

FINANCIAMIENTO DE ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN (TERCERA CONVOCATORIA)

Evaluación de la actividad antitumoral *in vitro* de extractos provenientes de Basidiomycetes silvestres del Paraguay

Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP) / CONICET

Maximiliano Rugolo – mrugolo@ciefap.org.ar

RESUMEN

Los basidiomicetos desempeñan un papel clave en la descomposición de materia orgánica, ciclos biogeoquímicos y establecimiento de asociaciones simbióticas con plantas, contribuyendo significativamente a la salud y estabilidad de los ecosistemas terrestres. Además de su relevancia ecológica, los basidiomicetos representan una fuente valiosa de compuestos bioactivos con potencial aplicación en medicina, agricultura y biotecnología. Estos hongos producen una amplia variedad de metabolitos secundarios, y los lignívoros han sido estudiados por sus potenciales propiedades anticancerígenas, antivirales, antimicrobianas, inmunopotenciadoras, hipocolesterolémicas, hepatoprotectoras, antidiabéticas y otras actividades biológicas de interés farmacéutico y terapéutico. La Reserva Natural del Bosque de Mbaracayú es una de las reservas más importantes de Paraguay, posee muy buenas muestras de bosques inundados, bambuzales y cerrados con relevancia a nivel ecorregional. Es una de las reservas más estudiadas por su diversidad en flora y fauna, sin embargo, en lo que respecta a estudios sobre hongos sigue siendo escaso. De nuestro primer relevamiento (Área Aguara'i, Karapá, Moroti), seleccionamos 11 especies para evaluar su potencialidad anticancerígena frente a células de adenocarcinoma gástrico (AGS) a partir de extractos totales de cada uno de ellos. Los extractos correspondientes a los géneros *Fomes*, *Fuscoporia*, *Stereum* y a la especie *Hexagonia hydroides* muestran actividad antitumoral, con valores de entre el 14 y el 24 % de inhibición del crecimiento celular a concentraciones de 250 µg/mL. Posteriormente los extractos serán evaluados en otras líneas tumorales. Las actividades de esta investigación fueron transmitidas en un taller organizado entre CEDIC y la FCQ, que permitió, además, estrechar vínculos para futuras colaboraciones interinstitucionales.

OBJETIVOS

Evaluar la actividad antitumoral específica de extractos totales de basidiomicetes silvestres de la Reserva Natural del Bosque de Mbaracayú (RNBM).

APORTES DE LA INVESTIGACIÓN

La incidencia de esta estancia de investigación ha sido altamente beneficiosa:

- 1) Se fortalecieron los vínculos institucionales, la capacidad científica y técnica de los investigadores. Además, se transfirieron los conocimientos desarrollados y adquiridos en pos de futuras líneas de investigación colaborativa.
- 2) Por otro lado, el acceso a recursos fúngicos dentro de la Reserva Natural del Bosque Mbaracayú (RNBM) facilita las tareas de conservación, principalmente en el ecosistema del Bosque Atlántico del Alto Paraná, a partir de la toma de fotografías y datos de interés de las especies presentes se elaboró un check list preliminar.
- 3) Respecto al desarrollo experimental, entre CIEFAP, CEDIC y FCQ, se inició una nueva línea de investigación que potencia las capacidades previas, ligada al uso de hongos nativos del Paraguay y sus atributos bioactivos. El uso de los extractos totales para corroborar la actividad antitumoral es solo el inicio de tareas que continuarán con la descripción de los metabolitos presentes en los extractos, y ensayos ligados a la actividad antimicrobiana, antiparasitaria y antioxidante.

Se recolectaron solamente los ejemplares en buen estado de conservación y con cantidades significativas para poder procesarlos en el laboratorio (cuando no fue el caso, solo se registraron las colecciones fotográficamente).

Las colecciones se deshidrataron en la estación biológica de la reserva, se les asignó un número de colección, su ubicación GPS y una categoría taxonómica.



Las muestras seleccionadas fueron deshidratadas, molidas y maceradas con solventes orgánicos para la extracción de los compuestos fúngicos. Se obtuvieron 11 extractos, que fueron filtrados y concentrados en rotaevaporador. Finalmente se liofilizaron para asegurar un mayor tiempo de vida y calcular el rendimiento de extracción obtenido. Los 11 extractos concentrados y liofilizados se almacenaron a 4°C para las pruebas biológicas en líneas tumorales.

Se utilizaron células de adenocarcinoma gástrico (AGS) para evaluar la actividad antitumoral de los extractos. Los 11 extractos fueron evaluados por triplicado a concentraciones finales de 250 y 125 µg/mL. Se calculó el porcentaje de actividad antitumoral (% AAT) de cada extracto relacionando los controles con los tratados.



Por último, se realizó un curso taller en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción. La convocatoria tuvo buena recepción y participación del público en general. Además de este curso taller, también divulgamos el trabajo de este proyecto a través de una charla sobre el Reino Fungi en la escuela rural de la Reserva Mbaracayú, dictado a alumnas de formación secundaria.



RESULTADOS OBTENIDOS

En total, 11 muestras de políporos lignocelulolíticos fueron seleccionadas para evaluar su potencialidad antitumoral; a saber: *Fomes* sp., *Fuscoporia* spp., *Ganoderma* aff. *australe*, *Hexagonia* sp., *Pycnoporus sanguineus*, *Stereum* sp., *Trametes* spp.



Los resultados muestran 4 muestras con bioactividad sobre la línea de adenocarcinoma gástrico evaluada.

Extracto	Género/Especie	Rendimiento extracción (%)	% AAT	
			250 µg/mL	125 µg/mL
420	<i>Hexagonia hydroides</i>	2,54	16	11
421	<i>Fuscoporia</i> sp.	3,64	0	0
424	<i>Fuscoporia</i> sp.	2,10	0	0
430	<i>Fuscoporia</i> sp.	1,21	20	10
431	<i>Trametes</i> sp.	3,79	0	0
436	<i>Fomes</i> sp.	1,50	24	12
437	<i>Ganoderma</i> aff. <i>australe</i>	3,81	0	0
439	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	6,80	0	0
441	<i>Trametes</i> aff. <i>hirsuta</i>	5,63	0	0
444	<i>Stereum</i> sp.	2,72	14	NE
445	<i>Hexagonia papiracea</i>	2,14	0	NE

NE: no ensayados

CONCLUSIÓN

Este primer relevamiento de hongos lignívoros de la reserva Mbaracayú de Paraguay ha sido prometedor, permitiéndonos elaborar una colección de herbario que pretendemos ampliar con futuros muestreos. Algunas colecciones requieren trabajos de biología molecular para clasificarlas hasta el taxón específico. Los extractos correspondientes a los géneros *Fomes*, *Fuscoporia*, *Stereum* y la especie *Hexagonia hydroides* muestran actividad frente a las líneas tumorales ensayadas.

VISIÓN Y PLANES FUTUROS

Se reforzaron los lazos entre CIEFAP, CEDIC y FCQ, estableciendo interés de continuar trabajando en colaboración. Se firmaron acuerdos para seguir en colaboración con la institución de origen del investigador con el fin de poder seguir desarrollando investigaciones sobre la temática, así como la de impulsar las colaboraciones internacionales importantes para una investigación de calidad. Tenemos en desarrollo una cartilla con fotografías e información sobre los hongos de la RM para el público general, y conforme terminemos ensayos experimentales de bioactividad finalizaremos la escritura de un artículo científico para la publicación en journals de interés; además de la presentación de la información generada en el próximo congreso internacional de hongos medicinales.



ACTIVIDADES REALIZADAS

Se recorrieron 3 senderos de diferentes áreas de la Reserva Mbaracayú (Aguara'i, Karapá, Moroti), con el fin de abarcar la mayor cantidad de diversidad posible.

“Esta Estancia de Investigación fue cofinanciada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con recursos del FEEI”