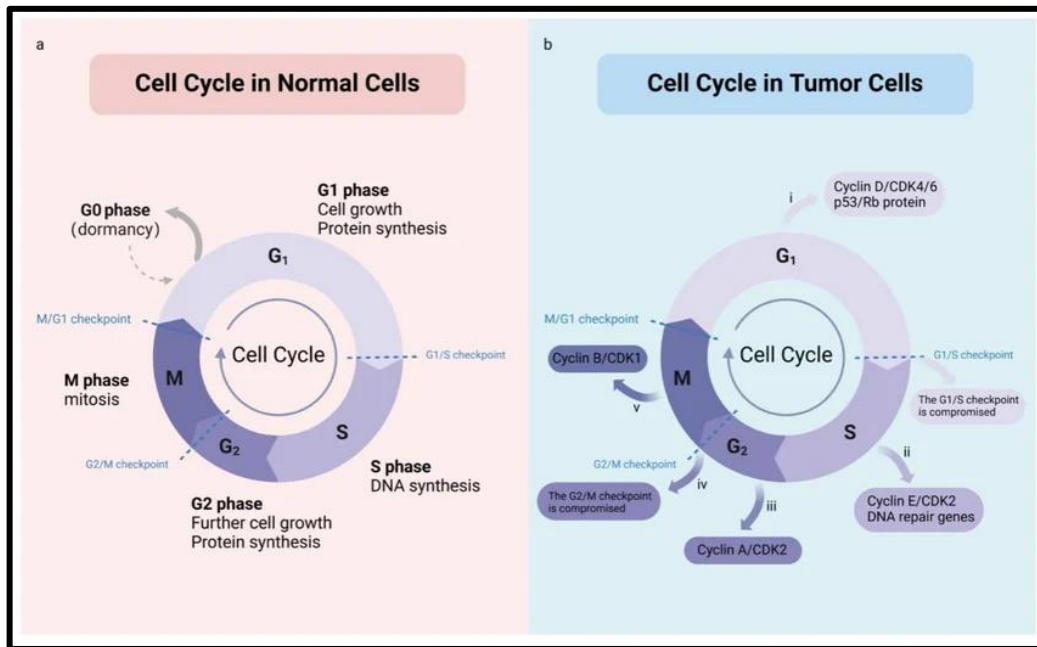


Figura 5. Ciclo celular en células normales y tumorales. **(a)** En células normales, el ciclo celular incluye G1, S, G2 y M, regulado por puntos de control que aseguran el crecimiento, la replicación correcta del ADN y su reparación antes de la división. **(b)** En células tumorales, la desregulación de ciclinas/CDK (D, E, A y B) y la inactivación de proteínas como p53 y Rb alteran estos controles, aceleran la progresión entre fases y evitan la reparación del ADN, favoreciendo una proliferación descontrolada. **Fuente:** Shi *et al.*, 2025

2.3.2 Cáncer de mama

El cáncer de mama es la neoplasia más prevalente en mujeres en todo el mundo, y es de igual manera el cáncer con mayor mortalidad en esta población. Se sabe que es originada por la interacción de factores genéticos, ambientales y de estilo de vida. Basándose en su origen se clasifica en: 1) cáncer de mama esporádico, el cual ocurre en pacientes sin ningún antecedente familiar; 2) hereditario, derivado de la mutación de un solo gen, donde cerca del 40% es derivado de mutaciones en el gen *BRCA1* y *BRCA2*; y 3) familiar, en pacientes con un claro historial, pero sin ser atribuible a la alteración de un solo gen, sino a la mutación de diversos genes (Murillo *et al.*, 2016; Bartlett *et al.*, 2019).

Por otra parte, su clasificación molecular ha permitido agruparlo en subtipos con diferentes perfiles pronósticos y terapéuticos, incluyendo luminal A, luminal B, HER2-enriquecido y triple negativo (Palmero-Picazo *et al.*, 2021).

En la patogénesis del cáncer de mama participan diversas vías de señalización celular, entre las que destacan la vía de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K/AKT) y la ruta Ras-Raf-MEK-ERK (RAS/MEK/ERK). Estas vías desempeñan un papel fundamental en la supervivencia celular, ya que contribuyen a inhibir los procesos de apoptosis. No obstante, cuando ocurren mutaciones en los genes que codifican los componentes de estas rutas, se altera su regulación, lo que puede conducir a la pérdida del control sobre la muerte celular programada.

Por otro lado, mutaciones en genes clave como *TP53*, conocido como el “guardián del genoma”, así como en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, están estrechamente relacionadas con la progresión del cáncer de mama. Estas alteraciones genéticas favorecen la división celular descontrolada, inhiben los mecanismos de apoptosis y facilitan la diseminación de células tumorales hacia órganos distantes (Segnan *et al.*, 2016; Chan *et al.*, 2017; Sparano *et al.*, 2019).

La línea celular MCF-7 es ampliamente utilizada como modelo de cáncer de mama luminal A, ya que expresan receptores de estrógeno y presentan una proliferación dependiente de señales hormonales. A nivel molecular, las células MCF-7 presentan alteraciones en vías de señalización como PI3K/AKT y MAPK, lo que influye en su capacidad proliferativa y en su respuesta a estímulos externos convirtiéndolas en un modelo ideal para estudiar mecanismos de crecimiento tumoral y respuesta a compuestos bioactivos (Holliday & Speirs, 2011; Comşa *et al.*, 2015; Dai *et al.*, 2017). Además, su uso en estudios de citotoxicidad ha permitido identificar compuestos capaces de inducir apoptosis y detener el ciclo celular en fases específicas.

2.3.3 Cáncer de páncreas

El cáncer de páncreas, particularmente el adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC, del inglés *Pancreatic Ductal Adenocarcinoma*), es una de las neoplasias más agresivas y con peor pronóstico dentro de los tumores sólidos. A nivel global, presenta una tasa de supervivencia de cinco años inferior al 10%, lo que lo posiciona como una de las principales causas de muerte por cáncer a pesar de no ser de los más frecuentes (Mizrahi *et al.*, 2020; Siegel *et al.*, 2024).

Desde el punto de vista molecular, el PDAC se caracteriza por una alta frecuencia de mutaciones en el gen KRAS, presente en la mayoría de los casos. Esta mutación conduce a la activación constitutiva de vías de señalización como MAPK y PI3K/AKT, las cuales se sabe que promueven la proliferación celular, la supervivencia y la reprogramación metabólica (Mizrahi *et*

al., 2020). A esto se suman alteraciones en genes supresores de tumores como TP53, CDKN2A y SMAD4, que contribuyen a la pérdida del control del ciclo celular y a la evasión de la apoptosis (Vogelstein *et al.*, 2013; McGuigan *et al.*, 2018).

Un rasgo distintivo del cáncer de páncreas es su complejo microambiente tumoral, caracterizado por una densa matriz extracelular rica en fibroblastos asociados al cáncer (CAFs, del inglés *Cancer-Associated Fibroblasts*), células inmunes y componentes del estroma. Este entorno desmoplásico no solo actúa como una barrera física que dificulta la penetración de fármacos, sino que también favorece la progresión tumoral mediante la secreción de citocinas y factores de crecimiento (Hosein *et al.*, 2020). Además, el microambiente pancreático promueve un estado inmunosupresor que limita la eficacia de terapias inmunológicas (Binnewies *et al.*, 2018).

Desde el punto de vista metabólico, las células de cáncer de páncreas presentan una notable capacidad de adaptación, a diferencia de otros tumores. El PDAC puede utilizar diversas fuentes energéticas, incluyendo glutamina y lípidos, lo que le permite sobrevivir en condiciones de hipoxia y baja disponibilidad de nutrientes (Ying *et al.*, 2012; Pavlova & Thompson, 2016). Esta flexibilidad metabólica representa un desafío adicional para el desarrollo de terapias dirigidas.

La línea celular PANC1 representa un modelo ampliamente utilizado para el estudio del cáncer de páncreas. Estas células presentan mutaciones en KRAS y exhiben características de agresividad, resistencia a fármacos y capacidad de adaptación metabólica, lo que las convierte en una herramienta relevante para evaluar compuestos con potencial actividad anticancerígena (Yin *et al.*, 2020).

En conjunto, el cáncer de páncreas es un modelo biológico particularmente complejo, en el que convergen alteraciones genéticas, un microambiente altamente especializado y mecanismos de resistencia que dificultan su tratamiento. Por ello, el estudio de nuevos compuestos con potencial citotóxico selectivo resulta de gran interés en la búsqueda de estrategias terapéuticas más eficaces.

2.4 Citotoxicidad: fundamentos biológicos

La citotoxicidad celular se define como la capacidad de una sustancia para inducir daño celular o muerte, y constituye un parámetro fundamental en la evaluación de compuestos con potencial terapéutico (Fotakis & Timbrell, 2006; Riss *et al.*, 2016; Aslantürk, 2018). En el contexto del

cáncer, la inducción de muerte celular selectiva es un objetivo central en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

Los mecanismos de muerte celular incluyen apoptosis, necrosis y autofagia. La apoptosis es un proceso altamente regulado que implica la activación de caspasas y la fragmentación del ADN, permitiendo la eliminación ordenada de células dañadas (Galluzi *et al.*, 2018). Ahora bien, la necrosis se asocia con daño celular no controlado y respuesta inflamatoria, mientras que la autofagia puede desempeñar un papel dual dependiendo del contexto celular.

La evaluación de la citotoxicidad puede realizarse mediante diversos ensayos *in vitro*, entre los que destacan el ensayo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), el ensayo de resazurina y la cuantificación de lactato deshidrogenasa (LDH). Estas metodologías permiten determinar la viabilidad celular, la actividad metabólica y el daño en la membrana plasmática inducido por compuestos citotóxicos. Estos ensayos combinados con modelos celulares adecuados proporcionan información clave para la identificación de compuestos con actividad anticancerígena (Fotakis & Timbrell, 2006; Riss *et al.*, 2016).

2.5 Biomoléculas y actividad biológica

2.5.1 Ácidos grasos: estructura y actividad biológica

Los ácidos grasos (AG) constituyen una familia de compuestos orgánicos caracterizados por una cadena hidrocarbonada lineal de longitud variable unida a un grupo carboxilo terminal. Esta arquitectura molecular les confiere propiedades anfipáticas que resultan fundamentales para su comportamiento biológico. En función de su grado de insaturación (Figura 6), los AG se clasifican en saturados, cuando carecen de dobles enlaces; monoinsaturados, si presentan un único doble enlace; y poliinsaturados, cuando contienen dos o más insaturaciones (Zang *et al.*, 2012; Trinick, 2013).

Más allá del número de dobles enlaces, la posición de estos dentro de la cadena acrílica introduce un nivel adicional de complejidad estructural. Aquellos ácidos grasos que comparten longitud de cadena, número de insaturaciones y configuración geométrica, pero difieren en la localización de los dobles enlaces, se denominan isómeros posicionales. En términos fisiológicos, esta variación no es trivial: los isómeros se distinguen principalmente por la ubicación del primer doble enlace respecto al extremo metilo de la molécula. Así, cuando dicho doble enlace se sitúa en el carbono

tres o seis con relación al grupo metilo, se clasifican como ácidos grasos omega-3 (n-3) u omega-6 (n-6), respectivamente (Lichtenstein, 2013).

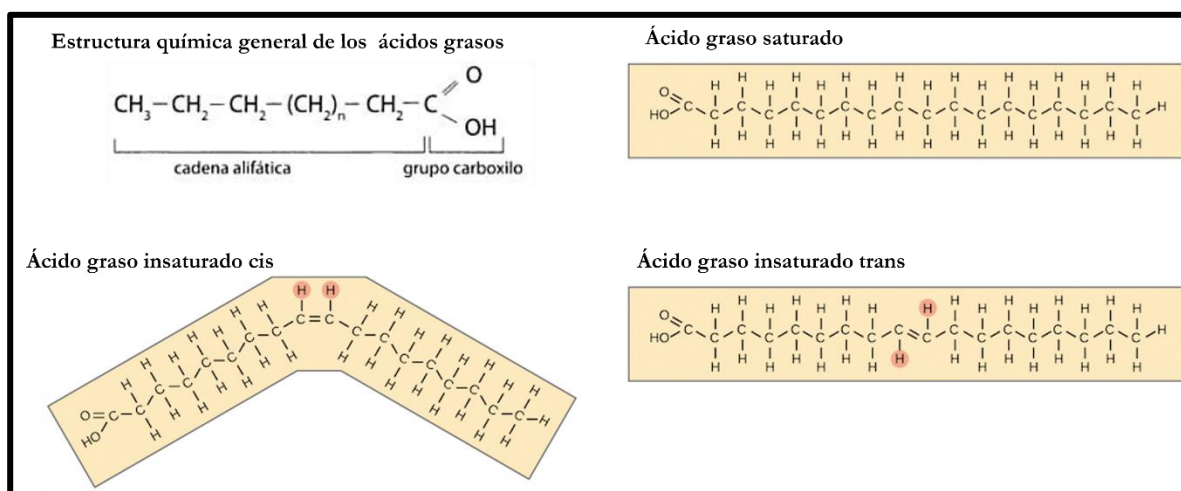


Figura 6. Estructura general de los ácidos grasos y comparación entre ácidos grasos saturados e insaturados. En la parte superior izquierda se muestra la estructura básica de un ácido graso, compuesta por una cadena hidrocarbonada alifática y un grupo carboxilo terminal. La parte superior derecha ilustra un ácido graso saturado, caracterizado por la ausencia de dobles enlaces carbono-carbono y una conformación lineal. En la parte inferior se representan ácidos grasos insaturados que contienen uno o más dobles enlaces; la configuración cis genera una curvatura característica en la cadena hidrocarbonada, mientras que la configuración trans mantiene una disposición más lineal similar a la de los ácidos grasos saturados. Estas diferencias estructurales influyen en las propiedades físicas y biológicas de los lípidos.

La ubicuidad de los AG en sistemas biológicos refleja su papel central en procesos vitales. Constituyen los bloques estructurales de los lípidos complejos y se encuentran predominantemente esterificados al glicerol en triacilglicéridos y fosfolípidos, tanto en tejidos animales como en matrices vegetales. Los perfiles de ácidos grasos más comunes, presentes tanto en organismos como en alimentos, se resumen en la Cuadro 2. No obstante, su relevancia trasciende el ámbito estructural: los AG han despertado un notable interés farmacológico debido a la amplitud de sus actividades biológicas. Diversos estudios han documentado propiedades antifúngicas en ácidos grasos como el butírico (C4), caproico (C6), caprílico (C8), cáprico (C10) y palmítico (C16), mientras que ciertos AG insaturados muestran efectos inhibitorios frente a patógenos vegetales (Zhang *et al.*, 2012).

Cuadro 2. Ácidos grasos más comunes y su clasificación

Fórmula general	Nombre
Saturados	
12:0	Ácido láurico
14:0	Ácido mirístico
16:0	Ácido palmítico
18:0	Ácido esteárico
Monoinsaturados	
16:1n-7	Ácido palmitoleico (cis)
18:1n-9	Ácido oleico (cis)
18:1n-9	Ácido elaídico (trans)
Poliinsaturados	
18:2n-6,9	Ácido linoleico (cis)
18:3n-3,6,9	Ácido alfa-linolénico (cis)
18:3n-6,9,12	Ácido gamma-linolénico (cis)
20:4n-6,9,12,15	Ácido araquidónico (cis)
20:5n-3,6,9,12,15	Ácido eicosapentaenoico (cis)
22:5n-3,6,9,12,15	Ácido docosapentaenoico (cis)
22:5n-3,6,9,12,18	Ácido docosahexaenoico (cis)

En una línea similar, se ha evidenciado que distintos ácidos grasos y sus derivados poseen actividad nematocida. Zhang *et al.* (2012) evaluaron una serie de AG, incluyendo butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, oleico y linoleico y reportaron efectos significativos sobre juveniles de segundo estadio (J2) del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. De forma complementaria, Ntalli *et al.* (2010) demostraron que el extracto metanólico de frutos

maduros de *Melia azedarach*, rico en ácido caproico, presenta actividad nematocida contra J2 de *M. incognita*. Por su parte, Pineda-Alegria *et al.* (2017) analizaron extractos de *Pleurotus djamor* y observaron actividad frente a huevos y larvas infectantes L3 de *Haemonchus contortus*, identificando en dichos extractos ácidos pentadecanoico, hexadecanoico, octadecadienoico y octadecanoico, junto con la presencia de un terpeno, β -sitosterol.

Desde una perspectiva fisiológica, los ácidos grasos poliinsaturados de la serie omega-3 desempeñan un papel destacado en la modulación de procesos inflamatorios. Su efecto se explica, en gran medida, por su participación en la biosíntesis de prostaglandinas (PG), mediadores lipídicos clave en la regulación de la respuesta inflamatoria. La disponibilidad de precursores como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido gammalinolénico (GLA) condiciona la producción de prostaglandinas de las series 1 y 3, generalmente asociadas con efectos antiinflamatorios. En contraste, un desequilibrio en la relación entre ácidos grasos omega-3 y omega-6 favorece la síntesis de prostaglandinas de la serie 2 (como PGE2), vinculadas a respuestas proinflamatorias.

Este balance dinámico tiene implicaciones clínicas relevantes. Una disminución en la producción de prostaglandinas antiinflamatorias, acompañada de un incremento en las proinflamatorias, puede contribuir al desarrollo y progresión de enfermedades inflamatorias. En este sentido, el aumento en la ingesta de ácidos grasos omega-3 se ha asociado con una mayor producción de prostaglandinas antiinflamatorias (PGE1 y PGE3). Diversos estudios han señalado que patologías inflamatorias crónicas, como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la artritis reumatoide, la osteoartritis y el asma, pueden beneficiarse del consumo de estos lípidos, observándose una reducción en la sintomatología (Aires *et al.*, 2005).

2.5.2 Azúcares y polioles bioactivos

Los carbohidratos y sus derivados reducidos constituyen una de las clases de biomoléculas más abundantes en la naturaleza, desempeñando funciones esenciales en la bioquímica de los organismos vivos. Tradicionalmente, los azúcares han sido considerados principalmente como fuente de energía y componentes estructurales; sin embargo, en las últimas décadas se ha reconocido su papel como moléculas bioactivas capaces de modular procesos fisiológicos y patológicos (Elbein *et al.*, 2003; Nelson & Cox, 2017). Esto ha permitido ampliar el interés científico hacia compuestos como los polioles y disacáridos no reductores, los cuales presentan propiedades fisicoquímicas particulares derivadas de su estructura altamente hidroxilada.

Los azúcares, también denominados carbohidratos simples, se definen como polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas, o compuestos que son generados por hidrólisis. Estas moléculas presentan un esqueleto carbonado con múltiples grupos hidroxilo y un grupo funcional carbonilo, lo que les confiere una alta reactividad química y versatilidad metabólica (Nelson & Cox, 2017). Por otro lado, los polioles o alcoholes de azúcar son derivados de los azúcares por un proceso de reducción, donde el grupo carbonilo ha sido transformado a un grupo hidroxilo (Figura 7) (Rice *et al.*, 2019). Ejemplo de ellos son sorbitol producido a partir de glucosa, xilitol a partir de xilosa, eritritol a partir de eritrosa y maltitol a partir de maltosa (Padhi, 2022).

El elevado número de grupos hidroxilo en los polioles favorece la formación de enlaces de hidrógeno, lo que permite su interacción con proteínas, lípidos y moléculas de agua. Estas propiedades son fundamentales para explicar su comportamiento en sistemas biológicos y su capacidad para estabilizar estructuras celulares bajo condiciones de estrés (Elbein *et al.*, 2003).

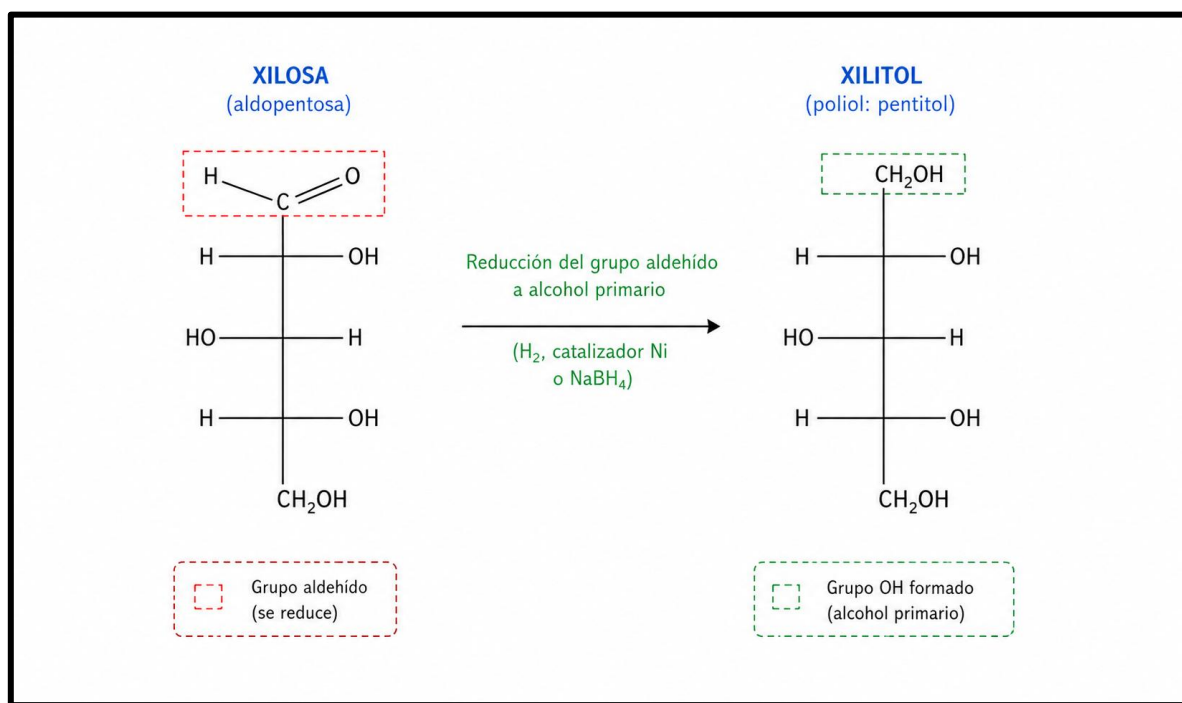


Figura 7. Representación esquemática de la reducción del azúcar xilosa al poliol xilitol

Los azúcares y polioles se encuentran ampliamente distribuidos en sistemas biológicos, siendo sintetizados por plantas, hongos y microorganismos como parte de sus rutas metabólicas primarias y secundarias (Rice *et al.*, 2019).

Los polioles son de especial importancia en la industria alimentarias debido a sus características fisicoquímicas púnicas, y se ha reportado que muchos de ellos se utilizan como edulcorantes bajos en calorías, agentes texturizantes, estabilizadores del color, suavizantes y humectantes (Padhi, 2022).

Diversos estudios han evidenciado que estos compuestos pueden formar parte de mezclas complejas de metabolitos con actividad biológica. En este sentido, se ha notificado la presencia de azúcares y polioles en extractos y/o fracciones químicas obtenidas de fuentes naturales como plantas y hongos comestibles en las cuales se ha asociado su composición con efectos bioactivos relevantes.

Un ejemplo representativo es el estudio realizado en extractos acetónicos e hidroalcohólicos del hongo comestible *Pleurotus eryngii*, al cual se evaluó su actividad *in vitro* contra huevos y larvas infectantes L3 del nematodo *Haemonchus contortus*, donde se reportó que el extracto hidroalcohólico mostró efectos significativos sobre la mortalidad larvaria, y tras su fraccionamiento cromatográfico se identificó que la fracción más activa contenía, entre otros compuestos, trealosa y diversos polioles como L-iditol, galactitol, D-manitol, D-glucitol y mioinositol. La presencia de estos compuestos en la fracción con mayor actividad nematicida sugiere su posible participación en los mecanismos responsables del efecto observado, ya sea de manera individual o en sinergia con otros metabolitos (Cruz-Arévalo *et al.*, 2020).

De manera complementaria, González-Cortázar *et al.* (2021) reportaron resultados similares en extractos del hongo *P. djamor*, donde el fraccionamiento cromatográfico permitió aislar una subfracción con elevada actividad antihelmíntica tanto *in vitro* como *in vivo*. En particular, la subfracción PdB mostró una inhibición completa de la eclosión de huevos y una alta eficacia larvicida, además de una reducción significativa de la carga parasitaria en un modelo animal. El análisis químico reveló que esta fracción estaba compuesta principalmente por una mezcla de allitol y un terpeno, lo que refuerza la hipótesis de que los polioles pueden desempeñar un papel relevante en la actividad biológica observada.

Además de su implicación en actividad antihelmíntica, los polioles han sido estudiados en otros contextos biológicos, particularmente en procesos inflamatorios. El xilitol, por ejemplo, ha demostrado la capacidad de inhibir la expresión de citocinas proinflamatorias inducidas por lipopolisacáridos, lo que sugiere un efecto modulador sobre la respuesta inmune. Asimismo, se ha reportado que este compuesto puede inhibir procesos asociados con la angiogénesis, como la migración e invasión de células endoteliales, a través de la regulación de vías de señalización como NF- κ B y Akt (Gasmi-Benahmed *et al.*, 2020).

En este contexto, la evidencia disponible permite integrar a los polioles dentro de un marco más amplio de actividad biológica, en el cual sus efectos no se limitan a un solo mecanismo, sino que abarcan múltiples procesos celulares. La participación de estos compuestos en fracciones con actividad antihelmíntica sugiere que pueden contribuir a la alteración de la homeostasis osmótica y metabólica de los parásitos, comprometiendo su viabilidad. De manera paralela, su capacidad para modular vías de señalización inflamatoria, como NF- κ B, respalda su papel como agentes antiinflamatorios. Asimismo, la interferencia en procesos celulares como la proliferación, migración y angiogénesis apunta a un potencial efecto citotóxico o antiproliferativo en determinados contextos celulares.

Por lo tanto, el estudio de los polioles como compuestos bioactivos se sustenta en la convergencia de evidencia experimental que demuestra su participación en actividades antihelmínticas, antiinflamatorias y citotóxicas. Esta multifuncionalidad sugiere que su mecanismo de acción está asociado a la modulación de la homeostasis celular y metabólica, lo que los posiciona como moléculas de interés en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

2.5.3 Esteroles: estructura, función y actividad biológica

Los esteroides son sustancias que se encuentran de forma natural en el reino animal (colesterol), vegetal (sitosterol) y en hongos y levaduras (ergosterol). Los esteroides de origen vegetal se denominan fitoesteroides, mientras que los derivados de hongos y levaduras se conocen como micoesteroides. Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y desempeñan funciones esenciales en la estructura y fisiología celular.

Su característica estructural distintiva es la presencia de un núcleo esteroide conformado por cuatro anillos fusionados, de los cuales tres presentan seis átomos de carbono y uno cinco (Figura 8). De acuerdo con la definición de la IUPAC, los esteroides son esteroides que poseen un grupo

hidroxilo en la posición C-3 y conservan la mayor parte del esqueleto de colestano ($C_{27}H_{48}$). Asimismo, pueden presentar variaciones en la cadena lateral alifática unida al carbono 17, la cual puede contener ocho o más átomos de carbono, lo que contribuye a la diversidad estructural dentro de este grupo de compuestos (Corso *et al.*, 2011).

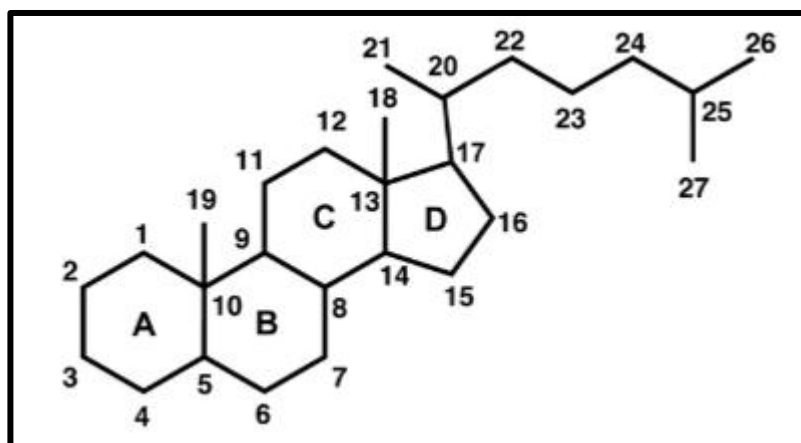


Figura 8. Estructura de un esteroide: numeración de átomos y designación de anillos recomendadas por la IUPAC. **Fuente:** Corso *et al.*, 2011

Estas características estructurales determinan no solo su comportamiento fisicoquímico, sino también su función biológica. En células eucariotas, los esteroides desempeñan un papel fundamental como componentes estructurales y reguladores, integrándose a las membranas celulares junto con otros lípidos como los glicerofosfolípidos y las esfingomielinas, además de ser esenciales para el ensamble de balsas lipídicas. En este contexto, contribuyen a la estabilidad, fluidez y funcionalidad de la bicapa lipídica, permitiendo el correcto funcionamiento de proteínas de membrana y procesos de señalización celular. Asimismo, el colesterol y sus derivados han sido ampliamente estudiados en sistemas mamíferos, destacando su función como precursores de moléculas bioactivas (Corso *et al.*, 2011).

Desde el punto de vista funcional, los esteroides y esteroides pueden clasificarse según su actividad biológica. En primer lugar, los esteroides propiamente dichos, como el colesterol, constituyen componentes esenciales de las membranas celulares y actúan como precursores metabólicos. En segundo lugar, las hormonas esteroideas se clasifican según el número de carbonos de su estructura central: los esteroides C18 incluyen a los estrógenos, los C19 comprenden los andrógenos, como la testosterona y la androsterona, y los esteroides C21, que presentan una cadena lateral en la posición C17, incluyen a los progestágenos, glucocorticoides y

mineralocorticoides. Finalmente, los secosteroides se distinguen por la ruptura del anillo B del núcleo esteroide, dando origen a compuestos como las diferentes formas de vitamina D, las cuales desempeñan funciones clave en la regulación del metabolismo mineral (Fahy *et al.*, 2005; Fahy *et al.*, 2009).

Además de su función estructural, los esteroides actúan como precursores de compuestos con actividades biológicas específicas, incluyendo hormonas y ácidos biliares (Meco-López *et al.*, 2016).

Dentro de este grupo, el β -sitosterol y el ergosterol destacan por su amplia distribución y relevancia bioactiva. El β -sitosterol es el fitoesterol más abundante en plantas y difiere del colesterol por la presencia de un grupo etilo adicional en el carbono 24, lo que influye en su absorción y metabolismo.

Diversos estudios han documentado la actividad biológica del β -sitosterol. Loizou *et al.* (2010) evaluaron su efecto sobre la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales humanas, observando que este compuesto inhibe la adhesión de monocitos y la expresión de moléculas de adhesión intracelular, además de actuar como inhibidor de la fosforilación de NF- κ B. De manera complementaria, Chai *et al.* (2008) reportaron que el β -sitosterol inhibe la proliferación de células MCF-7 de manera dependiente de la dosis, induciendo apoptosis a través de la activación de caspasas. Asimismo, se ha demostrado que este compuesto modula el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, lo que refuerza su potencial como agente terapéutico (Bin Sayeed & Ameen, 2015).

Por otro lado, el ergosterol es el principal esteroide presente en hongos, donde cumple funciones equivalentes a las del colesterol en animales. Este compuesto es esencial para la integridad de la membrana celular fúngica y participa en la regulación de la fluidez y permeabilidad de la membrana. Debido a su importancia estructural, la biosíntesis del ergosterol constituye un blanco clave para el desarrollo de agentes antifúngicos (Weete *et al.*, 2010).

Más allá de su función estructural, el ergosterol ha sido reconocido como una molécula con diversas actividades biológicas, entre ellas propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas, así como efectos antidiabéticos y neuroprotectores (Rangsinth *et al.*, 2023). Estudios recientes han demostrado que puede actuar como modulador del sistema inmune, induciendo respuestas inflamatorias específicas y participando en

mecanismos de muerte celular programada como la piroptosis (Jordá & Puig, 2020). Asimismo, se ha reportado que el ergosterol suprime la expresión de la iNOS y la ciclooxigenasa-2 (COX-2) en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS (Hong *et al.*, 2012).

En cuanto a su actividad citotóxica, Chen *et al.* (2017) reportaron que fracciones lipídicas del hongo *Ganoderma lucidum*, ricas en derivados de ergosterol, presentan citotoxicidad en líneas celulares tumorales como MDA-MB-231 y HepG2, sin afectar células normales. De manera similar, Li *et al.* (2015) demostraron que extractos de *Amauroderma rude*, con ergosterol como componente principal, inhiben el crecimiento tumoral en modelos murinos.

2.6 Análisis *in silico* en la evaluación de compuestos bioactivos

El análisis *in silico* constituye un enfoque clave en la investigación de compuestos bioactivos, al integrar herramientas computacionales para predecir propiedades estructurales, funcionales y farmacológicas de moléculas con potencial terapéutico. Estas herramientas forman parte del diseño asistido por computadora *Computer-Aided Drug Design* (CADD), el cual nos permite evaluar tempranamente propiedades críticas como la afinidad de unión, la estabilidad de complejos moleculares y parámetros farmacocinéticos absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) y reducir significativamente los costos y tiempos asociados al descubrimiento de fármacos (Chang *et al.*, 2022).

En este sentido, dichas herramientas complementan los estudios *in vitro* e *in vivo* integrándose dentro de un enfoque multidisciplinario en la evaluación de compuestos bioactivos (Ekins *et al.*, 2007).

2.6.1 Fundamentos del modelado molecular

El modelado molecular se basa en la representación computacional de sistemas químicos y biológicos, mediante principios de mecánica clásica y cuántica. Estas aproximaciones permiten describir la estructura tridimensional de biomoléculas y simular sus interacciones con ligandos. Existen dos enfoques principales en el diseño de fármacos: 1) el diseño basado en la estructura química llamado “*Structure-Based Drug Design* (SBDD)” que utiliza información estructural de la diana biológica obtenida mediante cristalografía de rayos X, resonancia magnética nuclear (RMN) o criomicroscopía electrónica; y 2) el diseño basado en ligandos “*Ligand-Based Drug Design*

(LBDD)”, el cual se fundamenta en compuestos con actividad conocida para inferir nuevas moléculas bioactivas (Chang *et al.*, 2022; Agu *et al.*, 2023).

2.6.2 Acoplamiento molecular (*molecular docking*)

El acoplamiento molecular (*molecular docking*) es una metodología computacional fundamental dentro del diseño racional de fármacos, cuyo objetivo principal es predecir la conformación más probable entre una molécula (ligando) y una macromolécula (diana biológica/receptor) a nivel atómico estimando la energía libre de unión y las interacciones intermoleculares involucradas. En términos conceptuales, el *docking* intenta resolver un problema de reconocimiento molecular, en el que se busca identificar como dos entidades químicas se organizan espacialmente para formar un sistema energéticamente más estable (Sousa *et al.*, 2006; Agu *et al.*, 2023).

Desde el punto de vista fisicoquímico, este proceso se basa en el principio de complementariedad estructural y energética, donde la estabilidad del complejo ligando-receptor depende de la optimización de interacciones no covalentes, como enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals e interacciones electrostáticas, donde el objetivo final es aproximar la energía libre de unión (ΔG), la cual determina la espontaneidad y estabilidad del proceso de asociación molecular (Meng *et al.*, 2011).

El acoplamiento molecular se sustenta en la hipótesis de que la conformación bioactiva de un ligando corresponde a un mínimo energético global o local dentro del paisaje conformacional del sistema. En este contexto, la energía libre de unión puede expresarse como una combinación de términos entálpicos y entrópicos:

- Contribuciones entálpicas: derivadas de interacciones intermoleculares (electrostáticas, dispersivas, enlaces de hidrógeno).
- Contribuciones entrópicas: relacionadas con la pérdida de grados de libertad conformacionales del ligando y del receptor al formarse el complejo.

Sin embargo, en la práctica, la mayoría de los algoritmos emplean aproximaciones simplificadas de ΔG debido a la complejidad computacional de su cálculo exacto, lo que implica una inevitable pérdida de precisión (Meng *et al.*, 2011)

Tipos de acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular se puede clasificar en función del grado de flexibilidad considerado en el sistema (Meng *et al.*, 2011).

- *Docking* rígido (*rigid docking*): tanto el ligando como el receptor se consideran estructuras rígidas. Aunque computacionalmente eficiente, este enfoque ignora cambios conformacionales relevantes.
- *Docking* semiflexible (*semi-flexible docking*): el ligando es flexible mientras que el receptor permanece rígido; es el enfoque más utilizado en screening virtual.
- *Docking* flexible (*flexible docking*): permite la flexibilidad tanto del ligando como del receptor, incluyendo movimientos del esqueleto proteico. Este enfoque es más realista, pero computacionalmente costoso y aún representa un desafío metodológico.
- *Docking* dirigido (*targeted docking*): enfocado en un sitio activo conocido.
- *Docking* ciego (*blind docking*): explora toda la superficie proteica para identificar posibles sitios de unión.

Algoritmos de búsqueda

Los algoritmos de búsqueda (Figura 9) son métodos computacionales diseñados para explorar de manera eficiente el espacio conformacional y orientacional de un ligando dentro del sitio activo de una macromolécula. El objetivo principal es encontrar la conformación, posición y orientación que maximice la estabilidad del complejo ligando-receptor minimizando la energía libre del sistema (Meng *et al.*, 2011, Pagadala *et al.*, 2017; Agu *et al.*, 2023).

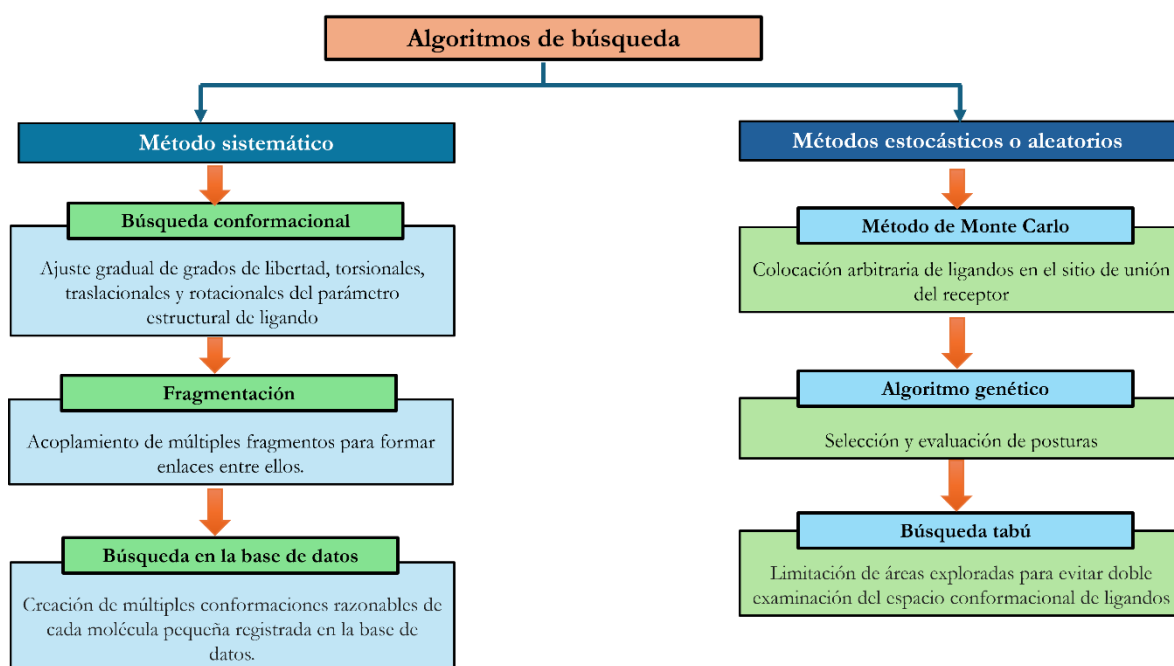


Figura 9. Clasificación de los algoritmos de búsqueda en acoplamiento molecular

Funciones de puntuación

Las funciones de puntuación (*scoring functions*) estiman la afinidad de unión del complejo ligando-receptor, generalmente en términos de energía libre de unión aproximada (ΔG), lo que ayuda a evaluar que estructura y rotación del ligando es mejor respecto al receptor y estas funciones se clasifican en:

- 1) **Basadas en campos de fuerza:** agrega la contribución de interacciones no enlazadas, incluidas las fuerzas de Van der Waals, los enlaces de hidrógeno y la electrostática de Coulomb, así como el enlace de ángulo tipo enlace y la desviación torsional para determinar la afinidad de unión.
- 2) **Empíricas:** basadas en el análisis de recaída lineal repetida de un conjunto preparado de estructuras complejas utilizando complejos proteína-ligando con afinidades de unión conocidas, que comprenden grupos funcionales y de algún tipo de interacción.
- 3) **Basadas en conocimiento:** resultan de la información estructural en complejos proteína-ligando determinados experimentalmente.
- 4) **Puntuación por consenso:** más que una función de puntuación es una técnica empleada en el acoplamiento proteína-ligando, aumenta la probabilidad de encontrar una

solución precisa al combinar la información de una puntuación de múltiples funciones, con el fin de eliminar las imprecisiones de cada una.

- 5) **Basado en agrupamiento y entropía:** es una técnica nueva que incorpora los efectos entrópicos dividiendo los modos de unión de ligandos generados en diferentes grupos. La contribución entrópica se calcula a partir del espacio configuracional cubierto por las conformaciones del ligando en el grupo.

A pesar de que son de gran utilidad, presentan limitaciones significativas especialmente en la correcta estimación de contribuciones entrópicas, efectos del solvente y energías de desolvación, lo que puede afectar la capacidad de discriminar entre ligandos activos e inactivos (Meng *et al.*, 2011, Roy *et al.*, 2015; Agu *et al.*, 2023).

Preparación del sistema y protocolo del *docking*

La calidad de los resultados del acoplamiento depende en gran medida de la preparación adecuada del sistema. Este proceso incluye:

- **Preparación del receptor:** eliminación de moléculas de agua no relevantes, adición de hidrógenos, asignación de cargas y optimización estructural.
- **Preparación del ligando:** generación de conformaciones, protonación adecuada y minimización energética.
- **Definición del sitio de unión:** mediante coordenadas experimentales o predicción computacional.
- **Parámetros del *docking*:** selección del algoritmo, número de ejecuciones y criterios de convergencia.

Errores en esta etapa pueden introducir sesgos significativos en los resultados, lo que resalta la importancia de protocolos estandarizados (Ferreira *et al.*, 2015).

Validación y evaluación del *docking*

Para garantizar la fiabilidad de los resultados, es necesario implementar estrategias de validación, entre las que destacan:

- *Redocking*: consiste en el re-acoplamiento de un ligando cocrystalizado para evaluar la capacidad del método de reproducir la pose experimental.

- *Cross-docking*: evaluación del ligando en diferentes estructuras del mismo receptor.
- RMSD (*Root Mean Square Deviation*): métrica utilizada para comparar la pose predicha con la experimental; valores $\leq 2 \text{ \AA}$ suelen considerarse aceptables.
- Curvas ROC y enriquecimiento: utilizadas en *virtual screening* para evaluar la capacidad de discriminar compuestos activos de inactivos.

Estas estrategias permiten estimar la robustez del protocolo y minimizar falsos positivos (Sousa *et al.*, 2006; Meng *et al.*, 2011).

4. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades parasitarias, inflamatorias y oncológicas constituyen un problema persistente de salud pública y sanidad animal a nivel mundial, debido a su elevada incidencia, los costos asociados a su tratamiento y control, así como su impacto sobre la calidad de vida, la productividad y los sistemas de producción. Particularmente, la creciente resistencia de nematodos gastrointestinales como *Haemonchus contortus* a los antihelmínticos convencionales, junto con la eficacia limitada y los efectos adversos asociados a diversos fármacos antiinflamatorios y antitumorales, evidencia la necesidad de identificar nuevas moléculas bioactivas con mejores perfiles de eficacia, seguridad y selectividad. Diversos compuestos naturales, entre ellos el ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β -sitosterol y ergosterol, han despertado un creciente interés científico debido a su diversidad estructural, biocompatibilidad y amplio espectro de actividades biológicas reportadas. Sin embargo, la evaluación sistemática de estos compuestos frente a diferentes blancos biológicos, así como la comprensión de sus posibles mecanismos de acción, continúa siendo limitada.

En este contexto, el presente estudio pretende evaluar el potencial biológico de estos compuestos mediante un enfoque integral que combina herramientas computacionales y ensayos experimentales. Los estudios de acoplamiento molecular permitirán predecir la afinidad de las moléculas por diferentes dianas biológicas y orientar su selección para evaluaciones posteriores, mientras que los ensayos *in vitro* determinarán su actividad antihelmíntica, antiinflamatoria y citotóxica. La integración de ambos enfoques contribuirá a identificar compuestos con potencial aplicación en salud humana y veterinaria, así como a generar conocimiento sobre sus posibles mecanismos de acción, aportando bases científicas para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas.

5. HIPÓTESIS

Los ácidos grasos, azúcares y esteroides seleccionados presentarán actividad nematocida en larvas L3 de *Haemonchus contortus*; actividad antiinflamatoria en macrófagos RAW 264.7; y actividad citotóxica en las líneas celulares de cáncer humano de mama (MCF-7) y páncreas (PANC1), esperando que estas biomoléculas afecten selectivamente a nematodos, células inflamatorias y células tumorales, respectivamente, sin causar toxicidad significativa en células sanas.

6. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el potencial antihelmíntico, antiinflamatorio y citotóxico de ácidos grasos, azúcares y esteroides derivados de hongos comestibles mediante estudios *in silico* e *in vitro*, con el fin de identificar posibles usos o aplicaciones en el control de nematodos, la modulación de procesos inflamatorios y la inhibición selectiva de células tumorales.

5.2 Objetivos específicos

1. Realizar estudios de acoplamiento molecular de los compuestos seleccionados con blancos moleculares asociados a la motilidad y viabilidad de *Haemonchus contortus*, así como con proteínas clave en la vía inflamatoria humana.
2. Evaluar *in vitro* el efecto antihelmíntico de los compuestos ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β -sitosterol y ergosterol contra larvas infectantes L3 del nematodo *Haemonchus contortus*.
3. Determinar el efecto antiinflamatorio de los compuestos ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β -sitosterol y ergosterol en la línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7.
4. Evaluar la citotoxicidad de los compuestos ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β -sitosterol y ergosterol en las líneas celulares de cáncer humano de mama (MCF-7) y páncreas (PANC1).
5. Correlacionar las predicciones computacionales con las pruebas experimentales.

7. METODOLOGÍA

6.1 Estudios *in silico*

6.1.1 Diseño general del estudio *in silico*

El estudio *in silico* se diseñó con un enfoque explicativo, con el objetivo de evaluar la energía de unión teórica y sugerir los modos de interacción de ácidos grasos, azúcares y esteroides frente a blancos moleculares asociados a la actividad antihelmíntica y antiinflamatoria. Los resultados obtenidos mediante acoplamiento molecular se emplearon como herramienta complementaria a los ensayos *in vitro*, permitiendo establecer una correlación entre ambos enfoques experimentales.

6.1.2 Selección y preparación de ligandos

Las estructuras químicas de los ligandos evaluados (Figura 10) se obtuvieron de la base de datos PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Los compuestos incluidos en el estudio fueron ácidos pentadecanoico, esteárico, palmítico, linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β -sitosterol y ergosterol previamente identificados en fracciones químicas bioactivas obtenidas de hongos comestibles pertenecientes al género *Pleurotus*.

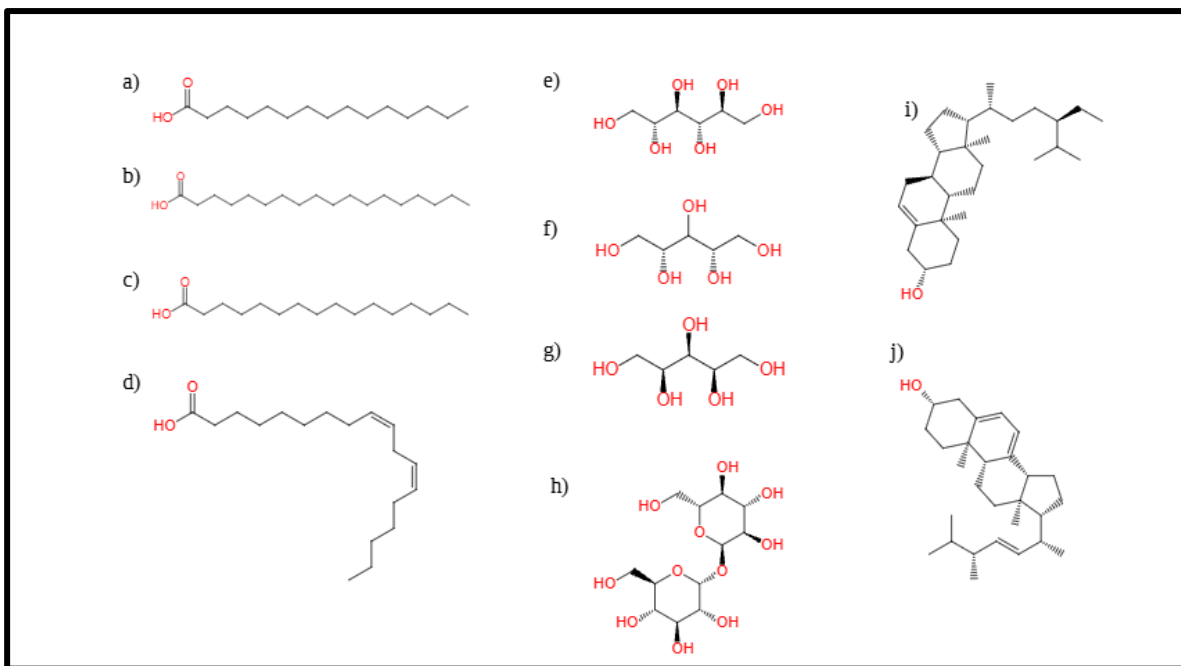


Figura 10. Estructuras químicas de los compuestos evaluados obtenidos de la base de datos PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). **(a)** ácido pentadecanoico, **(b)** ácido esteárico, **(c)** ácido palmítico, **(d)** ácido linoleico, **(e)** allitol, **(f)** adonitol, **(g)** xilitol, **(h)** trealosa, **(i)** β -sitosterol, **(j)** ergosterol

Posteriormente, las estructuras descargadas fueron sometidas a un proceso de optimización geométrica mediante mecánica molecular, utilizando el software Avogadro versión 1.2.0 (Avogadro Project, Pittsburgh, PA, USA). La optimización se realizó empleando el campo de fuerza MMFF94, con el fin de obtener conformaciones energéticamente estables previo a los estudios de acoplamiento molecular.

6.1.3 Selección de blancos moleculares

La selección de los blancos moleculares se realizó considerando los mecanismos de acción de los controles positivos utilizados en los ensayos *in vitro* de actividad antihelmíntica (AH) y antiinflamatoria (AA), con el propósito de asegurar la coherencia metodológica entre los estudios *in silico* e *in vitro*.

6.1.3.1 Blancos moleculares asociados a la actividad AH

Para la evaluación del efecto antihelmíntico se seleccionó como blanco molecular los canales de cloro activados por glutamato (GluCl), los cuales constituyen una diana farmacológica ampliamente validada en nematodos. Se buscó la secuencia proteica de GluCl de *Haemonchus contortus* en la base de datos UniProt (<https://www.uniprot.org/>), se seleccionó la subunidad beta del GluCl (ID: P91730) y posteriormente fue analizada mediante el servidor BLASTP (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) con el fin de identificar estructuras cristalográficas disponibles en el Banco de Datos de Proteínas (PDB, del inglés *Protein Data Bank*; <https://www.rcsb.org/search>) que presentaran la mayor identidad y cobertura de secuencia.

Como resultado de este análisis, se seleccionó la estructura cristalográfica del canal GluCl de *Caenorhabditis elegans* cocrystalizado con ivermectina (PDB ID: 3RHW), la cual presentó una similitud de un 56.83 % de identidad aminoacídica y fue utilizada como modelo para los estudios de acoplamiento molecular, de acuerdo con lo reportado previamente (Sanches-Politi *et al.*, 2019).

6.1.3.2 Blancos moleculares asociados a la actividad AA

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se seleccionó como blanco molecular la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), debido a su papel central en la producción de óxido nítrico durante los procesos inflamatorios en macrófagos. La estructura cristalográfica correspondiente al dímero de iNOS murino, en complejo con grupo hemo, biopterina e

inhibidor AR-C120011 fue obtenida directamente del Banco de Datos de Proteínas (PDB ID: 3E65) con una resolución de 2.05 Å (Garcin *et al.*, 2008).

6.1.4 Preparación de los blancos moleculares

La preparación de ambas estructuras proteicas (Figura 11) seleccionadas se llevó a cabo utilizando los softwares PyMOL versión 3.0.5 (Schrodinger, LLC, New York, NY, USA) y AutoDock Tools versión 1.5.7. En este proceso se eliminaron las moléculas de agua, ligandos no relevantes y se añadieron hidrógenos polares necesarios para los cálculos de acoplamiento molecular. Posteriormente, las proteínas preparadas fueron convertidas al formato requerido para los estudios de acoplamiento molecular.

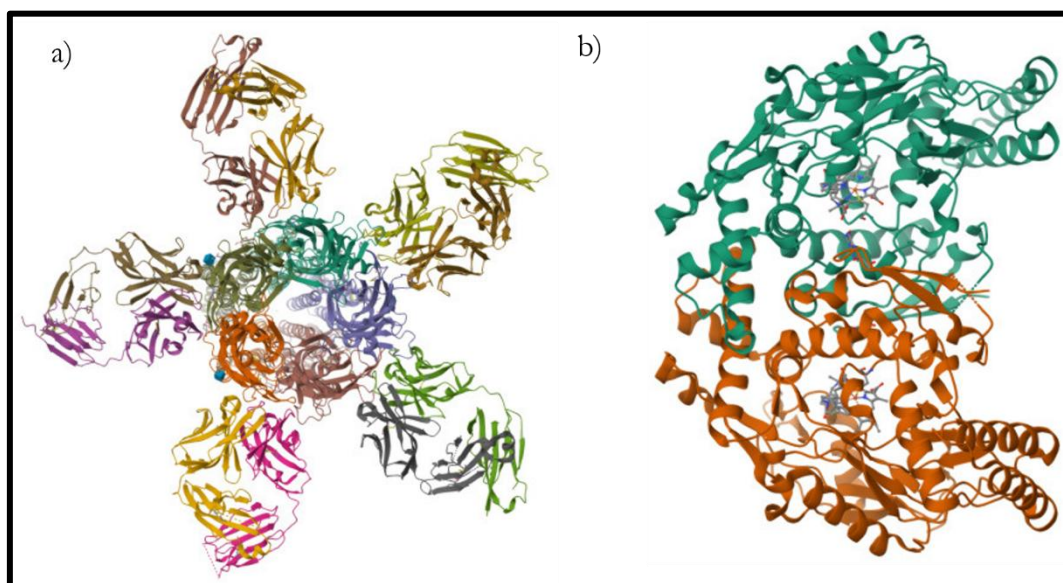


Figura 11. Estructuras cristalizadas de los blancos moleculares utilizados. **(a)** Canal de canal de glutamato regulado por cloro (GluCl) de *C. elegans* (PDB: 3RHW); y **(b)** Óxido nítrico sintasa murina (PDB ID: 3E65).

6.1.5 Acoplamiento molecular

6.1.5.1 Acoplamiento molecular para la actividad AH

Los estudios de acoplamiento molecular para la actividad AH se realizaron empleando el software AutoDock 4.2. Se definió una cuadrícula tridimensional (Figura 12a) de $60 \times 60 \times 60$ puntos, con una separación de 0.375 Å, y centrada en las coordenadas 11.004, 91.234, 23.24 (x,y,z) cubriendo la región del sitio activo del canal GluCl. El algoritmo genético de Lamarck fue

utilizado como método de búsqueda, realizando un total de 100 ejecuciones independientes, con un máximo de 2,500,000 evaluaciones energéticas y una población inicial de 100 conformaciones.

6.1.5.2 Acoplamiento molecular para la actividad AA

Para la evaluación del acoplamiento molecular frente a iNOS se utilizó una cuadrícula (Figura 12b) de $60 \times 60 \times 60$ puntos con una separación de $0.375^\circ \text{\AA}$ y centrada en las coordenadas 119.545, 115.066, 34.334 (x,y,z) abarcando los residuos Asp376, Tyr367, Glu371, Trp366, Met368, Gly365, Pro344, así como los cofactores HEM y H4B (Crane, 1997; Garcin *et al.*, 2008). Los mapas de energía se generaron con AutoGrid, y el acoplamiento se realizó con AutoDock4 v4.2.6, utilizando el algoritmo genético de Lamarck como método de búsqueda con un total de 100 ejecuciones independientes por ligando.

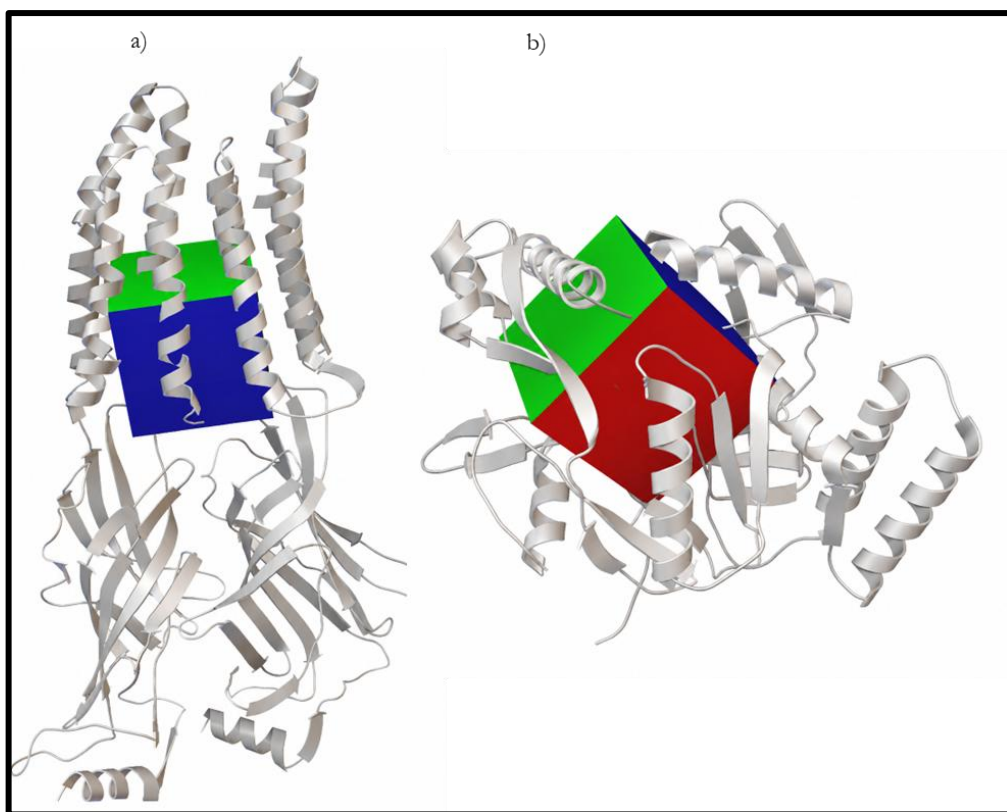


Figura 12. Estructuras tridimensionales de las proteínas empleadas en los análisis de docking molecular: **(a)** canal de glutamato regulado por cloro (GluCl) de *C. elegans* (PDB: 3RHW) y **(b)** óxido nítrico sintasa (PDB: 3E65). Los cubos coloreados representan el volumen de búsqueda (grid box) definido para los estudios de acoplamiento molecular.

6.1.6 Análisis y selección de los modos de unión

La selección del mejor modo de unión para cada ligando se realizó considerando la menor energía libre de unión (ΔG) y el mayor tamaño de clúster como criterios de estabilidad, afinidad y reproducibilidad del acoplamiento molecular. Los complejos proteína–ligando se analizaron con los softwares PyMOL v3.0.5 y Discovery Studio Visualizer v24.1.0.23298 para identificar las interacciones generadas. Los resultados obtenidos fueron utilizados para el análisis posterior de las interacciones moleculares y su correlación con los ensayos *in vitro*.

6.2 Pruebas *in vitro*

6.2.1 Diseño general de las pruebas *in vitro*

6.2.2 Obtención y preparación de compuestos comerciales

Los compuestos: ácido pentadecanoico (CAS 1002-84-2), ácido esteárico (CAS 57-11-4), ácido palmítico (CAS 57-10-3), ácido linoleico (CAS 60-33-3), allitol (CAS 488-44-8), adonitol (CAS 488-81-3), xilitol (CAS 87-99-0), trealosa (CAS 6138-23-4), β -sitosterol (CAS 83-46-5), ergosterol (CAS 57-87-4) fueron adquiridos en SIGMA-ALDRICH® (Toluca de Lerdo, Estado de México, México). Los autores agradecen a la Dra. Ma. del Rayo Sánchez Carbente por la disponibilidad del ergosterol.

6.2.3 Evaluación de la actividad AH

6.2.3.1 Obtención de material biológico

Para evaluar la actividad AH se utilizaron larvas infectantes L3 de *Haemonchus contortus*, las cuales se produjeron en un donante ovino Pelibuey macho de 3 meses de edad y libre de parásitos en las instalaciones de producción de nematodos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (FMVZ-UADY). El donante fue infectado artificialmente con 350 larvas L3 por kilogramo de peso corporal de la cepa Paraíso *H. contortus* resistente a benzimidazoles obtenida originalmente de una granja de ovinos en Yucatán, México, como lo describe Chan-Pérez *et al.* (2017).

Tras 21 días post-infección, se recogieron muestras fecales directamente del animal y se realizó la técnica McMaster para confirmar que la infección era positiva (Torres-Acosta *et al.*, 2015). Para obtener las larvas infectantes, se recogieron las heces de los animales con la ayuda de un recipiente de plástico. Las heces se transfirieron a coprocultivos, que se incubaron a 27 ± 1 °C

durante 5 días. Tras el periodo de incubación, se recuperaron las larvas mediante la técnica del embudo de Baerman (Chan-Pérez *et al.*, 2017).

Una vez obtenidas las larvas L3, se eliminaron las vainas utilizando hipoclorito de sodio a una concentración de 0.187%, a la que se expusieron las larvas durante 5 min. Posteriormente, se realizaron tres lavados con agua destilada durante 1.5 min a 3500 rpm para eliminar el hipoclorito de sodio (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

6.2.3.2 Evaluación *in vitro* de los compuestos contra larvas L3 de *Haemonchus contortus*

La evaluación *in vitro* se llevó a cabo utilizando dos pruebas 1) Mortalidad larvaria y 2) Migración larvaria. Para la prueba de mortalidad larvaria (ML) se utilizaron placas de 96 pocillos en donde se colocaron 50 µL de los compuestos (ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β-sitosterol y ergosterol) a diferentes concentraciones (0.10, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg/mL) y 50 µL de una suspensión acuosa de larvas L3 sin vaina de la cepa paraíso de *H. contortus*. Se incluyó como control positivo una solución de ivermectina (IVERPLUS 1% solución inyectable Vet's Pharma) a las mismas concentraciones y como control negativo dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich) al 0.5 % v/v. Para cada tratamiento se realizaron 4 repeticiones. Posteriormente se cubrieron las placas con papel aluminio y se incubaron a 28 ± 1 °C durante 72 h. Terminado el tiempo de incubación se realizaron lecturas post confrontación con un microscopio óptico (4x y 10x). El porcentaje de mortalidad (ML) se calculó mediante la fórmula (Páez-León *et al.*, 2022).

$$ML (\%) = \frac{\text{Número de larvas muertas}}{\text{Número de larvas vivas} + \text{Número de larvas muertas}} \times 100$$

Para la prueba de migración larvaria (LM) se adaptó la técnica descrita por Torres-Acosta *et al.* (2015), para ello se utilizaron placas de 24 pocillos; cada pocillo contenía 200 µL de los compuestos ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido linoleico, ácido esteárico en concentraciones de 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg/mL y 200 µL de una suspensión de larvas L3 sin vaina de *H. contortus*. Las placas se incubaron a 28 °C durante 72 h, posteriormente, el contenido de cada pocillo se filtró a través de tamices (malla de 25 µm), que se colocaron en placas nuevas denominadas placas de migración. Las placas de migración se incubaron a 28 °C

durante 24 h para permitir que las larvas migraran a través del tamiz. Finalmente se realizó el conteo de las larvas migradas y no migradas bajo un microscopio óptico (40x y 10x). El porcentaje de migración larvaria (IML%) en cada concentración se calculó utilizando la siguiente fórmula (Demeler *et al.*, 2010b):

$$\text{IML}\% = \frac{\text{Larvas L3 no migradas}}{\text{Número total de larvas (migradas y no migradas)}} * 100$$

Los datos obtenidos en los diferentes bioensayos se expresaron como media $\pm$ desviación estándar (DE). Los porcentajes de mortalidad y motilidad fueron transformados mediante la transformación arcoseno de la raíz cuadrada con el propósito de satisfacer los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas requeridos para los análisis paramétricos.

Posteriormente, los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), considerando como factores el tratamiento y la concentración. Para los ensayos de mortalidad larvaria, las diferencias entre tratamientos se evaluaron mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett, utilizando ivermectina (IVE) como control de referencia. En los ensayos de motilidad larvaria, las comparaciones entre concentraciones dentro de cada tratamiento se realizaron mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

En todos los análisis se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ ($p < 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad Prism versión 8.0.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, California, EE. UU.).

6.2.4 Evaluación de la actividad AA

6.2.4.1 Cultivo celular de macrófagos RAW 264.7

Para esta prueba se utilizó la línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7 (ATCC), los cuales fueron cultivados en medio DMEM/F12 (Biowest) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS; GIBCO) inactivado por calor, sin antibióticos. Las células se mantuvieron en cajas de cultivo de 25 cm² a 37°C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ hasta su uso.

6.2.4.2 Tratamiento de macrófagos y estimulación con LPS

Se utilizaron placas de 96 pocillos, en donde se sembraron las células RAW 264.7 a una densidad de 2×10^5 células/pocillo en 180 μ L de medio DMEM/F12 suplementado con 10 % de FBS, y se incubaron durante 1 h a 37°C y 5 % de CO₂ (Flores-Vallejo *et al.*, 2020). A continuación, se adicionaron 20 μ L de cada compuesto (ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido linoleico, allitol, adonitol, xilitol, trealosa, β -sitosterol y ergosterol) a diferentes concentraciones (75, 50, 25, 10 y 5 μ g/mL), empleando dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich) al 0,5 % v/v como vehículo, además de usar clorhidrato de aminoguanidina (Sigma-Aldrich) como control positivo en las mismas concentraciones antes mencionadas. Las placas se incubaron durante 1 h bajo las mismas condiciones descritas anteriormente.

Tras este periodo, los macrófagos fueron estimulados con lipopolisacáridos (LPS, 1 μ g/mL) de *Escherichia coli* serotipo O111:B4 (Sigma-Aldrich) y se incubaron durante 24 h para inducir la producción de óxido nítrico (NO) (del Carmen Flores-Vallejo *et al.*, 2020).

6.2.4.3 Evaluación de la respuesta antiinflamatoria

Transcurrido el tiempo de incubación, se tomaron 100 μ L del sobrenadante de cada pocillo y se mezclaron con 100 μ L del reactivo de Griess en placas de 96 pocillos independientes. La mezcla se incubó durante 10 min a temperatura ambiente y la absorbancia se midió a 540 nm empleando un lector de microplacas SpectraMax® iD3 para cuantificar la producción indirecta de NO con relación a una curva estándar para la detección de NO por el reactivo de Griess realizada previamente (Gesto, 2019).

Como paso siguiente se determinó la viabilidad celular mediante el ensayo de rezasurina (Ahmed *et al.*, 1994). Para esto, se retiró todo el sobrenadante de las placas que no tenían reactivo de Griess y se agregaron 180 μ L de medio DMEM/F12 suplementado con 10% de FBS y 20 μ L de rezasurina 2 mM (Sigma-Aldrich). Las placas se incubaron durante 12 h a 37°C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂. La fluorescencia se registró a longitudes de onda de excitación y emisión de 544 y 590 nm, respectivamente, utilizando un lector de microplacas SpectraMax® iD3. Finalmente, se calcularon los porcentajes de viabilidad celular tomando como 100% de viabilidad las células sin ningún tratamiento (Flores-Vallejo *et al.*, 2020).

Los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar. Las diferencias en la concentración de nitritos y la viabilidad celular se analizaron mediante un ANOVA de dos vías,

seguido de la prueba *t* de Dunnett. Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad Prism versión 8.01 (GraphPad Software Inc.).

6.2.5 Evaluación de la actividad citotóxica

6.2.5.1 Cultivo celular de líneas de cáncer

Se utilizaron las líneas celulares de cáncer humano de mama (MCF-7; HTB-22) y páncreas (PANC1; CRL-1469) de la ATCC (American Type Culture Collection, EE) junto con la línea de queratinocitos humanos (HaCAT). Los cultivos celulares MCF-7 y PANC1 se cultivaron en medio RPMI-1640 (Sigma Aldrich) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (SFB, Invitrogen) y la línea celular HaCAT fue cultivada en medio DMEM/F12 (Biowest) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS; GIBCO), todos los cultivos celulares se mantuvieron en cajas de cultivo de 25 cm² a 37°C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ hasta su uso.

6.2.5.2 Tratamiento celular con los compuestos

Los cultivos celulares se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 4,000 células por pocillo en 190 µL de medio RPMI-1640 suplementado con 10% FBS. Las células se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂ para permitir su adhesión y crecimiento. A continuación, se añadieron 10 µL de cada compuesto a diferentes concentraciones (37.5, 25, 12.5, 5 y 2.5 µg/mL), utilizando DMSO al 0.5 % como vehículo y podofilotoxina como control positivo. Las placas se incubaron bajo las condiciones descritas anteriormente (37°C; 5% CO₂) durante periodos de 48 y 72 h.

6.2.5.3 Evaluación de la citotoxicidad

Al finalizar las 48 y 72 h de incubación, las células fueron fijadas mediante la adición de ácido tricloroacético (TCA) al 30% frío, lo que provoca la precipitación de las proteínas celulares y detiene la actividad metabólica, permitiendo conservar la biomasa celular adherida a la placa. Las placas se incubaron a 4°C durante 1 h y posteriormente se lavaron cuidadosamente con agua MQ para eliminar restos de medio de cultivo, compuestos no unidos y células no adheridas. Tras los lavados, las placas se dejaron secar a temperatura ambiente.

Una vez fijadas las células, se añadió una solución de Sulforodamina B al 0.4 % y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente, protegidas de la luz, para permitir la unión del colorante

a las proteínas celulares. El exceso de colorante no unido se eliminó mediante lavados repetidos con ácido acético al 1 %, y las placas se dejaron secar completamente. Finalmente, el colorante unido a las proteínas celulares se solubilizó mediante la adición de una solución de Tris base 10 mM (pH 10.5) y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm utilizando un lector de microplacas (Vichai y Kirtikara, 2006; Alejandre-García *et al.*, 2015).

La viabilidad celular se expresó como porcentaje respecto al control sin tratamiento, y a partir de estos datos se calcularon los valores de concentración inhibitoria media (IC_{50}), definida como la concentración del compuesto necesaria para inhibir el 50 % del crecimiento celular tras el periodo de incubación. Los compuestos con un valor de Concentración inhibitoria (IC_{50}) ≤ 4 $\mu\text{g/mL}$ se consideran citotóxicos de acuerdo con las directrices del NCI (Suffness, 1990)

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan y discuten los resultados obtenidos de la evaluación *in silico* e *in vitro* del efecto antihelmíntico, antiinflamatorio y citotóxico de ácidos grasos, azúcares y esteroides seleccionados. Los resultados se organizaron de acuerdo con cada actividad biológica evaluada, integrando los estudios de acoplamiento molecular con los ensayos experimentales correspondientes, con el fin de analizar la relación entre la afinidad de unión, los efectos biológicos observados y el potencial farmacológico de los compuestos estudiados.

7.1 Acoplamiento molecular y evaluación del efecto antihelmíntico

El protocolo de acoplamiento molecular fue previamente validado mediante un procedimiento de redocking utilizando la estructura cristalográfica del canal de GluCl de *C. elegans* (PDB ID: 3RHW). El ligando co-cristalizado ivermectina fue extraído del sitio activo y posteriormente reacoplado bajo las mismas condiciones empleadas para los compuestos en estudio. Una vez validado el modelo, se procedió al análisis del acoplamiento molecular de los compuestos evaluados.

Los estudios de acoplamiento molecular (Cuadro 3) realizados frente a GluCl mostraron que el compuesto de referencia ivermectina presentó la energía de acoplamiento más baja (-13.57 kcal/mol), validando el modelo por su conocida actividad antiparasitaria sobre este canal. Entre los compuestos evaluados, los esteroides ergosterol (-10.25 kcal/mol) y β -sitosterol (-10.18 kcal/mol) mostraron una alta afinidad teórica, cercana a la del control positivo, lo que sugiere un potencial relevante de interacción con el canal iónico. En contraste, los ácidos grasos y azúcares presentaron energías de acoplamiento superiores a -4.5 kcal/mol, indicando afinidades menores y, por tanto, un potencial de interacción reducido en este blanco.

Cuadro 3. Energías libres de unión de los compuestos evaluados frente a los canales de cloro activados por glutamato (GluCl)

Compuesto	Energía de acoplamiento(kcal/mol)
Ivermectina	-13.57
Ergosterol	-10.25
β -sitosterol	-10.18
Ácido linoleico	-4.59
Ácido palmítico	-4.47
Ácido pentadecanoico	-4.36
Trealosa	-4.32
Ácido esteárico	-4.22
Xilitol	-3.44
Adonitol	-3.19
Allitol	-2.26

La Figura 13 muestra las interacciones establecidas entre la proteína GluCl de *Haemonchus contortus* y los ligandos ivermectina (a), ergosterol (b) y β -sitosterol (c). En todos los complejos analizados se observa la participación de los aminoácidos Thr257, Gln260 y Thr285 de la cadena A, así como Val218 de la cadena B, los cuales han sido descritos como residuos esenciales del sitio activo del canal (Sanches-Politi *et al.*, 2021).

En el caso de la ivermectina, se identificaron múltiples enlaces de hidrógeno convencionales con los residuos Trp335, Leu218, Ser60 y Gly281, lo que resalta la capacidad del ligando para establecer un anclaje polar estable dentro del canal. De manera simultánea, se observaron diversas interacciones hidrofóbicas con los residuos Phe213, Ile222, Ile229, Cys225, Met226, Leu217, Phe288 y Met284, además de contactos con Val218, un residuo clave del sitio activo. Este patrón de interacciones es consistente con la naturaleza anfifílica de la ivermectina y con su afinidad bien documentada por los canales GluCl, donde actúa como un modulador alostérico altamente eficaz.

Por otro lado, el modo de unión del ergosterol se caracterizó principalmente por interacciones hidrofóbicas. El núcleo esteroideal del compuesto se estabilizó mediante contactos de tipo alquilo

y π -alquilo con los residuos Ile222, Pro223, Met226, Met284, Ile280, Leu218 y Phe288, generando un entorno altamente no polar acorde con su estructura química. Aunque se detectó un enlace de hidrógeno con Thr257, un residuo crucial del sitio activo, la interacción global estuvo dominada por la complementariedad hidrofóbica. Este comportamiento concuerda con la naturaleza mayoritariamente apolar de los esteroides y su tendencia a localizarse en cavidades transmembranales de baja polaridad.

Finalmente, en el complejo formado por β -sitosterol, el grupo hidroxilo del esteroide estableció enlaces de hidrógeno bien definidos con los residuos Asp277 y Gln219, además de un contacto polar adicional con Ile280, lo que sugiere la formación de sitios específicos de reconocimiento dentro del sitio activo. De forma concomitante, el resto de la molécula participó en múltiples interacciones hidrofóbicas con los residuos Met226, Met284, Ile222, Ile229, Leu218, Phe288, Cys225 y Pro223, incluyendo contactos con Val218 que contribuyen a la estabilización del anillo esteroidal dentro del sitio activo.

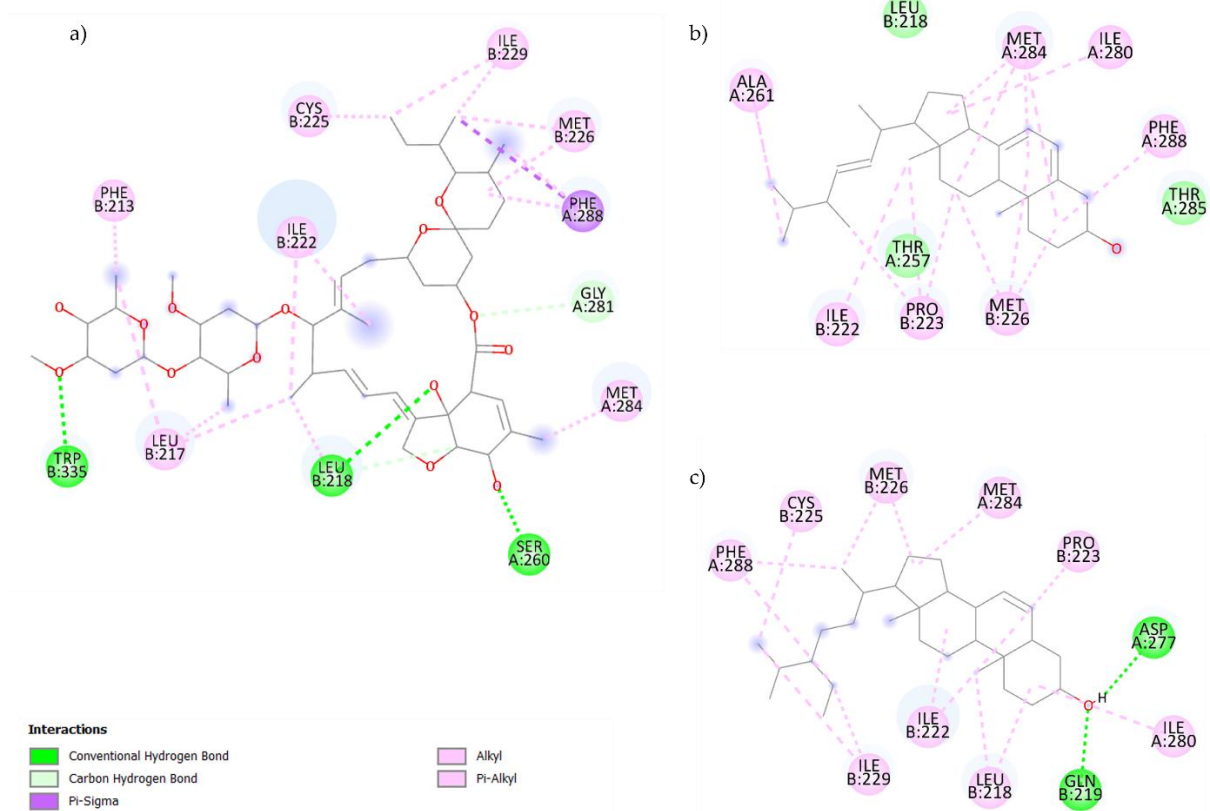


Figura 13. Representación de los complejos proteína–ligando (a) ivermectina, (b) ergosterol, (c) β -sitosterol obtenidos mediante acoplamiento molecular en GluCl de *H. contortus*

En lo que refiere a los resultados del ensayo de mortalidad contra larvas infectantes L3 de *H. contortus* el análisis de los datos (Figura 14) reveló que el tratamiento con ivermectina (IVE) destacó por presentar los porcentajes más elevados de mortalidad presentando un efecto dosis-dependiente y confirmando su eficacia consistente y robusta. Por el contrario, el tratamiento con adonitol, xilitol y trealosa mostró los niveles más bajos de mortalidad. En lo que respecta a los esteroides (BST, ERG) y los ácidos grasos (APA, APE, AES, ALN) el tratamiento con mayor eficacia fue ALN con un 39 % de mortalidad a una concentración de 1 mg/mL, seguido del ergosterol (26%) y el β -sitosterol (22%) a la misma concentración.

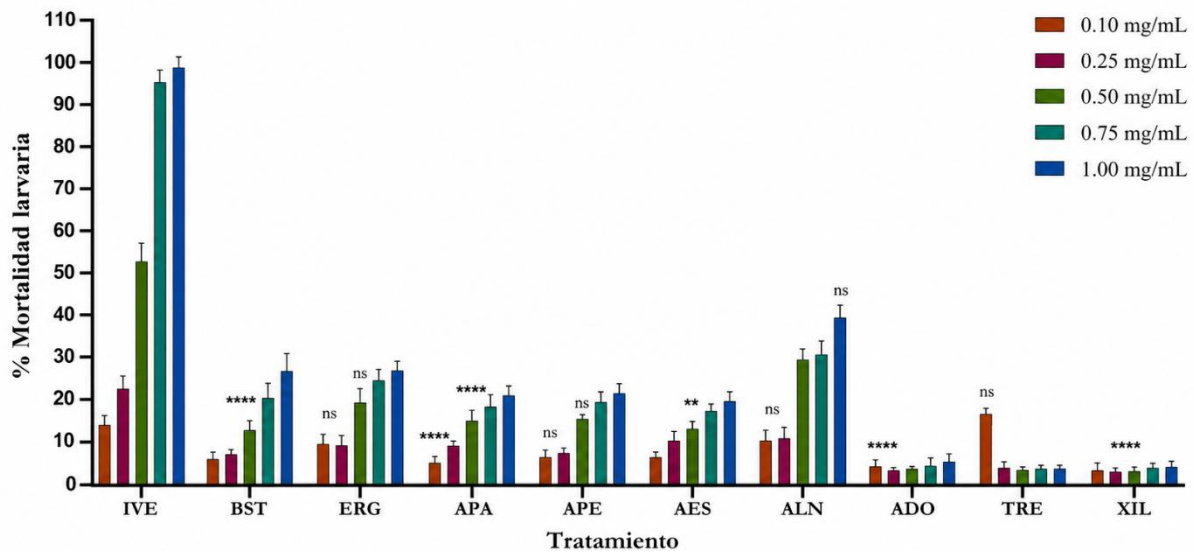


Figura 14. Mortalidad de los diferentes tratamientos sobre larvas infectantes L3 de *H. contortus*. IVE (ivermectina), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), AES (ácido esteárico), ALN (ácido linoleico), ADO (adonitol), TRE (trealosa), XIL (xilitol). Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar (n = 4). * indica diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, prueba post hoc de Tukey, $p < 0,05$) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, “ns” no hubo diferencia significativa.

Cabe mencionar que uno de los criterios para distinguir las larvas vivas de las muertas fueron la motilidad y la respuesta a estímulos físicos. Durante las lecturas del ensayo, se consideraron vivas todas las larvas que se movían con rapidez y regularidad normal. Las larvas que estaban en forma de “C” o completamente estiradas se consideraban muertas y aquellas larvas que no cumplían

con lo anterior se estimulaban físicamente. Si tras esta estimulación no se movían se consideraban muertas, mientras que las que mostraban un movimiento ligero, más lento y reducido de lo normal se encontraban en un estado intermedio clasificándolas como inmóviles pero vivas, es decir, bajo un efecto inhibitor de la motilidad.

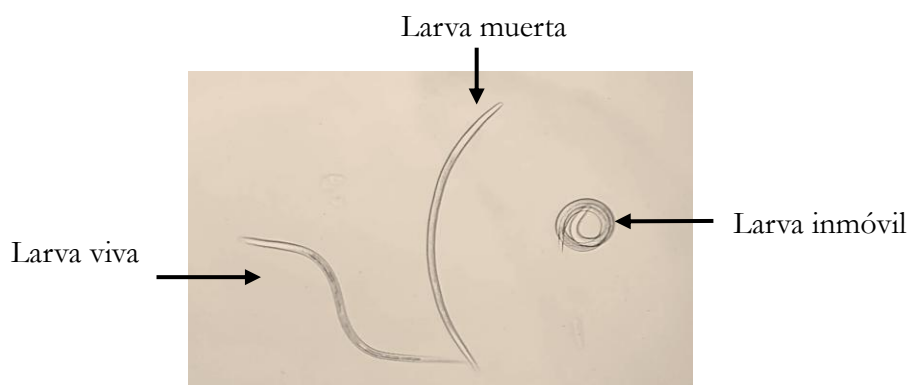


Figura 15. Microfotografía representativa de larvas L3 de *H. contortus* utilizadas en el ensayo de mortalidad larvaria observadas bajo microscopio óptico 10x. Se observan diferentes posturas corporales, incluyendo larvas extendidas y enrolladas, indicativas de alteraciones en la motilidad. Las flechas señalan las estructuras analizadas.

Tomando en cuenta lo anterior, se observó que solo los ácidos grasos presentaron un efecto inhibitor de la motilidad larvaria confirmando este efecto con la prueba de migración larvaria tal como se describe en la metodología. Con este ensayo se pudo observar que el tratamiento con ALN presentó el mayor efecto con la concentración más baja evaluada, mientras que concentraciones más altas no aumentaron de forma consistente el efecto inhibitor. Sin embargo, todos los tratamientos mostraron un efecto predominante al reducir la motilidad larvaria, aunque no se observó una relación dosis-dependiente (Figura 16).

Diversos estudios han demostrado el potencial nematicida de los ácidos grasos (AG) frente a distintos nematodos. Zhang *et al.* (2012) evaluaron nueve AG contra el fitoparásito *Meloidogyne incognita* y reportaron que los ácidos butírico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico y oleico redujeron significativamente la reproducción del parásito, además de inhibir la eclosión

de huevos. En particular, el ácido cáprico disminuyó la tasa de eclosión hasta un 15.8%, y varios de estos AG alcanzaron una mortalidad del 50% en juveniles de segundo estadio a 2,000 $\mu\text{mol/L}$.

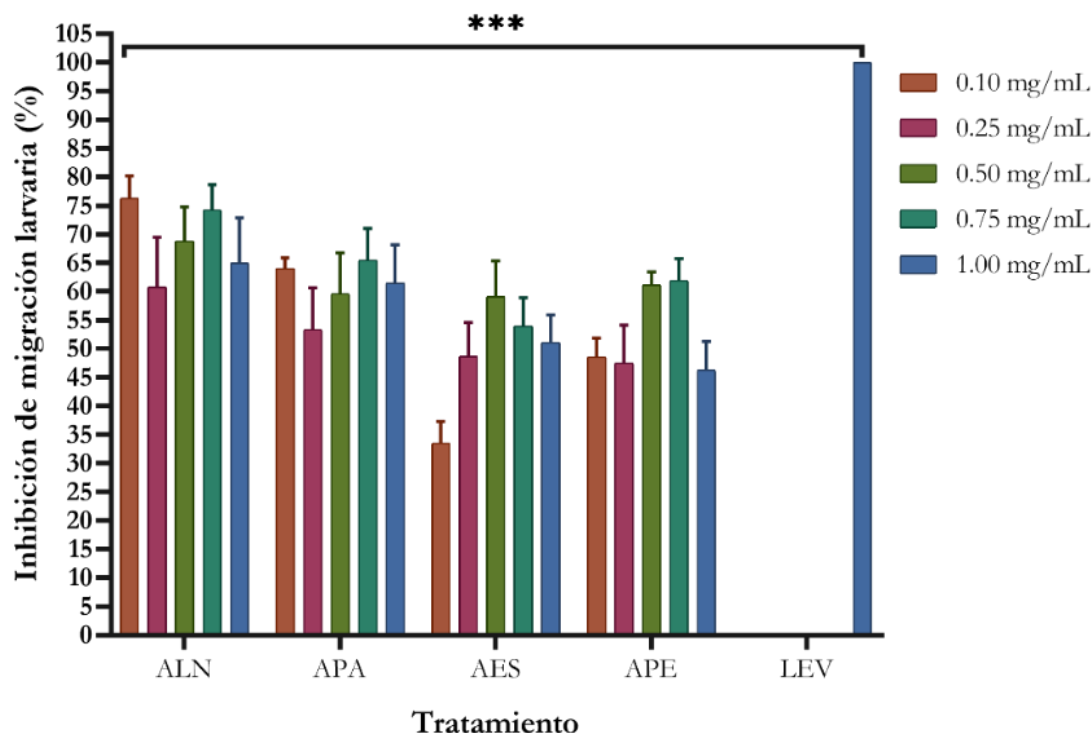


Figura 16. Efectos de los ácidos grasos en la prueba de migración larvaria de *Haemonchus contortus*. LEV (levamisol), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), AES (ácido esteárico), ALN (ácido linoleico). Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar ($n = 4$). Los asteriscos indican diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, prueba *post hoc* de Tukey, $p < 0,05$): *** $p < 0,001$. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos tratado y control.

Por su parte, Panda *et al.* (2020), mediante fraccionamiento biodirigido de extractos etanólicos de *Holigarna caustica*, identificaron al ácido linoleico como el principal responsable de la actividad nematocida contra *Caenorhabditis elegans*, con una IC_{50} de 0.2 $\mu\text{g/mL}$. Asimismo, Pineda-Alegría *et al.* (2020) evaluaron los ácidos pentadecanoico, palmítico, esteárico y linoleico contra huevos y larvas de *H. contortus*, observando que el ácido palmítico y el esteárico inhibieron completamente la eclosión en determinadas combinaciones, mientras que la mezcla de los cinco compuestos produjo un efecto dosis-dependiente con 100% de mortalidad larvaria a las 24 h.

En el presente estudio, aunque el ácido linoleico mostró la mayor actividad nematicida entre los compuestos evaluados, los porcentajes de mortalidad obtenidos fueron inferiores a los reportados en algunos trabajos previos. Estas diferencias podrían atribuirse a variaciones metodológicas, concentraciones empleadas y, de manera relevante, al uso de una cepa de *H. contortus* resistente a benzimidazoles. La resistencia antihelmíntica se asocia principalmente con mutaciones en el gen de la β -tubulina, las cuales pueden generar adaptaciones fisiológicas que modifiquen la susceptibilidad basal del parásito y potencialmente influyan en su respuesta frente a otros compuestos (Rufener *et al.*, 2009; Shokrani *et al.*, 2012). En este contexto, la menor magnitud del efecto observado no necesariamente refleja una baja actividad intrínseca de los ácidos grasos, sino que podría estar relacionada con el perfil genético particular de la cepa utilizada, lo cual aporta mayor relevancia aplicada a los resultados considerando la creciente prevalencia de resistencia en campo.

Los mecanismos antiparasitarios de los AG aún no están completamente dilucidados; sin embargo, se ha propuesto que su actividad nematicida podría deberse a la alteración de la integridad de la cutícula o de la hipodermis mediante un efecto tipo detergente, o a su interacción directa con regiones lipofílicas de las membranas plasmáticas. En particular, el ácido linoleico podría modular receptores ionotrópicos de neurotransmisores como GABA y NMDA, blancos farmacológicos de diversos antihelmínticos, lo que sugiere un posible mecanismo neurotóxico complementario (Davis *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 2018).

Respecto al análisis de acoplamiento molecular realizado, se puede observar que los compuestos que mejor afinidad tienen a la proteína blanco fueron ergosterol y β -sitosterol, ambos con una energía de acoplamiento similar a la del control ivermectina, lo que nos estaría indicando que estos compuestos pueden afectar a los nematodos a través de los canales de cloro ligados a glutamato. Sin embargo, si comparamos estos resultados con los de las pruebas *in vitro* podemos observar que hay una variación entre los compuestos que tuvieron un efecto de mortalidad positivo y sus energías de acoplamiento. Esto puede suceder por varios factores, entre ellos debemos tener en cuenta que las simulaciones se realizan a condiciones diferentes (variaciones de temperatura, pH, y concentración iónica), a las de un ensayo *in vitro*. Además, los análisis de acoplamiento molecular se realizan en escalas de tiempo muy cortas, mientras que las interacciones biológicas pueden ocurrir en escalas de tiempo más largas (minutos, horas, días), lo que puede llevar a diferencias en los resultados observados. Si bien los análisis de acoplamiento

molecular son herramientas poderosas para predecir y entender las interacciones entre ligandos y proteínas, es fundamental considerar estas limitaciones y diferencias al interpretar los resultados. Las pruebas *in vitro* y otros métodos experimentales siguen siendo cruciales para validar y complementar los hallazgos de las simulaciones computacionales, proporcionando una comprensión más completa y precisa de la biología subyacente.

7.2 Acoplamiento molecular y evaluación del efecto antiinflamatorio

El protocolo de acoplamiento molecular fue previamente validado mediante un procedimiento de redocking utilizando la estructura cristalográfica de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS, PDB ID: 3E65). El ligando cocrystalizado (Inhibidor AR-C120011) fue extraído del sitio activo y posteriormente reacoplado bajo las mismas condiciones empleadas para los compuestos en estudio. Una vez validado el modelo, se procedió al análisis del acoplamiento molecular de los compuestos evaluados.

Los resultados (Cuadro 4) revelaron que el β -sitosterol fue el compuesto con mayor afinidad de acoplamiento (-11.39 kcal/mol), seguido por el ergosterol (-10.90 kcal/mol), superando la afinidad del inhibidor AR-C120011 (-10.16 kcal/mol) y de la aminoguanidina (-4.70 kcal/mol) utilizada como control positivo debido a que es un inhibidor selectivo de iNOS, ayudando a reducir el estrés oxidativo tisular.

Cabe destacar que, a pesar de su menor energía de afinidad, la aminoguanidina es un inhibidor bien caracterizado de la iNOS, lo que sugiere que su mecanismo de acción está más relacionado con interacciones específicas dentro del sitio catalítico que con una alta afinidad global predicha por acoplamiento molecular, ya que ha sido ampliamente descrita como un inhibidor selectivo de esta isoforma en diversos modelos biológicos (Pitsikas, 2024). Su naturaleza altamente polar y su bajo peso molecular limitan las interacciones hidrofóbicas extensivas, predominantes en compuestos como los esteroides, pero favorecen interacciones dirigidas como puentes de hidrógeno y contactos electrostáticos con residuos clave implicados en el reconocimiento del sustrato natural (Ryszkiewicz *et al.*, 2025).

Cuadro 4. Valores de energía de afinidad de los compuestos evaluados

Compuesto	Energía de afinidad (kcal/mol)
Aminoguanidina (Control positivo)	-4.70
Inhibidor AR-C120011	-10.16
β -sitosterol	-11.39
Ergosterol	-10.90
Ácido linoleico	-7.27
Ácido palmítico	-6.29
Ácido esteárico	-6.26
Ácido pentadecanoico	-6.20
Trealosa	-5.99
Adonitol	-4.70
Xilitol	-4.42
Allitol	-4.27

Con el fin de analizar la naturaleza de las interacciones responsables de las altas afinidades obtenidas, se evaluaron los diagramas bidimensionales de interacción de los compuestos con mejor desempeño energético (Figura 17).

El inhibidor co cristalizado AR-C120011 (Figura 17a) estableció múltiples interacciones hidrofóbicas con residuos como PHE A:288, ILE B:222, LEU B:217 e ILE B:229, además de enlaces de hidrógeno con TRP B:335 y SER A:260, lo que contribuye a su estabilidad dentro del sitio activo. Por su parte, el β -sitosterol (Figura 17b) mostró un predominio de interacciones hidrofóbicas con residuos tales como MET B:226, ILE B:222, PRO B:223, ILE A:280 y PHE A:288 este patrón sugiere una fuerte complementariedad con el entorno hidrofóbico del bolsillo catalítico. De manera similar, el ergosterol (Figura 17c) exhibió interacciones hidrofóbicas con CYS B:225, MET B:226, LEU B:218 e ILE B:229, además de enlaces de hidrógeno con ASP A:277 y GLN B:219, contribuyendo potencialmente a la estabilidad del complejo proteína-ligando.

En conjunto estos resultados indican que los compuestos de naturaleza esteroidal presentan una mayor complementariedad estructural con el sitio activo de iNOS, favorecida principalmente por interacciones hidrofóbicas dentro del sitio catalítico. No obstante, la afinidad superior observada respecto al inhibidor co-cristalizado debe interpretarse con cautela, dado que las energías de acoplamiento constituyen estimaciones teóricas que no necesariamente reflejan la potencia inhibitoria real.

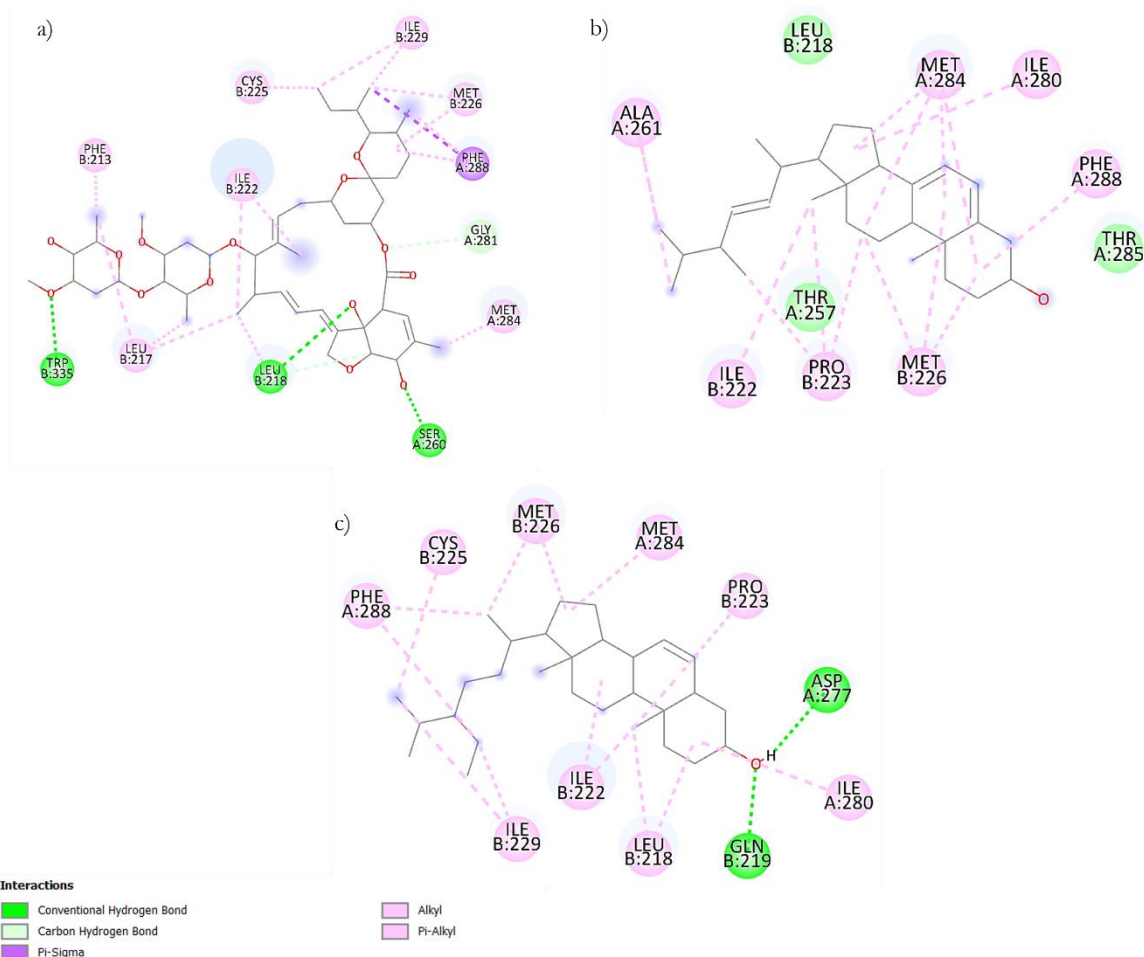


Figura 17. Diagrama bidimensional de las interacciones moleculares entre los compuestos con mayor afinidad y el sitio activo de la iNOS (PDB ID: 3E65). **(a)** Inhibidor cocristalizado AR-C120011; **(b)** β -sitosterol; **(c)** Ergosterol. Las líneas verdes indican enlaces de hidrógeno y las líneas rosadas interacciones hidrofóbicas (alquilo y π -alquilo).

En concordancia con los resultados *in silico*, el ensayo de Griess (Figura 18) demostró que la estimulación con LPS incrementó la producción de óxido nítrico ($67.34 \pm 2.18 \mu\text{M}$) confirmando la activación de la vía inflamatoria dependiente de iNOS, descrita en macrófagos murinos activados (Forstermann & Sessa, 2012).

Todos los compuestos evaluados redujeron significativamente la producción de NO en comparación con el grupo control LPS+, observándose en varios casos una tendencia dosis-dependiente. Los esteroides BST y ERG fueron los compuestos que mostraron la mayor afinidad de unión predicha en los análisis de acoplamiento molecular y, además, presentaron una inhibición de NO sostenida en todo el rango de concentraciones evaluado. Este efecto coincide con lo reportado por Yuan *et al.* (2019) donde evaluaron el efecto del ergosterol, β -sitosterol, estigmasterol, campesterol y acetato de ergosterol en células RAW 264.7 inducidas por LPS reportando una disminución en la producción de NO y TNF- α al inhibir la fosforilación de ERK (quinasa regulada por señales extracelulares), lo que sugiere que sus efectos antiinflamatorios pueden estar relacionados con la vía de señalización de ERK, que podría reducir la expresión de COX-2, iNOS y TNF- α inducida por LPS y finalmente conducir a la reducción de NO.

El efecto antiinflamatorio de los esteroides puede estar relacionado con diversos mecanismos como su capacidad para afectar la polarización celular (Shen *et al.*, 2024), su estructura química debido a la posición del doble enlace y el etilo, además, las características estéricas, electrónicas o hidrofóbicas también son factores influyentes (Yuan *et al.*, 2019). De acuerdo con Shen *et al.*, (2024) los esteroides podrían inhibir la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), inhibiendo así la activación de la quinasa I κ B (IKK) e inhibiendo aún más la actividad de NF- κ B y su expresión en el núcleo. Al mismo tiempo, los esteroides también podrían inhibir la activación de las quinasas MAP mediante la estimulación inflamatoria a través de receptores y proteínas relacionados, impidiendo así su regulación de los factores de transcripción relacionados. Finalmente, la producción de factores inflamatorios (TNF- α , COX-2, iNOS) se reduce y el contenido de NO disminuye. Sin embargo, no hay muchos estudios donde se demuestre que la actividad antiinflamatoria de los esteroides sea relacionada por su estructura química por lo que hacen falta más estudios que lo comprueben.

En lo que refiere a los ácidos grasos, se puede observar que no hubo una disminución significativa en la producción de NO en comparación con el control, en la mayoría de las concentraciones evaluadas los niveles de NO se mantuvieron relativamente cercanos al control

AMG, e incluso se observa una tendencia a incrementarse en concentraciones más elevadas. Estos resultados nos indican que bajo las condiciones experimentales empleadas en este trabajo estos AG no ejercen un efecto antiinflamatorio directo en la inhibición de la producción de NO en células RAW 264.7.

Este comportamiento coincide con estudios previos que han demostrado que algunos ácidos grasos saturados pueden promover respuestas inflamatorias en macrófagos. Tal es el caso del ácido palmítico el cual ha sido descrito como un mediador capaz de inducir la expresión de mediadores inflamatorios al estimular la producción de iNOS, TNF- α y proteína C reactiva (Wu *et al.*, 2014).

En otro estudio realizado por Hwangbo *et al.* (2021) se reportó que el ácido palmítico puede potenciar la respuesta inflamatoria en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS al incrementar la producción de mediadores inflamatorios como NO, IL-1 β e IL-6. Este efecto se relaciona con la activación de rutas de señalización intracelular asociadas con TLR4 y NF-kB, las cuales regulan la expresión de genes inflamatorios.

En lo que refiere al ácido linoleico un ácido graso poliinsaturado perteneciente a la familia omega-6, tampoco mostró una reducción evidente en la producción de NO. Es bien sabido que algunos AG poliinsaturados pueden ejercer efectos antiinflamatorios mediante la modulación de la expresión de iNOS, sin embargo, estos efectos suelen depender del tipo específico de AG. Se ha observado que los AG omega-3 pueden disminuir mejor la producción de NO en macrófagos al reducir la expresión de iNOS y el transporte de L-arginina (Huang *et al.*, 2013).

En conjunto, los resultados obtenidos sugieren que los ácidos grasos evaluados no presentan un efecto antiinflamatorio significativo en términos de inhibición de la producción de NO en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS. Este hallazgo resalta la importancia de considerar las características estructurales de los lípidos, como el grado de saturación y la longitud de la cadena carbonada, así como el contexto metabólico y celular, al evaluar su potencial modulador sobre la respuesta inflamatoria. Asimismo, es posible que estos compuestos ejerzan efectos biológicos en otros procesos celulares relacionados con el metabolismo lipídico, el estrés oxidativo o la regulación de citocinas inflamatorias, más que en la modulación directa de la producción de NO.

Finalmente, los polioles mostraron una reducción en la producción de NO, particularmente en concentraciones de 5-25 µg/mL, lo que concuerda con estudios donde se ha reportado su efecto antiinflamatorio. En este sentido, el xilitol ha sido de interés por sus beneficios en la salud dental, debido a que se ha reportado que el consumo de xilitol a corto plazo puede inhibir la producción de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-6 y IL-8 en infecciones dentales causadas por *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans* (Han *et al.*, 2005; Akgül *et al.*, 2020). También se ha reportado que el xilitol es capaz de disminuir la producción de mediadores inflamatorios en modelos celulares y animales mediante la posible modulación de la actividad de macrófagos y la reducción del estrés oxidativo (Salli *et al.*, 2019), sin embargo, son necesarios más estudios sobre su uso como posible agente antiinflamatorio en otras enfermedades. En otro estudio por Yu *et al.* (2023) reportan que la trealosa reduce la prostaglandina E2 y el óxido nítrico, en macrófagos estimulados por LPS mediante la reprogramación del metabolismo energético.

En general no hay muchos estudios sobre el efecto antiinflamatorio de los polioles, sin embargo, el efecto observado en el presente estudio puede atribuirse a la alta densidad de grupos hidroxilo que presentan los polioles, ya que esto les confiere una capacidad para interactuar con biomoléculas y reducir la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante la activación de vías antioxidantes lo que contribuye a limitar la activación de iNOS y por ende la producción de NO (Huang *et al.*, 2025).

En conjunto, la integración de los resultados computacionales y experimentales respalda el potencial antiinflamatorio de los compuestos evaluados, en especial de aquellos con mayor afinidad frente a iNOS. Sin embargo, es importante enfatizar que, aunque se observó una concordancia parcial entre la afinidad teórica y la inhibición experimental de NO, las energías de acoplamiento representan estimaciones computacionales que no necesariamente reflejan la potencia inhibitoria real ni la cinética enzimática y estos hallazgos deben interpretarse como evidencia preliminar que requiere estudios adicionales para confirmar el mecanismo de acción.

Los resultados del ensayo de viabilidad celular (Figura 19) mostraron que los compuestos evaluados no ejercieron efectos citotóxicos significativos a concentraciones de 5, 10 y 25 µg/mL, manteniendo porcentajes de viabilidad superiores al 80%. Ahora bien, a concentraciones de 50 y 75 µg/mL se observaron reducciones significativas en TRE y AMG. Estos hallazgos indican que los efectos observados en la producción de NO no pueden atribuirse a pérdida de viabilidad celular, sino a un posible efecto modulador específico sobre la actividad inflamatoria.

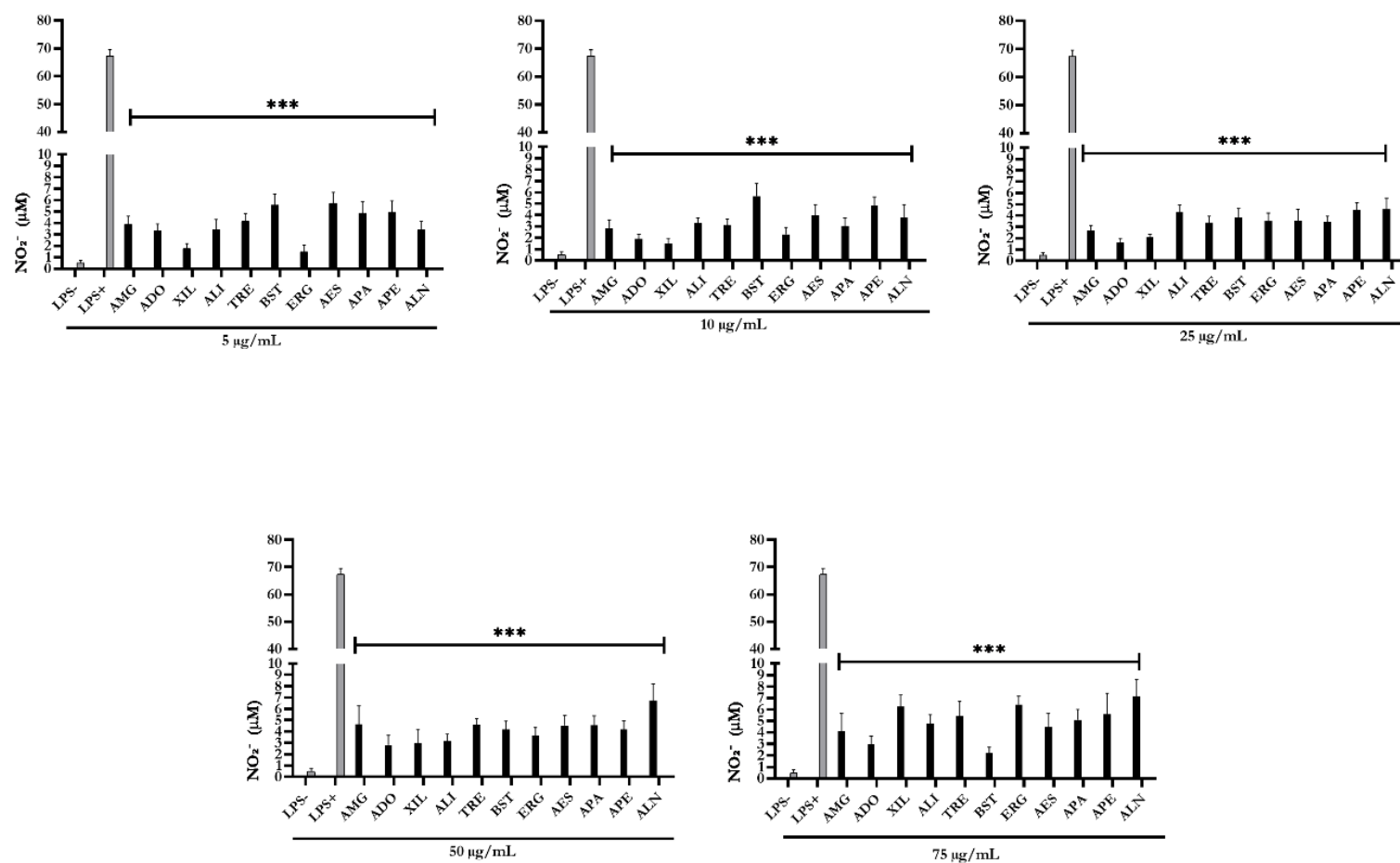


Figura 18. Efecto de los compuestos sobre la producción de NO en células RAW 264.7 estimuladas con LPS a diferentes concentraciones. Los datos se expresan como media $\pm$ DE. *** $p < 0.001$ vs LPS+. LPS: lipopolisacárido, ADO (adonitol), XIL (xilitol), ALI (allitol), TRE (trealosa), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), AES (ácido esteárico), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), ALN (ácido linoleico).

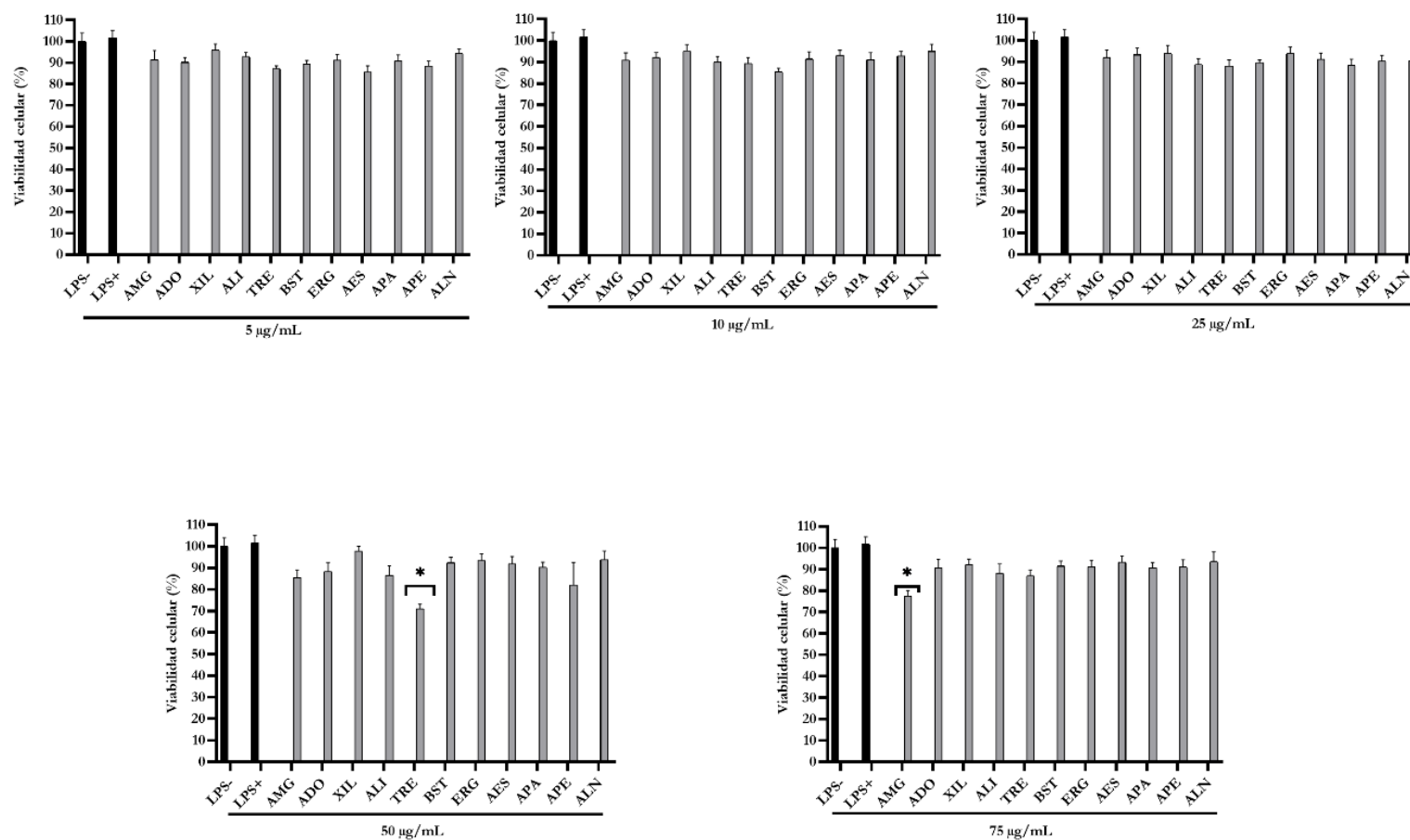


Figura 19. Efecto de los compuestos evaluados sobre la viabilidad celular en células estimuladas con LPS a diferentes concentraciones (5, 10, 25, 50 y 75 µg/mL. LPS: lipopolisacárido, ADO (adonitol), XIL (xilitol), ALI (allitol), TRE (trealosa), BST (β-sitosterol), ERG (ergosterol), AES (ácido esteárico), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico) y ALN (ácido linoleico).

7.3 Evaluación del efecto citotóxico

La actividad citotóxica de los compuestos se evaluó mediante el método colorimétrico de sulforodamina B (SRB), el cual se basa en la capacidad del colorante aniónico SRB para unirse de manera estequiométrica a los residuos básicos de las proteínas celulares en condiciones ácidas. La cantidad de colorante retenido es directamente proporcional al contenido proteico total y, por lo tanto, al número de células viables presentes en el cultivo (Vichai y Kirtikara, 2006).

Se evaluó la viabilidad celular de las líneas celulares cancerosas PANC-1 (CRL-1469) y MCF-7 (HTB-22), así como de la línea no tumoral de queratinocitos HaCat, tras 48 y 72 h de exposición a los compuestos ADO, XIL, ALI, TRE, ERG, BST, APA, APE, AES y ALN en un rango de concentraciones de 2.5–37.5 µg/mL.

A las 48 h de exposición (Figura 20a) la línea PANC-1 no mostró una disminución marcada en la viabilidad celular, manteniéndose valores cercanos o superiores al 80% en la mayoría de las concentraciones evaluadas. Algunos tratamientos como XIL, ALI, TRE, APA y AES presentaron ligeras reducciones en la viabilidad a concentraciones intermedias, sin embargo, estas variaciones no siguieron un patrón consistente, lo que sugiere una baja sensibilidad de esta línea celular a los compuestos evaluados.

En la línea MCF-7 se observó un comportamiento similar, con valores de viabilidad generalmente superiores al 90%. No obstante, algunos tratamientos, como ALI y TRE mostraron ligeras disminuciones en la viabilidad a concentraciones elevadas. Por su parte, en la línea HaCat, los compuestos no presentaron efectos citotóxicos evidentes, manteniendo la viabilidad celular por encima del 100% en la mayoría de los casos. Este comportamiento sugiere no solo la ausencia de toxicidad, sino también un posible efecto proliferativo leve, aunque a concentraciones altas algunos compuestos como XIL, ALI y TRE mostraron una tendencia a disminuir la viabilidad.

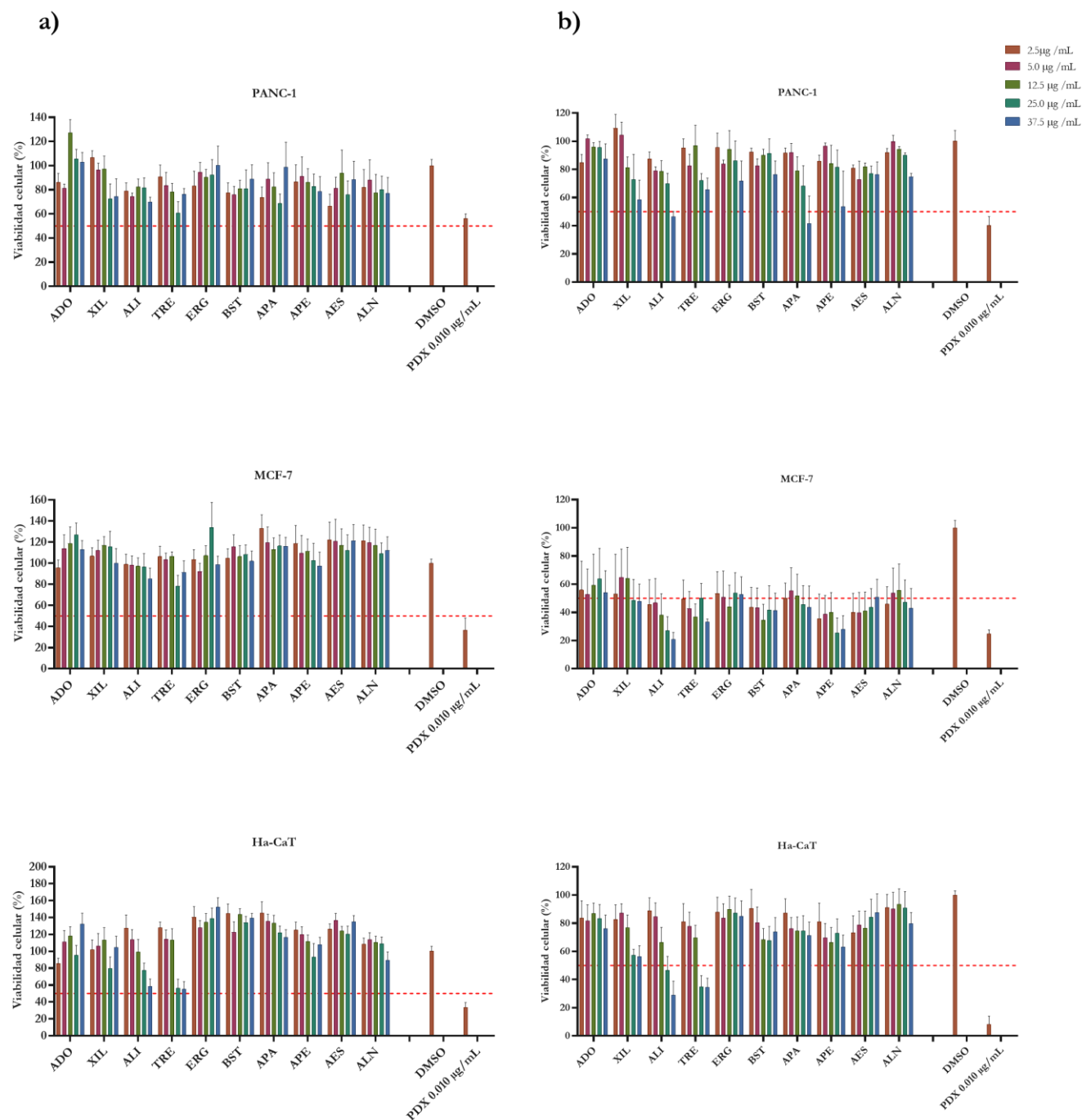


Figura 20. Viabilidad celular determinada por el ensayo de sulforodamina B en líneas celulares tumorales PANC-1, MCF-7 y línea no tumoral HaCaT. a) Efecto tras 48 h de exposición, b) efecto tras 72 h de exposición. ADO (adonitol), XIL (xilitol), ALI (allitol), TRE (trehalosa), BST (β -sitosterol), ERG (ergosterol), AES (ácido esteárico), APA (ácido palmítico), APE (ácido pentadecanoico), ALN (ácido linoleico), DMSO (dimetilsulfóxido) y PDX (podofilotoxina).

Estos resultados son consistentes con lo reportado para polioles, los cuales presentan en general baja toxicidad. En particular, el xilitol (XII) ha mostrado efectos inhibitorios en diversas líneas celulares cancerosas, incluyendo A549, Caki, NCI-H23, HCT-15, HL-60, K562 y SK MEL-2, además de inducir cambios morfológicos y autofagia en células de cáncer de pulmón A549 (Park *et al.*, 2015). Asimismo, se ha descrito que el xilitol puede ejercer efectos supresores de tumores mediante la inducción de estrés oxidativo y potenciar la actividad de agentes quimioterapéuticos como 5-FU (Tomonobu *et al.*, 2020). Sin embargo, estos efectos parecen ser dependientes del contexto celular y de la formulación, lo que podría explicar la limitada actividad observada en el presente estudio.

Tras 72 h de exposición (Figura 20b) se observaron cambios más notorios en la viabilidad celular. En la línea PANC-1 la mayoría de los compuestos mantuvo valores de viabilidad entre el 70 y 100%, aunque ALI, APA y APE mostraron una disminución más evidente a la concentración más alta (37.5 $\mu\text{g/mL}$). En contraste, la línea MCF-7 presentó una mayor sensibilidad, evidenciada por una reducción más pronunciada en la viabilidad celular, particularmente con los compuestos ALI, TRE, APA y APE, los cuales mostraron una tendencia más clara hacia la disminución conforme aumentaba la concentración, alcanzando valores cercanos o inferiores al 50% de viabilidad celular. A pesar de ello, esta respuesta no fue uniforme entre todos los compuestos, lo que sugiere mecanismos de acción diferenciados.

En este contexto, el ácido palmítico (APA) ha sido ampliamente descrito como un inductor de lipotoxicidad, capaz de promover la generación de especies reactivas de oxígeno y la activación de vías apoptóticas de manera dependiente del tiempo y la concentración (Urso *et al.*, 2021; Sergi *et al.*, 2022). La disminución observada en la viabilidad celular a tiempos prolongados podría estar asociada con estos mecanismos. De manera similar, el ácido pentadecanoico (APE) ha demostrado ejercer efectos citotóxicos en células MCF-7/SC con un valor de IC_{50} de $119 \pm 5,21 \mu\text{M}$ mediante la modulación de la vía de señalización JAK2/STAT3 (To *et al.*, 2020). Asimismo, se ha reportado que el ácido esteárico (AES) puede inhibir la proliferación de células de cáncer de mama *in vitro* (Evans *et al.*, 2009), lo que respalda parcialmente los efectos observados en este estudio.

Por otro lado, en la línea no tumoral HaCat, los compuestos mostraron en general una menor citotoxicidad en comparación con las líneas tumorales, manteniéndose la viabilidad celular

mayoritariamente por encima del 70%. Este comportamiento sugiere una posible selectividad hacia células cancerosas, aunque de manera limitada.

En conjunto, los resultados obtenidos indican que el incremento en el tiempo de exposición potencia moderadamente el efecto citotóxico de algunos compuestos, particularmente en la línea MCF-7. Este comportamiento sugiere un efecto dependiente del tiempo, posiblemente asociado a la acumulación progresiva de daño celular. Sin embargo, la ausencia de una respuesta dosis-dependiente clara en la mayoría de los tratamientos indica una baja potencia citotóxica, lo cual limita la interpretación cuantitativa de la actividad biológica. En consecuencia, la estimación de valores de IC₅₀ no resulta adecuada bajo las condiciones experimentales evaluadas.

9. CONCLUSIONES

El presente estudio integró el análisis *in silico* y las evaluaciones biológicas *in vitro* para caracterizar la actividad de diversos compuestos. El análisis de acoplamiento molecular permitió identificar múltiples conformaciones estables de los complejos ligando-proteína, destacando energías de acoplamiento favorables para los compuestos β -sitosterol y ergosterol, lo que sugiere una afinidad relevante hacia los blancos moleculares evaluados.

En los ensayos biológicos, los compuestos ergosterol, β -sitosterol, ácido esteárico y ácido linoleico mostraron un efecto inhibitorio sobre la mortalidad de larvas infectantes L3, mientras que los ácidos grasos evidenciaron un efecto sobre la motilidad larvaria, lo que sugiere una posible interferencia en procesos fisiológicos del nematodo *H. contortus*. Por otro lado, el β -sitosterol presentó el mayor efecto inhibitorio sobre la producción de nitritos, aunque esta reducción fue leve y dependiente de la concentración, mientras que el resto de los compuestos no mostró diferencias significativas respecto al control positivo, indicando una capacidad limitada para modular la respuesta inflamatoria inducida por LPS.

En cuanto a la actividad citotóxica, los compuestos evaluados mostraron en general una baja potencia citotóxica en las líneas celulares PANC-1, MCF-7 y HaCaT, caracterizada por la ausencia de una respuesta dosis-dependiente clara y por la imposibilidad de estimar valores confiables de IC₅₀. No obstante, se observó un incremento moderado en el efecto citotóxico a tiempos de exposición prolongados, particularmente en la línea MCF-7, lo que sugiere un comportamiento dependiente del tiempo y del tipo celular. Asimismo, la menor susceptibilidad

observada en la línea no tumoral HacaT indica una posible selectividad biológica, aunque limitada.

En conjunto, los resultados sugieren que, si bien los compuestos presentan afinidad molecular y ciertos efectos biológicos específicos, su actividad citotóxica y antiinflamatoria es limitada bajo las condiciones evaluadas. Sin embargo, su capacidad para afectar procesos como la motilidad larvaria y su comportamiento dependiente del tiempo en modelos celulares resaltan su potencial como moduladores biológicos, lo que justifica la realización de estudios adicionales enfocados en mecanismos de acción y en la optimización de condiciones experimentales para potenciar su actividad.

10. REFERENCIAS

- Abbott, K. A., Taylor, M. A., & Stubbings, L. A. (2012). *Sustainable worm control strategies for sheep: A technical manual for veterinary surgeons and advisers* (3rd ed.).
- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Igwe, D. O., Okeke, E. S., & Mbaaji, F. N. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*, 13, 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
- Aires, D., Teixeira, D., Marques, M. P. M., & Simões, S. (2015). Cytotoxic activity and chemical composition of the root extract from the Mexican species *Linum scabrellum*: Mechanism of action of the active compound 6-methoxypodophyllotoxin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Akgül, Ö., Topaloglu Ak, A., Zorlu, S., Öner Özdaş, D., Uslu, M., & Çayırgan, D. (2020). Effects of short-term xylitol chewing gum on pro-inflammatory cytokines and *Streptococcus mutans*: A randomized, placebo-controlled trial. *International Journal of Clinical Practice*, 74(9), e13623. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13623>
- Alejandre-García, I., Álvarez, L., Cardoso-Taketa, A., González-Maya, L., Antúnez, M., Salas-Vidal, E., Díaz, J., F., Marquina-Bahena, S., Villarreal, M., L. (2015). Cytotoxic activity and chemical composition of the root extract from the mexican species *Linum scabrellum*: mechanism of action of the active compound 6-methoxypodophyllotoxin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 298463.

- Aslantürk, Ö. S. (2018). *In vitro* cytotoxicity and cell viability assays: Principles, advantages, and disadvantages. En A. Larramendy & S. Soloneski (Eds.), *Genotoxicity: A predictable risk to our actual world*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Bartlett, J. M. S., Sgroi, D. C., Treuner, K., Zhang, Y., Ahmed, I., Piper, T., Salunga, R., & Viale, G. (2019). Breast cancer index and prediction of benefit from extended endocrine therapy in breast cancer patients treated in the aTTom trial. *Annals of Oncology*, 30(11), 1776–1783. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz289>
- Becerra-Nava, R., Quiroz-Romero, H., Mendoza-de Gives, P., & Liébano-Hernández, E. (2014). First report of cattle farms with gastrointestinal nematodes resistant to levamisole in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 204(3–4), 285–290.
- Bin Sayeed, M. S., & Ameen, S. S. (2015). Beta-sitosterol: A promising but orphan nutraceutical to fight against cancer. *Nutrition and Cancer*, 67(8), 1214–1220. <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1087042>
- Binnewies, M., Roberts, E. W., Kersten, K., Chan, V., Fearon, D. F., Merad, M., Coussens, L. M., Gabrilovich, D. I., Ostrand-Rosenberg, S., Hedrick, C. C., Vonderheide, R. H., Pittet, M. J., Jain, R. K., Zou, W., Howcroft, T. K., Woodhouse, E. C., Weinberg, R. A., & Krummel, M. F. (2018). Understanding the tumor immune microenvironment for effective therapy. *Nature Medicine*, 24(5), 541–550. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0014-x>
- Bogdan, C. (2001). Nitric oxide and the immune response. *Nature Immunology*, 2(10), 907–916. <https://doi.org/10.1038/ni1001-907>
- Bouic, P. J. D. (2001). The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: A review of the past 10 years. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 4(6), 471–475. <https://doi.org/10.1097/00075197-200111000-00001>
- Chai, J. W., Ismail, P., & Ismail, N. (2008). Beta-sitosterol induces apoptosis in MCF-7 cells. *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 16, 28–30.
- Chan, N., Willis, A., Kornhauser, N., Ward, M. M., Lee, S. B., Nackos, E., Seo, B. R., Chuang, E., Cigler, T., Moore, A., Donovan, D., Vallee Cobham, M., Fitzpatrick, V., Schneider, S., Wiener, A., Guillaume-Abraham, J., Aljom, E., Zerkowicz, R., Warren, J. D., ... Vahdat, L. (2017). Influencing the tumor microenvironment: A phase II study of copper depletion using

- tetrathiomolybdate in patients with breast cancer at high risk for recurrence and in preclinical models of lung metastases. *Clinical Cancer Research*, 23(3), 666–676. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1326>
- Chan-Pérez, J. I., Canul-Ku, H. L., Rodríguez-Vivas, R. I., & Torres-Acosta, J. F. J. (2017). Susceptibility of ten *Haemonchus contortus* isolates from different geographical origins towards acetone:water extracts of polyphenol-rich plants. Part 2: infective L3 larvae. *Veterinary Parasitology*, 240, 11–16.
- Chang, Y., Hawkins, B. A., Du, J. J., Groundwater, P. W., Hibbs, D. E., & Lai, F. (2022). A guide to in silico drug design. *Pharmaceutics*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010049>
- Chen, S., Yong, T., Zhang, Y., Su, J., Jiao, C., & Xie, Y. (2017). Anti-tumor and anti-angiogenic ergosterols from *Ganoderma lucidum*. *Frontiers in Chemistry*, 5, 85.
- Comşa, Ş., Cimpean, A. M., & Raica, M. (2015). The story of MCF-7 breast cancer cell line. *Journal of BUON*, 20(1), 13–18.
- Cordero del Campillo, M., & Rojo-Vázquez, F. A. (2000). *Parasitología veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana de España.
- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature01322>
- Cruz-Arévalo, J., Sánchez, J. E., González-Cortázar, M., Zamilpa, A., Andrade-Gallegos, R. H., Mendoza-de-Gives, P., & Aguilar-Marcelino, L. (2020). Chemical composition of an anthelmintic fraction of *Pleurotus eryngii* against eggs and infective larvae (L3) of *Haemonchus contortus*. *BioMed Research International*, 2020.
- Dai, X., Cheng, H., Bai, Z., & Li, J. (2017). Breast cancer cell line classification and its relevance with breast tumor subtyping. *Journal of Cancer*, 8(16), 3131–3141. <https://doi.org/10.7150/jca.18457>
- Davis, E. L., Meyers, D. M., Dullum, C. J., & Feitelson, J. S. (1997). Nematicidal activity of fatty acid esters on soybean cyst and root-knot nematodes. *Journal of Nematology*, 29(4S), 677.
- de Vaca, R. P. C., Cárdenas-Cárdenas, E., Mondragón-Terán, P., & Solís, A. A. E. V. (2018). Biología molecular del cáncer y las nuevas herramientas en oncología. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 22(4), 171–181.

- del Carmen Flores-Vallejo, R., Folch-Mallol, J. L., Sharma, A., Cardoso-Taketa, A., Álvarez-Berber, L., & Villarreal, M. L. (2020). ITS2 ribotyping, *in vitro* anti-inflammatory screening, and metabolic profiling of fungal endophytes from the Mexican species *Crescentia alata* Kunth. *South African Journal of Botany*, 134, 213–224.
- Desbois, A. P., & Smith, V. J. (2010). Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6), 1629–1642. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2355-3>
- Demeler, J., Küttler, U., El-Abdellati, A., Stafford, K., Rydzik, A., Varady, M., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2010). Standardization of the larval migration inhibition test for the detection of resistance to ivermectin in gastrointestinal nematodes of ruminants. *Veterinary Parasitology*, 174, 58–64.
- Dinarello, C. A. (2011). A clinical perspective of IL-1 β . *Nature Reviews Immunology*, 11(9), 633–642. <https://doi.org/10.1038/nri3064>
- Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. (2007). *In silico* pharmacology for drug discovery: Methods for virtual ligand screening and profiling. *British Journal of Pharmacology*, 152(1), 9–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bip.0707305>
- Elbein, A. D., Pan, Y. T., Pastuszak, I., & Carroll, D. (2003). New insights on trehalose: A multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13(4), 17R–27R. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwg047>
- Evans, L. M., Cowey, S. L., Siegal, G. P., & Hardy, R. W. (2009). Stearate preferentially induces apoptosis in human breast cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 61(5), 746–753. <https://doi.org/10.1080/01635580902825597>
- Farahani, A., Farahani, A., Kashfi, K., & Ghasemi, A. (2025). Inducible nitric oxide synthase (iNOS): More than an inducible enzyme? Rethinking the classification of NOS isoforms. *Pharmacological research*, 216, 107781. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2025.107781>
- Fedele, G., Castiglioni, S., Trapani, V., Zafferri, I., Bartolini, M., Casati, S. M., Ciuffreda, P., Wolf, F. I., & Maier, J. A. (2024). Impact of inducible nitric oxide synthase activation on endothelial behavior under magnesium deficiency. *Nutrients*, 16(10), 1406. <https://doi.org/10.3390/nu16101406>

- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Flay, K. J., Hill, F. I., & Muguiro, D. H. (2022). A Review: *Haemonchus contortus* infection in pasture-based sheep production systems, with a focus on the pathogenesis of anaemia and changes in haematological parameters. *Animals*, 12(10), 1238.
- Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837.
- Fotakis, G., & Timbrell, J. A. (2006). *In vitro* cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MT^T and protein assay in hepatoma cell lines. *Toxicology Letters*, 160(2), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.07.001>
- Corso, G., D'Apolito, O., Garofalo, D., Paglia, G., & Dello Russo, A. (2011). Profiling of acylcarnitines and sterols from dried blood or plasma spot by atmospheric pressure thermal desorption chemical ionization tandem mass spectrometry. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1811(11), 667–679. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.05.009>
- Galli, S. J., Grimaldeston, M., & Tsai, M. (2008). Immunomodulatory mast cells: Negative, as well as positive, regulators of immunity. *Nature Reviews Immunology*, 8(6), 478–486. <https://doi.org/10.1038/nri2327>
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A. V., Arama, E., Baehrecke, E. H., Barlev, N. A., Bazan, N. G., Bernassola, F., Bertrand, M. J. M., Bianchi, K., Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*, 25(3), 486–541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- Garcin, E., Arvai, A., Rosenfeld, R., Kroeger, M., Crane, B., Andersson, G., Andrews, G., Hamley, P., Mallinder, P., Nicholls, D., St-Gallay, S., Tinker, A., Gensmantel, N., Mete, A., Cheshire, D., Connolly, S., Stuehr, D., Åberg, A., Wallace, A., Tainer, J. & Getzoff, E. (2008). Anchored plasticity opens doors for selective inhibitor design in nitric oxide synthase. *Nature Chemical Biology*, 4, 700–707. <https://doi.org/10.1038/nchembio.115>

- Gasmi Benahmed, A., Gasmi, A., Arshad, M., Shanaida, M., Lysiuk, R., Peana, M., Pshyk-Titko, I., Adamiv, S., Shanaida, Y., & Bjørklund, G. (2020). Health benefits of xylitol. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Gesto, B. R. (2019). Análisis metabolómico y molecular de poblaciones naturales de la planta mexicana *Galphimia glauca* Cav. (Malpigiaceae) (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- González-Costa, M., & González, A. A. P. (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la medicina en el siglo XXI. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18(1), 30–44.
- González-Cortázar, M., Sánchez, J. E., Huicochea-Medina, M., Hernández-Velázquez, V. M., Mendoza-de-Gives, P., Zamilpa, A., & Aguilar-Marcelino, L. (2021). *In vitro* and *in vivo* nematicide effect of extract fractions of *Pleurotus djamor* against *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food*, 24(3), 310-318.
- González Garduño, R., Córdova Pérez, C., Torres Hernández, G., Mendoza de Gives, P., & Arece García, J. (2011). Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. *Veterinaria México*, 42(2), 125–135.
- Greten, F. R., & Grivennikov, S. I. (2019). Inflammation and cancer: Triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity*, 51(1), 27–41. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.06.025>
- Han, S., Jeong, S., Nam, Y., Yang, K., Lim, H., & Chung, J. (2005). Xylitol inhibits inflammatory cytokine expression induced by lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 12(11), 1285–1291. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.11.1285-1291.2005>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Holliday, D. L., & Speirs, V. (2011). Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast Cancer Research*, 13(4), 215. <https://doi.org/10.1186/bcr2889>

- Hong, Y. J., Jang, A., Jang, H. J., & Yang, K. S. (2012). Inhibition of nitric oxide production, iNOS and COX-2 expression of ergosterol derivatives from *Phellinus pini*. *Natural Product Sciences*, 18(3), 147–152.
- Hosein, A. N., Brekken, R. A., & Maitra, A. (2020). Pancreatic cancer stroma: An update on therapeutic targeting strategies. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(8), 487–505. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0300-1>
- Huang, Q., Huang, C., Zhao, Y., Wang, B., Ren, J., Li, N., & Li, J. (2013). LPS-stimulated RAW264.7 macrophage CAT-2-mediated L-arginine uptake and nitric oxide biosynthesis is inhibited by omega fatty acid lipid emulsion. *The Journal of Surgical Research*, 179(1), e211–e217. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2012.02.026>
- Huang, Z., Li, A., Huang, R., Shi, M., Yang, R., Wang, W., Huang, Z., Liu, Y., & Wu, J. (2025). Effect of xylitol on low-density lipoprotein-stimulated oxidative stress in THP-1 cells. *Molecular Medicine Reports*, 32(1), 190. <https://doi.org/10.3892/mmr.2025.13555>
- Hwangbo, H., Ji, S. Y., Kim, M. Y., Kim, S. Y., Lee, H., Kim, G. Y., Kim, S., Cheong, J., & Choi, Y. H. (2021). Anti-inflammatory effect of auranofin on palmitic acid and LPS-induced inflammatory response by modulating TLR4- and NOX4-mediated NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 macrophages. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5920. <https://doi.org/10.3390/ijms22115920>
- Instituto Nacional de Cancerología. (s.f.). *Estadísticas del cáncer en México*. Gobierno de México. <https://www.incan.salud.gob.mx/p/info/estadisticas/cancer-mexico>
- Jordá, T., & Puig, S. (2020). Regulation of ergosterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes*, 11(7), 795.
- Kang, J. H., Kim, J. H., Gim, J. A., & Lee, M. Y. (2025). iNOS in macrophage polarization: Pharmacological and regulatory insights. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(24), 12056. <https://doi.org/10.3390/ijms262412056>
- Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 11(5), 373–384. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>

- Kim, M. E., & Lee, J. S. (2025). Advances in the regulation of inflammatory mediators in nitric oxide synthase: Implications for disease modulation and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1204. <https://doi.org/10.3390/ijms26031204>
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949.
- León-Pedroza, J. I., González-Tapia, L. A., del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. (2015). Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: De la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cirugía y Cirujanos*, 83(6), 543–551. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.004>
- Li, X., Wu, Q., Xie, Y., Ding, Y., Du, W. W., Sdiri, M., & Yang, B. B. (2015). Ergosterol purified from medicinal mushroom *Amauroderma rude* inhibits cancer growth *in vitro* and *in vivo* by up-regulating multiple tumor suppressors. *Oncotarget*, 6(19), 17832.
- Lichtenstein, A. H. (2013). Fats and oils. En *Encyclopedia of human nutrition* (pp. 201–208). Elsevier.
- Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D. K., & Cournia, Z. (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Current topics in medicinal chemistry*, 14(16), 1923–1938. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140929124445>
- Liu, M., Kipanga, P., Mai, A. H., Dhondt, I., Braeckman, B. P., De Borggraeve, W., & Luyten, W. (2018). Bioassay-guided isolation of three anthelmintic compounds from *Warburgia ugandensis* Sprague subspecies *ugandensis*, and the mechanism of action of polygodial. *International journal for parasitology*, 48(11), 833-844.
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2, 17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Loizou, S., Lekakis, I., Chrousos, G. P., & Moutsatsou, P. (2010). Beta-sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Molecular nutrition & food research*, 54(4), 551-558.
- López-Rodríguez, G., Zaragoza-Bastida, A., Olmedo-Juárez, A., Rosenfeld-Miranda, C., & Rivero-Pérez, N. (2023). Nematodos gastrointestinales en ovinos y su resistencia antihelmíntica: Un tema en discusión en México. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 10(2), 116–129.

- Maccallini, C., Budriesi, R., De Filippis, B., & Amoroso, R. (2024). Advancements in the research of new modulators of nitric oxide synthases activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8486. <https://doi.org/10.3390/ijms25158486>
- Malumbres, M., & Barbacid, M. (2009). Cell cycle, CDKs and cancer: A changing paradigm. *Nature Reviews Cancer*, 9(3), 153–166. <https://doi.org/10.1038/nrc2602>
- Márquez-Lara, D. (2003). Resistencia a los antihelmínticos: Origen, desarrollo y control. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 4(1), 55–71.
- McGuigan, A., Kelly, P., Turkington, R. C., Jones, C., Coleman, H. G., & McCain, R. S. (2018). Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World Journal of Gastroenterology*, 24(43), 4846–4861. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i43.4846>
- Meco López, J. F., Pascual Fuster, V., Solá Alberich, R. (2016). La utilización de los esteroides vegetales en la práctica clínica: De la química a la clínica. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 28(6), 283–294.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Mizrahi, J. D., Surana, R., Valle, J. W., & Shroff, R. T. (2020). Pancreatic cancer. *The Lancet*, 395(10242), 2008–2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30974-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30974-0)
- Murillo, R., Díaz, S., Perry, F., Poveda, C., Piñeros, M., Sánchez, O., Buitrago, L., Gamboa, O., Lozano, T., Yu, H., Wang, C. Y., Duggan, C., Thomas, D. B., & Anderson, B. (2016). Increased breast cancer screening and downstaging in Colombian women: A randomized trial of opportunistic breast screening. *International Journal of Cancer*, 138(3), 705–713. <https://doi.org/10.1002/ijc.29801>
- Murray, P. J., & Wynn, T. A. (2011). Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 723–737. <https://doi.org/10.1038/nri3073>

- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846–852. <https://doi.org/10.1038/nature01320>
- Nathan, C., & Cunningham-Bussel, A. (2013). Beyond oxidative stress: An immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews Immunology*, 13(5), 349–361. <https://doi.org/10.1038/nri3423>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (7th ed.). W. H. Freeman.
- Ntalli, N. G., Menkissoglu-Spiroudi, U., & Giannakou, I. (2010). Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. *Annals of Applied Biology*, 156(2), 309–317.
- Olazarán-Jenkins, S., López-Arellano, M.E., Bartolo-López, I., de Gives, P., Olmedo-Juarez, A., & Vega-Murillo, V., E. (2019). Evaluación de la resistencia antihelmíntica de nematodos gastrointestinales a bencimidazol en ovinos en el estado de Puebla. En *Investigaciones científicas y agrotecnológicas para la seguridad alimentaria* (p. 343).
- Otto, T., & Sicinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93–115. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.138>
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315–424. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>
- Padhi, S., Sharma, S., Sahoo, D., Montet, D., & Rai, A. K. (2022). Potential of lactic acid bacteria as starter cultures for food fermentation and as producers of biochemicals for value addition. En *Lactic acid bacteria in food biotechnology* (pp. 281–304). Elsevier.
- Páez-León, S. Y., Carrillo-Morales, M., Gómez-Rodríguez, O., López-Guillén, G., Castañeda-Ramírez, G. S., Hernández-Núñez, E., & Aguilar-Marcelino, L. (2022). Nematicidal activity of leaf extract of *Moringa oleifera* against *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. *Journal of Helminthology*.
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
- Palmero-Picazo, J., Lassard-Rosenthal, J., Juárez-Aguilar, L. A., & Medina-Núñez, C. A. (2021). Cáncer de mama: Una visión general. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 19(3), 354–360.

- Panda, S. K., Das, R., Mai, A. H., De Borggraeve, W. M., & Luyten, W. (2020). Nematicidal activity of *Holigarna caustica* (Dennst.) oken fruit is due to linoleic acid. *Biomolecules*, 10(7), 1043.
- Pavlova, N. N., & Thompson, C. B. (2016). The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metabolism*, 23(1), 27–47. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.006>
- Pineda-Alegria, J. A., Sánchez-Vázquez, J. E., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Cuevas-Padilla, E. J., & Aguilar-Marcelino, L. (2017). The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food*, 20(12), 1184–1192.
- Pineda-Alegria, J. A., Sánchez, J. E., González-Cortazar, M., Von Son-De Fernex, E., González-Garduño, R., Mendoza-de Gives, P., & Aguilar-Marcelino, L. (2020). *In vitro* nematocidal activity of commercial fatty acids and β -sitosterol against *Haemonchus contortus*. *Journal of Helminthology*, 94, e135.
- Pitsikas, N. (2024). Nitric Oxide (NO) Synthase Inhibitors: Potential Candidates for the Treatment of Anxiety Disorders?. *Molecules*, 29(6), 1411. <https://doi.org/10.3390/molecules29061411>
- Pober, J. S., & Sessa, W. C. (2007). Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 7(10), 803–815. <https://doi.org/10.1038/nri2171>
- Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2013). Microenvironmental regulation of tumor progression. *Nature Medicine*, 19(11), 1423–1437. <https://doi.org/10.1038/nm.3394>
- Rangsinth, P., Sharika, R., Pattarachotanan, N., Duangjan, C., Wongwan, C., Sillapachaiyaporn, C., Nilkhet, S., Wongsirojkul, N., Prasansuklab, A., Tencomnao, T., Leung, G. P. H., & Chuchawankul, S. (2023). Possible beneficial effects and pharmacological properties of ergosterol, a bioactive compound in edible mushrooms. *Foods*, 12(13), 2529. <https://doi.org/10.3390/foods12132529>
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Rice, T., Zannini, E., Arendt, E. K., & Coffey, A. (2019). A review of polyols: Biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–18. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1625859>

- Richards, A. B., Krakowka, S., Dexter, L. B., Schmid, H., Wolterbeek, A. P. M., Waalkens-Berendsen, D. H., Shigoyuki, A., & Kurimoto, M. (2002). Trehalose: A review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food and Chemical Toxicology*, 40(7), 871–898. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00011-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00011-X)
- Ricklin, D., Hajishengallis, G., Yang, K., & Lambris, J. D. (2016). Complement: A key system for immune surveillance and homeostasis. *Nature Immunology*, 17(6), 729–737. <https://doi.org/10.1038/ni.3455>
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2016). Cell viability assays. *Assay guidance manual* [Internet].
- Rodrigues-Soares, F., Veríssimo, M. T., & Santos, R. (2023). Mechanisms of inflammation and resolution pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7123. <https://doi.org/10.3390/ijms24087123>
- Roy, K. (2015). Other related techniques. En *Understanding the basics of QSAR for applications in pharmaceutical sciences and risk assessment* (pp. 357–425). Elsevier.
- Rufener, L., Kaminsky, R., & Mäser, P. (2009). *In vitro* selection of *Haemonchus contortus* for benzimidazole resistance reveals a mutation at amino acid 198 of beta-tubulin. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 168(1), 120–122. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2009.07.002>
- Ryszkiewicz, P., Schlicker, E., & Malinowska, B. (2025). Is Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) Promising as a New Target Against Pulmonary Hypertension? *Antioxidants*, 14(4), 377. <https://doi.org/10.3390/antiox14040377>
- Salli, K., Lehtinen, M. J., Tiihonen, K., & Ouwehand, A. C. (2019). Xylitol's health benefits beyond dental health: A comprehensive review. *Nutrients*, 11(8), 1813. <https://doi.org/10.3390/nu11081813>
- Sanches-Politi, F. A., Bueno, R. V., Zeoly, L. A., Fantatto, R. R., de Oliveira Eloy, J., Chorilli, M., ... & Furlan, M. (2021). Anthelmintic activity of a nanoformulation based on thiophenes identified in *Tagetes patula* against *Haemonchus contortus*. *Acta Tropica*, 219, 105920.
- Segnan, N., Minozzi, S., Armaroli, P., Cinquini, M., Bellisario, C., & González-Lorenzo, M. (2016). Epidemiologic evidence of slow growing, nonprogressive or regressive breast cancer: A

systematic review. *International Journal of Cancer*, 139(3), 554–573.
<https://doi.org/10.1002/ijc.30074>

Senderovic, A., & Galijasevic, S. (2024). The role of inducible nitric oxide synthase in assessing the functional level of coronary artery lesions in chronic coronary syndrome. *Cardiology Research*, 15(5), 330–339.

Sergi, D., Zauli, E., Casciano, F., Secchiero, P., Zauli, G., Fields, M., & Melloni, E. (2022). Palmitic acid induced a long-lasting lipotoxic insult in human retinal pigment epithelial cells, partially counteracted by TRAIL. *Antioxidants*, 11(12), 2340. <https://doi.org/10.3390/antiox11122340>

Shen, M., Yuan, L., Zhang, J., Wang, X., Zhang, M., Li, H., Jing, Y., Zeng, F., & Xie, J. (2024). Phytosterols: Physiological functions and potential application. *Foods*, 13(11), 1754. <https://doi.org/10.3390/foods13111754>

Sherr, C. J., & McCormick, F. (2002). The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell*, 2(2), 103–112. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(02\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(02)00102-2)

Shi, K., Peng, X., Xu, T., Lin, Z., Sun, M., Li, Y., Xian, Q., Xiao, T., Chen, S., Xie, Y., Zhang, R., Zeng, J., & Xu, B. (2025). Precise electromagnetic modulation of the cell cycle and its applications in cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(9), 4445. <https://doi.org/10.3390/ijms26094445>

Shokrani, H., Shayan, P., Eslami, A., & Nabavi, R. (2012). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus*: PCR-RFLP method for detection of mutation at codon 167 of β -tubulin gene. *Iranian Journal of Parasitology*, 7(4), 41–48.

Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2024). Cancer statistics, 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(1), 17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21820>

Sousa, S. F., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2006). Protein-ligand docking: Current status and future challenges. *Proteins*, 65(1), 15–26. <https://doi.org/10.1002/prot.21082>

Sparano, J. A., Gray, R. J., Ravdin, P. M., Makower, D. F., Pritchard, K. I., Albain, K. S., ... & Sledge Jr, G. W. (2019). Clinical and genomic risk to guide the use of adjuvant therapy for breast cancer. *New England journal of medicine*, 380(25), 2395-2405.

- Suarez, V. (2001). Helminthics control on grazing ruminants and environmental risks in South America. *Veterinary Research*, 65, 563–573.
- Suffness, M., & Pezzuto, J. M. (1990). Assays related to cancer drug discovery. En K. Hostettmann (Ed.), *Methods in plant biochemistry* (Vol. 6, pp. 71–133). Academic Press.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71, 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- To, N. B., Nguyen, Y. T. K., Moon, J. Y., Ediriweera, M. K., & Cho, S. K. (2020). Pentadecanoic acid suppresses the stemness of breast cancer stem-like cells through JAK2/STAT3 signaling. *Nutrients*, 12(6), 1663. <https://doi.org/10.3390/nu12061663>
- Tomonobu, N., Komalasari, N. L. G. Y., Sumardika, I. W., Jiang, F., Chen, Y., Yamamoto, K. I., Kinoshita, R., Murata, H., Inoue, Y., & Sakaguchi, M. (2020). Xylitol acts as an anticancer monosaccharide to induce selective cancer death via regulation of the glutathione level. *Chemico-biological interactions*, 324, 109085. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109085>
- Torres-Acosta, J. F. J., Arellano, M. E. L., Aguilar, J. A. R., Orantes, M. S. N., Díaz, M. Á. A., Miranda, B. J. O., & Magaña, J. J. V. (2015). Diagnóstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En R. I. Rodríguez-Vivas (Ed.), *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria* (pp. 355–403).
- Torres-Vásquez, P., Prada-Sanmiguel, G. A., & Márquez-Lara, D. (2007). Resistencia antihelmíntica en los nemátodos gastrointestinales del bovino. *Revista de Medicina Veterinaria*, 13, 59–76.
- Trinick, T. R. (2013). Hyperlipidemia: Overview. En *Encyclopedia of human nutrition* (pp. 442–452). Elsevier.
- Urso, C. J., & Zhou, H. (2021). Palmitic acid lipotoxicity in microglia cells is ameliorated by unsaturated fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 9093. <https://doi.org/10.3390/ijms22169093>
- Vichai, V., & Kirtikara, K. (2006). Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*, 1, 1112–1116. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.179>

- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., Zhou, S., Diaz, L. A., & Kinzler, K. W. (2013). Cancer genome landscapes. *Science*, 339(6127), 1546–1558. <https://doi.org/10.1126/science.1235122>
- Weete, J. D., Abril, M., & Blackwell, M. (2010). Phylogenetic distribution of fungal sterols. *PLoS ONE*, 5(5), e10899.
- Woyengo, T. A., Ramprasath, V. R., & Jones, P. J. H. (2009). Anticancer effects of phytosterols. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(7), 813–820. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.29>
- Wu, D., Liu, J., Pang, X., Wang, S., Zhao, J., Zhang, X., & Feng, L. (2014). Palmitic acid exerts pro-inflammatory effects on vascular smooth muscle cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 34(6), 1706–1712. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1942>
- Yin, T., Wang, Y., Liu, L., Tian, H., & Wang, X. (2020). Role of KRAS mutation in pancreatic cancer progression and therapy. *Cancer Biology & Medicine*, 17(2), 306–321. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0289>
- Ying, H., Kimmelman, A. C., Lyssiotis, C. A., Hua, S., Chu, G. C., Fletcher-Sananikone, E., & DePinho, R. A. (2012). Oncogenic KRAS maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism. *Cell*, 149(3), 656–670. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.058>
- Yu, H., Pardoll, D., & Jove, R. (2009). STATs in cancer inflammation and immunity. *Nature Reviews Cancer*, 9(11), 798–809. <https://doi.org/10.1038/nrc2734>
- Yu, S., Park, H., & Kim, W. (2023). Trehalose inhibits inflammatory responses through mitochondrial reprogramming in macrophages. *Antioxidants*, 12(6), 1166. <https://doi.org/10.3390/antiox12061166>
- Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., & Xie, J. (2019). Phytosterols suppress inflammatory mediators via ERK pathway. *Foods*, 8(11), 582. <https://doi.org/10.3390/foods8110582>
- Zhang, W. P., Ruan, W. B., Deng, Y. Y., & Gao, Y. B. (2012). Potential antagonistic effects of nine natural fatty acids against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(46), 11631–11637.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



DES de Ciencias Naturales
Doctorado en Ciencias Naturales

Cuernavaca, Morelos, a 05 de mayo del 2026.

VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Los integrantes de la Comisión Revisora de la tesis titulada: **“Evaluación *in silico* e *in vitro* del efecto antihelmíntico, antiinflamatorio y citotóxico de ácidos grasos, azúcares y esteroides”**, que presenta la **C. Susan Yaracet Pérez León**, del Programa de Posgrado Doctorado en Ciencias Naturales, bajo la dirección de la Dra. Liliana Aguilar Marcelino y la Codirección del Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa, han determinado que el documento reúne los requisitos académicos para su defensa oral en el examen de grado, por lo que emiten su **VOTO APROBATORIO**.

Comisión Revisora de tesis (firma electrónica)

DRA. LILIANA AGUILAR MARCELINO (DIRECTORA DE TESIS, INIFAP)
DR. ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA (CEIB-UAEM)
DR. ABRAHAM MADARIAGA MAZON (UNAM)
DR. JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ (FF-UAEM)
DR. VICTOR MANUEL HERNANDEZ VELAZQUEZ (CEIB-UAEM)
DRA. ADRIANA MORALES MARTINEZ (CEIB-UAEM)
DR. RAMON SUAREZ RODRIGUEZ (CEIB-UAEM)





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2026-05-29 12:10:00 | FIRMANTE

Tbgl6ko/fBodiHSXZBnH0nk5plZGgRGfHhv16rdScBIOzzuwlY5j1N5IOioykX0zpcrnJfo7stwiJOLV9N8HNzVFFYtPl1uaTL1qhS2C5SJvPwNkivMH/hPQYq/OBYxLRsk53kkqESaS
Ot05WbBtlnfWGYv91Ai8t/W8r59IetyokbQmUaRQ3zisIvUuQ0l+qFAFXBSUE9Yd2EL3W51Rydirh4ql5Xe3M9hQQBJGcrSAbF2vRtzJjLd2u6qEPEn2bUyuzjTv149sBJlpKMSxQ
h40fblI2U8/dUJ+IE4jCGOcVgJyRN7G6Q04OfdxABTA3SqBLoqrNtXSmKPNeeq==

RAMON SUAREZ RODRIGUEZ | Fecha:2026-05-29 14:07:15 | FIRMANTE

IIRFukB3VGKYCelBI4Bfp/T4vwR2dv6+Lq8bi0klm9bTplclxbgy99vFj52xdw06XkvODQWwOPNO1Hghmskl96MIOftYaibior/PM7JMNm8ZKkAAope79Rq/U23A9PcSdXrL8WfZbg
3+B0/ve1HxINf9D4weck491ITiSNbU2bca9t0pcweQ/phnEulFYaRM0D3MF5UyhnYtzbMY4htcs7ukFQ2DseMDsRsnnt1B4DEwZKpL2AZStNiPyerZJ7sTZLfuvcHd/pnQ6s/cBEQ
XDbl5AoHviHfJs0gUy1+njMjzD9pJ70365dmD8T15UGHd7Jrqe7HzTF4b0xfwtMPQ==

ALEXANDRE TOSHIRICO CARDOSO TAKETA | Fecha:2026-05-29 14:08:11 | FIRMANTE

kmeAkMrMeDPZmoGyl2jFon3OPCCY6Yv2uadVG9WTi3YivWL6dN1X/K8vLA6+knKiHJiCo1VG3/KvHX/T6MwblAM/WU9pYk6ylc1qOjDtSBEvdzZYGz/nxuw16WFr2pj2+AR3BG
nWNWDjxVlmN39baa2W62T6UGulJxG2KeELfElukVEFwKhDfNKIBgSVEbXkU8sFFGNhoQFZQGEIEIOM2WBy2LRT4IP17FxmYFgqVKQmtqyb8kpiqc5MmDWDFwZkP+3wnL
qGuXlwGyNqUgnsH5I9LlnwGgomHwsqNtEE9xEznEtblBjbSuBck3t1h+pqtn6OlXsUEX9K8Tlu9za==

ADRIANA MORALES MARTINEZ | Fecha:2026-06-01 11:32:06 | FIRMANTE

FSw5MhEkBQtx+UHOYLazqboGq++47PH/fwPK6XffxKhnfJldFO4LWNg6qKluHEbgmXVZBSXmeg3wCsAf/qW3v1nRjq0eVcyP1HVMFZTx6p6d7WqabHSALrazC0yvXPUWcyK
0FjwajstUWE81az+9K/CIY8yUz2K2SS+HWTp+nb1vMo5wj9+1KuNjg/JDTluP5JdBFZJryz5l/sw73Fe18bscqH7k4CP/sxb/FZmQ8bg/s1WKNNTG6m6QrDCJ9r9hiEh5/KdMAKws
Plz5Osy+F9Fntu/CZTbG6ZFm0qCWNmdEG9PHJ71jf8ZpP+Ckrbg3OYA1KQ3+SoFO9iY9E/fBw==

LILIANA AGUILAR MARCELINO | Fecha:2026-06-01 14:29:21 | FIRMANTE

cCAQBvgp/H62ZxxyWak79OKBcukuT89TKZWNYfh1QlenrgEG2nr5XC/XRaNRT529zKeJ3WVvdAgbwiya/iR4pCkaeJ5Nrlu0mNtQMdyd76FHa0U6+nLe3a7tdb6JmT1179bEwlmX
ollhrZvlidd4AaPnF+rsGF4iQz02Y2zz4ZLbj09AXnRtFXozZuJcw72bDEzRChos3cczDI85UPazCNLhX/S7KA4VolirmFSC2Qhj+5j1V+HLuAc+1uFcHVLizgWaB2nyvbEF/a2k2I2Prxm
wtNv1EI4VN3SSAizBu/usRNGmdpHfu1gjcROeW1WmFgrBiiA/ZPCq7qq01y04JKA==

ABRAHAM MADARIAGA MAZON | Fecha:2026-06-02 12:34:56 | FIRMANTE

iKStIKWMJrEkiYVnCuE7bxxfGqnbvKUIxGlbm0/1fNcuWiPFazEM0nHu/q8UtumMyCU3W2lzbDN20sKDs0+OZKEdSJmr9u+qYE+bNcQMgdDz4H3n/ODXE06by5uOmSUE3pYp
H4CxhZ7BSxiD8b9fMntY4/EJvhrFg/zYBq0VAXZv8X3V+6snssqstq9Gmrulm9rnxezccV63+ZmBGajxSb2MmE+GerxG7/RViSdBnJCD+MGM99HHMIDYad16Zm4GrEMSA8Q06
RATdMefza2PAz9XxM5IScl0nbpCyrfBui6G3iAXaGTLmT07JyTJUnbouE4JYSOT5cH76WH4CJw==

VICTOR MANUEL HERNANDEZ VELAZQUEZ | Fecha:2026-06-02 13:34:54 | FIRMANTE

DrbjCHmyS2suo1jOWspj53yy6Y9iK7ilnOrlFVIXe1rk7SOBJpeni5FZSKxh+//sPshsvG/Hl2wb8TldYwVv2Fj1xPjKzCbMHI3nMFhV2PVjuvJPIIMBP2aTheLmkwyqKhAGDqgzLUct7
tJdvAy+bAanJBejMk7hdl2tqAiQ2KavOBrq2VQz9CVvyFtea0uezAg2BvXWGTy9gdPrw1w2c2PaLbBkXAVaGm1y2V6MQJXVUg1f2j1cnAbB7Z478vmYEaprq5YtOrUzRgiB2eNQ2A
/CQNZ3LZf4WtVoMPn8zywaoD9BOafRKAj9xmbguH+na+iHiyn8jLrlx2W0dEwg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



wlpl0jxzs

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/lumdyqmeWieVrKOVXvt0h1FCZVfrLRJY>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029