

Volumen 8

Número 1

Junio 2017

Revista **Tlamati** Sabiduría



UAGro

Dirección General de
Posgrado e Investigación

<http://tlamati.uagro.mx>

ISSN: 2007-2066

Comité Editorial

Consejo Editorial

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

Editores responsables

Dr. Oscar Talavera Mendoza
Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

Editores por áreas del conocimiento

Dr. Elías Hernández Castro
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. José Legorreta Soberanis
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. José Francisco Muñoz Valle
Universidad de Guadalajara

Dr. José María Sigarreta Almira
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Rodrigo Carramiñana
Southern Illinois University

Dra. Laura Sampedro Rosas
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Ricardo Sánchez García
Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Luisa Concepción Ballester
Southern Illinois University

Responsable de la Edición

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

Coordinación Editorial

Lic. Isabel Rivero Cors

Corrección de estilo

M. C. Magdalena Martínez Durán

Auxiliares de Edición

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



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

Ciencias Agropecuarias

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Ciencias Exactas y Matemáticas

Ciencias Exactas y Matemáticas

Ciencias Ambientales y Desarrollo Regional

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

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



Comité Editorial de Revisores por Área de la Ciencia

BIOLOGÍA Y QUÍMICA

Dr. Eneas Alejandro Chavelas Adame

Dr. Oscar Del Moral Hernández

BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dr. Francisco Palemón Alberto

Dr. Gerardo Huerta Beristaín

Dr. Jaime Olivares Pérez

Dr. Luis Miguel Camacho Díaz

CIENCIAS SOCIALES

Dr. Ángel Ascencio Romero

Dra. América Libertad Rodríguez Herrera

Dra. Columba Rodríguez Alviso

Dra. Cristina Barroso Calderón

Dra. Dulce María Quintero Romero

Dra. Margarita Jiménez Badillo

Dra. Rocío López Velasco

FÍSICO MATEMÁTICAS Y CIENCIAS DE LA TIERRA

Dr. Francisco Julián Ariza Hernández

Dr. Jorge Sánchez Ortiz

Dr. Juan Carlos Hernández Gómez

Dr. Marco Antonio Taneco Hernández

Dr. Martín Patricio Árciga Alejandre

Dra. Ernestina Felicia Castells Gil

HUMANIDADES Y CIENCIAS DE LA CONDUCTA

Dr. Camilo Valqui Cachi

Dr. Osvaldo Ascencio López

Dra. Flor M. Rodríguez Vásquez

Dra. Ma. Gloria Toledo Espino

MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Dr. Sergio Paredes Solís

Dra. María Eugenia Flores Alfaro

Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán

Dra. Mónica Espinoza Rojo



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



Editorial

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez





Título del artículo.

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

Título del artículo en idioma Inglés.

Differential expression of proteins in the stomach of *Meccus Pallidipennis* under infection by *Trypanosoma Cruzi*.

Autores.

Ivette Nava Mirafuentes
José Lino Zumaquero Ríos
Donaciano Flores Robles
Pável Sierra-Martínez

Referencia bibliográfica:

MLA

Nava Mirafuentes, Ivette, José Lino Zumaquero Ríos, Donaciano Flores Robles y Pável Sierra-Martínez. Expresión diferencial de proteínas en el estómago de *Meccus Pallidipennis* bajo la infección por *Trypanosoma Cruzi*. *Tlamati* 8.1, (2017): 33-37. Print.

APA

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

ISSN: 2007-2066.

Publicado el 30 de Junio del 2017

© 2017 Universidad Autónoma de Guerrero

Dirección General de Posgrado e Investigación

Dirección de Investigación

TLAMATI, es una publicación semestral de la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero. El contenido de los artículos es responsabilidad exclusiva de los autores y no refleja de manera alguna el punto de vista de la Dirección de Investigación de la UAGro. Se autoriza la reproducción total o parcial de los artículos previa cita de nuestra publicación.



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

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

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

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

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

*Autor de correspondencia
 ivettenami21@gmail.com

Resumen

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

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

Como citar el artículo:

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

Abstract

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

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

Introducción

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

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

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

Materiales y métodos

Insectos

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

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

Parásitos

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

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

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

Establecimiento del grupo experimental y control de M. pallidipennis

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

Disección del sistema digestivo de Meccus pallidipennis alimentados con sangre.

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

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

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

Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE-SDS).

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

Tinción con Azul brillante Coomassie.

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

Determinación de peso molecular de proteínas.

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

Resultados

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

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

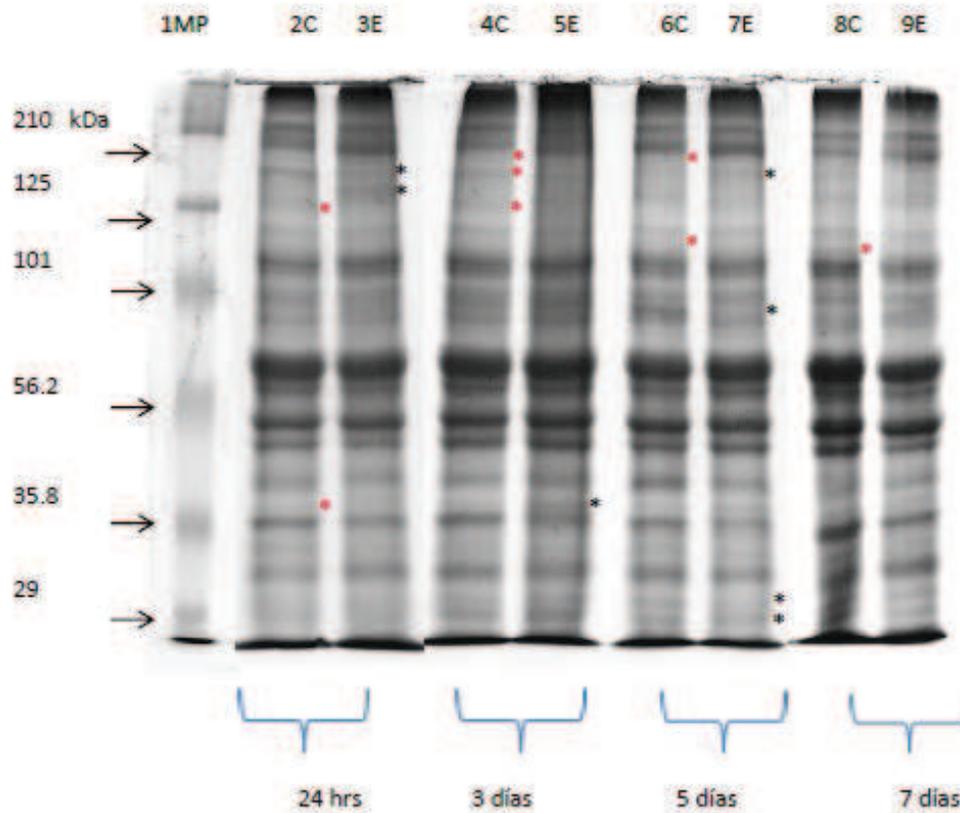


Figura 1. Proteínas totales de los estómagos de *Meccus pallidipennis*, correspondientes al grupo control libre de infección por *T. cruzi* (C)/ grupo experimental infectado por *T. cruzi* (E) analizados a los tiempos 24 hrs, 3, 5 y 7 días postalimentación. Las proteínas totales del estómago fueron analizadas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

Discusión y conclusión

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

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

Referencias

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