
Evaluación del potencial anticancerígeno de las fracciones bioactivas de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* en líneas celulares de neuroblastoma

María Vanessa Fernández Grajeda



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



**Evaluación del potencial anticancerígeno de las
fracciones bioactivas de *Cantharellus cibarius* y
Pleurotus djamor en líneas celulares de
neuroblastoma**

Trabajo de graduación en modalidad de Tesis presentado por
María Vanessa Fernández Grajeda
para optar al grado académico de Licenciada en Bioquímica y
Microbiología

Guatemala,
2026

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



**Evaluación del potencial anticancerígeno de las
fracciones bioactivas de *Cantharellus cibarius* y
Pleurotus djamor en líneas celulares de
neuroblastoma**

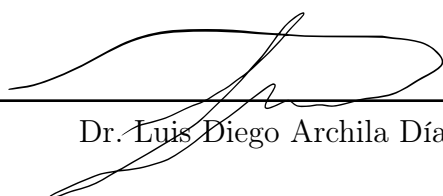
Trabajo de graduación en modalidad de Tesis presentado por
María Vanessa Fernández Grajeda
para optar al grado académico de Licenciada en Bioquímica y
Microbiología

Guatemala,
2026

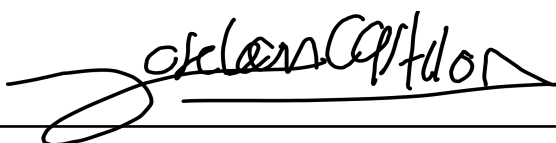
Vo.Bo.:

(f) 
Dr. Luis Diego Archila Díaz

Tribunal Examinador:

(f) 
Dr. Luis Diego Archila Díaz

(f) 
Dra. Krisztina Rios-Gonzalez

(f) 
Lic. José León Castillo Arroyave

Fecha de aprobación: Guatemala, 14 de enero de 2026.

El presente trabajo de graduación se llevó a cabo a partir de mi interés y curiosidad por las áreas de inmunología y la oncología. En particular, el estudio de biocomponentes naturales, como los extractos fúngicos, despertó mi atención debido a su potencial para el desarrollo de tratamientos anticancerígenos que puedan complementar y potenciar la eficacia de las terapias actuales. Resulta especialmente interesante cómo compuestos que, a primera vista, parecen simples pueden ejercer efectos biológicos complejos y relevantes en el contexto del cáncer.

Muchas investigaciones oncológicas se limitan a evaluar efectos generales sin profundizar en la identificación de los componentes bioactivos específicos ni en los mecanismos celulares involucrados. Por esta razón, surgió el interés de ir más allá y explorar la capacidad anticancerígena de hongos que se comercializan ampliamente en Guatemala, con el objetivo de ofrecer un primer acercamiento a la identificación de los principales componentes bioactivos e incluso a la elucidación de las rutas o mecanismos de acción implicados mediante técnicas disponibles en el país.

El desarrollo de este trabajo representó una oportunidad para integrar y aplicar conocimientos adquiridos en química, bioquímica, biología molecular e inmunología, así como para enfrentar el reto de diseñar y ejecutar protocolos experimentales desde cero. Asimismo, este proyecto constituyó un punto de partida para mi formación en el ámbito de la investigación científica, permitiéndome desenvolverme de manera más independiente en el laboratorio y adquirir nuevas habilidades técnicas y analíticas.

Agradezco profundamente a todas las personas e instituciones que contribuyeron, de manera directa o indirecta, al desarrollo y culminación del presente trabajo de graduación. En primer lugar, quiero agradecer a Dios y a mis padres por guiarme, apoyarme y motivarme a seguir adelante con mi formación académica y mi investigación. Gracias a ellos pude completar exitosamente mis estudios y desarrollarme tanto como mujer como profesional en el ámbito de la ciencia.

Deseo expresar un agradecimiento especial a mis compañeros y amigos Kiara, Sofy, Gaby, Nati y Nacho, quienes hicieron de mi trayectoria académica un recorrido gratificante y feliz. Agradezco a Kiara por guiarme en los experimentos, por escucharme siempre y por ser una de mis mayores fuentes de apoyo. A Sofy, por acompañarme constantemente, brindarme ánimos para seguir adelante y por iluminar el ambiente incluso en los momentos más difíciles. A Gaby, por ser una excelente compañera de laboratorio, por apoyarme, ayudarme a reconocer mis capacidades y motivarme a continuar. A Nati, por ser mi mayor confidente, por escucharme y acompañarme tanto en los buenos como en los malos momentos. Finalmente, agradezco a Nacho por aligerar el ambiente, guiarme y apoyarme en los experimentos.

Agradezco al Centro de Estudios en Biotecnología, a la Facultad de Ciencias y Humanidades, a

la Facultad de Ingeniería y a la Facultad de Química, todas pertenecientes a la Universidad del Valle de Guatemala, por proporcionarme los reactivos, materiales y equipos necesarios para llevar a cabo este trabajo de graduación. Asimismo, deseo expresar mi agradecimiento a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en particular al Laboratorio de Investigación y Productos Naturales (LIPRONAT), por su apoyo en el análisis de las muestras fúngicas obtenidas. En este contexto, deseo agradecer especialmente a la Licda. Isis López por su apoyo con las solicitudes y la facilitación de equipos y materiales del laboratorio de química de la Universidad del Valle de Guatemala.

Asimismo, expreso un especial agradecimiento al Lic. José León Castillo por su apoyo y orientación en la parte química experimental de este trabajo, por su paciencia al explicarme nuevas técnicas de laboratorio y por el interés demostrado en impulsarme a concluir este proyecto. De igual manera, agradezco al M.Sc. Allan Vásquez por su valiosa ayuda en el planteamiento del protocolo inicial de esta tesis, por acompañarme en el laboratorio y guiarme en la parte química y experimental del trabajo, así como por motivarme a continuar a pesar de las dificultades encontradas. A la Dra. Kriztina Ríos, por creer en mí y ayudarme a reconocer mis capacidades. A la Dra. Patrizia Lupo, por su guía constante, su apoyo en la resolución de problemas, la provisión de reactivos y materiales, y por ser una persona ejemplar que me motiva a dar lo mejor de mí misma y a entregar un trabajo de graduación de calidad.

Finalmente, agradezco a mi asesor, el Dr. Diego Archila, quien fue uno de los pilares principales que impulsó mi interés por la inmunología y la oncología. Gracias por ayudarme a potenciar mis habilidades, confiarme un proyecto de investigación de esta magnitud y guiarme en el desarrollo de nuevos experimentos.

Prefacio	IV
Lista de figuras	IX
Lista de cuadros	XI
Resumen	XII
1. Introducción	1
2. Objetivos	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. Justificación	4
4. Marco teórico	6
4.1. Cáncer	6
4.1.1. Epidemiología	6
4.1.2. Tipos de cáncer más relevantes	7
4.1.3. Bases celulares y moleculares	9
4.1.4. Tratamientos convencionales y limitaciones	13
4.2. Neuroblastoma	14
4.2.1. Definición y origen celular	15
4.2.2. Epidemiología	15
4.2.3. Terapias disponibles	17
4.2.4. Modelos celulares utilizados en el estudio del neuroblastoma	18
4.3. Hongos con potencial biomédico	19
4.3.1. Diversidad de hongos en Guatemala	19
4.3.2. Características generales de los hongos medicinales	20
4.3.3. <i>Cantharellus cibarius</i>	20
4.3.4. <i>Pleurotus djamor</i>	21
4.4. Biocomponentes fúngicos con potencial anticancerígeno	22
4.4.1. Polisacáridos fúngicos	22
4.4.2. Métodos de extracción y purificación	23
4.4.3. Mecanismos de acción de los polisacáridos fúngicos	24
4.5. Metabolitos secundarios	29

4.5.1. Metabolitos semipolares	29
4.5.2. Metabolitos apolares	30
4.5.3. Métodos de extracción de metabolitos secundarios	30
4.5.4. Mecanismos moleculares de acción anticancerígena	30
5. Antecedentes	33
6. Alcance	35
7. Metodología	36
7.1. Sitio de estudio	36
7.2. Diseño, enfoque y tipo de investigación	36
7.3. Tipo y tamaño de muestra	36
7.4. Variables	37
7.5. Hipótesis	38
7.5.1. Hipótesis de investigación	38
7.5.2. Hipótesis nula	38
7.6. Instrumentos de medición	38
7.7. Procedimiento	39
7.7.1. Preparación del material fúngico	39
7.7.2. Preparación y aislamiento de las fracciones fúngicas	39
7.7.3. Análisis posteriores	41
7.7.4. Cultivo celular	44
7.7.5. Expresión génica de genes proapoptóticos	45
7.7.6. Plan de análisis de datos	46
8. Resultados	47
8.1. Rendimiento de extracción de las fracciones fúngicas	47
8.2. Caracterización fitoquímica de las fracciones fúngicas	48
8.2.1. Pruebas colorimétricas cualitativas	48
8.2.2. Pruebas colorimétricas cuantitativas	50
8.2.3. Caracterización preliminar de los compuestos lipofílicos	51
8.2.4. Análisis FTIR	52
8.3. Evaluación del potencial citotóxico de las fracciones fúngicas	54
8.3.1. Evaluación de citotoxicidad en células no tumorales (CHO)	54
8.3.2. Evaluación del efecto citotóxico en líneas celulares de neuroblastoma (SH-SY5Y y LAN-1)	57
8.4. Determinación del posible mecanismo de muerte celular inducido por las fracciones fúngicas	63
9. Discusión	69
9.1. Rendimiento de extracción	69
9.2. Caracterización fitoquímica de las principales fracciones fúngicas aisladas	70
9.3. Evaluación del potencial citotóxico de las fracciones fúngicas	72
9.4. Determinación del posible mecanismo de muerte celular inducido por las fracciones fúngicas	76
10. Conclusiones	80
11. Recomendaciones	82
12. Bibliografía	83
13. Anexos	96
A. Cuantificación de proteínas y polisacáridos	97

B. Evaluación de la actividad antioxidante	99
C. Caracterización estructural por FTIR	101
D. Evaluación de la citotoxicidad en células CHO y determinación del IC ₅₀	102
E. Evaluación de la citotoxicidad en líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1	113
F. Resultados cuantificación ARN	125
G. Resultados de amplificación génica mediante RT-qPCR	127
H. Mecanismos celulares propuestos del potencial anticancerígeno	133

Lista de figuras

1. Dos vías de señalización clásicas para la apoptosis: la vía de señalización apoptótica exógena y la vía de señalización apoptótica endógena	12
2. Vías de señalización clásicas de la necroptosis celular	13
3. Alteraciones genéticas en la iniciación del neuroblastoma	16
4. Epidemiología mundial de neuroblastoma	17
5. <i>Cantharellus cibarius</i>	21
6. <i>Pleurotus djamor</i>	22
7. Mecanismo indirecto de acción de polisacáridos fúngicos	25
8. Mecanismo indirecto de acción de polisacáridos fúngicos	27
9. Vías de apoptosis inducidas por polifenoles	31
10. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de los polisacáridos extraídos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre células de ovario de hámster chino (CHO) incubadas por 24, 48 y 72 horas.	55
11. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción etanólica extraída de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre células de ovario de hámster chino (CHO) incubadas por 24, 48 y 72 horas.	56
12. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción lipofílica extraída de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre células de ovario de hámster chino (CHO) incubadas por 24, 48 y 72 horas.	57
13. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (100 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de los polisacáridos extraídos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre células de neuroblastoma (SY5Y y LAN-1) incubadas por 24, 48 y 72 horas.	58
14. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (50 – 200 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción etanólica extraída de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre células de cáncer de mama (SY5Y y LAN-1) incubadas por 24, 48 y 72 horas.	60
15. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (100 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción lipofílica extraída de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre células de cáncer de mama (SH-SY5Y y LAN-1) incubadas por 24, 48 y 72 horas.	62
16. Niveles de expresión génica de genes asociados a distintas rutas de muerte celular en las líneas celulares tumorales SH-SY5Y y LAN-1 y en la línea celular control CHO, tratadas con polisacáridos extraídos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ tras 12 y 24 horas de incubación	64
17. Niveles de expresión génica de genes asociados a distintas rutas de muerte celular en las líneas celulares tumorales SH-SY5Y y LAN-1 y en la línea celular control CHO, tratadas con la fracción etanólica extraída de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ tras 12 y 24 horas de incubación	65

18.	Niveles de expresión génica de genes asociados a distintas rutas de muerte celular en las líneas celulares tumorales SY5Y y LAN-1 y en la línea celular control CHO, tratadas con la fracción lipofílica extraída de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ tras 12 y 24 horas de incubación	67
19.	Curva de calibración para la cuantificación de polisacáridos mediante el método de fenol-ácido sulfúrico.	97
20.	Curva de calibración para la cuantificación de proteínas mediante el método de Biuret.	98
21.	Ensayo de actividad antioxidante por DPPH realizado en microplaca	99
22.	Placa de TLC analítica en sílica gel de las fracciones lipofílicas de (1) <i>C. cibarius</i> y (2) <i>P. djamor</i> , eluida con hexano:acetato de etilo (7:3).	100
23.	Espectros FTIR de la fracción acuosa, etanólica y lipofílica extraídas de los hongos <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	101
24.	Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción acuosa de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1	133
25.	Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular de neuroblastoma SH-SY5Y	134
26.	Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular de neuroblastoma LAN-1	134
27.	Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular de neuroblastoma SH-SY5Y	135
28.	Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular de neuroblastoma LAN-1	135

Lista de cuadros

1.	Definición y medición de las variables independientes del estudio	37
2.	Definición y medición de las variables dependientes del estudio	38
3.	Volumen de reactivos necesarios para RT-qPCR	46
4.	Condiciones para RT-qPCR	46
5.	Rendimiento de extracción de las fracciones polares, semi polares y lipofílicas de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	48
6.	Pruebas fitoquímicas de caracterización cualitativa de compuestos en extracto acuoso de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	48
7.	Pruebas fitoquímicas de caracterización cualitativa de compuestos en extracto etanólico de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	49
8.	Evaluación cualitativa de la actividad antioxidante mediante el ensayo de DPPH	49
9.	Pruebas fitoquímicas de caracterización cualitativa de compuestos en extracto lipofílico de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	50
10.	Contenido total de polisacáridos y proteínas del extracto de polisacáridos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	51
11.	Cuantificación de fenoles totales en la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	51
12.	Rendimiento y factor de retención (Rf) de los fragmentos lipofílicos aislados a partir de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> mediante TLC	51
13.	Asignación de bandas FT-IR de la fracción de polisacáridos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	52
14.	Asignación de bandas FT-IR de la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	53
15.	Asignación de bandas FT-IR de la fracción lipofílica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	54
16.	Valores de IC ₅₀ obtenidos para la fracción acuosa de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular no tumoral CHO	102
17.	Valores de IC ₅₀ obtenidos para la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular no tumoral CHO	105
18.	Valores de IC ₅₀ obtenidos para la fracción lipofílica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> sobre la línea celular no tumoral CHO	109
19.	Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción acuosa de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y	113
20.	Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción acuosa de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> en la línea de neuroblastoma LAN-1	115
21.	Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y	117
22.	Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción etanólica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> en la línea de neuroblastoma LAN-1	119

23.	Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción lipofílica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y . .	121
24.	Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción lipofílica de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> en la línea de neuroblastoma LAN-1	123
25.	Concentración y pureza de ARN extraído de líneas celulares tratadas con extractos fúngicos	125
26.	Secuencias de cebadores utilizados para la amplificación de genes relacionados con apoptosis y necroptosis mediante RT-qPCR	127
27.	Valores de Ct del gen <i>caspasa-8</i> determinados por RT-qPCR en líneas celulares tratadas con extractos acuosos, etanólicos y lipofílicos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i> . . .	127
28.	Valores de Ct obtenidos mediante RT-qPCR para la expresión de <i>caspasa-9</i> en diferentes líneas celulares tratadas con fracciones fúngicas	128
29.	Valores de Ct obtenidos mediante RT-qPCR para la expresión del gen de la <i>caspasa-3</i> normalizado con β -actina en diferentes líneas celulares tratadas con fracciones fúngicas	130
30.	Valores de Ct obtenidos mediante RT-qPCR para la expresión del gen <i>RIPK3</i> en líneas celulares tratadas con extractos de <i>C. cibarius</i> y <i>P. djamor</i>	131

El neuroblastoma es una de las neoplasias malignas más frecuentes y con mayor mortalidad en la población pediátrica; sin embargo, los tratamientos actuales presentan limitaciones relacionadas con su costo, accesibilidad y efectos adversos, lo que resalta la necesidad de identificar alternativas terapéuticas complementarias. En este contexto, los hongos comestibles representan una fuente prometedora de metabolitos bioactivos con potencial farmacológico. *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*, dos especies ampliamente comercializadas en Guatemala, han demostrado diversas actividades biológicas, aunque su potencial anticancerígeno y mecanismos de acción han sido poco explorados. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad citotóxica de fracciones acuosas, etanólicas y lipofílicas obtenidas de ambas especies en líneas celulares de neuroblastoma humano (SH-SY5Y y LAN-1), en comparación con una línea celular no tumoral (CHO). Para ello, se realizaron procesos de extracción asistida por ultrasonido, caracterización fitoquímica mediante pruebas colorimétricas cualitativas y cuantitativas, análisis químico por FTIR, ensayos de citotoxicidad mediante MTT y análisis de expresión génica de marcadores asociados a rutas de muerte celular por RT-qPCR. Los resultados demostraron que la extracción etanólica al 50 % fue la más eficiente, evidenciándose la presencia de polifenoles y compuestos glicosilados con potencial citotóxico y proapoptótico. En particular, la fracción etanólica de *P. djamor* mostró el mayor efecto citotóxico, con mayor susceptibilidad en la línea celular SH-SY5Y, mientras que se observó baja citotoxicidad frente a la línea celular no tumoral. Asimismo, el análisis de expresión génica evidenció la activación de genes asociados a rutas apoptóticas y necroptóticas de manera dependiente de la fracción y la línea celular. En conjunto, estos resultados sugieren que *C. cibarius* y *P. djamor* constituyen fuentes potenciales de compuestos bioactivos con interés anticancerígeno, recomendándose la aplicación de técnicas de separación y caracterización química más avanzadas y estudios moleculares complementarios para profundizar en la identificación del principal componente bioactivo y su mecanismo de acción.

El cáncer constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, representando un importante reto para los sistemas de salud y para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. A pesar de los avances en los tratamientos actuales, la complejidad biológica de esta enfermedad y la aparición de resistencia terapéutica continúan limitando su eficacia, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas y terapias complementarias. En este contexto, los productos naturales han sido históricamente una fuente importante de compuestos con actividad farmacológica, especialmente en el desarrollo de agentes anticancerígenos. En particular, los hongos comestibles y medicinales han despertado interés debido a su capacidad para producir metabolitos bioactivos con potencial citotóxico e inmunomodulador, lo que los posiciona como candidatos atractivos para la investigación oncológica.

En estudios previos se han aislado extractos y fracciones de distintas especies de hongos que han demostrado propiedades anticancerígenas e inmunomoduladoras prometedoras. Algunos de los principales componentes identificados en diversas especies de hongos incluyen polisacáridos, compuestos fenólicos y compuestos apolares como los triterpenos (J. Xu et al., 2022). Estos metabolitos pueden ejercer una acción directa sobre las células tumorales, mediante la inducción de apoptosis o la detención del ciclo celular, o una acción indirecta a través de la estimulación del sistema inmune (J. Xu et al., 2022). En este sentido, Deveci et al., 2024 caracterizaron química y biológicamente extractos de polisacáridos de cuatro hongos comestibles y demostraron que *Clavariadelphus truncatus* presentó una actividad citotóxica significativa frente a las líneas celulares HT-29 y HepG2 ($IC_{50} \approx 46\text{--}49 \mu\text{g/mL}$), mientras que *Hygrophorus pudorinus* fue activo contra la línea HeLa ($IC_{50} \approx 51.6 \mu\text{g/mL}$).

Dos hongos ampliamente distribuidos y comercializados en Guatemala, *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*, han despertado especial atención debido a su potencial farmacológico y a los vacíos de información existentes en cuanto a su composición bioactiva y mecanismos de acción. Režić Mužinić et al., 2023 demostraron que el extracto acuoso de *C. cibarius*, en el cual los compuestos fenólicos desempeñan un papel protagónico, presenta un alto potencial antioxidante y citotóxico contra el adenocarcinoma de mama humano MDA-MB-231 ($CI_{50} = 375 \mu\text{g/mL}$). De igual manera, Phonemany et al., 2025 reportaron que el extracto de acetato de etilo al 50 % de *P. djamor* exhibió actividad antioxidante y citotóxica frente a células de cáncer de pulmón (A549, $IC_{50} = 245.73 \pm 7.60 \mu\text{g/mL}$) y cáncer colorrectal (SW480, $IC_{50} = 382.03 \pm 4.55 \mu\text{g/mL}$).

No obstante, el estudio de la composición bioactiva y de los mecanismos de acción de este tipo de hongos continúa siendo un área de investigación limitada, debido a la falta de equipos especializados

y a la escasez de información sistematizada sobre sus propiedades farmacológicas, particularmente en modelos tumorales pediátricos. En este contexto, el neuroblastoma, uno de los tumores sólidos extracraneales más frecuentes en la población infantil y caracterizado por una elevada heterogeneidad biológica, representa un modelo relevante para la evaluación de nuevas alternativas terapéuticas. Por esta razón, el presente estudio plantea un primer acercamiento a la caracterización bioquímica de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*, mediante la obtención de fracciones bioactivas acuosas, etanólicas y lipofílicas, así como su posterior evaluación en líneas celulares de neuroblastoma, con el objetivo de determinar su posible actividad citotóxica e identificar los principales mecanismos de muerte celular inducidos.

2.1. Objetivo general

Evaluar el potencial anticancerígeno de las fracciones bioactivas extraídas de los hongos *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* en líneas celulares de neuroblastoma.

2.2. Objetivos específicos

- Obtener y determinar el rendimiento de extracción de las fracciones acuosas, etanólicas y lipofílicas de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*.
- Caracterizar cualitativa y cuantitativamente la composición bioquímica de las fracciones obtenidas, con énfasis en polisacáridos, proteínas, polifenoles y compuestos lipofílicos.
- Caracterizar la composición química de las fracciones bioactivas seleccionadas mediante espectroscopía FTIR.
- Evaluar el potencial anticancerígeno y los mecanismos de muerte celular inducidos por las fracciones bioactivas en líneas celulares de neuroblastoma.

El cáncer constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Según los datos recopilados por la agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer, tan solo en 2022 se estimó que hubo 20 millones de nuevos casos de cáncer y 9.7 millones de muertes asociadas a él. Si bien en países como Estados Unidos la mortalidad del cáncer ha disminuido, son los países subdesarrollados los que más se han visto afectados por la enfermedad ya que, tan solo el 39 % de estos países son capaces de cubrir los aspectos financieros básicos del tratamiento del cáncer, dentro de los cuales, únicamente el 28 % ha sido capaz de cubrir, además, cuidados paliativos asociados a él (Organization, 2024; Siegel et al., 2025). En Guatemala, el cáncer es también un tema de salud pública importante. Aproximadamente, cada año se diagnostica cáncer a 18,000 personas en el país y se espera que esta cifra siga en aumento para 2045 (Swabey-Van y Nobile, 2024). En los hombres, los tipos de cáncer más frecuentes son el de próstata, hígado y estómago, mientras que en las mujeres predominan el de mama, cuello uterino e hígado (Globocan, 2022).

Existen diversos tratamientos desarrollados contra el cáncer que han demostrado ser efectivos en gran parte de los casos reportados, tales como la radioterapia, quimioterapia o inmunoterapia. No obstante, la presencia de riesgos inherentes y de efectos secundarios graves asociados a estos tratamientos continúa siendo una problemática relevante en la actualidad. Una de las principales problemáticas es la resistencia inducida de las células contra los fármacos o tratamientos aplicados, generada debido a la heterogeneidad tumoral, alteraciones genéticas o desregulación de las vías moleculares. Asimismo, también pueden existir daños colaterales adicionales tales como el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), daño al ADN, neurotoxicidad, toxicidad cutánea, gastrointestinal y cardiovascular (Zafar et al., 2025; Nurgali et al., 2022). Por esta razón, resulta imprescindible la búsqueda de tratamientos alternativos o complementarios que permitan optimizar la eficacia de los mismos y disminuir los riesgos asociados.

La búsqueda de terapias oncológicas más eficaces y menos invasivas han impulsado el interés por compuestos naturales con actividad biológica. El uso de este tipo de componentes supone una ventaja biológica puesto que, al contar con una estructura química definida, tiene mayor especificidad para las proteínas diana. Además, se ha demostrado que los compuestos bioactivos naturales actúan como sensibilizadores de los tratamientos anticancerígenos al promover su mecanismo de acción, reducir la resistencia a la terapia o disminuir los efectos secundarios adversos. Esto mediante la estimulación de la apoptosis, la progresión del ciclo celular, inhibición de la angiogénesis y debido a su actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomoduladora (Izzo y Stefanska, 2025).

Dentro de este marco, los hongos constituyen una valiosa fuente de metabolitos bioactivos con

aplicaciones potenciales en el tratamiento del cáncer. Esto dado que, en pruebas in vivo e in vitro, han mostrado prometedoras propiedades anticancerígenas, dentro de los cuales destacan los polisacáridos, proteínas, lípidos y metabolitos secundarios polares y apolares (Yuan et al., 2020). El componente principal que exhibe la actividad antitumoral o anticancerígena varía según la especie de hongo, su geografía o incluso su método de cultivo. Estos pueden ejercer una acción directa sobre las líneas celulares tumorales, mediante la inducción de apoptosis o la detención del ciclo celular; o una acción indirecta mediante la estimulación del sistema inmune (J. Xu et al., 2022). Sin embargo, debido a que en muchos hongos aún no se han caracterizado completamente los compuestos bioactivos ni sus mecanismos de acción, el avance de la investigación se ha visto limitado. Por esta razón, el presente estudio plantea evaluar el potencial anticancerígeno de las principales fracciones bioactivas propias de los hongos *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*.

4.1. Cáncer

El cáncer es un conjunto de enfermedades caracterizadas por alteraciones en los mecanismos de regulación celular interna que conducen a la acumulación de mutaciones y a la pérdida del control sobre procesos fundamentales como el ciclo celular, la proliferación y la función de los tejidos. Estas transformaciones permiten que las células adquieran comportamientos anómalos, como el crecimiento descontrolado y la evasión de la muerte celular programada, dando origen a los distintos tipos de neoplasias (Brown et al., 2023).

4.1.1. Epidemiología

Mundial

El cáncer constituye una de las principales causas de muerte a nivel global reportándose 20 millones de nuevos casos de cáncer en 2022 y casi 9.7 millones de muertes (Organization, 2025). No obstante, la incidencia y mortalidad varía según la región. Variaciones en los cambios sociodemográficos, factores de estilo de vida y los entornos médicos suponen importantes factores de riesgo que pueden aumentar la incidencia del cáncer. Algunos de estos cambios incluyen exposición a factores ambientales como el tabaquismo, exposición a hormonas endógenas, aumento de la adiposidad, entre otros.

Los tipos de cáncer más comunes a nivel global incluyen, en primer lugar, el cáncer de pulmón, uno de los más frecuentemente diagnosticados tanto en hombres como en mujeres. Presenta una incidencia y mortalidad del 12.4 % y 18.7 %, respectivamente, y se asocia principalmente al tabaquismo. Su prevalencia suele ser mayor en regiones de Asia Oriental y Europa Oriental. En segundo lugar, el cáncer de mama es el tipo de cáncer más frecuente en mujeres, con una incidencia del 11.6 % y una mortalidad del 6.9 %. Su distribución es más elevada en Francia, Australia/Nueva Zelanda, América del Norte y el norte de Europa, aunque también aumenta en países subdesarrollados debido a factores de riesgo como menopausia tardía, primer parto a edad avanzada, menor lactancia materna, terapia hormonal, uso de anticonceptivos orales, consumo de alcohol, exceso de peso e inactividad física (Bray et al., 2024).

En tercer lugar, se encuentra el cáncer colorrectal, que ocupa el tercer lugar en incidencia y el segundo en mortalidad, predominando especialmente en hombres de Asia Oriental. Entre sus factores de riesgo destacan el alto consumo de alimentos de origen animal y un estilo de vida sedentario, que contribuyen al aumento del sobrepeso y la obesidad. Finalmente, el cáncer de próstata es uno de los más frecuentes y representa la quinta causa de muerte por cáncer en hombres, con altas tasas en el Caribe, África subsahariana, América Central y del Sur, así como en Suecia. Entre sus factores de riesgo principales se encuentran la edad avanzada, los antecedentes familiares y diversas mutaciones o afecciones genéticas (Bray et al., 2024).

Guatemala

En Guatemala, el cáncer representa una de las principales causas de muerte, destacando la alta incidencia y mortalidad por cáncer de hígado, mama, cuello uterino y gástrico. En particular, el cáncer de hígado presenta las tasas de incidencia y mortalidad más altas de América Central y del Sur. Entre sus factores de riesgo se incluyen la infección crónica por los virus de hepatitis B y C, la cirrosis hepática, el consumo excesivo de alcohol, la exposición a aflatoxinas y trastornos metabólicos como obesidad y diabetes. No obstante, a pesar de su elevada incidencia, se conoce poco sobre los factores de riesgo específicos en Guatemala, en parte porque alrededor del 80 % de las personas infectadas con HCV desconocen su diagnóstico. Además, la limitada disponibilidad de recursos para pruebas como ecografías o detección de α -fetoproteína dificulta la detección temprana, especialmente en personas mayores de 65 años, población de mayor riesgo. La mortalidad por cáncer de hígado representa el 20 % de todas las muertes por tumores malignos; sin embargo, su incidencia ha disminuido en años recientes debido a la reducción de casos de VHB, cirrosis y consumo de alcohol (Alfaro et al., 2025; Kihn-Alarcón et al., 2020).

Por otro lado, el cáncer de mama es el tipo de cáncer más común en mujeres, provocando más de 2,000 muertes al año, afectando principalmente a mujeres entre los 50 y 59 años. Se estima que para 2030 las tasas globales de cáncer alcanzarán los 23.6 millones de casos, con más del 50 % de la incidencia y el 65 % de las muertes concentradas en países de ingresos bajos y medios. Esta tendencia llevó a la creación de la Política Nacional contra el Cáncer y, posteriormente, de la Comisión Nacional para la Prevención de Enfermedades No Transmisibles y Cáncer en 2013. No obstante, la incidencia del cáncer de mama en Guatemala se mantiene elevada se debe a la falta de concienciación, el acceso limitado a servicios médicos y atención oncológica especializada, así como a las barreras económicas (Kihn-Alarcón et al., 2020).

No obstante, la investigación y la búsqueda de tratamientos contra el cáncer en Guatemala posee todavía importantes limitaciones que impactan negativamente el diagnóstico temprano, la adherencia al tratamiento y la generación de datos confiables. Esto se debe a la falta de registros poblacionales, la escasez de formación en métodos de investigación o infraestructura enfocada en investigación oncológica y la cobertura insuficiente de subgrupos poblacionales. Asimismo, existen limitaciones en cuanto a los tratamientos debido a un acceso centralizado y desigual, recursos humanos y tecnológicos insuficientes e importantes limitaciones económicas (Flood et al., 2018).

4.1.2. Tipos de cáncer más relevantes

Existen más de 200 tipos específicos de cáncer que se clasifican según su ubicación o tipo de célula a partir del cual se originan. Dentro de las clasificaciones más importantes se encuentran el carcinoma, sarcoma, leucemia, linfoma, melanomas y tumores neuro ectodermales.

El carcinoma es el tipo más común de cáncer, el cual se origina a partir de células epiteliales que recubren tanto las superficies internas como externas del cuerpo. Existen diferentes subtipos de carcinoma que se clasifican según el tipo de epitelio del que derivan, entre ellos el adenocarcinoma, el

carcinoma de células basales, el carcinoma de células pequeñas y el carcinoma de células escamosas. Los adenocarcinomas tienen un origen glandular y engloban cánceres frecuentes como el de mama, próstata, pulmón y colorrectal; el carcinoma de células basales, en cambio, surge de la capa más profunda de la epidermis y es el cáncer de piel más común, relacionado principalmente con la exposición crónica a radiación UV; el carcinoma de células pequeñas, típico del cáncer de pulmón, se origina en células epiteliales con características neuroendocrinas y se distingue por su comportamiento altamente agresivo; finalmente, los carcinomas escamosos se desarrollan en el epitelio escamoso presente en la superficie cutánea, el revestimiento de órganos huecos y las vías respiratorias, y se caracterizan por su asociación con irritación crónica, exposición solar o agentes carcinógenos (Y. Xu et al., 2014).

Los sarcomas son un tipo de neoplasias malignas que se originan en tejidos mesenquimales y abarcan, desde tejidos blandos (sarcomas de tejidos blandos) hasta los huesos (sarcomas óseos), siendo el osteosarcoma el subtipo más frecuente. Estos representan aproximadamente el 1 % de todos los cánceres adultos y hasta el 15 % de los tumores sólidos pediátricos (Han et al., 2025).

Asimismo, existen distintos tipos de cáncer que se originan a partir de células hematopoyéticas que pueden afectar tanto el linaje mieloide (leucemia) como linfoide (linfoma). Por un lado, la leucemia se origina a partir del tejido hematopoyético y provoca un aumento en la producción de leucocitos. Existen 4 tipos de leucemia los cuales se clasifican según su rapidez de proliferación (crónica o aguda) y el tipo de cáncer celular que se inicia (linfoblástico o mieloide) (Y. Xu et al., 2014). Por otro lado, el linfoma es un tipo de cáncer que se origina en el sistema linfático, causado por una acumulación anormal de células B, T y células NK en los ganglios linfáticos y los vasos sanguíneos linfáticos. Existen dos principales tipos de linfoma siendo estos: el linfoma de Hodgkin, caracterizado por afectar principalmente las células de Reed-Sternberg, el cual suele propagarse de manera ordenada; y el linfoma no Hodgkin, el cual se origina en el sistema linfático afectando tanto linfocitos T como B (Sucharitha y Bhuvana, 2023).

Los melanomas son un tipo de cáncer de piel que se originan en los melanocitos, células especializadas en la producción de melanina, el pigmento que le da el color a la piel. Representa uno de los cánceres más agresivos de la piel debido a su elevada capacidad de invasión y metástasis temprana. Generalmente provocado debido a una exposición excesiva a la luz ultravioleta (Aris, 2009).

Finalmente, los tumores neuroectodermales comprenden un grupo diverso de neoplasias derivadas de células embrionarias del neuroectodermo, capaces de originarse tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el periférico. Su clasificación suele basarse en su origen embrionario, sus alteraciones genéticas y su ubicación anatómica, dividiéndose principalmente en tumores neuroectodérmicos centrales y tumores neuroectodérmicos periféricos.

Los tumores neuroectodérmicos centrales (cPNET) derivan del neuroepitelio del tubo neural y se desarrollan en el cerebro o la médula espinal. Se caracterizan por su origen embrionario, rápido crecimiento y bajo grado de diferenciación. En este grupo se incluyen tumores como los meduloblastomas, pineoblastomas, tumores teratoides/rabdoides atípicos (AT/RT) y los ETMR, todos ellos reconocidos por perfiles moleculares específicos y una marcada agresividad. Por otro lado, los tumores neuroectodérmicos periféricos (pPNET) se originan en células de la cresta neural, que dan lugar al sistema nervioso simpático, melanocitos y células de Schwann. Dentro de este grupo se encuentran los tumores del sistema nervioso simpático, como el neuroblastoma, el ganglioneuroblastoma y el ganglioneuroma, así como los tumores de la vaina nerviosa (schwannomas y neurofibromas) y neoplasias de linaje melanocítico como el melanoma. Su comportamiento clínico es variable y depende del grado de diferenciación y del tipo celular del que derivan (Horbinski et al., 2023; Rios y De Jesus, 2021).

4.1.3. Bases celulares y moleculares

Alteraciones genéticas relacionadas con el cáncer

El cáncer se caracteriza por alterar la regulación celular interna mediante la generación de mutaciones y la alteración de los mecanismos celulares principales tales como la proliferación y la diferenciación celular. Las mutaciones genéticas son responsables de la generación de células cancerosas ya que alteran la función de proteínas asociadas a la regulación del crecimiento y división celular. Dos categorías de genes mutados son: oncogenes y genes supresores de tumores. Por una parte, los oncogenes son formas mutadas o anormales de genes normales que regulan los mecanismos de crecimiento y división celular. Estos pueden ser activados mediante traslocaciones cromosómicas, mutaciones puntuales, amplificación génica o la introducción de un promotor constitutivo. Algunos ejemplos incluyen HER2, KRAS, NMYC, entre otros. Por otro lado, los genes supresores de tumores son genes que detectan señales de crecimiento inapropiadas o daños en el ADN celular. Al detectar algún tipo de anomalía frenan la división celular o inducen la muerte programada (apoptosis) de células dañadas, evitando así el crecimiento descontrolado que causa el cáncer. Sin embargo, en muchos tipos de cáncer estos se encuentran mutados, lo cual lleva a la acumulación de mutaciones genéticas, proliferación excesiva y a la formación de tumores. Dentro de estos destaca BRCA1, BRCA2 y p53 (Dakal et al., 2024). Ambos representan blancos terapéuticos importantes para el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos.

Alteraciones en la señalización celular en el cáncer

La señalización celular es un proceso fundamental mediante el cual las células son capaces de responder a estímulos externos o internos para regular funciones esenciales como la proliferación, la diferenciación o la muerte celular. En condiciones fisiológicas normales, estas vías se encuentran altamente reguladas y dependen de la activación específica y regulada de receptores. No obstante, en el cáncer, este equilibrio se ve alterado como consecuencia de mutaciones genéticas que conducen a una activación anormal de las rutas de señalización.

Las alteraciones en la señalización celular suelen originarse a partir de mutaciones en genes que codifican receptores de membrana, proteínas de transducción de señales o factores de transcripción. Una de las clases de receptores de membrana que más comúnmente se ven afectados en el cáncer son los receptores de tirosina quinasa, como los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), entre otros. La unión de un ligando específico a este tipo de receptores induce su homo o heterodimerización y su posterior activación mediante diversos mecanismos. Sin embargo, en el cáncer pueden darse delecciones, mutaciones puntuales, amplificación génica o reordenamientos genéticos que dan lugar a receptores constitutivamente activos y descontrolados que favorecen la tumorigénesis (Esteban-Villarrubia et al., 2020).

Generalmente, este tipo de mutaciones inducen alteraciones recurrentes en vías de señalización como PI3K/AKT/mTOR, RAS/RAF/MEK/ERK, WNT/ β -catenina, Notch, TGF- β y JAK/STAT, las cuales regulan procesos esenciales como el ciclo celular, la apoptosis, la diferenciación, la angiogénesis y la respuesta inmune. Las rutas de PI3K/AKT/mTOR y RAS/RAF/MEK/ERK se ven comúnmente activadas debido a mutaciones o traslocaciones cromosómicas y participan de manera conjunta en la tumorigénesis, asociándose con proliferación celular descontrolada (Q. Li et al., 2022). La vía Notch regula la comunicación y el destino celular, por lo que puede contribuir a la supervivencia y resistencia terapéutica. Por otro lado, la señalización mediada por TGF- β presenta un papel dual, ya que en condiciones normales inhibe la proliferación celular, pero en etapas más avanzadas del cáncer favorece la invasión, la angiogénesis e incluso la metástasis. Finalmente, la vía JAK/STAT contribuye al crecimiento tumoral y a la evasión de la respuesta inmune (Curry y Glasgow, 2021).

Proliferación celular descontrolada

La proliferación celular es un proceso altamente regulado por las vías de señalización previamente mencionadas. Este proceso depende del control preciso del ciclo celular, el cual está dividido en distintas fases y se encuentra altamente regulado por distintos componentes, como mitógenos o señales inhibitorias, entre ellas TGF- β . En el cáncer, la desregulación de estos mecanismos conduce a una proliferación celular descontrolada, constituyendo una de las características fundamentales de la tumorigénesis (Dakal et al., 2024).

El ciclo celular se divide en dos fases principales: la interfase y la fase M. Durante la interfase existen fases intermedias que permiten la preparación celular antes de entrar a la mitosis, siendo estas las fases G1, S y G2. Durante la fase G1, la célula aumenta su tamaño y la producción de proteínas como preparación previa a la replicación del ADN. En esta fase existe un punto de decisión conocido como punto R, en el cual las células determinan si continúan el ciclo celular o permanecen detenidas en esta fase. Asimismo, las células pueden entrar en un estado no proliferativo, conocido como quiescencia celular, en la fase G0. Durante la fase S se lleva a cabo la síntesis y replicación del ADN, mientras que en la fase G2 la célula se prepara para entrar en la mitosis (fase M) (Matthews et al., 2021; Weinberg, 2014).

La progresión a través de las distintas fases del ciclo celular está controlada principalmente por complejos de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (CDKs). Diferentes combinaciones de ciclinas y CDKs regulan transiciones específicas, como ciclinas D/CDK4/6 en G1, ciclinas E/CDK2 en la transición G1/S, ciclinas A/CDK2 durante la fase S, ciclinas A/CDK1/CDC2 en G2 y ciclinas B/CDK1/CDC2 en la fase M. De igual manera, existen inhibidores endógenos de CDK, como p16, p15 y p21, así como puntos de control que regulan la progresión del ciclo celular y la homeostasis tisular. No obstante, en el cáncer se observa una sobreexpresión de ciclinas, mutaciones en reguladores clave del ciclo celular, como p53, o defectos en los puntos de control, lo que favorece la inestabilidad genómica y la aparición de aneuploidías. Por esta razón, los componentes del ciclo celular y sus reguladores constituyen importantes dianas terapéuticas en el tratamiento del cáncer (Barnum y O'Connell, 2014; Weinberg, 2014).

Angiogénesis tumoral y metástasis

La tumorigénesis inicia con una proliferación celular descontrolada a nivel local. Sin embargo, la acumulación de mutaciones y el aumento de la agresividad tumoral pueden conducir a la diseminación del cáncer hacia otras partes del cuerpo. En etapas tempranas, los carcinomas se encuentran confinados al compartimento epitelial; no obstante, a medida que ocurre la expansión tumoral, las células se ven expuestas a un microambiente hipóxico, el cual induce la expresión de diversos factores de crecimiento angiogénicos que promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos capaces de suplir al tumor de oxígeno y nutrientes, en un proceso conocido como angiogénesis (Weinberg, 2014).

La angiogénesis tumoral se inicia mediante la liberación de factores de crecimiento como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), los cuales atraen células endoteliales hacia la masa tumoral. Estas células secretan enzimas proteolíticas, como las metaloproteinasas, que degradan la membrana basal de los capilares y permiten la remodelación de la matriz extracelular. Además de favorecer el crecimiento tumoral, este proceso facilita la entrada de células tumorales al torrente sanguíneo, promoviendo la diseminación metastásica (Bielenberg y Zetter, 2015).

El proceso metastásico sigue una secuencia de eventos biológicos altamente regulados que inicia con la invasión local, en la cual el carcinoma rompe la membrana basal mediante la secreción de proteasas que remodelan la matriz extracelular y generan espacio para la migración celular. Posteriormente, ocurre la intravasación de las células cancerosas hacia los vasos sanguíneos o linfáticos.

Una vez en la circulación, algunas células tumorales pueden interactuar con el endotelio vascular y proliferar dentro del lumen o atravesar la pared del vaso mediante extravasación. Finalmente, tras este proceso, las células tumorales pueden establecer micrometástasis en tejidos distantes (Bielenberg y Zetter, [2015](#)).

Mecanismos de muerte celular

Apoptosis

La apoptosis es un mecanismo de muerte celular regulada que se caracteriza por la contracción celular, la condensación de la cromatina y la fragmentación en pequeños cuerpos apoptóticos que son fagocitados por células del sistema inmune como los macrófagos. Esta se encuentra mediada principalmente por la familia de proteínas caspasas. Existen dos vías principales que conducen a la activación de la apoptosis: la vía intrínseca y la vía extrínseca (Reed, [2000](#)).

La vía intrínseca de apoptosis se activa por factores de estrés intracelulares, como daño en el ADN o estrés oxidativo, que conducen a la permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP) y la posterior liberación de citocromo c al citosol. Esta vía se encuentra altamente regulada por la familia Bcl-2, que incluye proteínas antiapoptóticas (Bcl-2 y Bcl-xL), proapoptóticas efectoras (Bax y Bak) y proteínas BH3 exclusivas (Bim, PUMA, Noxa y Bid) (Bertheloot et al., [2021](#)).

Curiosamente, otros miembros de esta familia inhiben la apoptosis. Asimismo, factores como las quinasas dependientes de ciclina o el regulador tumoral p53 modulan la apoptosis al controlar la expresión o estabilización de proteínas proapoptóticas. Un equilibrio entre las afinidades de unión y los niveles relativos de proteínas Bcl-2 regula la resistencia a la apoptosis y determina si la vía puede activarse (Bertheloot et al., [2021](#)).

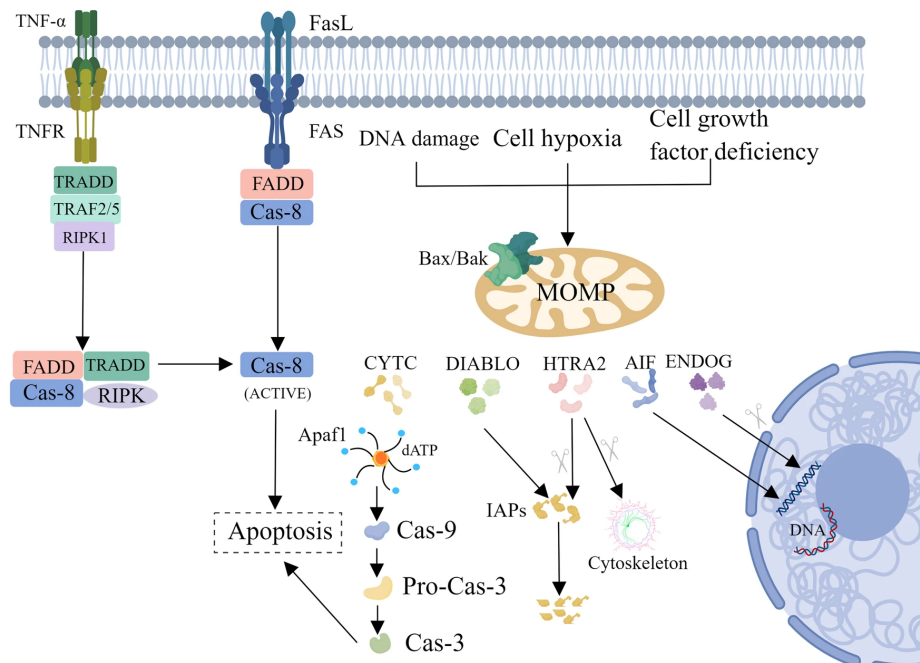
Inicialmente, cuando se detecta daño intracelular, se activan proteínas BH3-only como Bim, PUMA o Bid, que neutralizan a las proteínas antiapoptóticas (Bcl-2, Bcl-xL). Cuando los factores proapoptóticos predominan, estas proteínas BH3 activadoras (Bim, Bid y PUMA) se unen directamente a los efectores Bax y Bak, que experimentan cambios conformacionales que permiten su oligomerización. Tras formar estos oligómeros, Bax (desde el citosol) y Bak (ya presente en la membrana) se insertan y estabilizan en la membrana mitocondrial externa, alterando su permeabilidad y permitiendo la liberación de factores apoptóticos como el citocromo c, Smac/DIABLO y otros componentes reguladores. Una vez en el citosol, el citocromo c se une a Apaf-1 junto con dATP, lo que induce un cambio conformacional que permite el ensamblaje del apoptosoma. Este complejo recluta y activa a la procaspasa-9, que a su vez activa a las caspasas efectoras (caspasa-3 y caspasa-7), responsables de la degradación proteolítica y de la ejecución final de la apoptosis (Reed, [2000](#); W. Park et al., [2023](#); Shen et al., [2023](#); Bertheloot et al., [2021](#)).

La vía extrínseca inicia mediante la activación de receptores de muerte en la superficie celular tales como TNFR1, Fas y los receptores DR4 y DR5 del ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF (TRAIL), tras la unión de sus respectivos ligandos (TNF α , FasL o TRAIL, respectivamente). Estos receptores comparten la presencia de dominios extracelulares ricos en cisteína y un dominio intracelular denominado “dominio de muerte” (DD), esencial para transmitir la señal apoptótica. Una vez que el ligando se une, los receptores se trimerizan y reclutan proteínas adaptadoras como TRADD y FADD, dependiendo del receptor involucrado. En el caso de Fas y de los receptores de TRAIL, FADD recluta directamente a la procaspasa-8 formando el complejo de señalización inductor de muerte (DISC). En este complejo, la proximidad de múltiples moléculas de procaspasa-8 permite su activación por escisión autocatalítica. La proteína reguladora FLIP también puede asociarse al DISC, modulando la activación de la caspasa-8. En contraste, la señalización de TNFR1 primero genera un complejo de supervivencia (complejo I) asociado a la membrana, que contiene a TRADD, RIPK1 ubiquitinada y otras proteínas reguladoras. Este complejo generalmente no induce apoptosis. Cuando esta plataforma se desensambla e internaliza, se forma un complejo citosólico

(complejo II) que incluye a FADD, RIPK1 desubiquitinada y procaspasa-8, permitiendo su activación y promoviendo la señal proapoptótica (W. Park et al., 2023; Shen et al., 2023; Bertheloot et al., 2021).

Una vez activada, la caspasa-8 (y, en algunos contextos, la caspasa-10) activa directamente a las caspasas efectoras (caspasa-3, -6 y -7) mediante escisión proteolítica. Además, la caspasa-8 puede escindir a BID para generar tBID, que se transloca a la mitocondria y activa a Bax/Bak, creando así un puente con la vía intrínseca y promoviendo la permeabilización mitocondrial (MOMP) (W. Park et al., 2023; Shen et al., 2023; Bertheloot et al., 2021).

Figura 1. Dos vías de señalización clásicas para la apoptosis: la vía de señalización apoptótica exógena y la vía de señalización apoptótica endógena



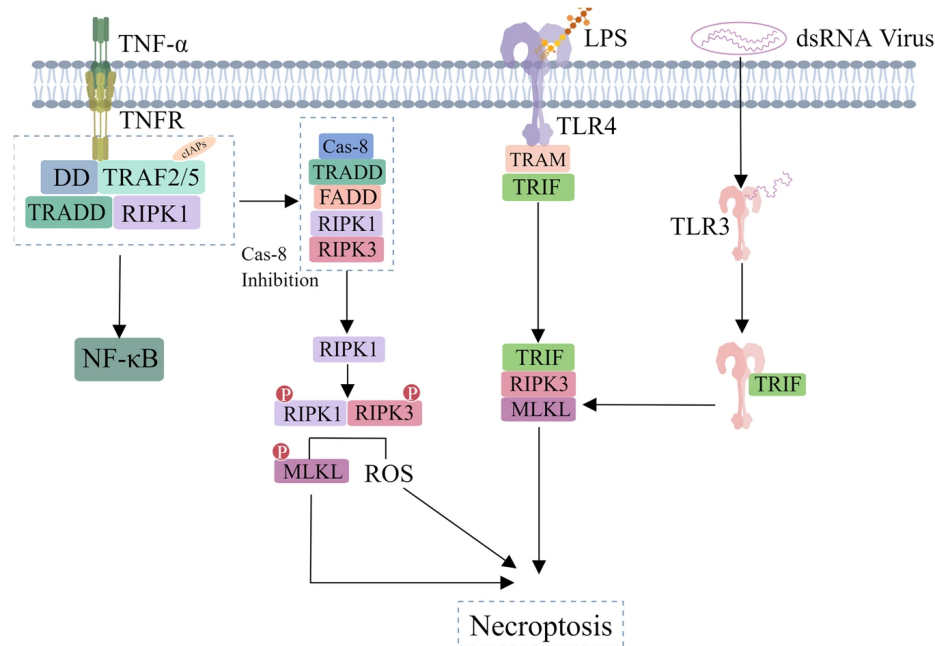
Nota. Shen et al., 2023

Necroptosis

La necroptosis es una forma pasiva y altamente inflamatoria de muerte celular independiente de caspasas. Existen distintos receptores que permiten la inducción de esta ruta tales como los receptores de muerte (Fas/FasL), receptores tipo Toll (TLR4, TLR3) o sensores de ácido nucleico citosólico como RIG-I y STING. Sin embargo, el mecanismo principal de activación de esta ruta consiste en la unión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) al receptor del Factor de Necrosis Tumoral (TNFR). Tras la combinación de TNF- α con TNFR1, se reclutan proteínas para la formación del complejo 1 compuesto por proteínas como RIPK1, FADD e incluso la caspasa 8. Si la acción de la caspasa 8 es inhibida, RIPK1 reclutará y fosforilará a RIPK3 formando un complejo conocido como el ripoptosoma. A su vez, este complejo reclutará y fosforilará a la pseudoquinasa MLKL formando así el necrosoma. Esta fosforilación provocará la inducción de un cambio conformacional que llevará a la exposición de un dominio de haz de 4 hélices (4HBD). Seguidamente, el necrosoma será transferido del citoplasma a la membrana plasmática en donde (i) MLKL actuará como una plataforma para la apertura de canales iónicos de calcio o sodio, lo que permitirá la entrada de iones, la hinchazón y la ruptura celular; o (ii) directamente formará poros en la membrana mediante la interacción de 4HBD y fosfatidilinositol fosfatos (PIP) presentes en la membrana. Finalmente, la ruptura de la membrana celular provocará la liberación de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs)

los cuales serán reconocidos por receptores de reconocimiento de patrones (PRR) provocando la activación de respuestas inflamatorias, eliminación de células muertas y la inducción de procesos de reparación tisular. No obstante, es importante destacar que, una inflamación excesiva puede causar daño tisular y contribuir a la patogénesis de diversas enfermedades (W. Park et al., 2023; Shen et al., 2023; Bertheloot et al., 2021).

Figura 2. Vías de señalización clásicas de la necroptosis celular



Nota. Shen et al., 2023

4.1.4. Tratamientos convencionales y limitaciones

Debido a la amplia gama de mutaciones genéticas y a la heterogeneidad celular que caracteriza al cáncer, esta enfermedad continúa representando un reto significativo para el desarrollo de terapias y medicamentos efectivos. Actualmente, existen diversos tipos de tratamientos y procedimientos que han logrado disminuir el crecimiento y la proliferación tumoral, contribuyendo a una mayor supervivencia de los pacientes. Sin embargo, a pesar de su efectividad, muchos de estos tratamientos presentan limitaciones inherentes, como el desarrollo de resistencia a fármacos, efectos adversos y variaciones genéticas y metabólicas entre los pacientes que condicionan su eficacia clínica.

Cirugía

La cirugía es un procedimiento terapéutico que consiste en la extirpación del tumor con el objetivo de eliminar la mayor cantidad posible de células cancerosas. No obstante, a pesar de una resección aparentemente exitosa, pueden persistir células tumorales en los márgenes quirúrgicos, lo que indica la presencia de enfermedad residual mínima (ERM). Esta condición puede favorecer la recurrencia tumoral y la progresión de la enfermedad, haciendo necesario el uso de terapias adyuvantes para mejorar el pronóstico del paciente (Zafar et al., 2025).

Radioterapia

La radioterapia es un tratamiento contra el cáncer que utiliza radiación ionizante de alta energía, como rayos X, rayos gamma o protones, para destruir células cancerosas mediante el daño directo o indirecto del ADN, impidiendo su replicación. Generalmente, su efecto se concentra en el área tratada; sin embargo, las células sanas adyacentes también pueden verse afectadas. La exposición a radiación ionizante induce la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales pueden causar daño en el ADN y muerte celular en tejidos no tumorales. Esto resalta la importancia de la búsqueda de radiosensibilizadores que permitan potenciar el efecto terapéutico sobre las células tumorales y, al mismo tiempo, reducir el daño inducido en células sanas (Zafar et al., 2025).

Quimioterapia

La quimioterapia es un tratamiento farmacológico que emplea agentes citotóxicos dirigidos a procesos clave del ciclo celular con el objetivo de inducir la muerte celular. Entre los principales grupos de fármacos utilizados se encuentran los agentes alquilantes, antimetabolitos, inhibidores de topoisomerasas y agentes antimitóticos. Sin embargo, la falta de selectividad de muchos de estos fármacos hacia células tumorales representa una limitación importante, ya que también afectan a células normales con alta tasa de proliferación, dando lugar a efectos adversos significativos (W.-D. Yu et al., 2019).

Inmunoterapia

La inmunoterapia representa una de las estrategias más innovadoras en el tratamiento del cáncer y se basa en la estimulación o modulación del sistema inmunológico para reconocer y eliminar células tumorales. Entre las principales modalidades se incluyen los inhibidores de puntos de control inmunológico, las terapias con células CAR-T, las vacunas terapéuticas y los anticuerpos monoclonales. A pesar de los avances obtenidos, estas terapias pueden presentar limitaciones como respuestas variables entre pacientes, toxicidad inmunológica y altos costos, lo que impulsa la búsqueda de estrategias complementarias que potencien su eficacia y seguridad (W.-D. Yu et al., 2019).

4.2. Neuroblastoma

El neuroblastoma es el tumor sólido extracraneal más frecuente en la población pediátrica, representando aproximadamente el 7% de todos los cánceres en la infancia y constituyendo una de las principales causas de mortalidad por cáncer en niños. Este tumor se origina a partir de células precursoras de la cresta neural del sistema nervioso simpático y presenta un comportamiento clínico altamente heterogéneo, que varía desde formas de regresión espontánea hasta enfermedad altamente agresiva (Couanet y Valteau-Couanet, 2011).

Para la evaluación pronóstica del neuroblastoma se consideran múltiples parámetros biológicos y clínicos, entre los cuales destacan el estado de amplificación del oncogén MYCN y las características histopatológicas del tumor. Desde el punto de vista histológico, el neuroblastoma se clasifica en tres subtipos principales: indiferenciado, el cual se asocia con un pronóstico desfavorable, poco diferenciado y diferenciado, siendo estos últimos generalmente asociados a un mejor pronóstico (Sainero-Alcolado et al., 2024).

4.2.1. Definición y origen celular

El neuroblastoma es un tumor embrionario que se origina durante el desarrollo fetal a partir de células derivadas de la cresta neural, las cuales dan lugar al sistema nervioso simpático y a la médula suprarrenal. Normalmente, estas células progenitoras se diferencian en neuroblastos simpáticos o células cromafines. Sin embargo, alteraciones tempranas en el desarrollo provoca que algunas de estas células permanezcan en un estado inmaduro y adquieran una capacidad tumorigénica. Evidencia reciente en estudios de transcriptómica de célula única han sugerido que el neuroblastoma puede originarse tanto de neuroblastos simpáticos inmaduros como de poblaciones progenitoras de la glándula suprarrenal. Asimismo, el grado de diferenciación de la célula de origen se asocia con el riesgo clínico, donde tumores de bajo riesgos presentan características más diferenciadas, mientras que los de alto riesgo derivan de células más inmaduras y altamente proliferativas (Sainero-Alcolado et al., 2024).

A nivel molecular, el neuroblastoma presenta alteraciones genéticas que afectan genes clave involucrados en el control del ciclo celular, la supervivencia y la diferenciación neuronal. La amplificación del oncogén MYCN, un factor de transcripción que regula genes asociados a proliferación y crecimiento celular, conduce a una expansión acelerada de células tumorales y a la inhibición de procesos de diferenciación y apoptosis, lo que se asocia con un pronóstico desfavorable. Por su parte, el gen ALK codifica un receptor tirosina cinasa implicado en el desarrollo del sistema nervioso; mutaciones activadoras en este gen generan señales proliferativas y antiapoptóticas constitutivas mediante la activación de rutas como PI3K/AKT y MAPK/ERK, favoreciendo la progresión tumoral (Figura 3) (Sainero-Alcolado et al., 2024; Pugh et al., 2013).

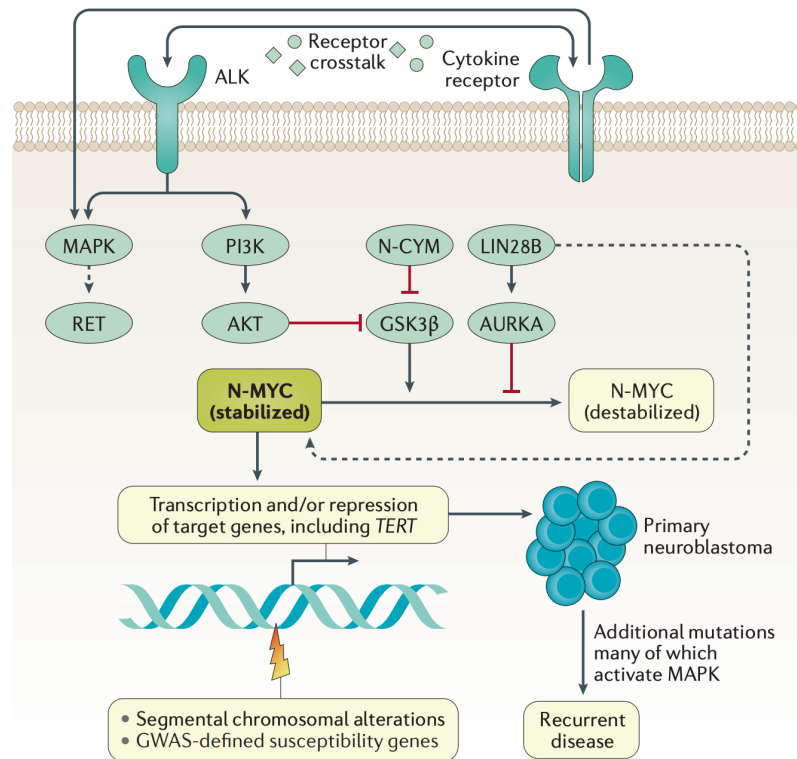
Además, el neuroblastoma se caracteriza por alteraciones cromosómicas recurrentes con impacto funcional. La pérdida de 1p y 11q implica la eliminación de regiones que contienen genes supresores tumorales involucrados en la reparación del ADN y el control del ciclo celular, mientras que la ganancia de 17q se asocia con la sobreexpresión de genes promotores de supervivencia celular. Mutaciones en ATRX, un gen involucrado en la remodelación de la cromatina, alteran la estabilidad genómica y se asocian con mecanismos alternativos de mantenimiento telomérico. De manera similar, reordenamientos en el promotor de TERT, la subunidad catalítica de la telomerasa, permiten la immortalización celular al evitar el acortamiento de los telómeros. En conjunto, estas alteraciones contribuyen a la heterogeneidad biológica del neuroblastoma y explican su comportamiento clínico variable (Pugh et al., 2013).

4.2.2. Epidemiología

A nivel global, el neuroblastoma es el tumor sólido extracraneal más frecuente en la población pediátrica y representa aproximadamente entre el 8 y 10 % de todos los cánceres infantiles, siendo responsable de cerca del 15 % de las muertes relacionadas con cáncer en niños. Según estimaciones del estudio Global Burden of Disease (GBD) 2021, en el año 2021 se reportaron alrededor de 5,560 nuevos casos de neuroblastoma a nivel mundial, con aproximadamente 1,977 defunciones asociadas a esta neoplasia en niños de 0 a 14 años. La incidencia global se estimó en 0.28 casos por cada 100,000 niños, lo que refleja una carga significativa de la enfermedad a pesar de su relativa baja frecuencia absoluta (Yue et al., 2025).

Desde una perspectiva temporal, los datos globales muestran que la incidencia y mortalidad por neuroblastoma han presentado una tendencia en aumento entre 1990 y 2021, aunque con una ligera disminución en los años más recientes. Este incremento ha sido más marcado en regiones con bajo y medio índice sociodemográfico (SDI), como Asia meridional, África subsahariana y América Latina, donde el acceso limitado a diagnóstico temprano y a tratamientos especializados continúa impactando negativamente la supervivencia. En contraste, los países con alto SDI, como Norteamérica y Europa occidental, han experimentado una reducción progresiva en la mortalidad, debido principalmente

Figura 3. Alteraciones genéticas en la iniciación del neuroblastoma



Nota. Matthay et al., [2016](#)

a avances en el diagnóstico precoz, la estratificación de riesgo y la implementación de terapias multimodales e inmunoterapia (Figura [4](#)) (Yue et al., [2025](#); Nong et al., [2025](#)).

El neuroblastoma afecta predominantemente a niños menores de cinco años, concentrándose especialmente en el primer año de vida, etapa en la que se registra la mayor incidencia. Además, se ha observado una ligera predominancia en el sexo masculino, con tasas de incidencia y mortalidad superiores en comparación con el sexo femenino. Estas diferencias etarias y por sexo se mantienen de forma consistente a nivel global y reflejan el origen embrionario del tumor a partir de células de la cresta neural durante el desarrollo temprano (Yue et al., [2025](#); Nong et al., [2025](#)).

A

Mortality

Incidence

B

Mortality

Incidence

En Guatemala, la epidemiología del neuroblastoma es poco conocida debido a la ausencia de registros poblacionales sistemáticos de cáncer infantil, por lo que la información disponible proviene principalmente de reportes hospitalarios de centros de referencia. Datos del principal centro terciario de atención oncológica pediátrica del país indican que, entre los años 2000 y 2007, los neuroblastomas representaron únicamente el 1.5 % de todos los diagnósticos de cáncer infantil, mientras que otros tumores sólidos como el retinoblastoma y los tumores renales fueron considerablemente más frecuentes, representando el 10 % y el 4.0 % de los casos, respectivamente. Esta baja proporción reportada de neuroblastoma no permite establecer su incidencia real en la población pediátrica guatemalteca y sugiere que el panorama epidemiológico del país está condicionado por limitaciones en los sistemas de registro, diagnóstico y notificación de cáncer infantil (Kamihara et al., 2016).

El tratamiento del neuroblastoma se basa en un enfoque multimodal que depende del grupo de riesgo del paciente e integra cirugía, quimioterapia, radioterapia y, en los casos de alto riesgo, terapias biológicas e inmunoterapia. Si bien estas estrategias han permitido mejorar la supervivencia, especialmente en pacientes de bajo e intermedio riesgo, el neuroblastoma de alto riesgo continúa presentando una elevada tasa de recaída y toxicidad asociada al tratamiento, lo que ha impulsado la búsqueda de terapias complementarias y menos agresivas (Qiu y Matthay, 2022; Bhoopathi et al., 2021).

Cirugía

La resección quirúrgica del tumor primario constituye un pilar fundamental del tratamiento, particularmente en pacientes con enfermedad localizada o como parte del manejo multimodal en casos de alto riesgo. La resección completa del tumor se ha asociado con un mejor control local y una reducción del riesgo de recaída cuando se combina con quimioterapia y radioterapia (Bhoopathi et al., 2021). Sin embargo, en tumores avanzados o con factores de riesgo definidos por imagen, la cirugía puede ser técnicamente compleja y asociarse a un alto riesgo de complicaciones, además de no ser suficiente para erradicar la enfermedad residual microscópica.

Quimioterapia

La quimioterapia sistémica es el tratamiento principal en la mayoría de los pacientes con neuroblastoma, especialmente en aquellos con enfermedad metastásica. Se utilizan combinaciones de agentes citotóxicos con el objetivo de reducir la carga tumoral antes de la cirugía y eliminar células tumorales residuales. En pacientes de alto riesgo, se emplean esquemas intensivos seguidos de quimioterapia a altas dosis y trasplante autólogo de células madre (Qiu y Matthay, 2022). No obstante, la quimioterapia se asocia con una elevada toxicidad aguda y crónica, incluyendo mielosupresión, cardiotoxicidad, nefrotoxicidad y riesgo de segundos cánceres, además del desarrollo de resistencia tumoral que limita su eficacia a largo plazo (Bhoopathi et al., 2021).

Radioterapia

El neuroblastoma es un tumor radiosensible, por lo que la radioterapia se utiliza principalmente para el control local del tumor primario y de sitios metastásicos residuales tras la quimioterapia y la cirugía. Su uso ha contribuido a mejorar el control local de la enfermedad en pacientes de alto riesgo (Bhoopathi et al., 2021). Sin embargo, la radioterapia en población pediátrica se asocia con efectos adversos importantes a largo plazo, como alteraciones del crecimiento, daño a órganos en desarrollo y un mayor riesgo de neoplasias secundarias, lo que limita su aplicación y dosis óptima (Qiu y Matthay, 2022).

Inmunoterapia y terapias biológicas

En los últimos años, la inmunoterapia, particularmente los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el gangliósido GD2, se ha incorporado como tratamiento de mantenimiento en pacientes con neuroblastoma de alto riesgo. Esta estrategia ha demostrado mejorar la supervivencia al potenciar la citotoxicidad mediada por el sistema inmune (Qiu y Matthay, 2022). A pesar de estos avances, la inmunoterapia no está exenta de limitaciones, ya que puede inducir efectos adversos significativos, como dolor neuropático e inflamación sistémica, y su eficacia puede verse reducida por mecanismos de evasión inmunológica del tumor (Bhoopathi et al., 2021).

4.2.4. Modelos celulares utilizados en el estudio del neuroblastoma

Las líneas celulares constituyen herramientas fundamentales para el estudio de los mecanismos moleculares del cáncer y para la evaluación preliminar de agentes con potencial terapéutico. En el estudio del neuroblastoma, el uso de distintas líneas celulares permite modelar tanto células tumorales con diferentes perfiles biológicos como células no tumorales, facilitando la comparación de efectos citotóxicos y la evaluación de selectividad terapéutica.

SH-SY5Y

La línea celular SH-SY5Y es una sublínea derivada de un neuroblastoma humano y es ampliamente utilizada como modelo *in vitro* debido a su origen neuronal y a su capacidad para representar características moleculares y funcionales del neuroblastoma, incluyendo vías asociadas a proliferación, diferenciación y apoptosis. Por ello, constituye un modelo representativo de neuroblastoma con fenotipo menos agresivo y sensible a diversos tratamientos (Lopez-Suarez et al., 2022).

LAN-1

Por otro lado, la línea LAN-1 corresponde a una línea de neuroblastoma humano de alto riesgo, caracterizada por un comportamiento más agresivo y una mayor resistencia a tratamientos convencionales, lo que la convierte en un modelo relevante para el estudio de terapias dirigidas a neuroblastomas avanzados (Schäfer et al., 2023).

CHO

Finalmente, la línea CHO (Chinese Hamster Ovary) se emplea como modelo celular no tumoral y se utiliza comúnmente en estudios de toxicidad y biocompatibilidad. Su inclusión permite evaluar la selectividad de los tratamientos, diferenciando los efectos citotóxicos sobre células tumorales frente a células no cancerosas, lo cual es esencial para la identificación de agentes con potencial terapéutico y menor toxicidad sistémica (Latorre et al., 2023). El uso combinado de estas líneas celulares permite una evaluación integral del efecto biológico de los tratamientos, aportando información relevante sobre eficacia, selectividad y posibles mecanismos de acción.

4.3. Hongos con potencial biomédico

4.3.1. Diversidad de hongos en Guatemala

Guatemala es un país mega biodiverso compuesto de múltiples biomas, ecorregiones terrestres, comunidades naturales y más de 1,000 y 10,000 especies de fauna y flora respectivamente (BIOFIN, 2021). Parte de esta biodiversidad se atribuye a las características físicas y geográficas del país. Guatemala se encuentra en medio de los bloques continentales de América del Norte y América del Sur y separa los océanos Atlántico y Pacífico. Asimismo, marca la división entre la región Neártica y Neotropical, actuando como una barrera entre la biota del Norte y del Sur. Las cadenas montañosas que rodean el área detienen las lluvias que llegan de los cuerpos de agua que lo rodean, lo que genera distintos grados de precipitación en distintas áreas del país. Asimismo, los cambios de altitud generados por las montañas o volcanes generan un amplio rango de temperaturas y condiciones que permiten el desarrollo de distintas especies (Jiménez, 2021; Arnoldo et al., 2019).

La influencia oceánica, las características fisiográficas y la gran diversidad de bosques en el país hacen que la región tenga suelos ricos en materia orgánica, alta humedad y temperaturas moderadas. Este tipo de condiciones favorece el desarrollo de especies de fauna y flora, incluyendo diversas especies fúngicas. Las condiciones óptimas del cultivo y crecimiento de hongos puede variar según la especie y sus adaptaciones fisiológicas al ambiente. Existen hongos que pueden crecer y desarrollarse en ambientes de extremo frío (psicrótolerantes) o de extremo calor (termotolerantes). Sin embargo, generalmente su crecimiento se ve favorecido por una alta humedad y temperaturas moderadas, siendo la temperatura óptima entre 20 y 30°C (Talley et al., 2002). Dado el clima templado, la alta humedad y presencia de una gran diversidad de bosques en el país, se favorece el crecimiento de

estos organismos.

Según el portal de biodiversidad de Guatemala, existen 82 familias, 156 géneros y 389 especies de hongos que han sido documentados en el país, pertenecientes principalmente a la división *Ascomycota* y *Basidiomycota* (de Biodiversidad de Guatemala, [2025]). No obstante, existe investigación limitada sobre hongos endémicos y su aplicación en investigación.

Se han reportado estudios enfocados en la investigación de hongos con importancia alimenticia o médica. En cuanto al área alimenticia, se ha documentado la recolección e investigación de al menos 70 especies de hongos, específicamente hongos ectomicorrízicos (Pérez-Moreno et al., [2020]; Bran et al., [2003]). Asimismo, Guatemala también es conocida por ser un área endémica de patógenos fúngicos, debido a las características ambientales favorables mencionadas con anterioridad. Se han reportado hongos como *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides sp.* o *Cryptococcus neoformans* que crecen en Guatemala y provocan infecciones fúngicas que representan un contribuyente significativo a la mortalidad a nivel nacional (Medina et al., [2017]). No obstante, incluso este aspecto de la investigación con hongos permanece todavía un área poco estudiada.

4.3.2. Características generales de los hongos medicinales

Los hongos han sido utilizados como remedios tradicionales desde hace más de 4500 años por culturas antiguas como la mesopotámica, la egipcia y la griega. Con el tiempo, su uso se fue extendiendo como posibles agentes antiinflamatorios, cicatrizantes o con valor nutricional (Stamets y Zwickey, [2014]). Con la invención de la microscopía, el avance de la microbiología y, posteriormente, el descubrimiento de la penicilina, el interés en este tipo de organismos se incrementó notablemente. En la actualidad, se han identificado múltiples componentes propios de distintas especies de hongos que han demostrado una amplia variedad de funciones medicinales, entre ellas, actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, inmunomoduladoras y antitumorales (Jeitler et al., [2020]).

Un área innovadora en la que se ha planteado su uso es en el estudio del cáncer. La particularidad de los hongos medicinales en oncología es que, al ser productores de múltiples metabolitos, pueden afectar diversos procesos relacionados con el desarrollo tumoral de forma sinérgica cuando se utilizan como tratamiento contra distintos tipos de cáncer, como hepatocarcinomas, cáncer cervical, leucemia, cáncer de mama o cáncer de colon (Blagodatski et al., [2018]). Asimismo, pueden actuar a través de diferentes vías de señalización, entre las que destacan PI3K/AKT, Wnt/CTNNB1 y MAPK (H.-J. Park, [2022]).

4.3.3. *Cantharellus cibarius*

Cantharellus cibarius, comúnmente conocido como rebozuelo, chantarella dorada o anacate es un hongo comestible ampliamente conocido por su valor nutricional, usos culinarios o debido a su composición de compuestos bioactivos. Este pertenece al filo Basidiomycota, clase Agaricomycetes, orden Cantharellales, familia Cantharellaceae y género *Cantharellus* (PubChem, [2026]). Este hongo se distingue por su característico color amarillo dorado y su olor suave y afrutado. Su cuerpo fructífero es compacto y carnoso, con un himenio que presenta pliegues (Leacock et al., [2017]). Generalmente predomina en bosques de pino o en suelos cubiertos de musgo, líquenes o arándanos. Es una especie mesófila que prefiere climas templados y suelos ácidos, pobres en nitrógeno. Se encuentra ampliamente distribuido en Europa, Asia, América, con algunas variaciones regionales (Luginina y Sorokina, [2021]). Asimismo, ha sido previamente identificado en Guatemala, aunque con especies similares morfológicamente pero genéticamente distintas (Flores et al., [2008]). Además, se caracteriza por ser un hongo ectomicorrízico que alberga comunidades bacterianas complejas, lo cual dificulta su cultivo artificial (Ge et al., [2023]).

La composición de metabolitos bioactivos propios de *C. cibarius* varía en base a diversos factores ambientales o geográficos. En términos generales, este hongo es rico en carbohidratos, proteínas, ácidos grasos insaturados, metabolitos secundarios y microelementos esenciales (Režić Mužinić et al., 2023). A medida que se reconocen las propiedades beneficiosas de *C. cibarius*, este hongo se está convirtiendo cada vez más en un aditivo alimentario recomendado. Esto dado que ha demostrado tener efectos antioxidantes, antitumorales, inmunomoduladores, neuroprotectores y metabólicos, respaldados por estudios preclínicos (Chen y Xu, 2024).

Figura 5. *Cantharellus cibarius*



Nota. Krikorev, 2019

4.3.4. *Pleurotus djamor*

Pleurotus djamor, también conocido como hongo ostra rosa, es un hongo comestible caracterizado por la formación de cuerpos fructíferos de color blanco o rosa en forma de abanico con una superficie aterciopelada. Este pertenece al filo Basidiomycota, clase Agaricomycetes, orden Agaricales, familia Pleurotaceae y género *Pleurotus* (Schoch, 2020). *P. djamor* es la especie pantropical más importante y abundante del género *Pleurotus*, la cual al ser una especie de rápido crecimiento y de crecimiento superficial, posee un periodo de incubación y ciclos de cultivo más cortos que los de otras especies comerciales del mismo género (Salmones, 2017).

Este hongo presenta enzimas lignocelulósicas que le permiten crecer en una gran variedad de ambientes agrícolas y forestales. Predomina en climas tropicales y condiciones ambientales cálidas con una temperatura óptima de crecimiento entre 22 a 30°C (Salmones, 2017). Se encuentra ampliamente distribuido en el Sudeste asiático y América Central. En Guatemala, se ha documentado la observación y cultivo de esta especie en la ciudad de Guatemala y Mixco (Bran et al., 2003).

Al igual que las demás especies del género *Pleurotus*, *P. djamor* posee un gran valor nutricional debido a su composición nutricional con alto valor alimenticio. Dentro de su composición destacan los polisacáridos, glicoproteínas y metabolitos secundarios bioactivos, como alcaloides, flavonoides y betalainas. Estos han generado un creciente interés debido a sus propiedades medicinales notables, con propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antidiabéticas (Phonemany et al., 2025).

Figura 6. *Pleurotus djamor*



Nota. Micelio, [2025](#)

4.4. Biocomponentes fúngicos con potencial anticancerígeno

Los hongos comestibles se componen de una gran variedad de metabolitos primarios y secundarios que les confieren importantes actividades farmacológicas. La composición fitoquímica depende de la especie de hongo, su distribución geográfica y su forma de cultivo. Asimismo, estos pueden ejercer una actividad anticancerígena o antitumoral mediante distintos mecanismos, ya sea mediante un mecanismo directo al inducir la apoptosis o detener el ciclo celular; o una acción indirecta mediante la estimulación del sistema inmune. Algunos de los principales componentes que han sido identificados en diversas especies de hongos son los polisacáridos, compuestos fenólicos y compuestos apolares como los triterpenos (J. Xu et al., [2022](#)).

4.4.1. Polisacáridos fúngicos

Los polisacáridos constituyen una de las tres clases principales de glucósidos que existen, junto con los monosacáridos y los oligosacáridos. Estos consisten de más de 20 unidades de monosacáridos que difieren entre sí en cuanto a la naturaleza de sus unidades monoméricas, longitud de sus cadenas, tipos de enlaces y su grado de ramificación. Se encuentran unidos mediante enlaces O-glucosídicos formados entre el grupo hidroxilo de un azúcar y el carbono anomérico de otro. Entre estos destacan la celulosa y el glucógeno (Nelson y Cox, [2019](#)). Estos ejercen múltiples funciones que resaltan su importancia en el metabolismo y en la salud. Algunas de sus funciones principales consisten en suministrar de energía a las células, proporcionarles estructura, participar en el reconocimiento y adhesión celular, actuar como señales de localización intracelular, entre otros (Holesh et al., [2023](#)).

Los hongos están conformados por distintos componentes orgánicos como los carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas, etc. En particular, los carbohidratos representan los compuestos bioactivos

más abundantes e importantes en estos organismos. Existen polisacáridos extracelulares e intracelulares los cuales varían en cuanto a la especie de hongo evaluado y en cuanto a su función. A nivel extracelular, gran parte de los mismos se encuentran en la pared celular fúngica, donde destacan los glucanos, la quitina y los mananos, polímeros compuestos por unidades repetidas de glucosa, N-acetilglucosamina y manosa respectivamente (W. Wang et al., 2022). Algunos de los polisacáridos fúngicos más comunes y estudiados son el lentinano y el esquizofilano aislados de *Lentinus edodes* y *Schizophyllum commune* respectivamente (Khan et al., 2014).

4.4.2. Métodos de extracción y purificación

El estudio y aplicación de polisacáridos fúngicos en terapias clínicas presenta todavía diversas limitaciones que deben ser superadas previo a su optimización. Parte de estas limitaciones se deben a la incógnita que existe en cuanto a su información estructural y los mecanismos moleculares asociados a ellos. Asimismo, otras limitaciones que influyen son la sensibilidad de su actividad biológica frente a sus propiedades fisicoquímicas como su solubilidad o alta viscosidad, el gran consumo de disolventes, las altas temperaturas necesarias para el proceso o la baja eficiencia de los métodos de extracción (Elnahas et al., 2024). Actualmente, existen diversos métodos de extracción. Algunos de los más utilizados son: extracción con agua caliente (HWE), extracción asistida por microondas (MAE), extracción asistida por enzimas (EAE), extracción asistida por ultraalta presión (UHPAE) y extracción asistida por ultrasonidos (UAE) (W. Wang et al., 2022).

Extracción con agua caliente (HWE)

La técnica de extracción por agua caliente es una de las técnicas de extracción de polisacáridos más utilizadas debido a su facilidad y viabilidad económica. Este método consiste en disolver el material fúngico en agua a temperaturas elevadas durante un periodo prolongado de tiempo. Las condiciones óptimas reportadas para este método son: Tiempo de extracción de 2 a 4h, temperatura de extracción de 60 a 100 °C, relación sólido-líquido de 1:50 a 1:100 g/mL (W. Wang et al., 2022). Dado que los polisacáridos son componentes macromoleculares altamente polares, este método se basa en la solubilización de los mismos, permitiendo su separación de otros componentes no polares. Algunas ventajas que suponen el uso de este método son bajos costos operativos, respeto al medio ambiente y uso de equipos sencillos y fáciles de conseguir. Sin embargo, la eficiencia de este proceso no es tan elevada, reportándose porcentajes de rendimiento de 0.025 - 10.69 % (Udchumpisai y Bangyeekhun, 2019; Ma et al., 2016). Asimismo, también existen ciertas limitaciones en cuanto a su uso tales como la alta temperatura de extracción necesaria que podría degradar los productos químicos y disminuir la actividad de los polisacáridos y el tiempo prolongado necesario para su extracción. Por esta razón, este método suele combinarse con técnicas adicionales, como el método de precipitación con alcohol o extracción a alta presión (Tepsongkroh et al., 2023).

Extracción asistida por microondas (MAE)

La extracción asistida por microondas es una técnica de extracción que consiste en calentar rápidamente un solvente y el material fúngico, mediante microondas, para facilitar la liberación de los compuestos bioactivos. Esta técnica se basa en 2 mecanismos principales, siendo estos la conducción iónica y la rotación dipolar. Debido al campo eléctrico alterno generado, los iones se mueven rápidamente en direcciones opuestas. Debido a la presencia de moléculas dipolares, los cambios de dirección repentinos de las microondas van a hacer que las moléculas intenten alinearse con el campo eléctrico, provocando que giren constantemente, generando fricción y, de esta manera, liberando calor al medio. El calor generado va a ayudar a romper la pared celular logrando que los polisacáridos se liberen con mayor facilidad, siendo un método más eficiente y rápido que la

extracción con agua caliente (Chemat y Cravotto, 2013). Las condiciones óptimas que se han previsto para esta técnica son: potencia de microondas de 515 W, tiempo de extracción de 3,1 min, relación líquido-sólido de 15 ml/g y pH de 3,2 (W. Wang et al., 2022).

Extracción asistida por ultrasonidos (UAE)

La extracción asistida por ultrasonidos es una técnica de extracción de polisacáridos que pretende maximizar la eficiencia de la extracción al evitar exponer los compuestos a condiciones térmicas degradativas. Este método se basa en el concepto de cavitación acústica. Durante este proceso, se producen ondas ultrasónicas que, mediante una serie de ondas de compresión y rarefacción, generan burbujas de cavitación. Al colapsar, estas burbujas liberan energía en forma de calor y generan ondas de choque que provocan la ruptura de la pared celular, facilitando la penetración del disolvente y la liberación de componentes como los polisacáridos (Picot-Allain et al., 2021). A diferencia del método anterior, este presenta un mayor porcentaje de rendimiento (20.52 %), menores tiempo de extracción, menores daños al componente objetivo y es más respetuoso con el medio ambiente (Yu, et al., 2017). No obstante, también presenta ciertas limitaciones puesto que, tras la exposición a vibración excesivas, puede provocar la destrucción estructural de los polisacáridos. Las condiciones óptimas que se han recomendado para este procedimiento son: Potencia ultrasónica de 380 W, tiempo de extracción de 25 min y granularidad del material de 400 mesh (W. Wang et al., 2022).

4.4.3. Mecanismos de acción de los polisacáridos fúngicos

Los polisacáridos fúngicos representan uno de los componentes bioactivos más abundantes en los hongos. Numerosos estudios han demostrado que estos componentes poseen un importante potencial farmacológico en estudios oncológicos. En general, se han identificado dos mecanismos principales de acción: un mecanismo directo, mediante el cual los polisacáridos inhiben el crecimiento de células cancerosas o inducen su muerte celular; y un mecanismo indirecto, mediante el cual estimulan la respuesta inmune del huésped contra las células tumorales. Si bien la actividad anticancerígena o inmunomoduladora depende de la estructura y composición de los polisacáridos, diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado resultados prometedores sobre su uso aditivo con terapias actuales. Incluso se han comercializado productos a base de polisacáridos fúngicos, como Lentinan, Grifolan o Schizophyllan, que han resultado exitosos (M. Lemieszek y Rzeski, 2012; Ren et al., 2012).

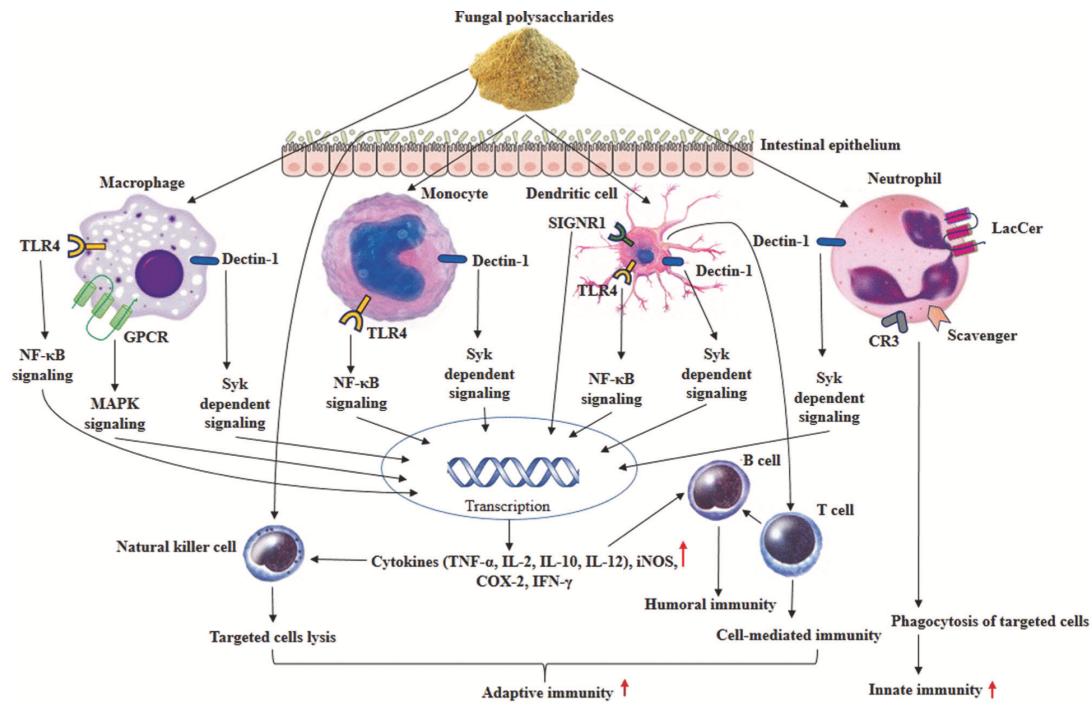
Cabe destacar que, la función inmunomoduladora o anticancerígena de los polisacáridos depende de sus características físicas y/o estructurales. Algunas de las características principales son su peso molecular, tipo de estructura (lineal o ramificada), composición de monosacáridos, conformación y los tipos de enlaces entre los monómeros (W. Wang et al., 2022). El peso molecular de los polisacáridos fúngicos puede variar desde 10 hasta 800 kDa. Este puede ser determinado a partir de técnicas como HPLC o cromatografía de permeación en gel de alta presión. Generalmente, se requiere un alto peso molecular para potenciar las actividades biológicas o inmunológicas del extracto dado que esto genera una unidad más activa y una mejor afinidad de unión a los receptores de carbohidratos. Además, los polisacáridos también difieren en cuanto a su grado de ramificación y distribución. Muchas veces la desramificación de los polisacáridos aumenta su bioactividad, siendo normalmente más activos en un grado de ramificación entre 20-33 % (Ren et al., 2012). En cuanto a la composición de monosacáridos, esta puede ser evaluada mediante cromatografía de gases o análisis por HPLC. Usualmente, los polisacáridos fúngicos se componen de galactosa, glucosa y manosa. No obstante, también pueden estar compuestos de arabinosa, xilosa, fucosa, ribosa o ramnosa. La conformación estructural de estos compuestos también resulta de gran relevancia puesto que su estructura determina sus bioactividades específicas. La mayoría de los polisacáridos aislados son heteropolisacáridos con enlaces de tipo α o tipo β , como el α -D-glucano o las glucoproteínas. El efecto antitumoral de los polisacáridos se atribuye generalmente a sus estructuras de 1,3- β -glucano o complejo proteico de β -glucano. Dichas estructuras pueden ser determinadas a partir de técnicas como FTIR, RMN, HPLC o cromatografía

de gases y espectrografía de masas (Xiao et al., 2020; W. Wang et al., 2022).

Mecanismo indirecto

Uno de los mecanismos más estudiados y reportados de los polisacáridos fúngicos es el mecanismo indirecto, el cual consiste en la estimulación, activación y proliferación de células inmunes y la producción de citoquinas pro inflamatorias. Existen distintas vías de activación de estos componentes bioactivos las cuales difieren en cuanto a su estructura molecular o incluso en cuanto a la ruta de administración. Generalmente, estos pueden activar tanto una respuesta inmune innata como adaptativa la cual se ve regulada por la liberación de mensajeros químicos o citoquinas que inducen respuestas pro inflamatorias o respuestas de fase aguda (Kiddane y Kim, 2021).

Figura 7. Mecanismo indirecto de acción de polisacáridos fúngicos



Nota. Zaitseva et al., 2025

Reconocimiento por receptores de reconocimiento de patrones (PRR)

Los glucósidos de la pared celular y los exopolisacáridos fúngicos juegan un papel crítico en la interacción hongo-huésped. Dado que estos son moléculas exógenas, el sistema inmune los reconoce como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). En particular, son detectados por receptores de reconocimiento de patrones (PRR) expresados en la superficie de diversas células inmunes, como macrófagos, células dendríticas y neutrófilos, lo que desencadena la activación de diversas vías de señalización (Ren et al., 2012).

Según múltiples estudios, algunos de los receptores más comunes reportados que detectan a los polisacáridos fúngicos son la dectina-1, el receptor del complemento 3 (CR3), receptores scavenger, lactosilceramida (LacCer) y el receptor tipo Toll (TLR). Uno de los receptores más estudiados son los TLR en la superficie de los macrófagos. La generación de modelos knockout de TLRs permitió dilucidar su importancia funcional en la respuesta inmune al disminuir la liberación de importantes

quimioquinas o factores proinflamatorios como quimiocinas derivadas de queratinocitos (KC), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP)-2, TNF o IL-1 β (Netea et al., 2007). Este receptor presenta una actividad colaborativa con la dectina-1, la cual es una lectina de membrana de tipo C que reconoce β -glucanos y se expresa sobre la superficie de células inmunitarias, en donde destacan los macrófagos. Este contiene una porción extracelular con un dominio de reconocimiento de carbohidratos y una porción intracelular con un motivo de activación inmunoreceptor basado en tirosina (ITAM). Cuando el dominio extracelular entra en contacto con fragmentos de β -(1,3)-glucanos, se induce la fosforilación de Syk, I κ B y la translocación de NF- κ B al núcleo. Esto controla una amplia gama de respuestas inmunes incluyendo la regulación de la fagocitosis de leucocitos, el reclutamiento de otros TLR, la maduración de fagolisosomas, entre otros (Snarr et al., 2017). Otro tipo de receptores de lectina de tipo C (CLR) son los receptores de manosa, presentes en macrófagos, células dendríticas, linfocitos o células endoteliales. Estos son capaces de detectar manosa, fucosa y N-acetilglucosamina a través de dominios de reconocimiento de carbohidratos (CRD) en sus dominios carboxiterminales extracelulares desempeñando un papel esencial en la homeostasis inmune al mejorar la actividad fagocítica de los macrófagos, producir ROS, activar el factor nuclear- κ B (NF- κ B) e inducir la secreción de citocinas (W.-J. Li et al., 2016).

Regulación de rutas de señalización y liberación de citoquinas

La vía de señalización activada por polisacáridos fúngicos depende de su estructura química y el receptor involucrado en el reconocimiento. Generalmente, el mecanismo de acción está asociado con las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), incluidas las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK), las quinasas N-terminales c-Jun (JNK) y p38; la tirosina-proteína quinasa SYK; y el factor nuclear kappa B (NF- κ B) a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) (Yin et al., 2021).

Generalmente, los receptores como los TLRs o los receptores de dectinas, en presencia de polisacáridos, preferiblemente β -glucanos, activan estas rutas (SYK, MAPK y NF- κ B) de forma simultánea. Cuando la cola intracelular hemITAM de receptores como la dectina-1 se fosforila, se estimula el reclutamiento directo de Syk a partir de dominios SH2. Al activarse, este desencadena la producción de quimiocinas y citocinas a través de varias vías posteriores, incluida la cascada de señalización de ERK y la activación de factores de transcripción como NF- κ B (Mócsai et al., 2010; Snarr et al., 2017). El factor de transcripción NF- κ B controla la actividad de genes relacionados con la apoptosis, senescencia celular, inmunidad e inflamación (Yin et al., 2021).

En circunstancias normales, las células inmunes, como los macrófagos, se encuentran en un estado estático. Sin embargo, al activarse, potencian la producción de mediadores como el óxido nítrico (NO), las especies reactivas de oxígeno (ROS), el TNF- α , la IL-1 β e IL-6. El NO es una molécula de señalización intracelular pro-inflamatoria que actúa como un agente citotóxico para regular la respuesta inmunitaria. Las ROS también son efectores pro-inflamatorios que actúan como un mecanismo de defensa antimicrobiana. Las citoquinas IL-1 β , IL-6 e IL-10 también juegan un rol importante en la vía de señalización activada por polisacáridos fúngicos. IL-1 β media la inflamación y produce fiebre; IL-6 promueve la fagocitosis, la presentación de antígenos, la activación de linfocitos T y, además tiene una actividad pro-inflamatoria; y finalmente, la IL-10 es una citoquina anti-inflamatoria que tiene efectos inmunosupresores. La activación o supresión de estos factores inflamatorios actúan en unísono para regular la respuesta inmune y proteger al cuerpo del desarrollo de tumores o cáncer (Yin et al., 2021).

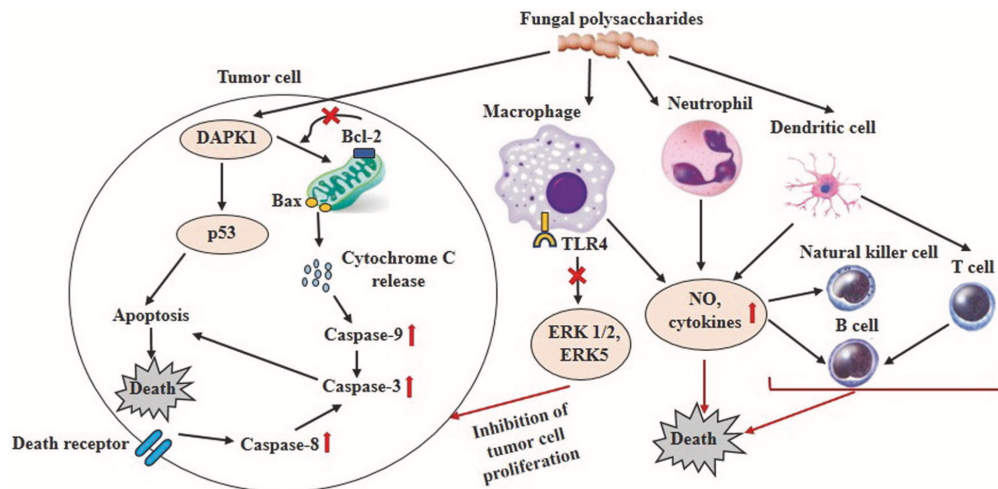
Polisacáridos extraídos de hongos del género *Pleurotus* como *P. eryngii* incrementaron la liberación de factores como NO, TNF- α , IL-1 e IL-6 (379.9 %, 25.4 %, 42.9 %, 20.4 %) mediante la fosforilación de p38, ERK y JNK a través de la vía MAPK y la translocación nuclear en células RAW 264.7 (D. Xu et al., 2016). En macrófagos diferenciados de THP-1 estimulados con polisacáridos extraídos de *P. pulmonaris*, se observó un comportamiento similar al inducir la producción de factores como TNF- α , IL-1 β e IL-6 mediante una regulación positiva de NF- κ B (Mokhtar et al.,

[2024]. Asimismo, se ha observado que, los polisacáridos fúngicos son capaces de estimular la diferenciación de células inmunitarias para la producción de citoquinas anti-inflamatorias. Polisacáridos de *P. citrinopileatus* fueron capaces de modular la diferenciación monocítica a macrófagos tratados con $\text{IFN}\gamma$ + LPS. Esto aumentó los niveles de la citocina antiinflamatoria IL-10, mejoró la expresión de los ARNm de CCL2 y CCL8 e inhibió la expresión del ARNm de CCR2 en los macrófagos activados con $\text{IFN}\gamma$ /LPS (Minato et al., 2019). Del mismo modo, se ha observado que los polisacáridos fúngicos pueden actuar sobre receptores como TLRs o receptores de dectina en la superficie de las células dendríticas y activar vías de señalización que promueven su maduración o función (Xiong et al., [2023]).

Mecanismo directo

Otro mecanismo relevante, pero menos estudiado de los polisacáridos fúngicos es el mecanismo directo. Mediante este mecanismo, los polisacáridos fúngicos ejercen efectos anticancerígenos directos mediante inducción de apoptosis, arresto del ciclo celular y daño al ADN en células tumorales.

Figura 8. Mecanismo indirecto de acción de polisacáridos fúngicos



Nota. Zaitseva et al., [2025]

Inducción de apoptosis

La inducción de apoptosis mediada por polisacáridos fúngicos puede ser activada por medio de 2 rutas principales: la vía intrínseca mitocondrial o la vía extrínseca. En el primer caso, el principal grupo de genes que regula la apoptosis es la familia *Bcl-2*, la cual se divide en 3 subfamilias principales que se diferencian según el número de dominios de homología a *Bcl-2*: (i) una subfamilia compuesta por *Bcl-2*, *Bcl-xL* y *Bcl-w*, (ii) una subfamilia que incluye *Bax*, *Bad* y *Bak* y (iii) una subfamilia compuesta por *Bik* y *Bid*. La primera mostrando una actividad antiapoptótica y las últimas dos una actividad proapoptótica (Ren et al., [2012]).

Bax es una proteína propapoptótica que puede perforar la membrana externa mitocondrial y permeabilizar la membrana lo que lleva a la liberación de citocromo c para mediar la muerte celular por apoptosis. De modo contrario, *Bcl-2* es una proteína antiapoptótica que se dimeriza con *Bax* inactivando su función y previniendo la apoptosis. El efecto de los polisacáridos fúngicos se caracteriza por un incremento en la relación *Bax*/*Bcl-2* lo cual estimula la liberación de citocromo c de la mitocondria y la activación las *caspasas* -9 y -3 lo que lleva a la muerte celular por apoptosis (Shamas-Din et al., [2013]). En este proceso juega un papel fundamental la proteína supresora tumoral

p53, que es activada ante daño genético y favorece la apoptosis intrínseca al aumentar la expresión de *Bax*, *Puma* y *Noxa*, mientras suprime proteínas antiapoptóticas como Bcl-2 (D.-H. Lee et al., 2008).

La vía extrínseca, aunque menos estudiada, se activa por señales proapoptóticas externas como FasL o TNF- α . Esto activa la *caspasa-8* lo cual activa directamente a la *caspasa 3* o amplifica la vía intrínseca activando a *Bax* (Monari et al., 2008).

Polisacáridos extraídos de *Sanghuangporus vaninii* indujeron la apoptosis en células MCF-7, una línea celular de cáncer de mama humano, a través de la vía Bcl-2/Bax en sinergia con la vía extrínseca, evidenciado debido a una regulación positiva de *Bax*, *Bcl-2* y las *caspasas 3*, *-8* y *-9* (Wan et al., 2020). Polisacáridos solubles en agua de *Armillaria mellea* (AMP) exhibía efectos antitumorales al activar la vía dependiente de las mitocondrias y desencadenar la activación de la cascada de caspasas mediante la liberación de citocromo C. Asimismo, se observó que una formulación líquida que contiene polisacáridos de *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* y *Poria cocos* (1:1:2) demostró un efecto antitumoral en células de sarcoma 180 (S180) al inhibir la expresión de *Bcl-2* y activar la expresión de la *caspasa 9* y *-3* (W. Yu et al., 2024).

Detención del ciclo celular

Además de inducir apoptosis, los polisacáridos fúngicos pueden inhibir directamente la proliferación tumoral mediante la detención del ciclo celular. Este mecanismo se ha observado principalmente en las fases G0/G1 y G2/M, lo que limita la capacidad de división celular y reduce la expansión tumoral. La detención del ciclo celular suele estar asociada a la modulación de rutas de señalización intracelular relacionadas con proliferación y supervivencia, como las vías MAPK y PI3K/Akt. En este contexto, polisacáridos aislados de *Lentinus edodes* han demostrado detener el ciclo celular en la fase G1, limitando la progresión celular y reduciendo la capacidad proliferativa de células cancerígenas (Zaitseva et al., 2025).

De forma similar, extractos polisacarídicos de *Pholiota adiposa* han sido asociados con un bloqueo del ciclo celular en la transición G0/G1, lo que favorece posteriormente la activación de mecanismos de muerte celular programada (Zaitseva et al., 2025). Estos efectos antiproliferativos refuerzan el potencial de los polisacáridos fúngicos como agentes que actúan de manera temprana sobre la dinámica celular tumoral (Ren et al., 2012).

Activación de necroptosis como vía alternativa de muerte celular

En situaciones donde la apoptosis se encuentra comprometida, los polisacáridos fúngicos pueden inducir necroptosis como mecanismo alternativo de muerte celular. Zaitseva et al., 2025 describen que ciertos polisacáridos activan rutas de señalización asociadas a *RIPK3*, una quinasa central en la regulación de la necroptosis, permitiendo la eliminación de células tumorales resistentes a la apoptosis clásica.

Este mecanismo resulta particularmente relevante en cánceres agresivos o con alta resistencia terapéutica, ya que amplía el espectro de acción antitumoral de los polisacáridos más allá de las caspasas tradicionales (Ren et al., 2012).

Integración de múltiples vías de muerte celular

En conjunto, los polisacáridos fúngicos actúan como moduladores multifuncionales de la muerte celular, integrando la activación de *caspasa-8* (vía extrínseca), *caspasa-9* (vía intrínseca) y *caspasa-3* como efectora final, así como la activación de *RIPK3* en procesos de necroptosis. Ejemplos como los polisacáridos de *Ganoderma lucidum*, *Albatrellus confluens* y *Lentinus edodes* evidencian que

estos biocomponentes pueden activar simultáneamente distintos mecanismos citotóxicos, reduciendo la probabilidad de escape tumoral y potenciando su efecto anticancerígeno (Zaitseva et al., 2025; Ren et al., 2012).

4.5. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios fúngicos son compuestos bioactivos producidos por los hongos que no participan directamente en procesos esenciales como el crecimiento o la reproducción, pero desempeñan funciones clave en la interacción del organismo con su entorno. Estos metabolitos incluyen una amplia diversidad de moléculas, tales como polifenoles, terpenoides y esteroides, muchas de las cuales han demostrado poseer actividades biológicas relevantes, entre ellas propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (Balde et al., 2010; Evidente, 2024; W. Yu et al., 2024).

Los hongos constituyen una fuente relevante de metabolitos secundarios con actividad biológica, muchos de los cuales han demostrado un notable potencial anticancerígeno. Estos compuestos presentan una amplia diversidad estructural y funcional, lo que les permite actuar sobre distintos procesos celulares clave asociados al desarrollo tumoral, como el estrés oxidativo, la proliferación celular y la activación de mecanismos de muerte celular programada (Evidente, 2024).

En función de su polaridad, los metabolitos secundarios fúngicos pueden clasificarse en metabolitos polares y apolares, los cuales presentan mecanismos de acción diferenciados pero complementarios en el contexto anticancerígeno. Esta clasificación resulta particularmente útil para ordenar las estrategias de extracción y caracterización, así como para correlacionar la naturaleza química de los compuestos con sus efectos biológicos (W. Yu et al., 2024).

4.5.1. Metabolitos semipolares

Los metabolitos semipolares de los hongos se caracterizan por una solubilidad intermedia siendo moderadamente solubles en agua y solventes orgánicos como metanol, acetato de etilo y etanol. Además, presentan estructuras mixtas desde esqueletos aromáticos o alicíclicos con sustituyentes oxigenados/nitrogenados (muchos poliquétidos, alcaloides, algunos péptidos modificados). Pueden interactuar tanto con fases acuosas como lipídicas, facilitando unión específica a proteínas, enzimas y receptores (W. Yu et al., 2024).

Los polifenoles representan uno de los principales metabolitos secundarios semipolares presentes en hongos comestibles y medicinales. Diversos estudios han demostrado que estos compuestos exhiben propiedades antioxidantes y anticancerígenas, lo que los posiciona como candidatos prometedores para el desarrollo de terapias complementarias contra el cáncer (W. Yu et al., 2024). Asimismo, una característica principal de los polifenoles es su actividad antioxidante. Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger los componentes celulares del daño oxidativo. Por lo tanto, pueden limitar el riesgo de diversas enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo, como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes tipo 2 y el cáncer. Esto lo hacen mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno o la generación de un ambiente de estrés celular para potencial la muerte celular (D'Archivio et al., 2008).

Entre los polifenoles fúngicos más estudiados se encuentran ácidos fenólicos y flavonoides, como el ácido clorogénico, el ácido protocatecuico y la rutina, reportados en especies como *Ganoderma lucidum*, *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus ostreatus*. Estos compuestos han demostrado reducir la viabilidad de células tumorales mediante la inducción de apoptosis, la detención del ciclo celular y la modulación de rutas de señalización intracelular asociadas a la supervivencia celular (W. Yu et al., 2024).

4.5.2. Metabolitos apolares

Los metabolitos apolares a pesar de no ser el tipo de metabolito más abundante en los hongos, juegan un papel importante en la señalización celular. Estos se caracterizan por presentar una baja solubilidad en agua y alta solubilidad en solventes orgánicos como hexano, éter de petróleo y cloroformo. Además, suelen presentar cadenas hidrocarbonadas o anillos en su estructura. Pueden acumularse en membrana o estructuras lipídicas y secretarse como compuestos volátiles que participan en funciones importantes de defensa y señalización aérea (Tropa et al., 2024; Evidente, 2024).

Algunos de los metabolitos apolares más conocidos y caracterizados en los hongos incluyen terpenoides, esteroides, ácidos grasos y quinonas. Diversos terpenoides aislados de hongos de los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Penicillium* han demostrado inhibir la proliferación celular mediante la detención del ciclo celular y la activación de mecanismos de muerte celular programada. En particular, algunos terpenoides exhiben un efecto citostático, limitando la capacidad proliferativa de las células tumorales y favoreciendo su eliminación posterior (Tropa et al., 2024).

Asimismo, esteroides fúngicos derivados del ergosterol han sido asociados con alteraciones en la integridad de la membrana celular y con la modulación de vías de señalización involucradas en la supervivencia, migración y adhesión celular, contribuyendo a su efecto anticancerígeno (Evidente, 2024).

4.5.3. Métodos de extracción de metabolitos secundarios

La obtención eficiente de metabolitos secundarios fúngicos depende en gran medida de la polaridad del solvente empleado durante el proceso de extracción. Los solventes polares, como el agua y el etanol, favorecen la extracción de compuestos fenólicos, mientras que los solventes apolares permiten aislar terpenoides, esteroides, ácidos grasos y quinonas (Tropa et al., 2024).

La extracción secuencial basada en la polaridad del solvente constituye una estrategia eficaz para separar metabolitos con distinta actividad biológica, permitiendo una caracterización más precisa de sus efectos anticancerígenos. Posteriormente, el uso de técnicas cromatográficas facilita el fraccionamiento y la purificación de los compuestos bioactivos (W. Yu et al., 2024).

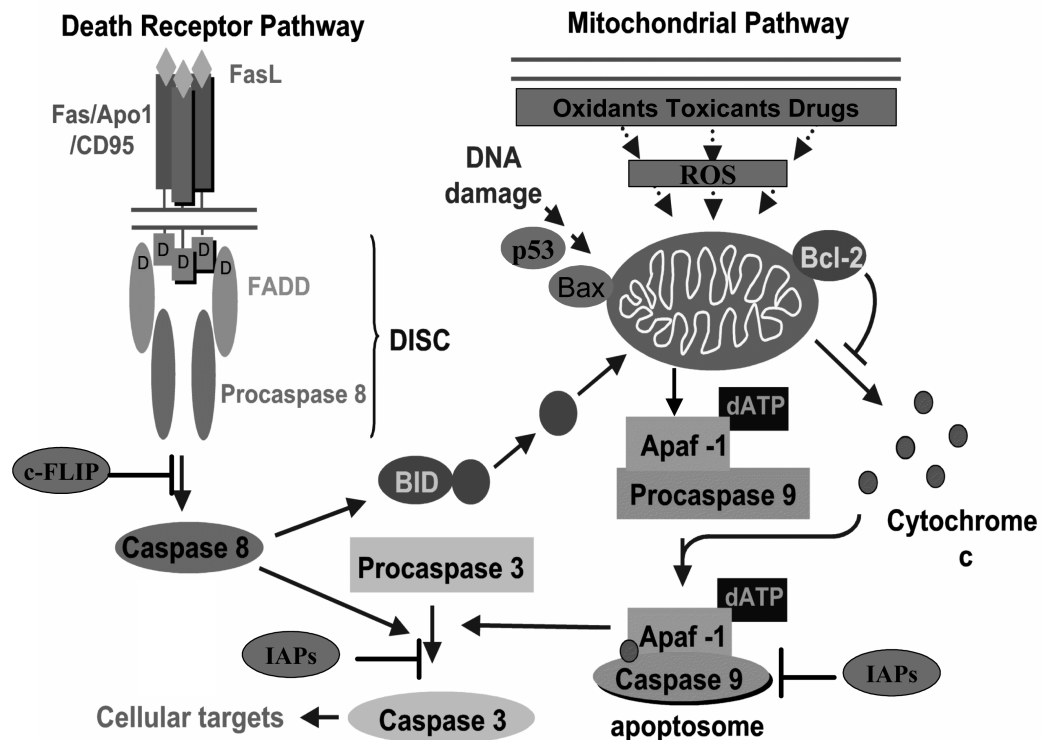
4.5.4. Mecanismos moleculares de acción anticancerígena

Los metabolitos secundarios fúngicos ejercen su actividad anticancerígena mediante la modulación integrada de múltiples rutas celulares.

Por una parte, los polifenoles pueden inhibir la proliferación celular en neuroblastoma mediante la modulación de proteínas regulatorias del ciclo celular. Estos compuestos aumentan la expresión de inhibidores como *p21* y *p27*, activan la vía de *p53* y reducen los niveles de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina. Como consecuencia, las células tumorales entran en arresto del ciclo celular y disminuye su capacidad de dividirse y crecer. Otro de los mecanismos principales es la inducción de apoptosis o muerte celular programada. Los polifenoles activan predominantemente la vía intrínseca mitocondrial mediante el incremento de proteínas proapoptóticas como BAX y la disminución de proteínas antiapoptóticas como Bcl-2. Esto genera la liberación de citocromo c y la activación de caspasas, conduciendo a la eliminación controlada de las células tumorales (W. Yu et al., 2024; Kafoud et al., 2023).

Algunos polifenoles también inducen apoptosis a través de la activación de calpaínas, que son proteasas dependientes de calcio. Estas enzimas participan en la degradación de proteínas clave para la supervivencia celular, promoviendo rutas apoptóticas alternativas. Este mecanismo complementa

la vía mitocondrial y refuerza el efecto citotóxico sobre el neuroblastoma. Los polifenoles pueden además generar estrés en el retículo endoplásmico, al alterar la homeostasis del calcio y la síntesis proteica. Este estrés activa proteínas de respuesta celular que, cuando la alteración es sostenida, desencadenan señales proapoptóticas. Así, el retículo endoplásmico se convierte en una fuente adicional de estímulos de muerte celular en tumores. Aunque tradicionalmente se consideran antioxidantes, en células tumorales algunos polifenoles pueden generar un aumento controlado de especies reactivas de oxígeno. Este estrés oxidativo provoca daño celular selectivo y activa rutas de apoptosis. De esta forma, el microambiente tumoral se vuelve menos favorable para la supervivencia del neuroblastoma. Adicionalmente, los polifenoles interfieren con vías de señalización clave para la progresión tumoral, como PI3K/Akt, MAPK y NF- κ B. La inhibición de estas rutas reduce la proliferación, la supervivencia celular y la resistencia a quimioterapia. Esto favorece la sensibilización de las células tumorales a estímulos apoptóticos. Finalmente, diversos polifenoles pueden disminuir la capacidad invasiva y metastásica de las células de neuroblastoma. Esto ocurre mediante la reducción de enzimas degradadoras de matriz extracelular y la alteración de procesos involucrados en la migración celular. Como resultado, se limita la diseminación tumoral hacia otros tejidos (Kafoud et al., 2023).



Por otro lado, los metabolitos lipofílicos de origen fúngico, especialmente los terpenos y terpenoides, aunque menos estudiados, han demostrado actividad antitumoral en neuroblastoma mediante la inducción de apoptosis. Estos compuestos suelen actuar sobre la vía mitocondrial, aumentando la expresión de proteínas proapoptóticas y reduciendo proteínas antiapoptóticas, lo que favorece la liberación de citocromo c y la activación de caspasas. En algunos casos, también generan un aumento controlado de especies reactivas de oxígeno, que contribuyen a desestabilizar la célula tumoral y potenciar las señales de muerte celular programada (Tropa et al., 2024).

capacidad de reparación celular y la resistencia a estímulos apoptóticos. Como consecuencia, las células de neuroblastoma muestran una menor tasa de crecimiento y mayor sensibilidad al daño inducido por estos compuestos.

Otro mecanismo relevante es el arresto del ciclo celular. Los metabolitos lipofílicos pueden disminuir la expresión de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina, bloqueando el progreso del ciclo en fases como G0/G1 o G2/M. Esto limita la replicación del ADN y la división celular, contribuyendo a frenar la expansión tumoral. Finalmente, algunos terpenos también participan en la modulación de procesos asociados a la progresión tumoral, como la angiogénesis, la invasión celular y la respuesta inflamatoria del microambiente tumoral. La reducción de estos procesos no solo limita el crecimiento del tumor, sino que también podría disminuir su capacidad de diseminación. En conjunto, estos mecanismos sugieren que los metabolitos lipofílicos derivados de hongos representan una fuente prometedora de moléculas con potencial terapéutico contra el neuroblastoma (Tropa et al., 2024).

En conjunto, la capacidad de los metabolitos secundarios fúngicos para modular el estrés oxidativo y activar múltiples rutas de muerte celular programada respalda su potencial como agentes anticancerígenos multifuncionales y como candidatos para el desarrollo de terapias complementarias contra el cáncer.

Los hongos comestibles representan una fuente rica de compuestos bioactivos con posible potencial farmacológico. Su interés nutricional y medicinal radica en la producción de metabolitos primarios y secundarios como: polisacáridos, glicoproteínas, terpenoides, alcaloides y polifenoles (Zade et al., 2025). Diversos estudios han reportado que estos componentes presentan actividad anticancerígena, lo que resalta la importancia de su identificación y aislamiento como posibles tratamientos alternativos o complementarios a los ya existentes. El mecanismo de acción de estos compuestos varía según su composición y estructura química, actuando generalmente mediante la inducción de apoptosis o la modulación de células inmunes contra el cáncer (Ren et al., 2012).

Uno de los tipos de cáncer con mayor relevancia médica en la población infantil por su alto impacto y mortalidad es el neuroblastoma. El uso de extractos de hongos como tratamiento para esta enfermedad aún es limitado y principalmente preclínico. En general, se ha observado que ciertos hongos ejercen efectos neuroprotectores y favorecen la diferenciación celular, lo que podría prevenir la formación de neuroblastoma. Por ejemplo, Brandalise et al., 2025 evaluaron un extracto etanólico de *Hericium erinaceus*, en el que identificaron metabolitos bioactivos como erinacina A, hericenonas C y D, y ergotioneína, observando su potencial como agente neuroregenerativo. En la línea celular SH-SY5Y, este extracto redujo significativamente la proliferación celular, aumentó el número de neuritas y disminuyó la expresión de marcadores de pluripotencialidad como *PCNA* y *CD133*, sugiriendo su papel como inductor de diferenciación y su posible uso sinérgico en terapias contra neuroblastoma. De manera similar, otros compuestos naturales han mostrado efectos antitumorales a través de la inducción de apoptosis y la inhibición de la migración celular. Un ejemplo es el extracto acuoso de hoja de olivo, que en líneas humanas de neuroblastoma (HTLA-230, IMR-32, SH-SY5Y y SK-N-AS) redujo la viabilidad celular de forma tiempo- y dosis-dependiente, detuvo el ciclo celular en G0/G1 y aumentó la expresión de *caspasas 3* y *7*. Además, su combinación con topotecán produjo efectos sinérgicos en la mayoría de condiciones evaluadas (Morandi et al., 2021). A pesar del impacto demostrado por diversos productos naturales, la aplicación de extractos y metabolitos fúngicos en neuroblastoma continúa siendo limitada. Esto destaca la necesidad de identificar nuevas fracciones o compuestos con potencial terapéutico para su evaluación en esta patología.

En Guatemala, especies como *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* forman parte del grupo de hongos comestibles que se encuentran disponibles para consumo y comercialización a nivel local. En primera instancia, *Cantharellus cibarius*, o mayormente conocido como “Anacate”, ha sido utilizado como un aditivo suplementario debido a sus propiedades nutricionales y medicinales. Diversos extractos hechos a partir de *C. cibarius* han demostrado tener un potencial farmacológico. El ex-

tracto acuoso del mismo demostró tener un alto potencial antioxidante (41.54 y 38.72 $\mu\text{M TE/L}$) y citotóxico contra el adenocarcinoma de mama humano MDA-MB-231 ($\text{CI} = 375 \mu\text{g/mL}$). Tras llevar a cabo un perfil de metabolitos mediante análisis GC-MS, se determinó la presencia de compuestos fenólicos (ácido gálico, protocatecuico, p -hidroxibenzoico, cafeico y ferúlico), flavonoides y ácidos grasos saturados como posibles responsables de su efecto antioxidante y citotóxico (Režić Mužinić et al., 2023).

Específicamente, según análisis de FTIR, espectroscopía NMR y análisis GLC-MS, se determinó que uno de los componentes principales del hongo, que le confiere beneficios adicionales para la salud, son los polisacáridos. Según diversos estudios, uno de los polisacáridos más abundantes propios de esta especie es el manano, un polisacárido compuesto de múltiples unidades de manosa. Este polisacárido ha demostrado tener un potencial inmunomodulador y antitumoral. Por una parte, según M. K. Lemieszek et al., 2019 se observó que los polisacáridos extraídos de *C. cibarius* influyeron en la viabilidad y proliferación de las células NK92 mejorando sus propiedades anticancerígenas contra las células de cáncer de pulmón y colon humanas (A549 y LS180) mediante la estimulación de la expresión de p38, Erk y CREB. Por otra parte, también se ha probado su actividad anticancerígena al disminuir la proliferación de células de cáncer de colon LS180 mediante la inhibición de COX-1 (43.86 %) y COX-2 (51.59 %), la atenuación de la fosforilación de NF- κ B y la regulación negativa de los genes diana asociados a él (BAX, BCL2, CCND1, MMP9, MYC, BIRC5). Evaluado según análisis de MTT, Western Blot, qPCR y ensayos de BrdU y LDH (Nowacka-Jechalke et al., 2018).

Otra especie comercializada en el país es *Pleurotus djamor*. En un estudio realizado por Phone-many et al., 2025 se demostró que el extracto de acetato de etilo al 50 % de *P. djamor* presentó un alto potencial antioxidante (IC_{50} : $694,47 \pm 3,92 \mu\text{g/mL}$ para DPPH; $652,92 \pm 2,53 \mu\text{g/mL}$ para ABTS), así como una elevada citotoxicidad contra células de cáncer de pulmón (A549, $\text{IC}_{50} = 245,73 \pm 7,60 \mu\text{g/mL}$) y colorrectal (SW480, $\text{IC}_{50} = 382,03 \pm 4,55 \mu\text{g/mL}$), y una actividad moderada contra macrófagos RAW 264,7 ($\text{IC}_{50} = 213,08 \pm 4,08 \mu\text{g/mL}$). También se evidenció un potencial antidiabético, lo que resalta su relevancia como posible aditivo alimenticio.

Entre los compuestos propuestos responsables de su actividad antioxidante se encuentran los fenoles, flavonoides y polisacáridos. Además, se han realizado estudios donde se evaluó el efecto individual de estos componentes. Por ejemplo, en un ensayo con ratones infectados subcutáneamente con sarcoma 180, la administración intraperitoneal de extractos de polisacáridos produjo una tasa de inhibición tumoral del 94 % (Borges et al., 2013). De igual manera, mediante técnicas de NMR, GC/MS y cristalografía de rayos X, se aislaron derivados de esteroides (5,8-Epidioxi-ergosta-6-22-dien-3 β -ol) que mostraron actividad prooxidante y citotóxica contra líneas celulares de cáncer de mama humano (MDA-MD-231) y linfoma de células T de ratón (EL4) (Jagadeesh et al., 2020).

Dado el potencial antioxidante y citotóxico que presentan las distintas fracciones y componentes extraídos de los hongos *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*, este estudio propone aislar y caracterizar las principales fracciones bioactivas de ambas especies mediante técnicas de extracción orgánica, caracterización cualitativa y cuantitativa y caracterización estructural mediante técnicas de análisis instrumental (FTIR). Posteriormente, se evaluará su actividad citotóxica y anticancerígena mediante ensayos de MTT y análisis de la expresión de genes proapoptóticos. Este trabajo se considera innovador, puesto que no existen reportes previos sobre el efecto de extractos acuosos, etanólicos y lipofílicos de ambos hongos en las líneas celulares de neuroblastoma SY5Y y LAN-1 bajo los marcadores biológicos propuestos.

El presente trabajo de graduación tuvo como alcance evaluar el potencial anticancerígeno de distintas fracciones de metabolitos provenientes de dos especies fúngicas sobre una línea celular no tumoral de ovario de hámster chino (CHO) y dos líneas tumorales de neuroblastoma humano (SH-SY5Y y LAN-1). El estudio incluyó la obtención de fracciones polares, semipolares y apolares, la evaluación de su efecto citotóxico mediante ensayo MTT y el análisis de la expresión de genes asociados a rutas de muerte celular. Este trabajo constituye un estudio exploratorio que permite identificar fracciones con actividad biológica y proporcionar un primer acercamiento al perfil químico general de los metabolitos presentes en ambas especies fúngicas. No obstante, no contempla la identificación estructural de compuestos individuales ni la elucidación detallada de sus mecanismos moleculares de acción. Asimismo, debido a que los experimentos fueron realizados en modelos celulares *in vitro*, los resultados no reflejan la complejidad del comportamiento biológico en un organismo humano. Sin embargo, los hallazgos obtenidos aportan evidencia preliminar que respalda el potencial bioactivo de estas especies fúngicas y sientan las bases para investigaciones futuras orientadas a la identificación de compuestos específicos y la caracterización detallada de sus mecanismos de acción.

7.1. Sitio de estudio

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad del Valle de Guatemala, situados en la 18 Avenida 11-95, zona 15 de la Ciudad de Guatemala, Guatemala. La preparación de las muestras fúngicas y la caracterización cualitativa de los componentes bioactivos se realizaron en los laboratorios **C1-105A** y **C101**. La extracción por ultrasonido y las pruebas cromatográficas se llevaron a cabo en el laboratorio **C-105A**. El cultivo celular y los ensayos de citotoxicidad se realizaron en el Laboratorio de Biología Celular II-314. Finalmente, los ensayos de expresión génica se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular **CIT-115**.

7.2. Diseño, enfoque y tipo de investigación

El presente estudio es de carácter experimental con un enfoque cuantitativo y explicativo, ya que, bajo condiciones controladas de laboratorio, se evaluará el efecto de variables independientes (extractos acuosos, etanólicos y lipofílicos de ambos hongos) sobre variables dependientes de interés (presencia/concentración de compuestos bioactivos, viabilidad celular, citotoxicidad y expresión génica). La investigación se basará en la recopilación y análisis cuantitativo de datos, mediante pruebas de hipótesis y análisis estadísticos, con el fin de generar evidencia sobre el rol de los principales componentes bioactivos de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* sobre la actividad anticancerígena de los mismos, un área aún poco explorada.

7.3. Tipo y tamaño de muestra

Inicialmente, se trabajó con dos especies fúngicas, *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*, ambas de reconocido valor nutricional y bioactivo. Cada especie fue sometida a tres solventes de extracción: agua destilada, etanol al 50 % y éter de petróleo, con el fin de obtener fracciones ricas

en metabolitos polares, semipolares y apolares, respectivamente.

Asimismo, se trabajó con muestras biológicas cultivadas *in vitro*, empleando dos líneas celulares de neuroblastoma humano (SH-SY5Y y LAN-1) y una línea celular no tumoral de ovario de hámster chino (CHO), esta última utilizada como modelo de control fisiológico. Cada línea celular fue expuesta a las fracciones aisladas de ambas especies fúngicas para evaluar su capacidad citotóxica y proapoptótica.

Para los ensayos de citotoxicidad mediante MTT se realizaron dos aproximaciones experimentales. En la línea celular control (CHO) se evaluaron siete concentraciones de cada fracción fúngica, correspondientes a ambas especies, con el fin de determinar la concentración inhibitoria media (IC₅₀). Por otro lado, en las líneas celulares de neuroblastoma (SH-SY5Y y LAN-1) se aplicaron las tres concentraciones más representativas de cada fracción para evaluar su efecto citotóxico. Cada ensayo se realizó a 24, 48 y 72 horas de exposición, con tres réplicas por condición.

Finalmente, para los análisis de expresión génica mediante RT-qPCR, se seleccionó la concentración óptima del extracto con mayor actividad citotóxica. Se evaluaron cuatro genes asociados a rutas de muerte celular en distintos tiempos de exposición: *CASP8* y *CASP9* tras 12 horas, y *CASP3* y *RIPK3* tras 24 horas de exposición. Cada conjunto de genes fue analizado en las tres líneas celulares (LAN-1, SH-SY5Y y CHO), utilizando dos réplicas técnicas por condición para cada extracto y concentración seleccionada.

7.4. Variables

Para el presente trabajo de investigación, se considerarán cuatro variables independientes principales, las cuales se describen en el Cuadro 1, así como cinco variables dependientes principales, las cuales se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Definición y medición de las variables independientes del estudio

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza	Unidad de medida
Fracción fúngica	Grupo de metabolitos fúngicos bioactivos extraídos en base a la polaridad del solvente utilizado.	Obtención de metabolitos de distinta polaridad para la determinación de la fracción bioactiva con mayor potencial anticancerígeno.	Cualitativa	Categoría (C. <i>cibarius</i> /P. <i>djamor</i> ; Acuosas/etanólica/lipofílica)
Concentración del extracto	Cantidad del extracto administrado a las distintas líneas celulares en el experimento.	Se aplicarán distintas concentraciones sobre las líneas celulares cancerígenas (SH-SY5Y y LAN-1) y normales (CHO) para evaluar la capacidad citotóxica de cada fracción.	Cuantitativa continua	μg/mL
Línea celular	Población de células cultivadas, derivadas de tejidos normales o cancerígenos, para su posterior aplicación en la evaluación de la capacidad citotóxica de los extractos aislados.	Se cultivarán y analizarán distintas líneas celulares cancerígenas (SH-SY5Y y LAN-1) y normales (CHO) para evaluar la seguridad biológica de cada fracción.	Cualitativa	Nombre de línea celular
Tiempo de exposición	Período durante el cual las células están en contacto con el extracto.	Se evaluarán distintos tiempos de incubación de las células junto con el extracto aislado para determinar el tiempo mínimo requerido para que el extracto ejerza su función citotóxica.	Cuantitativa continua	12, 24, 48 y 72 h

Cuadro 2. Definición y medición de las variables dependientes del estudio

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza	Unidad de medida
Rendimiento de extracción	Proporción de compuestos obtenidos a partir de la materia prima fúngica inicial después de aplicar un método de extracción determinado.	Se medirá la cantidad de extracto seco obtenido (en gramos) dividido entre la cantidad de muestra inicial utilizada (en gramos), expresada como porcentaje.	Cuantitativa continua	% (g extracto/g biomasa seca)
Presencia/aislamiento del compuesto de interés	Perfil de compuestos bioactivos presentes en cada fracción del extracto fúngico.	Se llevará a cabo un ensayo preliminar mediante ensayos colorimétricos: fenol-ácido sulfúrico (carbohidratos totales), Biuret (proteínas), Folin-Ciocalteu (polifenoles) y prueba de Liebermann-Burchard (terpenoides).	Cualitativa (presencia/ausencia) y cuantitativa continua (concentración)	Categoría (-, +) Concentración (% , mg/mL, mg ácido gálico/g de muestra)
Capacidad antioxidante	Capacidad de los metabolitos presentes en las fracciones separadas por TLC para donar electrones o hidrógeno y reducir el radical DPPH, indicando actividad antioxidante.	Se determinará la capacidad antioxidante de las fracciones mediante la observación de manchas amarillas sobre el fondo púrpura de la placa de TLC.	Cualitativa	Presencia o ausencia de coloración amarilla
Viabilidad celular	Proporción de células vivas con respecto a la población total de células.	Se evaluará la viabilidad celular tras la exposición a las distintas fracciones fúngicas mediante la conversión de MTT a formazán.	Cuantitativa continua	Porcentaje de células viables a densidad óptica a 570 nm.
Expresión génica	Nivel en el que un gen específico es transcrito y traducido en proteínas dentro de una célula.	Se cuantificará la expresión de genes asociados a apoptosis (<i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>CASP3</i>) y necroptosis (<i>RIPK3</i>) en líneas celulares tratadas con los compuestos fúngicos aislados mediante RT-qPCR y análisis de "fold change" relativo.	Cuantitativa continua	Expresión relativa del gen (Calculada mediante el método $\Delta\Delta C_t$)

7.5. Hipótesis

7.5.1. Hipótesis de investigación

Las fracciones acuosas, etanólicas y lipofílicas obtenidas de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* presentan un mayor efecto citotóxico en líneas celulares de neuroblastoma en comparación con líneas celulares no tumorales.

7.5.2. Hipótesis nula

Las fracciones acuosas, etanólicas y lipofílicas obtenidas de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* no presentan diferencias significativas en el efecto citotóxico entre líneas celulares de neuroblastoma y líneas celulares no tumorales.

7.6. Instrumentos de medición

Para la obtención de resultados, en primer lugar se realizarán pruebas colorimétricas cualitativas y cuantitativas, como la prueba de fenol ácido sulfúrico, prueba de Biuret, prueba de Liebermann-Burchard y prueba de Folin-Ciocalteu, para la determinación o cuantificación de polisacáridos, pro-

teínas, terpenoides y polifenoles respectivamente. Se determinará el rendimiento de extracción de cada fracción dividiendo el peso final obtenido sobre el peso de la materia prima fúngica inicial para conocer la composición total de cada hongo. Posteriormente, se llevarán a cabo análisis instrumentales mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) con el fin de determinar los grupos funcionales principales del compuesto de interés.

La capacidad antioxidante de las fracciones se determinará mediante el ensayo de DPPH en placa TLC. El efecto citotóxico se calculará como el porcentaje de células no viables, restando el porcentaje de viabilidad obtenido en el ensayo MTT del 100 %. Se extraerá el ARN de cada muestra obtenida, se realizará una retrotranscripción a ADNc y se analizará la expresión de genes asociados a apoptosis temprana (*CASP8*), apoptosis tardía (*CASP3*, *CASP9*), necroptosis (*RIPK3*) y vía de señalización de Wnt/ β -catenina mediante qPCR, utilizando SYBR Green para la detección y empleando el método $\Delta\Delta C_t$.

7.7. Procedimiento

7.7.1. Preparación del material fúngico

Obtención de muestras de especies fúngicas

De primero, se obtuvieron únicamente extractos crudos de *Cantharellus Cibarius* y *Pleurotus djamor*. Las muestras de *Cantharellus cibarius* fueron adquiridas en el Mercado La Villa, zona 10 de la Ciudad de Guatemala, y procedían de tres regiones del país: Totonicapán, San Martín Jilotepeque y Quiché. En el caso de *Pleurotus djamor*, estas se obtuvieron mediante el cultivo y cosecha de micelios proporcionados por la distribuidora digital de hongos comestibles y medicinales “Micelio.com.gt” (Guatemala), utilizando para su producción el “Kit de cultivo de hongos ostra en casa DIY” suministrado por la misma empresa. Tras la recolección, los cuerpos fructíferos se limpiaron para eliminar residuos de sustrato como madera o tierra, se secaron y cortaron en fragmentos menores a 0.5 cm con el fin de facilitar su procesamiento en etapas posteriores. Estos se congelaron a -80°C y se liofilizaron utilizando un liofilizador Harvest Right (Harvest Right, USA) bajo las siguientes condiciones: congelamiento inicial a -17°C , tiempo de congelamiento extra de 1 hora, temperatura de secado a 51°C y tiempo de secado extra de 2 horas. Seguidamente, los cuerpos fructíferos secos se colocaron en un pulverizador y se trituraron hasta convertirlos en un polvo fino.

7.7.2. Preparación y aislamiento de las fracciones fúngicas

Fracción lipofílica

Extracción asistida por ultrasonido

Para la obtención de la fracción lipofílica de ambos hongos y la eliminación de lípidos para las fracciones posteriores, se llevó a cabo una extracción por ultrasonido con éter de petróleo mediante el uso de un procesador ultrasónico UP400St (Hielscher Ultrasonics, Alemania). Para esto, se mezclaron 70 g y 65 g del polvo seco de *C. cibarius* y *P. djamor* respectivamente con éter de petróleo (J.T. Baker, USA) en una relación 1:10 (p/v). Se sometió la mezcla al procesador ultrasónico durante 30 minutos, con una potencia de 20 Wh, amplitud al 100 % y en un rango de temperatura entre $30-50^{\circ}\text{C}$. Se filtró al vacío la mezcla para separar el éter del sólido. Finalmente, se secó el residuo sólido en un rotavapor a 60°C y 150 mmHg para permitir la evaporación del solvente (D. Wang et al., 2022).

Aislamiento y purificación de la fracción lipofílica

Para caracterizar la fracción lipofílica obtenida de ambos hongos, se realizó una cromatografía en capa fina (TLC) utilizando como fase móvil una mezcla de hexano:acetato de etilo (7:3) (Fisher Scientific USA; Merck, Alemania). La placa se reveló con una lámpara UV portátil de doble longitud de onda (254 nm y 365 nm, 6 W) con batería de iones de litio, modelo AI2UV20DC (AAAdvance Instruments, USA).

Tras la observación de múltiples manchas correspondientes a metabolitos individuales, se llevó a cabo una TLC preparativa en una placa de sílica gel empleando la misma fase móvil. Las bandas separadas se revelaron nuevamente bajo UV, se marcaron y se retiraron por raspado. Cada banda se purificó mediante filtración con acetona. Posteriormente, se corrió una segunda TLC analítica para confirmar la correcta obtención y pureza del fragmento de interés. Cada fragmento obtenido se concentró mediante rotavapor para eliminar el solvente y obtener un residuo seco, el cual podrá ser analizado y aplicado posteriormente a las líneas celulares.

Finalmente, cada uno de los fragmentos aislados se reveló con DPPH (Aldrich, USA) con el fin de evaluar su capacidad antioxidante.

Fracción acuosa

Extracción asistida por ultrasonido

Para la extracción de polisacáridos, se llevó a cabo un proceso de extracción asistida por ultrasonido (UAE) adaptado de Aguiló-Aguayo et al., [2017](#). Para esto, se mezclaron 60 g y 65 g de *C. cibarius* y *P. djamor* respectivamente con agua destilada en una relación 1:10 (p/v). La extracción se realizó mediante el procesador ultrasónico UP400St (Hielscher Ultrasonics, Alemania) bajo las siguientes condiciones: tiempo de extracción 45 minutos, amplitud 100 %, 30 Wh de energía, potencia total de 113 W y neta de 96 W. Una vez completada la extracción, se filtró la mezcla con gasa y filtración al vacío para remover partículas grandes presentes.

Purificación de polisacáridos fúngicos

Para la eliminación de proteínas, se evaluaron dos métodos de desproteinización: (1) precipitación ácida con ácido tricloroacético (TCA) al 10 % (Merck, Alemania), y (2) precipitación salina por salting out utilizando sulfato de amonio al 70 % (Merck, Alemania) de saturación.

(1) Para el primer método, se utilizó una alícuota de 50 mL de la fracción acuosa obtenida de ambos hongos y se agregaron 5.0120 g de TCA (Zeng et al., [2019](#)).

(2) Para el segundo método, se preparó una solución saturada de sulfato de amonio mezclando 30.3518 g de sulfato de amonio con 40 mL de agua (Peng et al., [2015](#)). En tubos Falcon de 50 mL se colocaron 20 mL de cada extracto junto con 14 mL de la solución saturada para alcanzar una saturación del 70 %. Los cuatro tubos se incubaron overnight (ON) a 4 °C. Posteriormente, se centrifugaron a 7,800 rpm durante 10 minutos a 4 °C.

Para comparar la eficiencia de ambos métodos, se midió la concentración de polisacáridos y proteínas mediante el método de fenol-ácido sulfúrico y la prueba de Biuret, respectivamente.

Con base en los rendimientos obtenidos, se seleccionó el método de precipitación ácida con TCA al 10 %. Para esto, se separaron 300 mL de la fracción acuosa de cada hongo en tubos Falcon de 50 mL. Se añadieron 4 g de TCA a 40 mL de muestra para obtener una concentración final del 10 %. Las muestras se dejaron reposar durante 2 horas y luego se centrifugaron a 7,800 rpm durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se recolectó en un beaker.

Para neutralizar el ácido, se preparó una solución de NaOH 1 M. Con pipeta Pasteur, se añadió NaOH 1 M gota a gota a cada beaker hasta alcanzar un pH de 7, el cual se verificó con un medidor de pH de bolsillo 0.01 pH (OHAUS, USA).

Una vez neutralizada la muestra, se realizaron lavados con agua destilada para purificar el producto. Para ello, se mezclaron 30 mL del sobrenadante con 20 mL de agua destilada y se centrifugó nuevamente a 7,800 rpm durante 10 minutos a 4 °C.

Precipitación de polisacáridos fúngicos

Para aislar los polisacáridos fúngicos de la fracción acuosa, se llevó a cabo una precipitación con etanol al 95 %. Para esto, el sobrenadante del paso anterior (600 mL) se dividió en 2 beakers y se añadieron 600 mL de etanol al 95 % previamente enfriado a 4 °C. Los beakers se dejaron reposando en un refrigerador a 4 °C. Al siguiente día, se recuperó el precipitado por centrifugación a 7,800 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Para eliminar rastros de etanol u otros compuestos orgánicos polares, se realizaron lavados con etanol al 70 % (frío, 4 °C) y se centrifugó nuevamente a 7,800 rpm durante 15 minutos a 4 °C.

Los pellets obtenidos se unieron en placas Petri de vidrio y se liofilizaron utilizando un liofilizador Harvest Right (Harvest Right, USA) bajo las siguientes condiciones: congelamiento inicial a -17 °C, tiempo de congelamiento extra de 1 hora, temperatura de secado de 51 °C y un tiempo de secado extra de 2 horas. Finalmente, se pesaron las muestras liofilizadas y se calculó el porcentaje de rendimiento.

Fracción etanólica

Tras la eliminación de lípidos mediante la extracción con éter de petróleo, se llevó a cabo una extracción por ultrasonido con etanol al 50 % con un procesador ultrasónico UP400St (Hielscher Ultrasonics, Alemania) bajo las siguientes condiciones: tiempo de extracción 40 minutos, amplitud 66 %, 30 Wh de energía, potencia total de 113 W y neta de 96 W (Zheng et al., 2020). Posteriormente, se eliminó el solvente al someter la muestra al rotavapor a 60°C y 150 mmHg para permitir la evaporación del solvente. Finalmente, para la obtención de un producto sólido, se liofilizó la muestra utilizando un liofilizador Harvest Right (Harvest Right, USA) bajo las siguientes condiciones: congelamiento inicial a -17 °C, tiempo de congelamiento extra de 1 hora, temperatura de secado de 51 °C y un tiempo de secado extra de 2 horas.

7.7.3. Análisis posteriores

Para determinar el perfil fitoquímico de las fracciones fúngicas aisladas se llevaron a cabo pruebas colorimétricas cualitativas y cuantitativas. Asimismo, se llevó a cabo una prueba de DPPH en microplaca de 96 pocillos para determinar la capacidad antioxidante de las fracciones acuosa y etanólica de ambas especies fúngicas en base al protocolo planteado por (Silva et al., 2024). Para ello, inicialmente, se preparó una solución stock de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) a una concentración de 1 mM, a partir de la cual se elaboró una solución de trabajo de 100 µM. Asimismo, se prepararon soluciones madre de cada una de las fracciones evaluadas. Para las fracciones acuosa (polisacáridos) y etanólica liofilizadas, se pesaron 10 mg de extracto y se disolvieron en 2 mL de metanol al 70 %, obteniéndose una concentración de 5,000 µg/mL. A partir de esta solución se prepararon diluciones de 600, 400 y 200 µg/mL. Para el análisis colorimétrico se empleó ácido gálico (100 µg/mL) como control positivo, agua destilada con DPPH como control negativo y metanol al 70 % con DPPH como blanco. Posteriormente, se añadieron 100 µL de cada dilución de muestra a pozos individuales de una microplaca de 96 pozos, junto con 100 µL de la solución de DPPH (100 µM). La placa se mezcló suavemente, se cubrió con papel aluminio y se incubó durante 30 minutos a temperatura

ambiente y en oscuridad. Debido a que no se disponía de un lector de microplacas con longitud de onda de 512 nm, el ensayo se evaluó de forma cualitativa, registrando el cambio de color del reactivo de DPPH desde violeta hacia tonos rosados o amarillos como indicador de actividad antioxidante.

Ensayos cualitativos de confirmación fitoquímica

Ensayo de cloruro férrico para fenoles

Con el fin de verificar la presencia de compuestos fenólicos en los extractos liofilizados de *Pleurotus djamori* y *Cantharellus cibarius*, se empleó la prueba de cloruro férrico. Para ello, se disolvieron 10 mg de cada extracto en 1 mL de agua destilada y se añadieron 2-3 gotas de cloruro férrico al 1 % (J.T.Baker, USA). La aparición de un color azul, verde o púrpura indica la presencia de fenoles. Como control negativo se utilizó agua destilada y como control positivo se utilizó una solución de ácido gálico (1 mg/mL) (Fisher Scientific, USA). Se realizó cada prueba en triplicado (Gul et al., 2017).

Ensayo de Liebermann-Burchard para terpenoides

La detección de terpenoides, incluyendo triterpenos y esteroides, se llevó a cabo mediante la reacción de Liebermann-Burchard. Esta se basa en la formación de compuestos coloreados al exponer los extractos al anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado, lo cual genera un cambio de color característico que puede variar entre rosa, verde y azul. Para ello, se disolvieron 5 mg de cada extracto en 1 mL de etanol absoluto. A dicha solución, se añadieron 2 mL de anhídrido acético (Merck, Alemania) y, cuidadosamente por los bordes del tubo, se agregaron 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. En este caso, el ergosterol fue considerado como control positivo y el agua destilada como control negativo, repitiendo la prueba en tres ocasiones para asegurar su reproducibilidad (Nasri y Rafieian-Kopaei, 2014).

Ensayo fenol-ácido sulfúrico para polisacáridos

La presencia de polisacáridos solubles y azúcares totales se determinó a través del método de fenol-ácido sulfúrico. La reacción entre los azúcares y el fenol en medio ácido produce un color amarillo-anaranjado, que se emplea como indicador visual. En este caso, se mezclaron 10 mg de cada extracto con 1 mL de agua destilada. Se añadieron 50 μ L de fenol al 5 % y se agregaron cuidadosamente 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado por los bordes del tubo. La mezcla se dejó reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente y se observó el cambio de coloración. Para la validación de la prueba, se empleó almidón (2 %) como control positivo y agua destilada como control negativo, repitiéndose el procedimiento tres veces (DuBois et al., 1956).

Ensayo de solubilidad en NaOH al 5 % para quinonas

Para determinar la presencia de quinonas en los extractos, se llevó a cabo la prueba de solubilidad en hidróxido de sodio. En condiciones alcalinas, las quinonas desarrollan tonalidades rojizas o púrpuras que permiten su identificación cualitativa. Para la prueba, se disolvieron 10 mg de cada extracto en 0.2 mL de etanol absoluto y se agregaron 0.4 mL de una solución de NaOH al 5 %. Se utilizó 1,4-benzoquinona (Aldrich Company, USA) como control positivo y agua destilada como control negativo, asegurando la confiabilidad de los resultados mediante repeticiones por triplicado (Harborne, 1973).

Ensayos cuantitativos de confirmación fitoquímica

Cuantificación de polisacáridos mediante prueba de fenol-ácido sulfúrico

Para la cuantificación de polisacáridos en la fracción acuosa de ambos hongos, se empleó el método de fenol-ácido sulfúrico en formato de microplaca, basado en el protocolo de Masuko et al., 2005. Para ello, se inició preparando un stock de glucosa a 10 mg/mL. A partir de esta, en tubos de ensayo, se prepararon 11 estándares (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2 mg/mL) para generar una curva de calibración. Asimismo, se preparó una dilución 1:10 de la fracción acuosa de ambos hongos. En una placa de 96 pocillos de fondo plano se colocaron 50 μ L de cada estándar y de cada muestra (en triplicado). En cada pocillo se agregaron 150 μ L de ácido sulfúrico concentrado y 30 μ L de fenol al 5 %. La placa se mantuvo en un baño de agua estático durante 5 min a 90 °C. Tras enfriarla a temperatura ambiente durante 5 min, se secó y se midió la absorbancia a 490 nm con un lector de microplacas.

Cuantificación de proteínas mediante prueba de Biuret

Para determinar la eficiencia de los métodos de desproteinización aplicados, se cuantificaron las proteínas en la fracción acuosa de ambos hongos antes y después de la eliminación de proteínas mediante la prueba de Biuret. Para ello, se preparó una solución stock de BSA a 6 mg/mL. Seguidamente, en tubos de ensayo, se prepararon soluciones estándar (0, 0.5, 1, 1.5, 2 mg/mL) a partir de la solución stock para generar una curva de calibración. De igual manera, se preparó una dilución 1:10 de la fracción acuosa de ambos hongos antes y después de la desproteinización. Finalmente, se midió la absorbancia de los estándares y las muestras a 560 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific™ Espectrofotómetro UV-Vis GENESYS™ 180) para la determinación de la concentración de proteínas (Merck, 2024).

Cuantificación de polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu

La cuantificación de polifenoles en la fracción etanólica de ambos extractos de hongos se llevó a cabo mediante la aplicación del método de Folin-Ciocalteu en formato de microplaca. Para esto, se agregaron 20 μ L de extracto (1 mg/mL) junto con 20 μ L del reactivo de Folin en cada pocillo de la microplaca. Tras 5 minutos de reposo, se agregaron 20 μ L de carbonato de sodio (0.01M). La microplaca se incubó en condiciones controladas de luz y temperatura hasta el desarrollo de color. La lectura de absorbancia se realizó en un espectrofotómetro de microplacas a una longitud de onda de 630 nm. El contenido de fenoles totales se calculó a partir de una curva de calibración con ácido gálico, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (Wong-Paz et al., 2014).

Identificación de grupos funcionales

Para identificar los grupos funcionales presentes en las fracciones extraídas, se llevará a cabo la técnica de ATR-FTIR (Reflectancia Total Atenuada). Para esto, se colocará una pequeña porción del material seco directamente sobre el cristal del accesorio ATR. Se registrará el espectro en un rango de 4000 a 400 cm^{-1} , y posteriormente se identificarán los grupos funcionales característicos de cada compuesto, comparando las bandas obtenidas con bibliografía o espectros de referencia (Meng et al., 2021).

7.7.4. Cultivo celular

Descongelación de líneas celulares y pasajes

Para los ensayos biológicos se utilizaron diversas líneas celulares de neuroblastoma (SH-SY5Y, LAN-1) y una línea celular de ovario de hámster chino (CHO) como control. Se inició preparando el medio de cultivo necesario, en este caso, el medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (Merck, Alemania) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS) (Gibco, USA) y 1 % de Penicillin-Streptomycin (Gibco, USA) precalentándolo a 37°C en un baño María. Posteriormente, el vial criopreservado que contiene cada línea celular fue retirado del nitrógeno líquido y se colocó en un baño María a 37°C hasta que el contenido se descongeló casi por completo (1-2 minutos). Una vez descongelado, se desinfectó el vial con etanol al 70 % y, dentro de una cabina de flujo laminar, se transfirió su contenido a un tubo falcon de 15 mL que contenía aproximadamente 5 mL de medio de cultivo DMEM suplementado. Para la eliminación del crioprotector, se centrifugaron las células a 1500 rpm y 37°C durante 6 minutos. Se descartó el sobrenadante, se resuspendieron las células en 5-10 mL de medio fresco y se transfirieron a un frasco de cultivo. Este frasco se incubó a 37°C con 5 % de CO₂ en una atmósfera húmeda. Para asegurar la viabilidad de las líneas celulares, se llevó a cabo un conteo celular y tinción con azul de tripano. Para ello, se tomó una alícuota de cultivo y se mezcló con azul de tripano en proporción 1:1 asegurando una viabilidad celular mayor al 80 % para continuar con los siguientes cultivos (Freshney, 2022).

Pasajes y sembrado de líneas celulares

Para el mantenimiento y preparación de las líneas celulares adherentes, se realizaron pasajes celulares de manera periódica a fin de evitar una alta confluencia celular y asegurar su viabilidad. En cada pasaje, se removió el medio de cultivo, se hizo un lavado con solución PBS 1X (5 mL) para eliminar residuos, se aplicó una solución de tripsina StableCell™ (Sigma-Aldrich, USA) (3 mL) y se incubó a 37°C durante aproximadamente 5 a 10 minutos, hasta observar el desprendimiento de las células del sustrato. Pasado el tiempo de incubación, la acción de la tripsina se neutralizó añadiendo 3 mL medio de cultivo DMEM suplementado. La suspensión celular resultante se transfirió a un tubo falcon de 15 mL y se centrifugó a 1500 rpm y 37°C durante 6 minutos. Luego, se descartó el sobrenadante y el pellet celular se resuspendió en el medio DMEM suplementado, ajustando la densidad celular de acuerdo con los requerimientos específicos de cada línea. La densidad celular se determinó mediante conteo en cámara de Neubauer, como se describió con anterioridad. El estado morfológico de las células se monitoreó mediante microscopía invertida para verificar su integridad. Los pasajes se realizaron cuando las células alcanzaron un 80–90 % de confluencia, lo que favoreció un crecimiento óptimo y la continuidad de las condiciones experimentales (Freshney, 2022).

Viabilidad celular y citotoxicidad (MTT)

Para evaluar la viabilidad celular luego de la exposición de las distintas líneas celulares a las fracciones fúngicas aisladas, se llevó a cabo un ensayo de citotoxicidad basado en MTT. Para ello, se cultivaron las tres líneas celulares antes mencionadas en placas de 96 pozos. Se ajustó la concentración inicial a 5×10^3 células/mL y se calculó el volumen suficiente para sembrar 100 μ L por pocillo. Se sembraron las células en las columnas 2 a 10 de la placa y se incubaron a 37°C con 5 % de CO₂ durante una noche.

Para la adición de cada una de las fracciones fúngicas, se inició preparando una solución stock y una solución madre en agua destilada de cada una de las fracciones aisladas a una concentración de 50,000 μ g/mL y 5,000 μ g/mL respectivamente. Seguidamente, se prepararon 6 diluciones consecutivas de la solución madre (25, 50, 100, 150, 200, 250, 300 μ g/mL) en medio de cultivo DMEM

suplementado para determinar la concentración máxima y mínima inhibitoria. Pasado el tiempo de incubación de las células, se descartó el medio y se añadieron las soluciones previamente preparadas en cuadruplicado. Se incubaron las células durante 24, 48 y 72 horas a 37°C en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂. Posteriormente, se añadieron 10 µL de MTT (5 mg/mL) a las columnas 1 a 10. Cabe destacar que, como control negativo se utilizaron células únicamente con medio, como control positivo células con DMSO al 1 % y como blanco se utilizó únicamente medio DMEM suplementado. La placa se dejó incubando por 4 horas a 37°C. Luego, se retiró el medio y el MTT de todos los pozos y se añadieron 50 µL de DMSO a las columnas para disolver los cristales de formazán formados. Se leyeron las placas inmediatamente a 540 nm en el lector de microplacas usando la columna 1 como blanco (Mosmann, 1983). A partir de los resultados obtenidos, se calculó la viabilidad celular en relación con el control sin tratamiento (Ecuación 1).

Ecuación 1. Porcentaje de viabilidad celular (Mosmann, 1983)

$$\text{Viabilidad celular} = \frac{OD_{\text{células tratadas}} - OD_{\text{Blanco}}}{OD_{\text{control positivo}} - OD_{\text{Blanco}}} \times 100 \quad (1)$$

7.7.5. Expresión génica de genes proapoptóticos

Extracción de ARN

Para poder llevar a cabo la extracción de ARN celular, se inició cultivando las tres líneas celulares con medio DMEM suplementado en placas de 12 pocillos hasta alcanzar una confluencia celular del 70-80 %. Una vez cultivadas, se trataron las células con cada una de las fracciones fúngicas en concentraciones previamente determinadas mediante el ensayo MTT (en duplicado) (100, 200 y 300 µg/mL) a tiempos de 12 y 24 horas. Asimismo, se trabajó con un grupo control que no recibió ningún tratamiento (negativo) y un grupo al que se le aplicó peróxido de hidrógeno (positivo). Pasados los tiempos de incubación, se retiró el medio de las células, se aplicó una solución de tripsina StableCell™ (Sigma-Aldrich, USA) (400 µL) y se incubó a 37°C durante aproximadamente 5 a 10 minutos, hasta observar el desprendimiento de las células del sustrato. Para inactivar la enzima, se agregaron 400 µL de medio DMEM suplementado y se recolectaron las células suspendidas en tubos eppendorf de 1.5 mL.

La extracción de ARN se llevó a cabo conforme a las instrucciones del kit de Sigma-Aldrich (USA). Las muestras se centrifugaron a 1,800 rpm a 2 °C durante 5 minutos. Mientras se centrifugaban las muestras, se preparó la solución D mezclando 100 µL de β-mercaptoetanol y 14 mL de solución desnaturalizante. Pasado el tiempo de centrifugación, el sobrenadante fue eliminado cuidadosamente sin perturbar el pellet y se añadieron 25 µL de la solución D para resuspender el pellet. Adicionalmente, se agregaron 2 µL de acetato de sodio, 20 µL de fenol saturado con agua y 4 µL de cloroformo:alcohol isoamílico. Se mezclaron las muestras y se dejaron reposar en hielo durante 15 minutos. Seguidamente, se centrifugaron las muestras a 11,000 rpm a 4°C durante 20 minutos. Una vez centrifugadas las muestras, se recolectaron 60 µL de la fase acuosa en nuevos tubos eppendorf, se añadió el mismo volumen de isopropanol y se dejó precipitando el ARN a -20°C durante 1 hora. Se centrifugaron las muestras a 11,000 rpm a 4°C durante 20 minutos y se descartó el sobrenadante. El pellet obtenido se disolvió en 6 µL de solución D y se repitió la precipitación añadiendo 6 µL de isopropanol e incubando las muestras durante 1 hora a -20°C. Las muestras se centrifugaron a 11,000 rpm a 4°C durante 20 minutos. Se descartó el sobrenadante, se hicieron lavados con etanol al 75 % (frío) y se dejaron secar las muestras a temperatura ambiente sobre papel absorbente durante 1 hora. Finalmente, se añadieron 15 µL de agua libre de nucleasas y se almacenaron las muestras a -80°C. Para determinar la concentración y pureza del ARN extraído, se utilizó un espectrofotómetro NanoDrop Thermo Scientific™ One/OneC Espectrofotómetro de microvolúmenes de UV-Vis, registrando los valores de absorbancia a 260/280 nm y 260/230 nm esperando obtener valores entre 1.8-2.0 y mayores a 2.0 respectivamente.

Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con transcripción inversa (RT-qPCR)

Para evaluar el impacto de las fracciones fúngicas aisladas sobre la expresión génica en distintas líneas celulares cancerígenas humanas, se llevó a cabo un ensayo de RT-qPCR utilizando un kit comercial de Promega (USA). Se analizó la expresión de cuatro genes clave involucrados en tres rutas principales de muerte celular: *caspasa-8* (vía apoptótica extrínseca), *caspasa-9* (vía apoptótica intrínseca), *caspasa-3* (vía efectora común) y *RIPK3* (vía de necroptosis). Asimismo, se evaluó la expresión del gen β -actina como gen de referencia para la normalización de los datos. Para la realización del ensayo, inicialmente se preparó una mezcla madre que contenía los siguientes componentes.

Cuadro 3. Volumen de reactivos necesarios para RT-qPCR

Reactivo	Concentración final	Volumen 1 rxn (μ L)
GoTaq qPCR Master Mix 2x	1x	10
GoScript RT Mix for 1-Step RT-qPCR	1x	0.4
Forward primer	0.2 μ M	0.4
Reverse primer	0.2 μ M	0.4
CXR Reference dye	500 nM	0.33
Agua		8.47
Volumen total		20

Posteriormente, se colocaron las muestras en el termociclador y se configuró el equipo Mic Real-Time qPCR Cyclor (Bio Molecular Systems, Australia) bajo las siguientes condiciones:

Cuadro 4. Condiciones para RT-qPCR

	Ciclos	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Tiempo
Transcripción inversa	1	40	15 min
Inactivación transcriptasa inversa y activación de GoTaq	1	95	10 min
Desnaturalización	40	95	10 s
Annealing		60	30 s
Extensión		72	30 s

Ecuación 4. Nivel de expresión relativo del gen de interés

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t \text{ muestra}} - \Delta C_{t \text{ control}} \quad (2)$$

$$\text{Nivel de expresión} = 2^{-\Delta\Delta C_t} \quad (3)$$

7.7.6. Plan de análisis de datos

Los datos sobre la concentración de componentes bioactivos y los niveles de expresión génica de las líneas de interés fueron recopilados a través del programa de Excel. Finalmente, para el diseño de gráficos representativos de los datos se utilizó el software GraphPad Prism 10.

8.1. Rendimiento de extracción de las fracciones fúngicas

La composición fitoquímica de los hongos depende de su medio de cultivo, los nutrientes disponibles y su ubicación geográfica. Los principales componentes bioactivos de los hongos comestibles pueden clasificarse de acuerdo con su polaridad en compuestos polares, semipolares y apolares. Para evaluar el potencial farmacológico de cada clase de metabolitos, se prepararon tres fracciones principales de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* mediante distintos protocolos de extracción, permitiendo la caracterización de los principales componentes fitoquímicos presentes en cada una de ellas. Se realizó una extracción asistida por ultrasonido utilizando agua destilada (1:10), etanol al 50 % y éter de petróleo (1:10) para la obtención de las fracciones acuosa, etanólica y lipofílica respectivamente.

Tras el procesamiento de las tres fracciones fúngicas, se observó un mayor rendimiento de extracción para la fracción etanólica en ambas especies, siendo *P. djamor* el hongo con el mayor porcentaje de rendimiento (17.27 %) en comparación con *C. cibarius* (16.56 %). Este comportamiento sugiere una abundante presencia de metabolitos de polaridad intermedia, tales como polifenoles, glicoproteínas y otros compuestos fenólicos, los cuales han sido ampliamente asociados con actividad biológica.

De manera subsecuente, la fracción acuosa presentó el segundo mayor porcentaje de rendimiento, siendo ligeramente superior en *C. cibarius* (9.05 %) respecto a *P. djamor* (8.49 %), a pesar de haber utilizado una menor masa inicial de material seco, lo cual evidencia un perfil significativo de metabolitos polares, principalmente polisacáridos, en ambas especies fúngicas. Finalmente, la fracción lipofílica mostró los porcentajes de rendimiento más bajos en ambos hongos, lo que indica una menor proporción de metabolitos apolares, como terpenoides, esteroides o quinonas, sugiriendo un papel menos predominante de estos compuestos dentro del perfil químico global de los hongos estudiados (Cuadro 5).

Cuadro 5. Rendimiento de extracción de las fracciones polares, semi polares y lipofílicas de *C. cibarius* y *P. djamor*

Fracción	Gramos originales secos (g)	Gramos obtenidos luego de liofilizar (g)	Rendimiento (%)
<i>Cantharellus cibarius</i>			
Acuosa	60	5.4312	9.05
Etanólica	30	4.9688	16.56
Lipofílica	70	0.2850	0.41
<i>Pleurotus djamor</i>			
Acuosa	65	5.5216	8.49
Etanólica	30	5.1818	17.27
Lipofílica	65	0.5703	0.88

Nota. Rendimiento de extracción de las fracciones acuosas, lipofílicas y etanólicas extraídas de los hongos *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*. Se indica la masa inicial de material seco utilizada para la extracción, la masa obtenida tras el proceso de liofilización y el porcentaje de rendimiento calculado en función del peso seco original.

8.2. Caracterización fitoquímica de las fracciones fúngicas

8.2.1. Pruebas colorimétricas cualitativas

Una vez extraídas las principales fracciones fúngicas de ambos hongos, se llevó a cabo una caracterización fitoquímica inicial con el fin de obtener un primer acercamiento a la composición bioquímica de cada fracción, mediante la aplicación de pruebas colorimétricas cualitativas.

Cuadro 6. Pruebas fitoquímicas de caracterización cualitativa de compuestos en extracto acuoso de *C. cibarius* y *P. djamor*

Prueba	Control +	Control -	<i>C. cibarius</i>		<i>P. djamor</i>	
			1	2	1	2
Cloruro férrico para fenoles	+	-	-	-	-	-
Fenol-ácido sulfúrico para polisacáridos	+	-	+	+	+	+
Lieberman-Burchard para terpenoides	+	-	-	-	-	-
Solubilidad en solución de NaOH 5 % para quinonas	+	-	-	-	-	-

Nota. Resultados cualitativos de las pruebas fitoquímicas para la detección de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de *C. cibarius* y *P. djamor*. Se evaluó la presencia de fenoles, polisacáridos, terpenoides y quinonas mediante los reactivos indicados. Los signos “+” y “-” representan reacción positiva o negativa, respectivamente, en cada réplica. Como controles positivos se emplearon ácido gálico para fenoles, almidón al 2 % para polisacáridos, ergosterol para terpenoides y 1,4-benzoquinona para quinonas. Como control negativo se empleó agua destilada.

Cuadro 7. Pruebas fitoquímicas de caracterización cualitativa de compuestos en extracto etanólico de *C. cibarius* y *P. djamor*

Prueba	Control +	Control -	<i>C. cibarius</i>		<i>P. djamor</i>	
			1	2	1	2
Cloruro férrico para fenoles	+	-	-	-	-	-
Fenol-ácido sulfúrico para polisacáridos	+	-	+	+	+	+
Lieberman-Burchard para terpenoides	+	-	-	-	-	-
Solubilidad en solución de NaOH 5 % para quinonas	+	-	-	-	-	-

Nota. Resultados cualitativos de las pruebas fitoquímicas para la detección de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *C. cibarius* y *P. djamor*. Se evaluó la presencia de fenoles, polisacáridos, terpenoides y quinonas mediante los reactivos indicados. Los signos “+” y “-” representan reacción positiva o negativa, respectivamente, en cada réplica. Como controles positivos se emplearon ácido gálico para fenoles, almidón al 2 % para polisacáridos, ergosterol para terpenoides y 1,4-benzoquinona para quinonas. Como control negativo se empleó agua destilada.

Cuadro 8. Evaluación cualitativa de la actividad antioxidante mediante el ensayo de DPPH

Muestra	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Cambio de color	Interpretación
Polisacáridos <i>C. cibarius</i>	100–300	Rosa tenue	Actividad leve
Polisacáridos <i>P. djamor</i>	100–300	Rosa tenue	Actividad leve
Extracto etanólico <i>C. cibarius</i>	100–300	Rosa pálido	Actividad moderada
Extracto etanólico <i>P. djamor</i>	100 200–300	Rosa pálido Amarillo	Actividad moderada Actividad alta
Ácido gálico (control positivo)	50	Amarillo	Actividad alta
Control negativo	—	Violeta	Sin actividad

Nota. Resultados cualitativos del ensayo de DPPH realizado en microplaca para las fracciones acuosa (polisacáridos) y etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor*. La intensidad del cambio de color desde violeta (sin actividad) hacia tonos rosados o amarillos (mayor actividad) se utilizó como indicador de la capacidad antioxidante de cada fracción en diferentes concentraciones. La evidencia fotográfica del ensayo se incluye en el anexo correspondiente (Figura 21).

Asimismo, para las fracciones acuosa (polisacáridos) y etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* se llevó a cabo el ensayo de DPPH con el fin de evaluar, de manera cualitativa, su actividad antioxidante. En este ensayo, el control negativo correspondiente únicamente al reactivo de DPPH mantuvo la coloración violeta característica del radical libre, lo cual indicó ausencia de actividad antioxidante. En contraste, el ácido gálico, utilizado como control positivo, mostró una decoloración evidente hacia tonos amarillos, confirmando la validez de la prueba (Cuadro 8).

Las fracciones acuosas (polisacáridos) de ambas especies produjeron únicamente una decoloración parcial del reactivo hacia tonos rosados, incluso a la mayor concentración evaluada. Esto sugiere una actividad antioxidante ausente o de menor intensidad en comparación con el control positivo.

Por otro lado, en el caso de los extractos etanólicos, se observó que la fracción etanólica de *C. cibarius* produjo una leve decoloración del medio, con una tendencia hacia tonos amarillentos, lo cual indica la presencia de una capacidad antioxidante moderada. En cambio, la fracción etanólica de *P. djamor* presentó una decoloración amarillenta claramente visible y comparable a la observada en el control positivo, especialmente a concentraciones de 200 y 300 $\mu\text{g/mL}$, lo que sugiere una alta capacidad antioxidante en esta fracción.

Cuadro 9. Pruebas fitoquímicas de caracterización cualitativa de compuestos en extracto lipofílico de *C. cibarius* y *P. djamor*

Prueba	Control +	Control -	<i>C. cibarius</i>		<i>P. djamor</i>	
			1	2	1	2
Cloruro férrico para fenoles	+	-	-	-	-	-
Fenol-ácido sulfúrico para polisacáridos	+	-	-	-	-	-
Lieberman-Burchard para terpenoides	+	-	+	+	+	+
Solubilidad en solución de NaOH 5 % para quinonas	+	-	-	-	-	-

Nota. Resultados cualitativos de las pruebas fitoquímicas para la detección de metabolitos secundarios en el extracto lipofílico de *C. cibarius* y *P. djamor*. Se evaluó la presencia de fenoles, polisacáridos, terpenoides y quinonas mediante los reactivos indicados. Los signos “+” y “-” representan reacción positiva o negativa, respectivamente, en cada réplica. Como controles positivos se emplearon ácido gálico para fenoles, almidón al 2 % para polisacáridos, ergosterol para terpenoides y 1,4-benzoquinona para quinonas. Como control negativo se empleó agua destilada.

A partir de las pruebas realizadas, se obtuvo un panorama general de la composición de cada fracción. En el caso de la fracción acuosa, uno de los principales componentes identificados fueron los polisacáridos, macromoléculas abundantes en los hongos debido a su relevancia estructural y en procesos de señalización celular (Cuadro 6). De manera similar, en la fracción etanólica, el principal componente detectado también correspondió a polisacáridos (Cuadro 7). Esta similitud con la fracción acuosa sugiere la presencia de polisacáridos con diferentes grados de polaridad o la posible formación de complejos conjugados con proteínas o compuestos fenólicos.

Finalmente, en la fracción lipofílica se evidenció la ausencia de polisacáridos y fenoles, lo cual respalda la selectividad del proceso de extracción hacia metabolitos de naturaleza apolar (Cuadro 9). En esta fracción, los resultados indican que los terpenoides constituyen el principal grupo de compuestos presentes, en concordancia con la afinidad de estos metabolitos por disolventes no polares.

Asimismo, la obtención de resultados similares en ambas especies de hongos sugiere la presencia de perfiles bioquímicos generales comparables, a pesar de las diferencias observadas en los rendimientos de extracción. Esto podría indicar la presencia de metabolitos comunes en ambas especies, aunque con posibles variaciones en su abundancia relativa o afinidad por los distintos disolventes empleados.

8.2.2. Pruebas colorimétricas cuantitativas

Una vez conocido el perfil bioquímico principal de cada una de las fracciones fúngicas obtenidas, se llevaron a cabo pruebas colorimétricas cuantitativas con el objetivo de determinar la concentración de los principales metabolitos presentes en cada fracción.

En el caso de la fracción acuosa, el protocolo de extracción fue diseñado para priorizar la obtención de polisacáridos fúngicos. No obstante, otro de los componentes polares comúnmente presentes en los hongos son las proteínas. Con el fin de asegurar el aislamiento selectivo de los polisacáridos en las muestras de interés, se compararon dos métodos principales de desproteización: la precipitación ácida mediante ácido tricloroacético (TCA) al 10 % y la precipitación salina por salting out utilizando sulfato de amonio al 70 %, con el objetivo de optimizar la recuperación de las macromoléculas de interés.

Tras la aplicación de ambos métodos, se determinó que la precipitación ácida con TCA al 10 % permitió una menor pérdida relativa de polisacáridos y una mayor eficiencia en la remoción de proteínas, por lo que este método fue seleccionado para la purificación de los extractos (Cuadro 10). Como resultado, se obtuvo una concentración final de polisacáridos de 9.97 mg/mL para *C. cibarius* y de 9.29 mg/mL para *P. djamor*. Estos valores, similares entre ambas especies, sugieren la presencia de perfiles polisacáridicos comparables y una alta pureza relativa de los extractos obtenidos.

Cuadro 10. Contenido total de polisacáridos y proteínas del extracto de polisacáridos de *C. cibarius* y *P. djamor*

Especie	Método	Polisacáridos (mg/mL)	Pérdida de polisacáridos (%)	Proteínas (mg/mL)	Desproteínización (%)
<i>C. cibarius</i>	TCA al 10 %	9.97	13.10	0.29	86.65
	Sulfato de amonio (70 % de saturación)	7.56	34.17	1.59	27.19
<i>P. djamor</i>	TCA al 10 %	9.29	9.55	0.66	58.64
	Sulfato de amonio (70 % de saturación)	8.06	21.47	0.93	41.69

Nota. Resultados cuantitativos de las pruebas fitoquímicas para la detección de polisacáridos en los extractos acuosos de *C. cibarius* y *P. djamor*. Se determinó la concentración (%) de polisacáridos presentes en cada fracción, al igual que el porcentaje de proteínas residuales (en duplicado) tras llevar a cabo procesos de extracción, precipitación y purificación de polisacáridos. Para ello, se empleó la prueba de fenol-ácido sulfúrico utilizando glucosa (10 mg/mL) como control.

En el caso de la fracción etanólica, uno de los grupos de metabolitos semipolares de mayor relevancia por su potencial farmacológico son los polifenoles. Para la cuantificación de estos compuestos, se llevó a cabo el ensayo colorimétrico de Folin-Ciocalteu. A partir de este análisis se determinó una concentración de polifenoles de 1.56 ± 0.06 mg de ácido gálico por gramo de muestra para *C. cibarius* y 2.07 ± 0.07 mg de ácido gálico por gramo de muestra para *P. djamor*.

Cuadro 11. Cuantificación de fenoles totales en la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor*

Hongo	FT (mg ácido gálico/g de muestra)
<i>C. cibarius</i>	1.56 ± 0.06
<i>P. djamor</i>	2.07 ± 0.07

Nota. Resultados cuantitativos de las pruebas fitoquímicas para la detección de compuestos fenólicos en los extractos de *C. cibarius* y *P. djamor*. La cuantificación de fenoles totales se expresó como mg de ácido gálico por gramo de muestra.

8.2.3. Caracterización preliminar de los compuestos lipofílicos

Debido a la naturaleza compleja y heterogénea de la fracción lipofílica, no se realizó una cuantificación colorimétrica específica de los compuestos lipofílicos aislados. En su lugar, se llevó a cabo un análisis cromatográfico mediante cromatografía en capa fina (TLC) con el objetivo de evaluar, de manera preliminar, la presencia y el comportamiento cromatográfico de los compuestos apolares extraídos.

Cuadro 12. Rendimiento y factor de retención (Rf) de los fragmentos lipofílicos aislados a partir de *C. cibarius* y *P. djamor* mediante TLC

Hongo	Fragmento	Rendimiento (%)	Factor de retención (Rf)	Actividad antioxidante
<i>Cantharellus cibarius</i>	1	6.7	0.61	No
	2	35.68	0.88	Sí
<i>Pleurotus djamor</i>	1	7.49	0.86	Sí

Nota. Rendimiento (%) y factor de retención (Rf) de los fragmentos lipofílicos aislados de *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* mediante cromatografía en capa fina (TLC), utilizando como fase móvil una mezcla de hexano:acetato de etilo (7:3). Además, se muestran los resultados de la prueba de DPPH en placa TLC para evaluar la capacidad antioxidante de cada fragmento.

La fracción lipofílica de ambos hongos fue sometida a análisis por TLC analítica y preparativa con el fin de identificar y separar los componentes individuales presentes en la fracción total. En el caso de

C. cibarius, se obtuvieron dos fragmentos con diferentes porcentajes de rendimiento, observándose un mayor rendimiento para el fragmento 2, lo que sugiere la predominancia relativa de ciertos metabolitos apolares sobre otros (Cuadro 12). Debido a la mayor cantidad de producto obtenida para este fragmento, el fragmento 2 de *C. cibarius* fue seleccionado para los análisis posteriores.

Para el fragmento seleccionado de *C. cibarius*, se determinó un factor de retención (Rf) de 0.86 empleando como fase móvil una mezcla de hexano:acetato de etilo (7:3). Considerando la alta proporción de hexano en el sistema de elución y la elevada distancia recorrida por el compuesto sobre la placa cromatográfica, estos resultados sugieren que el fragmento aislado presenta un carácter marcadamente apolar, compatible con la posible presencia de metabolitos lipofílicos como terpenoides o esteroides, previamente indicados por las pruebas colorimétricas.

De manera similar, en el caso de *P. djamor* se aisló únicamente un fragmento lipofílico con un rendimiento del 7.49 %, el cual presentó un factor de retención muy similar al de *C. cibarius* (Rf = 0.86), lo que sugiere la extracción de metabolitos con una polaridad muy parecida entre sí. Además, a partir de la prueba de DPPH, se confirmó el perfil antioxidante de ambos fragmentos debido a la aparición de una mancha amarilla sobre la placa donde se aplicaron dichos extractos (Figura 22).

8.2.4. Análisis FTIR

Las pruebas colorimétricas permitieron dar un acercamiento inicial para conocer la composición fitoquímica general de las principales fracciones aisladas. No obstante, para determinar más a profundidad los principales componentes aislados, se llevó a cabo un análisis por FTIR para identificar los principales enlaces o grupos funcionales de cada compuesto y así poder intuir la naturaleza del mismo.

Cuadro 13. Asignación de bandas FT-IR de la fracción de polisacáridos de *C. cibarius* y *P. djamor*

Asignación	<i>C. cibarius</i> (cm ⁻¹)	<i>P. djamor</i> (cm ⁻¹)	Intensidad
O–H (estiramiento)	3231.20	3220.78	Suave
Deformación C–H	1427.92	1420.79	Suave
C–O–C / C–O–H	1092.82	1096.66	Fuerte
Vibraciones de anillos, configuración β	996.04	996.25	Suave
Vibraciones esqueléticas	446.85	406.52	Suave

Nota. Bandas principales de absorción del espectro FTIR obtenido a partir de la fracción acuosa de *C. cibarius* y *P. djamor* (Figura 23 A-B, Anexos), con su respectiva intensidad y número de onda del pico de absorción (cm⁻¹) (± 0.01 cm⁻¹).

El espectro FT-IR de la fracción acuosa aislada presenta picos representativos de polisacáridos fúngicos, respaldando la efectividad del proceso de extracción. Como se muestra en el Cuadro 13, las bandas de absorción en el rango de 3220.78–3231.20 cm⁻¹ corresponden a la vibración de estiramiento característica de los grupos –OH presentes en los polisacáridos. En este caso, la intensidad suave de esta banda (Figura 23 A-B), en comparación con la banda intensa generalmente reportada, podría estar asociada a la presencia de agua residual o a la formación de extensas redes de puentes de hidrógeno (Deveci et al., 2024; Hong et al., 2021).

Asimismo, se observaron vibraciones deformativas de grupos con simetría local, como el CH₂, evidenciadas por las bandas en el rango de 1420.79–1427.92 cm⁻¹. Adicionalmente, la presencia de picos en la región conocida como “huella dactilar” refuerza la posible presencia de polisacáridos, debido a la detección de bandas intensas y variables asociadas a monosacáridos. Estas señales, observadas en el intervalo de 1092.82–1096.66 cm⁻¹, reflejan estiramientos C–O en grupos C–OH y

C–O–C característicos de estructuras comunes de polisacáridos (Liu et al., 2021; Hong et al., 2021)

Finalmente, las bandas de absorción detectadas en el rango de 996.04–996.25 cm^{-1} sugieren la presencia de configuraciones β , asociadas a enlaces β -glicosídicos, lo cual es consistente con la estructura típica de polisacáridos fúngicos (Deveci et al., 2024; Hong et al., 2021)

La alta similitud entre los espectros FT-IR y las bandas de absorción observadas en *C. cibarius* y *P. djamor* sugiere la presencia de un perfil de polisacáridos general comparable entre ambas especies, con posibles diferencias en la concentración relativa, tal como fue evidenciado mediante las pruebas colorimétricas cuantitativas, y/o en la composición específica de monosacáridos que conforman dichas macromoléculas.

Cuadro 14. Asignación de bandas FT-IR de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor*

Asignación	<i>C. cibarius</i> (cm^{-1})	<i>P. djamor</i> (cm^{-1})	Intensidad
O–H fenólico	3242.99	3226.03	Fuerte
C–H alifático	2935.61	2933.13	Suave
C=C	1563.27	1569.92	Fuerte
C–O fenólico	1391.43	1396.00	Media
C–O / C–O–C	1077.44 / 1032.77 / 989.68	1076.18 / 1045.97 / 990.72	Media

Nota. Bandas principales de absorción del espectro FTIR obtenido a partir de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* (Figura 23 C-D, Anexos), con su respectiva intensidad y número de onda del pico de absorción (cm^{-1}) ($\pm 0.01 \text{ cm}^{-1}$).

La fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* se caracterizó por la presencia de compuestos semipolares, principalmente polifenoles, tal como fue evidenciado por las pruebas colorimétricas realizadas. En consecuencia, se esperaban perfiles espectrales con bandas características similares entre ambas especies, particularmente asociadas a estructuras ricas en grupos hidroxilo aromáticos.

Como se muestra en el Cuadro 14, las bandas anchas de absorción observadas en el rango de 3226.03–3242.99 cm^{-1} corresponden a vibraciones de estiramiento de grupos –OH fenólicos, característicos de compuestos polifenólicos; o vibraciones de estiramiento de grupos C–H alifáticos de carbonos sp^3 asociados a cadenas laterales o sustituyentes (2933.13–2935.61 cm^{-1}). Asimismo, la presencia de polifenoles se ve reforzada por la detección de bandas en la región de 1563.27–1569.92 cm^{-1} , asociadas a vibraciones de estiramiento C=C en anillos aromáticos, una estructura común en este tipo de metabolitos. De igual manera, se identificaron bandas en el intervalo de 1391.43–1396.00 cm^{-1} , correspondientes a estiramientos C–O aromáticos, representativos de enlaces fenol y éter, característicos de compuestos fenólicos (Grasel et al., 2016).

Adicionalmente, las vibraciones deformativas de grupos con simetría local, como el CH_2 , en la región de 2933.13–2935.61 cm^{-1} , también pueden estar asociadas a la presencia de residuos de carbohidratos u otros compuestos alifáticos, lo cual concuerda con la detección previa de polisacáridos mediante la prueba de fenol–ácido sulfúrico (Cuadro 7). En la región conocida como “huella dactilar”, se identificaron bandas entre 900–1080 cm^{-1} , correspondientes a vibraciones de estiramiento C–O y C–O–C, comúnmente asociadas a enlaces glucosídicos y estructuras piranoides (Puia et al., 2025).

En conjunto, la presencia de bandas características de distintos compuestos semipolares evidencia la naturaleza mixta de la fracción etanólica. Asimismo, la similitud general observada entre los espectros FT-IR de *C. cibarius* y *P. djamor* sugiere perfiles de metabolitos semipolares comparables entre ambas especies, aunque con posibles diferencias en la composición específica, reflejadas por la aparición de bandas adicionales en la región de huella dactilar.

Cuadro 15. Asignación de bandas FT-IR de la fracción lipofílica de *C. cibarius* y *P. djamor*

Asignación	<i>C. cibarius</i> (cm ⁻¹)	<i>P. djamor</i> (cm ⁻¹)	Intensidad
=C-H (alqueno)	3017.70	—	Suave
C-H alifático	2925.30 / 2854.90	2922.39 / 2853.55	Fuerte
C=O (éster)	1742.33	1743.50	Media
CH ₂ / CH ₃	1460.33 / 1377.60	1459.02 / 1377.44	Media
C-O-C (éster)	1162.65 / 1098.94	1098.48 / 1019.90	Media
C-H fuera del plano (alifático)	754.02	795.16 / 772.47	Fuerte para <i>C. cibarius</i> y suave para <i>P. djamor</i>

Nota. Bandas principales de absorción del espectro FTIR obtenido a partir de la fracción lipofílica de *C. cibarius* y *P. djamor* (Figura 23 E-F, Anexos), con su respectiva intensidad y número de onda del pico de absorción (cm⁻¹) (± 0.01 cm⁻¹).

Finalmente, para la fracción lipofílica de *C. cibarius* y *P. djamor* se evaluó la presencia de metabolitos de naturaleza apolar, en concordancia con la baja polaridad de los disolventes empleados durante la extracción y con los resultados obtenidos en las pruebas colorimétricas cualitativas, las cuales sugirieron la posible presencia de terpenoides. En primer lugar, la ausencia de bandas intensas asociadas a grupos polares, como la banda ancha característica del estiramiento O-H (3500–3200 cm⁻¹), evidencia un aislamiento selectivo de metabolitos lipofílicos respecto a compuestos de mayor polaridad.

Se identificaron bandas correspondientes a estiramientos C-H alifáticos en los rangos de 2925.30 / 2854.90 cm⁻¹ para *C. cibarius* y 2922.39 / 2853.55 cm⁻¹ para *P. djamor*, características de cadenas alifáticas largas presentes en lípidos y otros metabolitos lipofílicos. Asimismo, se observaron bandas asociadas a estiramientos C=O propios de grupos éster, localizadas en 1742.33 cm⁻¹ y 1743.50 cm⁻¹, respectivamente, así como bandas de deformación CH₂/CH₃ en la región de 1460.33 / 1377.60 cm⁻¹ y 1459.02 / 1377.44 cm⁻¹, lo cual sugiere la presencia de cadenas hidrocarbonadas saturadas (Forfang et al., 2017; Dzurendova et al., 2020). Además, se observaron bandas en la región 1058.67 cm⁻¹ para *C. cibarius* y 1098.48–1019.90 cm⁻¹ para *P. djamor*, asociadas a estiramientos C-O-C, compatibles con la presencia de enlaces éster o éteres alifáticos. En la región conocida como “huella dactilar”, se observaron diferencias más marcadas entre ambas especies, reflejando variaciones en la composición relativa de los metabolitos lipofílicos presentes (Forfang et al., 2017; Dzurendova et al., 2020).

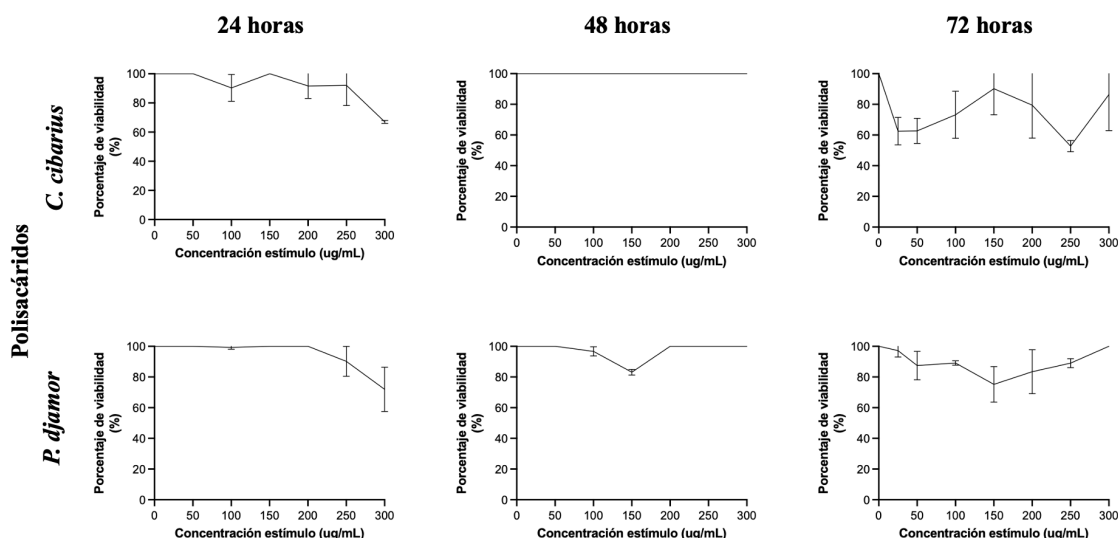
Específicamente, para *C. cibarius* se observó una banda de alta intensidad en 754.02 cm⁻¹, correspondiente a vibraciones de C-H fuera del plano, la cual puede estar asociada a la presencia de estructuras cíclicas alifáticas o insaturadas, como anillos presentes en terpenoides o compuestos esteroideos. En contraste, *P. djamor* presentó bandas de menor intensidad en esta región (795.16 / 772.47 cm⁻¹), lo que sugiere diferencias composicionales entre ambas especies, posiblemente relacionadas con variaciones en el grado de saturación o en la proporción relativa de los metabolitos lipofílicos presentes (Forfang et al., 2017; Dzurendova et al., 2020).

8.3. Evaluación del potencial citotóxico de las fracciones fúngicas

8.3.1. Evaluación de citotoxicidad en células no tumorales (CHO)

Una vez conocida la composición principal de cada fracción fúngica, se quería determinar su posible efecto citotóxico sobre las líneas celulares de interés. Previo a esto, se llevó a cabo una evaluación de la citotoxicidad de cada fracción mediante ensayos de MTT y curvas de dosis-respuesta en líneas celulares no tumorales para determinar la concentración mínima inhibitoria (IC₅₀) y asegurar la seguridad de las fracciones utilizadas.

Figura 10. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de los polisacáridos extraídos de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre células de ovario de hámster chino (CHO) incubadas por 24, 48 y 72 horas



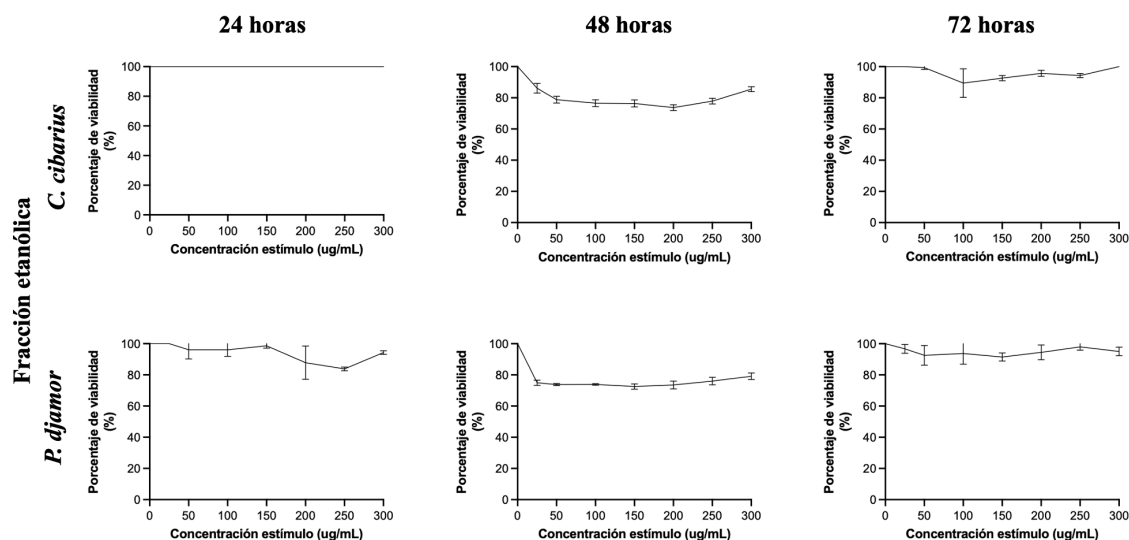
Nota. La viabilidad celular y la correspondiente concentración mínima inhibitoria se determinaron mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cada concentración.

En el caso de los polisacáridos fúngicos de ambas especies, se presentó una citotoxicidad inicial a las 24 horas, siendo la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$ la que provocó un mayor efecto citotóxico, con una reducción de la viabilidad celular hasta aproximadamente el 60 % (Figura 10).

A las 48 horas, se observaron valores de viabilidad celular cercanos al control en la mayoría de las concentraciones evaluadas. Sin embargo, a las 72 horas se evidenció el mayor efecto citotóxico, siendo las concentraciones de 25, 50 y 250 $\mu\text{g/mL}$ las que generaron una mayor reducción de la viabilidad celular en el caso de *C. cibarius*, con valores menores al 60%; y 150 $\mu\text{g/mL}$ para *P. djamor*, con una reducción superior al 80 %. Observándose, bajo estas condiciones, una mayor disminución de la viabilidad celular en los tratamientos con polisacáridos de *C. cibarius* en comparación con *P. djamor*.

Debido a que no se observó una tendencia dosis-respuesta clara y al comportamiento no lineal de la respuesta en ambas fracciones, no fue posible determinar la concentración mínima inhibitoria (IC_{50}). No obstante, se observó una mayor citotoxicidad generalmente a concentraciones superiores a 100 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 11. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción etanólica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre células de ovario de hámster chino (CHO) incubadas por 24, 48 y 72 horas

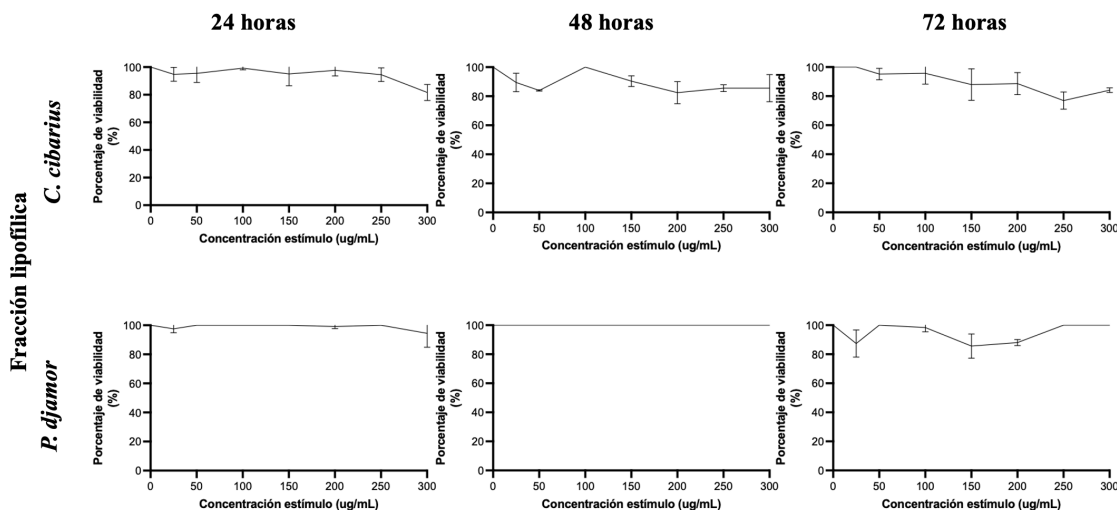


Nota. La viabilidad celular y la correspondiente concentración mínima inhibitoria se determinaron mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cada concentración.

Por otro lado, en el caso de la fracción etanólica, se observó un comportamiento dosis-respuesta constante y sin una tendencia marcada, evidenciando la baja citotoxicidad de la fracción. El horario en el que se observó el mayor efecto citotóxico fue a las 48 horas, con una disminución de la viabilidad celular menor al 80 % pero mayor al 70 % a concentraciones mayores a 50 $\mu\text{g/mL}$ en ambas especies. No obstante, la viabilidad celular mostró valores cercanos al control negativo a las 72 horas.

De igual manera, no se logró determinar la concentración mínima inhibitoria para esta fracción, debido a que no se observó una correlación significativa entre la concentración agregada y la viabilidad celular. En conjunto, esta fracción mostró una menor citotoxicidad en líneas celulares no tumorales.

Figura 12. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción lipofílica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre células de ovario de hámster chino (CHO) incubadas por 24, 48 y 72 horas



Nota. La viabilidad celular y la correspondiente concentración mínima inhibitoria se determinaron mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cada concentración.

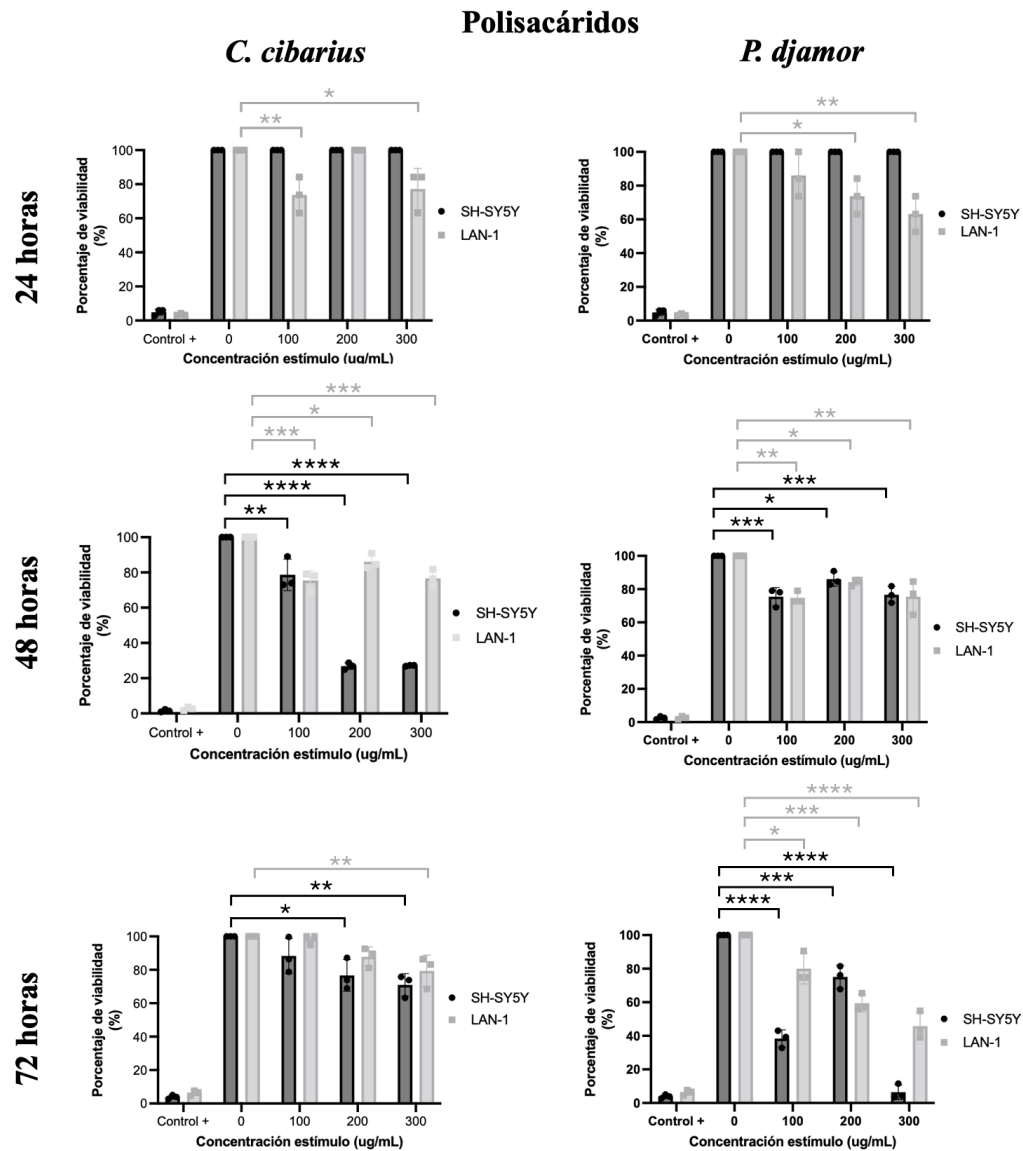
Finalmente, en el caso de la fracción lipofílica de *C. cibarius*, se observó un comportamiento similar en las distintas concentraciones utilizadas y bajo los diferentes tiempos evaluados. Nuevamente, se evidenció una ligera disminución de la viabilidad celular a concentraciones mayores a 50 $\mu\text{g/mL}$; sin embargo, en ningún caso la viabilidad celular descendió por debajo del 70 %. Por esta razón, no fue posible determinar la concentración mínima inhibitoria para esta fracción.

Por otro lado, en el caso de la fracción lipofílica de *P. djamor*, el extracto no mostró citotoxicidad aparente a las 24 y 48 horas. No obstante, tras 72 horas de incubación, se observó una ligera disminución de la viabilidad celular, con un comportamiento similar al observado para *C. cibarius*.

8.3.2. Evaluación del efecto citotóxico en líneas celulares de neuroblastoma (SH-SY5Y y LAN-1)

Bajo la hipótesis de que las fracciones aisladas presentaban un mayor efecto citotóxico sobre líneas celulares tumorales que sobre las no tumorales, se evaluó dicha capacidad mediante ensayos de MTT en las líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1.

Figura 13. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (100 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de los polisacáridos extraídos de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre células de neuroblastoma (SY5Y y LAN-1) incubadas por 24, 48 y 72 horas



Nota. La viabilidad celular y la correspondiente concentración mínima inhibitoria se determinaron mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cada concentración. Los datos se expresan como media $\pm$ DE. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Dunnett, comparando cada concentración con el control positivo. *p <= 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001.

Con base en los ensayos de viabilidad realizados en células CHO, se seleccionaron las concentraciones de 100, 200 y 300 $\mu\text{g/mL}$ para los ensayos posteriores en las líneas celulares SH-SY5Y y LAN-1, dado que en este rango se observaron variaciones en la viabilidad celular sin inducir una citotoxicidad severa en células no tumorales (Figura 10).

En la línea celular SH-SY5Y, no se observó un efecto citotóxico estadísticamente significativo a las 24 horas tras la exposición a los polisacáridos extraídos tanto de *C. cibarius* como de *P. djamor* (Figura 13). Sin embargo, a las 48 horas, los polisacáridos de *C. cibarius* generaron un

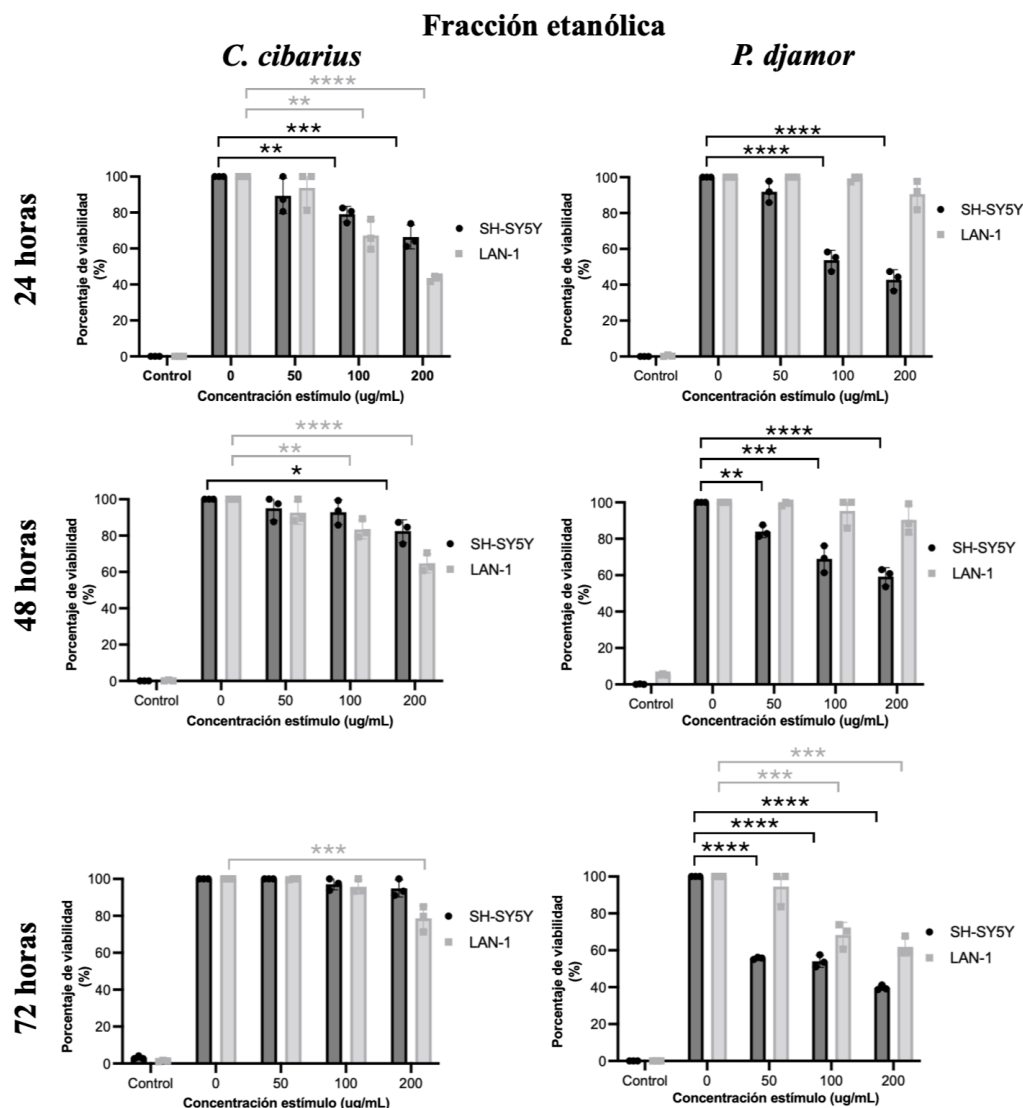
descenso significativo en la viabilidad celular a concentraciones de 200 y 300 $\mu\text{g/mL}$ (26.8 % y 27.1 %, respectivamente). De forma similar, aunque con menor nivel de significancia estadística, los polisacáridos de *P. djamor* también redujeron la viabilidad celular, siendo más evidentes los efectos a 100 y 300 $\mu\text{g/mL}$ (75.4 % y 76.6 %, respectivamente).

Tras 72 horas de incubación, se observó un incremento en la viabilidad celular superior al 70 % en los ensayos tratados con los polisacáridos de *C. cibarius* en las tres concentraciones evaluadas (100, 200 y 300 $\mu\text{g/mL}$), siendo 100 $\mu\text{g/mL}$ la que mostró el mayor porcentaje de viabilidad (88.3 %). En contraste, los polisacáridos de *P. djamor* produjeron una disminución significativa de la viabilidad celular a las tres concentraciones probadas, siendo 300 $\mu\text{g/mL}$ la más citotóxica (4.3 %, $p < 0.0001$).

Por otro lado, en la línea celular LAN-1, la exposición a los polisacáridos de *C. cibarius* produjo una ligera disminución en la viabilidad celular a las 24 y 48 horas, siendo 100 $\mu\text{g/mL}$ la concentración con mayor reducción (75.4 %, $p = 0.0003$). No obstante, la viabilidad celular aumentó nuevamente a las 72 horas, alcanzando valores similares al control negativo en dicha concentración.

En el caso de los polisacáridos de *P. djamor*, no se observó una tendencia lineal clara en la viabilidad celular. A las 24 horas, la viabilidad disminuyó conforme aumentó la concentración. Posteriormente, a las 48 horas, se observó una ligera reducción en las concentraciones de 200 y 300 $\mu\text{g/mL}$. Sin embargo, a diferencia de lo observado con *C. cibarius*, no se registró una recuperación de la viabilidad a las 72 horas; por el contrario, la viabilidad continuó disminuyendo, siendo 300 $\mu\text{g/mL}$ la concentración con el efecto más marcado (45.8 %, $p < 0.0001$).

Figura 14. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (50 – 200 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción etanólica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre células de cáncer de mama (SY5Y y LAN-1) incubadas por 24, 48 y 72 horas



Nota. La viabilidad celular y la correspondiente concentración mínima inhibitoria se determinaron mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cada concentración. Los datos se expresan como media $\pm$ DE. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Dunnett, comparando cada concentración con el control positivo. * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Por otro lado, para la fracción etanólica se utilizaron concentraciones entre 50–200 $\mu\text{g/mL}$, dado que a partir de este rango se comenzó a observar un efecto citotóxico significativo.

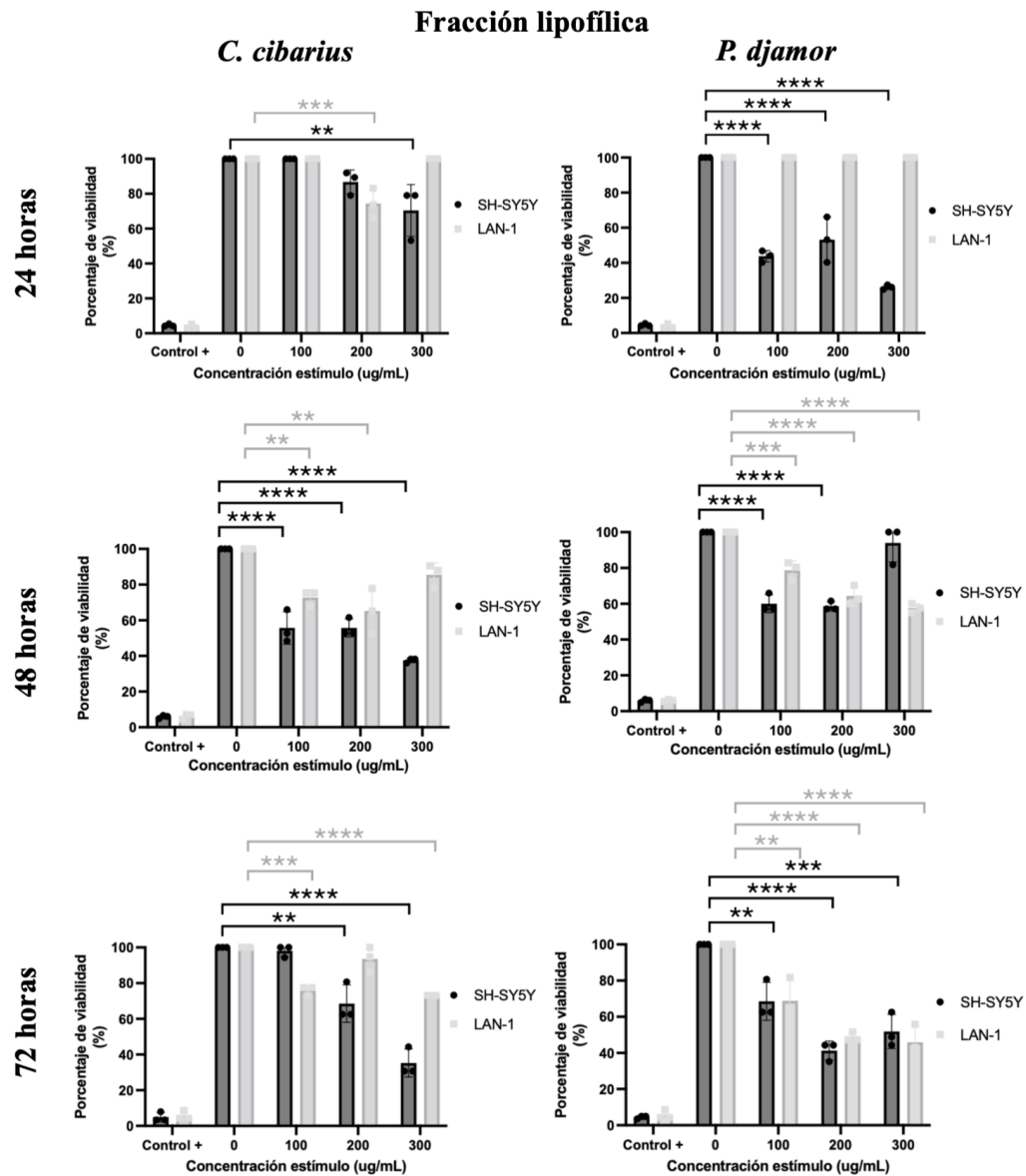
En la línea celular SH-SY5Y, el tratamiento con la fracción etanólica de *C. cibarius* indujo una disminución dependiente de la concentración a las 24 horas, siendo 200 $\mu\text{g/mL}$ la concentración que generó la mayor reducción en la viabilidad celular (66.37 %, $p = 0.0005$). Sin embargo, después de 48 horas de incubación, la viabilidad celular aumentó en los grupos tratados con las tres concentraciones evaluadas. Esta tendencia se mantuvo a las 72 horas, momento en el cual los niveles de viabilidad celular fueron similares a los del control negativo.

En contraste, tras la exposición a la fracción etanólica de *P. djamor*, se observó una disminución significativa y dependiente de la concentración en la viabilidad celular después de 24 horas de incubación, siendo nuevamente 200 $\mu\text{g/mL}$ la concentración que produjo la mayor reducción (42.77 %, $p < 0.0001$). A las 48 horas, se observó un ligero incremento en la viabilidad celular en los grupos tratados con 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$ (68.93 % y 59.17 %, respectivamente). No obstante, a las 72 horas se evidenció nuevamente una disminución significativa de la viabilidad celular, especialmente a 200 $\mu\text{g/mL}$ (39.67 %, $p < 0.0001$).

En la línea celular LAN-1, el tratamiento con la fracción etanólica de *C. cibarius* produjo una disminución significativa y dependiente de la concentración en la viabilidad celular a las 24 horas, siendo más marcada a 200 $\mu\text{g/mL}$ (43.4 %, $p < 0.0001$). Después de 48 horas de incubación, se observó un aumento en la viabilidad celular en los grupos tratados con 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$. Esta recuperación fue aún más evidente a las 72 horas, momento en el cual todas las concentraciones evaluadas mostraron un incremento significativo en la viabilidad, alcanzando incluso valores similares al control negativo como observado en el grupo tratado con 50 $\mu\text{g/mL}$ (99.83 %).

Por otro lado, tras la aplicación de la fracción etanólica de *P. djamor* en LAN-1, se observó una ligera reducción dependiente de la concentración en la viabilidad celular después de 24 y 48 horas; sin embargo, estos cambios no fueron estadísticamente significativos. Finalmente, a las 72 horas de incubación sí se detectó una disminución significativa de la viabilidad celular, especialmente a 200 $\mu\text{g/mL}$ (61.87 %, $p = 0.0002$).

Figura 15. Resultado de ensayo de viabilidad celular a diferentes concentraciones (100 – 300 $\mu\text{g/mL}$) de la fracción lipofílica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre células de cáncer de mama (SH-SY5Y y LAN-1) incubadas por 24, 48 y 72 horas



Nota. La viabilidad celular y la correspondiente concentración mínima inhibitoria se determinaron mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en cada concentración. Los datos se expresan como media $\pm$ DE. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Dunnett, comparando cada concentración con el control positivo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Seguidamente, al igual que en las pruebas con los polisacáridos, se realizó una prueba de citotoxicidad en las líneas celulares tumorales SH-SY5Y y LAN-1 utilizando la fracción lipofílica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor*.

En la línea celular SH-SY5Y, la fracción lipofílica de *C. cibarius* indujo una disminución significativa y dependiente de la concentración en el porcentaje de viabilidad celular entre las 24 y 48 horas, siendo la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$ la que produjo la mayor reducción (37.51 %). Tras 72

horas de incubación, se observó un aumento en la viabilidad celular en los grupos tratados con 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$, en comparación con los tiempos previos. Sin embargo, el tratamiento con 300 $\mu\text{g/mL}$ no siguió esta tendencia, manteniendo una reducción significativa en la viabilidad celular (35.23 %, $p < 0.0001$).

Por otro lado, la fracción lipofílica de *P. djamor* también redujo significativamente la viabilidad celular en SH-SY5Y a las 24 horas de incubación. Posteriormente, los valores de viabilidad aumentaron a las 48 horas, aunque a las 72 horas se observó nuevamente una disminución significativa, siendo la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ la que produjo el mayor efecto citotóxico.

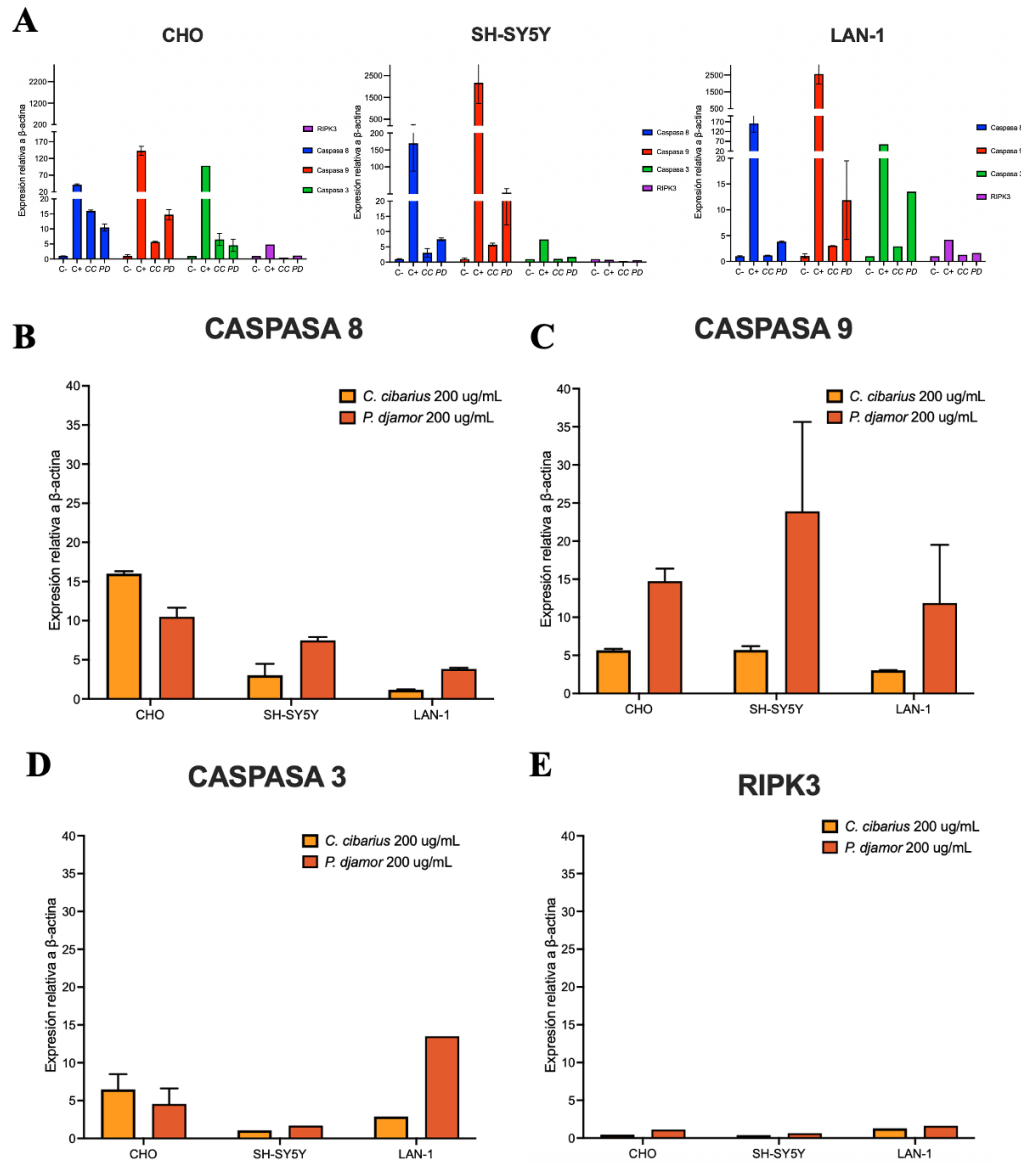
En la línea celular LAN-1, tras la exposición a la fracción lipofílica de *C. cibarius*, el comportamiento de la viabilidad celular varió en función de la concentración y el tiempo de exposición. A las 24 horas no se observaron cambios significativos, excepto a 200 $\mu\text{g/mL}$, donde la viabilidad disminuyó levemente hasta 74.39 %. A las 48 horas, se evidenció una reducción más marcada de la viabilidad celular en las tres concentraciones evaluadas, nuevamente siendo 200 $\mu\text{g/mL}$ la que produjo el mayor descenso. No obstante, después de 72 horas, la viabilidad celular aumentó en los grupos tratados con 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el tratamiento con 300 $\mu\text{g/mL}$ mantuvo una tendencia a la disminución (73.12 %).

Finalmente, tras la aplicación de la fracción lipofílica de *P. djamor* en la línea LAN-1, no se observaron cambios significativos en la viabilidad celular a las 24 horas. Sin embargo, después de 48 horas se registró una disminución significativa dependiente de la concentración, tendencia que se mantuvo hasta las 72 horas, siendo 300 $\mu\text{g/mL}$ la concentración que generó la mayor reducción de viabilidad celular (45.88 %, $p < 0.0001$).

8.4. Determinación del posible mecanismo de muerte celular inducido por las fracciones fúngicas

Al haber determinado el potencial citotóxico de cada una de las fracciones aisladas, se planteó la determinación del mecanismo de muerte celular inducido. Esto se realizó mediante la amplificación de genes asociados a tres principales rutas de muerte celular principales: la ruta apoptótica intrínseca (*caspasa 9*), extrínseca (*caspasa 8*), activación mixta (*caspasa 3*) y necroptosis (*RIPK3*)

Figura 16. Niveles de expresión génica de genes asociados a distintas rutas de muerte celular en las líneas celulares tumorales SH-SY5Y y LAN-1 y en la línea celular control CHO, tratadas con polisacáridos extraídos de *C. cibarius* y *P. djamor* a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ tras 12 y 24 horas de incubación



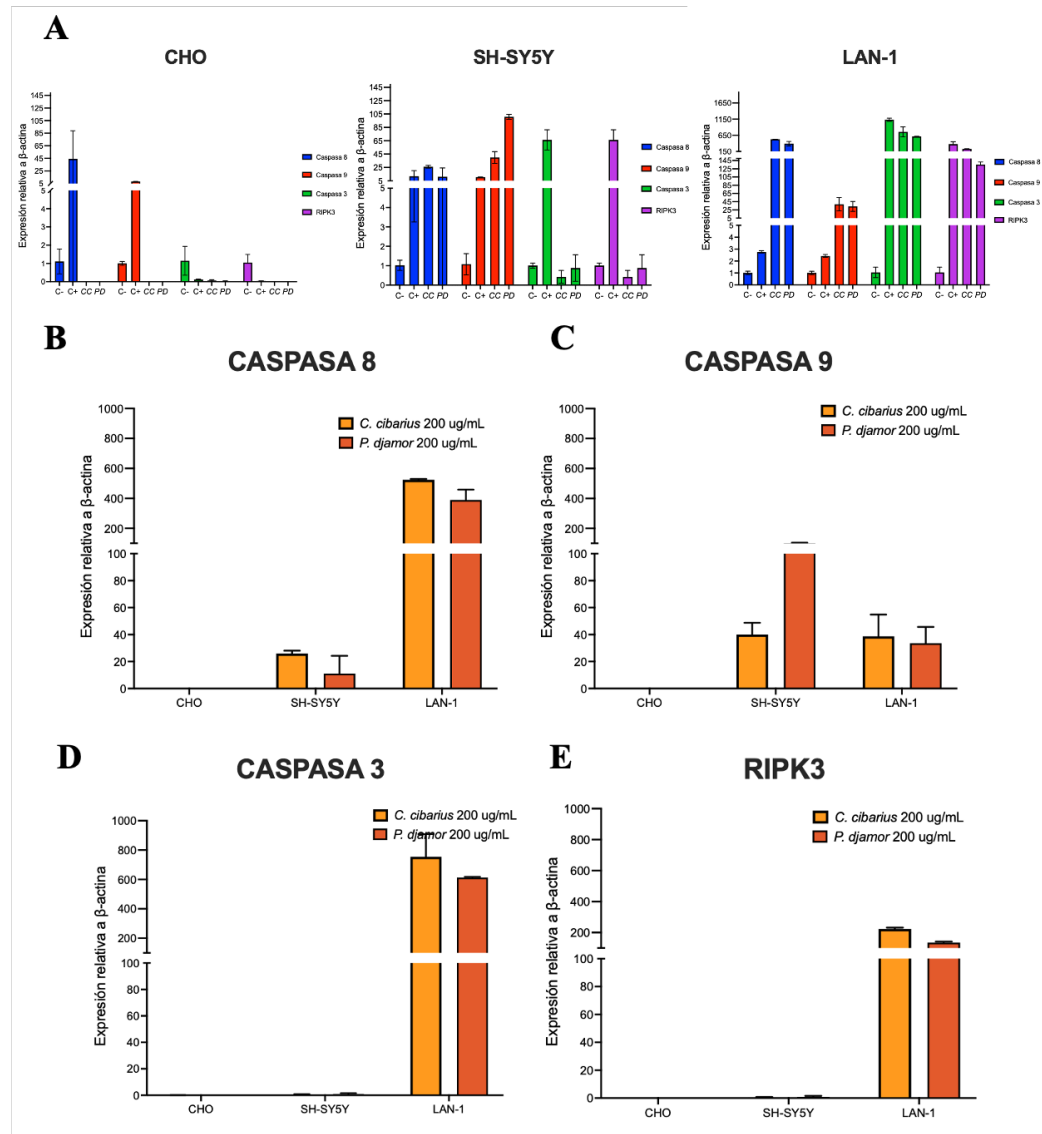
En la línea celular no tumoral CHO, tras la exposición a los polisacáridos extraídos de *C. cibarius*, se observó una marcada amplificación del gen asociado a la *caspasa-8*, aproximadamente 15 veces mayor en comparación con el control negativo. Asimismo, se detectó una ligera amplificación de los genes de *caspasa-9* y *caspasa-3* (5.67 y 6.49 veces, respectivamente). La expresión de *RIPK3* se mantuvo cercana a los niveles basales. Por otro lado, la exposición a los polisacáridos de *P. djamor* indujo una marcada amplificación de los genes de *caspasa-8* y *caspasa-9* (10.48 y 14.74 veces, respectivamente), seguida de un incremento más discreto en la expresión de *caspasa-3* y *RIPK3* (4.57 y 1.12 veces, respectivamente).

En la línea celular SH-SY5Y, la exposición a los polisacáridos de *C. cibarius* produjo un leve aumento en la expresión de los genes de *caspasa-8*, *caspasa-9* y *caspasa-3*, siendo *caspasa-9* la que

presentó la mayor amplificación (5.72 veces respecto al control negativo). No se detectó un aumento perceptible en la expresión de *RIPK3*. En contraste, los polisacáridos de *P. djamor* indujeron una marcada amplificación del gen de *caspasa-9* (23.90 veces), seguida de *caspasa-8* (7.47 veces). La expresión de *caspasa-3* mostró un aumento leve (1.71 veces), mientras que *RIPK3* permaneció cercana a niveles basales.

Finalmente, en la línea celular tumoral LAN-1, los polisacáridos de *C. cibarius* no indujeron cambios relevantes en la expresión de los genes evaluados, observándose únicamente un aumento discreto en *caspasa-9* (3.04 veces). En cambio, la exposición a los polisacáridos de *P. djamor* generó una mayor amplificación de los genes de *caspasa-9* y *caspasa-3* (11.86 y 13.51 veces, respectivamente), seguida de incrementos más moderados en *caspasa-8* (3.83 veces) y *RIPK3* (1.62 veces).

Figura 17. Niveles de expresión génica de genes asociados a distintas rutas de muerte celular en las líneas celulares tumorales SH-SY5Y y LAN-1 y en la línea celular control CHO, tratadas con la fracción etanólica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor* a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ tras 12 y 24 horas de incubación



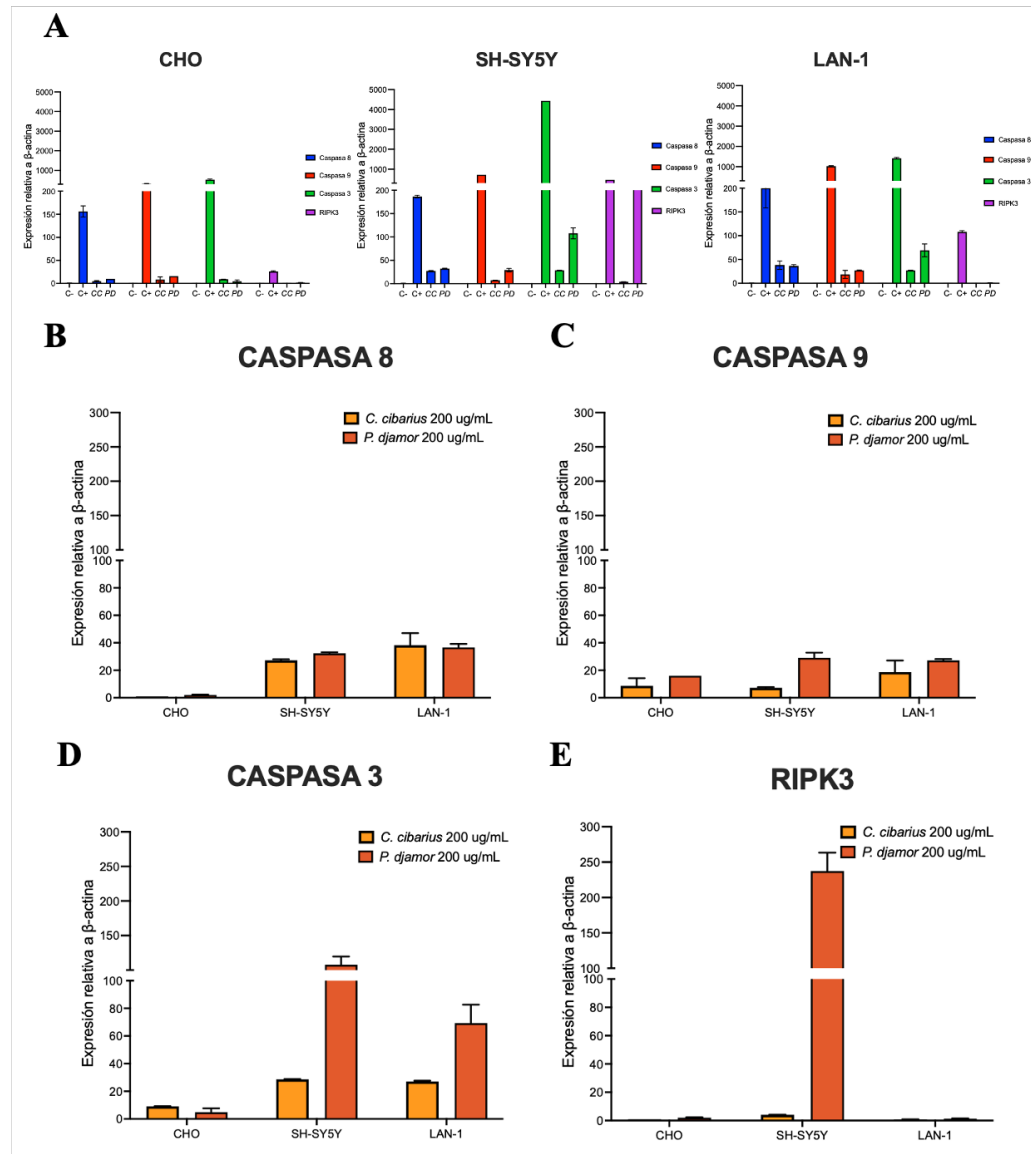
Por otro lado, tras la exposición a la fracción etanólica aislada de ambas especies de hongos se obtuvieron los siguientes resultados.

En la línea celular no tumoral CHO, no se observó una activación evidente de los genes asociados a las rutas de muerte celular evaluadas tras el tratamiento con la fracción etanólica de ninguna de las especies, en comparación con el control negativo.

En la línea celular tumoral SH-SY5Y, el tratamiento con la fracción etanólica de *C. cibarius* indujo una marcada amplificación de los genes asociados a *caspasa 8* y *caspasa 9*, con niveles de expresión relativa de 26 y 39.97, respectivamente. Sin embargo, no se observó una amplificación perceptible de *caspasa 3* ni de *RIPK3* (0.42 para ambas). Por otro lado, tras la exposición a la fracción etanólica extraída de *P. djamor*, se observó una marcada amplificación del gen asociado a *caspasa 9* (100.78), seguida de una ligera amplificación de *caspasa 8* (11.16). Nuevamente, no se observó amplificación detectable de *caspasa 3* ni de *RIPK3*.

Finalmente, en la línea celular tumoral LAN-1 se observaron niveles marcadamente elevados de expresión de genes asociados a rutas de muerte celular tras el tratamiento con la fracción etanólica de ambas especies. En particular, la fracción etanólica de *C. cibarius* indujo una marcada expresión de *caspasa 8* (524.34), *caspasa 3* (753.58) y *RIPK3* (223.49), seguida de una ligera amplificación, en relación con los demás genes, de *caspasa 9* (38.69). De manera similar, la fracción etanólica de *P. djamor* promovió una marcada amplificación de *caspasa 8* (389.69), *caspasa 3* (613.08) y *RIPK3* (135.24), seguida de una amplificación menor de *caspasa 9* (33.63).

Figura 18. Niveles de expresión génica de genes asociados a distintas rutas de muerte celular en las líneas celulares tumorales SY5Y y LAN-1 y en la línea celular control CHO, tratadas con la fracción lipofílica extraída de *C. cibarius* y *P. djamor* a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ tras 12 y 24 horas de incubación



Finalmente, también se evaluó la expresión de genes asociados a distintas rutas de muerte celular tras la exposición a la fracción lipofílica aislada de *C. cibarius* y *P. djamor* en las líneas celulares mencionadas.

En la línea celular no tumoral CHO, el tratamiento con la fracción lipofílica de *C. cibarius* indujo un aumento leve en la expresión de las *caspasas* 9 y 3, con niveles de expresión relativa de 8.64 y 9.10, respectivamente. Además, no se observó una activación marcada de la *caspasa* 8 ni de *RIPK3* en comparación con el control negativo (0.92 para ambos).

Por otro lado, tras la aplicación de la fracción lipofílica de *P. djamor*, se observó una mayor expresión del gen asociado a la *caspasa* 9 (15.98), seguida de un aumento leve en la expresión de la *caspasa* 3 (4.81). De igual manera, no se detectó una activación relevante de la *caspasa* 8 ni de

RIPK3 (1.99 para ambos).

En la línea celular tumoral SH-SY5Y, la exposición a la fracción lipofílica de *C. cibarius* indujo un aumento marcado en la expresión relativa de las *caspasas 8* y *3* (27.23 y 28.60, respectivamente), acompañado de una menor amplificación de la *caspasa 9* (7.26) y de una ligera activación de *RIPK3* (4.10). Por otro lado, el tratamiento con la fracción lipofílica de *P. djamor* generó una activación marcada tanto de *RIPK3* (237.3) como de la *caspasa 3* (107.76). Asimismo, se observó una expresión elevada, aunque menor, de las *caspasas 8* y *9* (32.29 y 29.07, respectivamente).

Finalmente, en la línea celular tumoral LAN-1, la exposición a la fracción lipofílica de *C. cibarius* indujo una expresión elevada de las *caspasas 8* y *3* (38.24 y 27.04, respectivamente), seguida de una menor amplificación de la *caspasa 9* (18.70). No se detectó una activación marcada de *RIPK3* (0.8) en comparación con el control negativo. Por otro lado, el tratamiento con la fracción lipofílica de *P. djamor* generó una activación elevada de los genes asociados a las *caspasas 8*, *9* y *3* (36.60, 27.17 y 69.25, respectivamente), acompañada de una leve expresión de *RIPK3* (1.29).

9.1. Rendimiento de extracción

Los hongos comestibles suponen una potencial fuente de compuestos bioactivos con posible actividad oncológica. Estos se caracterizan por presentar una variedad de metabolitos polares, semipolares y apolares con distintas propiedades y mecanismos de acción. La extracción específica de cada metabolito depende del solvente utilizado y las condiciones de extracción aplicadas. En este caso, se aplicó una extracción por ultrasonido ya que, a diferencia del uso individual de disolventes orgánicos, se han reportado mayores porcentajes de rendimiento para este tipo de extracción. Esto se debe a que las ondas ultrasónicas generadas facilitan la ruptura de la pared fúngica celular, la penetración del disolvente y la consiguiente liberación de los principales metabolitos bioactivos (W. Wang et al., 2022). No obstante, también se ha reportado que la exposición a vibraciones excesivas puede afectar la integridad estructural de macromoléculas como los polisacáridos y alterar su capacidad antioxidante; o desintegrar polifenoles o terpenos afectando su actividad biológica (Shen et al., 2023). Por esta razón, durante el proceso de extracción, se mantuvo una temperatura constante menor a 50°C con el fin de minimizar la degradación térmica de los componentes y se aplicó una potencia neta controlada de 100 W, en lugar de una exposición directa a 400 W, para reducir el impacto mecánico y preservar la integridad estructural. De igual manera, cabe destacar la importancia de estandarizar el protocolo de extracción para cada muestra a analizar y llevar a cabo métodos cromatográficos (HPLC, GC-MS) para separar e identificar compuestos, técnicas espectroscópicas (FTIR, UV-Vis, RMN) para confirmar la estructura y pureza, y análisis microscópico/morfológico (SEM) para ver cambios en la estructura celular (Shen et al., 2023).

En cuanto a los porcentajes de rendimiento obtenidos, se observó que la fracción etanólica presentó los mayores porcentajes de rendimiento para ambas especies (16.56 % para *C. cibarius* y 17.27 % para *P. djamor*, Cuadro 5), lo que sugiere una alta abundancia de metabolitos de naturaleza semipolar. El etanol es un disolvente ampliamente utilizado para la extracción de compuestos debido a su amplio rango de solubilidad como solvente neutro capaz de extraer compuestos polifenólicos, flavonoides y glucoconjugados, lo cual podría explicar el mayor rendimiento observado en esta fracción (J.-E. Lee et al., 2024).

Estudios previos han reportado porcentajes de extracción comparables para metabolitos semipo-

lares en hongos comestibles y medicinales, con valores de polifenoles totales cercanos a 13.69 ± 0.17 mg/g de extracto y flavonoides alrededor de 16.16 ± 0.12 %, lo que indica que los rendimientos obtenidos en este estudio se encuentran dentro del rango esperado para este tipo de matrices biológicas (Hu et al., 2023; Y. Wang et al., 2025).

Seguidamente, la fracción de polisacáridos presentó el segundo mayor porcentaje de rendimiento (9.05 % para *C. cibarius* y 8.49 % para *P. djamor*) demostrando la abundancia de esta macromolécula en las especies fúngicas estudiadas. Estos valores se encuentran dentro del rango de rendimientos previamente reportados para la extracción de polisacáridos utilizando agua destilada como solvente, los cuales varían entre 4.7 % y 20.52 % (M. Wang y Yu, 2022; Aguiló-Aguayo et al., 2017).

Finalmente, la fracción lipofílica presentó los menores porcentajes de rendimiento para ambas especies a comparación de las demás fracciones fúngicas aisladas (0.41 % para *C. cibarius* y 0.88 % para *P. djamor*). Esto se debe a que los hongos comestibles generalmente representan un alimento bajo en calorías con un contenido mínimo de grasa (4-6 %) (Singh et al., 2025).

Asimismo, la similitud en los porcentajes de rendimiento entre *C. cibarius* y *P. djamor* sugiere un perfil global de metabolitos polares, semipolares y apolares comparable entre ambas especies, aunque esto no implica necesariamente una composición química idéntica, sino posibles diferencias en la proporción y naturaleza específica de los compuestos presentes. Estas diferencias podrían influir en la actividad biológica observada posteriormente, particularmente en los ensayos de citotoxicidad y expresión génica.

9.2. Caracterización fitoquímica de las principales fracciones fúngicas aisladas

El perfil fitoquímico de las principales fracciones aisladas de los hongos depende tanto del solvente utilizado, como del método de cultivo empleado. En el caso de la fracción de polisacáridos, su presencia se confirmó mediante la prueba cualitativa y cuantitativa de fenol-ácido sulfúrico, obteniéndose concentraciones de 9.97 y 9.29 mg/mL para *C. cibarius* y *P. djamor*, respectivamente. La abundancia observada en las pruebas colorimétricas respalda la relevancia biológica de estas macromoléculas, las cuales han sido ampliamente asociadas con procesos de señalización celular.

En este contexto, se ha reportado la presencia de polisacáridos con actividad anticancerígena en *C. cibarius*, particularmente polímeros de manano (M. K. Lemieszek et al., 2019), así como polisacáridos extracelulares de *P. djamor* con potencial antitumoral (Borges et al., 2013). Esto destaca la importancia de su extracción y refuerza la hipótesis de su uso como posible metabolito con actividad anticancerígena.

Asimismo, los análisis de FTIR permitieron confirmar la naturaleza de las macromoléculas aisladas debido a la observación de bandas generalmente asociadas a enlaces glucosídicos, configuraciones estructurales y grupos funcionales propios de polisacáridos. No obstante, no se logró llevar a cabo una identificación estructural definitiva dado que el espectro FTIR únicamente permite identificar posibles enlaces químicos o grupos funcionales presentes. Por esta razón, se recomienda llevar a cabo análisis químicos más especializados como HPLC acoplado a masas o RMN (Liu et al., 2021; Hong et al., 2021).

Por otro lado, en la fracción etanólica se evidenció la presencia de carbohidratos mediante la prueba de fenol-ácido sulfúrico, lo que sugiere la posible extracción de polisacáridos de baja polaridad o de compuestos glucosilados solubles en etanol. Asimismo, se obtuvo un contenido promedio de polifenoles de 1.56 ± 0.06 mg de ácido gálico/g de muestra para *C. cibarius* y 2.07 ± 0.07 mg de ácido gálico/g de muestra para *P. djamor*. Para especies del género *Cantharellus*, se han reportado concentraciones de polifenoles totales entre 1.2 y 2.5 mg GAE/g, dependiendo de la especie y del

método de extracción, lo que indica que los valores obtenidos en este estudio se encuentran dentro del rango esperado para este tipo de matrices biológicas (Hernández-Marañón et al., 2023). Por otro lado, se han realizado estudios previos en los que, tras el cultivo de *Pleurotus djamor* sobre una mezcla de bagazo de agave y paja de cebada (1:1), se obtuvo una concentración total de fenoles de 230.27 mg GAE/g, identificándose metabolitos como ácido silícico y pirrol, siendo este último considerado un posible compuesto con actividad anticancerígena. A pesar de que en dicho estudio se reportó un menor rendimiento de extracción ($10.629 \pm 0.04\%$), la concentración de polifenoles fue significativamente mayor que en el presente trabajo (Cruz-Moreno et al., 2023). Esta diferencia puede atribuirse principalmente al medio de cultivo, ya que residuos industriales como el bagazo de agave contienen compuestos orgánicos que favorecen la producción de metabolitos bioactivos. Además, los metabolitos secundarios, como los polifenoles, suelen sintetizarse en mayor proporción bajo condiciones de estrés, debido a su función como mecanismos de defensa del hongo. Sin embargo, al emplear un cultivo casero y aislado, no se generó un ambiente de estrés adecuado, lo que probablemente limitó la producción de polifenoles. Por esta razón, se recomienda el uso de sustratos provenientes de residuos industriales o la aplicación de bioestimulantes para potenciar su biosíntesis.

De igual manera, a partir de los análisis de FTIR se observó la presencia de bandas generalmente asociadas a enlaces C-H alifáticos, enlaces C-O fenólicos y dobles enlaces C=C característicos de compuestos aromáticos. Esto respalda la posible presencia de compuestos polifenólicos. Sin embargo, al tratarse de un extracto crudo y no de metabolitos o fracciones purificadas, estas bandas podrían corresponder a distintos compuestos presentes en la muestra. Por ello, se recomienda complementar estos resultados con técnicas analíticas más avanzadas, como las mencionadas con anterioridad.

No obstante, a pesar de la confirmación de compuestos con capacidad reductora mediante la prueba de Folin-Ciocalteu, se obtuvo un resultado negativo en la prueba de cloruro férrico, lo cual puede atribuirse a la diferencia en la especificidad de ambas metodologías. Mientras que la prueba de Folin-Ciocalteu se basa en una reacción de transferencia de electrones entre el reactivo de Folin y compuestos con capacidad reductora, incluyendo polifenoles, la prueba de cloruro férrico detecta de forma selectiva compuestos con grupos orto- o para-dihidroxifenólicos. En este sentido, polifenoles complejos, especialmente aquellos que carecen de dichos grupos o que se encuentran glicosilados, pueden no generar una respuesta positiva detectable (Platzer et al., 2021). Este resultado se ve reforzado por la prueba de DPPH, ya que la actividad antioxidante observada en los extractos etanólicos confirma la presencia de compuestos con capacidad reductora, coherente con el resultado positivo obtenido en la prueba de Folin-Ciocalteu.

Finalmente, en cuanto a la fracción lipofílica, los resultados obtenidos sugieren una extracción selectiva y eficiente de metabolitos de naturaleza apolar, así como un adecuado aislamiento respecto a compuestos orgánicos polares. Esto se respalda por la ausencia de polisacáridos según las pruebas colorimétricas realizadas, así como por la falta de picos característicos de grupos hidroxilo, tales como la banda ancha intensa comúnmente asociada a polisacáridos o polifenoles, en los espectros FT-IR analizados (Figura 23 E-F).

A partir de las pruebas colorimétricas cualitativas, se evidenció la posible presencia de metabolitos de tipo terpenoide, particularmente triterpenos, debido a la obtención de un resultado positivo en la prueba de Liebermann-Burchard. De manera complementaria, los análisis por FT-IR permitieron inferir diferencias en la composición relativa de los metabolitos lipofílicos entre ambas especies fúngicas a partir de la observación de bandas adicionales en la región del espectro conocida como la huella dactilar. Estos espectros permitieron evidenciar la presencia de compuestos lipofílicos debido a la observación de bandas asociadas a cadenas alifáticas y grupos carbonilo. Sin embargo, al igual que en los análisis anteriores, no se logró determinar la estructura final definitiva de los metabolitos obtenidos.

Asimismo, es importante agregar que la prueba de DPPH demostró el perfil antioxidante de ambos compuestos aislados. Esto refuerza su uso como posible agente citotóxico ya que, generalmente los compuestos lipofílicos antioxidantes permiten proteger a las células del daño oxidativo y la

peroxidación lipídica, lo que reduce la iniciación de mutaciones (Deveci et al., 2024).

No obstante, es importante considerar que los hongos comestibles generalmente presentan un contenido lipídico total inferior al 1 %, lo cual respalda el bajo porcentaje de rendimiento obtenido para la fracción lipofílica en este estudio (0.41 % y 0.88 % para *C. cibarius* y *P. djamor* respectivamente) (Cruz-Moreno et al., 2023).

En conjunto, las pruebas colorimétricas cualitativas y cuantitativas, junto con las técnicas cromatográficas y espectroscópicas, permitieron una caracterización fitoquímica integral de las fracciones aisladas. La concordancia entre los resultados obtenidos mediante distintas metodologías respalda la adecuada separación de metabolitos según su polaridad, proporcionando una base sólida para la interpretación de los ensayos biológicos posteriores.

9.3. Evaluación del potencial citotóxico de las fracciones fúngicas

Los resultados obtenidos mediante el ensayo MTT demuestran que el efecto citotóxico de las fracciones fúngicas no solo depende del tipo de fracción y de la línea celular, sino también de la especie fúngica de origen. En general, *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* presentaron perfiles de citotoxicidad diferenciados, lo que sugiere diferencias en la composición y/o concentración de los metabolitos bioactivos presentes en cada fracción. Esta variabilidad interespecífica es relevante, ya que indica que el potencial biológico de los hongos evaluados no es uniforme y debe analizarse de manera específica para cada especie.

En primer lugar, tras llevar a cabo los ensayos de citotoxicidad en la línea celular no tumoral CHO con los polisacáridos extraídos de *C. cibarius* y *P. djamor*, se obtuvieron resultados variables entre los distintos tiempos y concentraciones evaluadas, por lo que no fue posible determinar una concentración mínima o máxima inhibitoria. Esto podría deberse a que el procedimiento de extracción empleado permitió obtener la fracción total de polisacáridos. Si bien el uso de agua destilada favorece la extracción de compuestos de alta polaridad, la fracción recuperada probablemente incluyó polisacáridos con distinto peso molecular, composición de monosacáridos y conformación estructural.

En diversos estudios se ha descrito que la actividad antitumoral de los polisacáridos puede incrementarse en función de características estructurales como un mayor peso molecular, la presencia de heteropolisacáridos y la existencia de enlaces β -(1 $\rightarrow$ 3) en la cadena principal, con ramificaciones β -(1 $\rightarrow$ 6), entre otros (Ren et al., 2012). Asimismo, se ha reportado que los exopolisacáridos pueden presentar un efecto citotóxico diferente al de los polisacáridos intracelulares debido a variaciones en su estructura y especificidad hacia diferentes líneas celulares (Do et al., 2021).

En este sentido, la heterogeneidad estructural de la fracción obtenida podría explicar la ausencia de un patrón claro dosis-respuesta, dado que los polisacáridos con mayor potencial citotóxico habrían compensado la baja citotoxicidad de otros componentes. De igual manera, la combinación de fracciones con diferente capacidad citotóxica podría estar relacionada con la marcada disminución en la viabilidad celular observada a las 72 horas en el caso de *C. cibarius*.

Por esta razón, sería recomendable realizar un fraccionamiento posterior mediante diálisis y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), con el fin de separar los polisacáridos en función de su estructura y evaluar de manera individual su efecto citotóxico.

Posteriormente, los polisacáridos extraídos fueron aplicados sobre las líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1. En el caso de SH-SY5Y, tras la exposición a los polisacáridos de *C. cibarius* se observó una disminución significativa en la viabilidad celular (<30 %) tras 48 ho-

ras de incubación. Sin embargo, a las 72 horas, la viabilidad aparente aumentó nuevamente. Este comportamiento podría sugerir que, aunque los polisacáridos de *C. cibarius* ejercen un efecto citotóxico temprano, las células serían capaces de activar mecanismos de compensación metabólica o adaptación celular que permiten restaurar parcialmente la actividad metabólica detectada por el ensayo.

Dicho fenómeno es consistente con lo descrito por M. K. Lemieszek et al., [2018], quienes demostraron que las subfracciones individuales de polisacáridos de *C. cibarius*, obtenidas por cromatografía de intercambio iónico, presentan efectos biológicos diferenciados en líneas celulares neuronales: algunas fracciones inducen citotoxicidad, mientras que otras estimulan la actividad metabólica mitocondrial a través del incremento de la actividad de la deshidrogenasa. Considerando que el ensayo MTT evalúa la actividad metabólica mitocondrial, esta compensación metabólica podría explicar el aumento en la señal de viabilidad celular observada a las 72 horas, lo cual no necesariamente refleja una ausencia de muerte celular. Por ello, se consideró relevante también evaluar la expresión de genes asociados a las principales vías de muerte celular.

En contraste, la exposición a los polisacáridos de *P. djamor* indujo un efecto citotóxico más marcado y sostenido, con porcentajes de viabilidad celular tan bajos como 4.3 %, que se mantuvieron incluso a las 72 horas. Estas diferencias entre especies podrían atribuirse a variaciones en la composición y estructura molecular de los polisacáridos. Esto es relevante dado que múltiples estudios han demostrado que la estructura de los polisacáridos influye directamente en su actividad citotóxica, siendo más frecuente observar una mayor potencia biológica en aquellos con bajo grado de ramificación, naturaleza heteropolisacáridica y predominio de enlaces β -glucósidos (Ren et al., [2012]). Si bien la presencia de polisacáridos fue confirmada mediante pruebas colorimétricas y FTIR, la estructura específica de estos compuestos aún no ha sido determinada. Por ello, resultaría pertinente realizar hidrólisis ácida seguida de cromatografía utilizando estándares de monosacáridos, así como análisis por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas, con el fin de caracterizar su estructura y evaluar la relación estructura-actividad biológica.

Además, estudios previos sugieren que los polisacáridos de *C. cibarius* ejercen su efecto antitumoral principalmente a través de la modulación del sistema inmune, por ejemplo mediante la inhibición de la vía NF- κ B, lo que reduce la expresión de genes asociados a supervivencia celular tumoral. En este sentido, su acción anticancerígena podría depender principalmente de mecanismos inmunomoduladores más que de una citotoxicidad directa, lo que podría contribuir a explicar el menor efecto observado sobre la viabilidad celular en comparación con *P. djamor*. En apoyo a esta hipótesis, estudios previos han demostrado que los polisacáridos extraídos de *P. djamor* ejercen un efecto antitumoral directo en otras líneas celulares, como MCF-7 de cáncer de mama, asociado a la sobreexpresión de reguladores clave del ciclo celular y apoptosis, incluyendo *p21* y *p53*. Si bien estos hallazgos no pueden extrapolarse de forma directa al neuroblastoma, sugieren que los polisacáridos de *P. djamor* podrían poseer una mayor capacidad intrínseca para activar rutas de muerte celular dependientes de caspasas (Jedinak y Sliva, [2008]).

Por otro lado, al aplicar los polisacáridos sobre la línea celular LAN-1 se observaron tendencias similares. Los polisacáridos de *C. cibarius* indujeron una citotoxicidad inicial que posteriormente disminuyó, mientras que los de *P. djamor* produjeron una reducción sostenida de la viabilidad celular. Sin embargo, en LAN-1 los porcentajes de viabilidad residual fueron mayores (>40 %) en comparación con SH-SY5Y. Esto podría relacionarse con el hecho de que LAN-1 presenta amplificación del oncogén MYCN, asociado a un fenotipo altamente proliferativo y metabólicamente activo. Dado que la sobreexpresión de MYCN favorece la actividad mitocondrial y la proliferación celular, este perfil podría contribuir a la mayor señal metabólica detectada en LAN-1 tras la exposición a los polisacáridos (Huang et al., [2011]).

Al saber que los polisacáridos ejercían un potencial efecto citotóxico sobre las líneas de neuroblastoma, también se evaluó la actividad de la fracción etanólica de ambos hongos. Sin embargo, cabe destacar que, para esta fracción, no se aislaron componentes individuales, sino que únicamente

se caracterizaron los principales grupos de compuestos presentes.

Inicialmente, al aplicar la fracción etanólica de ambas especies fúngicas sobre la línea celular CHO, se observó una disminución en el porcentaje de viabilidad celular después de 24 y 48 horas de incubación. No obstante, la viabilidad celular volvió a aumentar a las 72 horas, lo cual sugiere que, a pesar de ejercer una citotoxicidad inicial, las células CHO podrían activar mecanismos de adaptación que les permiten recuperarse. De manera similar a lo observado con la fracción de polisacáridos, no se evidenció un comportamiento dosis-respuesta claro que permitiera determinar una concentración mínima o máxima inhibitoria en la línea celular control.

Esto podría deberse a que el etanol, al ser un solvente anfipático, permite la extracción simultánea de distintos metabolitos. Según Vamanu y Sultana, [2014] y Guzmán et al., [2009], en los extractos etanólicos de estas especies o especies relacionadas se han identificado compuestos como fenoles, carotenoides y esteroides. Generalmente, los polifenoles representan una de las fracciones más abundantes y se han asociado con efectos anticancerígenos, razón por la cual fueron los principales compuestos caracterizados mediante ensayos colorimétricos y análisis FT-IR. Sin embargo, debido a la presencia de múltiples componentes, la citotoxicidad observada podría corresponder al efecto aditivo o sinérgico entre ellos. Así, en cada concentración aplicada, los compuestos con mayor potencial citotóxico pudieron compensar el efecto de aquellos con menor actividad, lo cual explicaría la ausencia de una relación clara dosis-respuesta. Por esta razón, se recomienda realizar una separación cromatográfica y posterior análisis por espectrometría de masas con el fin de aislar los compuestos de interés, identificarlos y evaluar su potencial citotóxico individualmente.

Al no observarse una disminución de la viabilidad celular inferior al 80 % en la línea CHO, se evaluó el efecto citotóxico de la fracción etanólica sobre las líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1. En la línea SH-SY5Y, el tratamiento con la fracción etanólica de *C. cibarius* produjo una citotoxicidad significativa inicial (<70 %). Sin embargo, la viabilidad celular aumentó progresivamente tras 48 y 72 horas de incubación, alcanzando valores cercanos a los basales. En contraste, la fracción etanólica de *P. djamor* produjo una disminución significativa y sostenida en la viabilidad celular que se mantuvo incluso a las 72 horas, lo cual sugiere un mayor potencial anticancerígeno en comparación con la fracción de *C. cibarius*.

De manera similar, en la línea celular LAN-1 se observó un comportamiento comparable al descrito en SH-SY5Y. La fracción etanólica de *C. cibarius* produjo una citotoxicidad inicial incluso más marcada que en SH-SY5Y, seguida de una recuperación significativa después de 72 horas de incubación. Por otro lado, la fracción etanólica de *P. djamor* produjo una disminución significativa en la viabilidad celular únicamente tras 72 horas de incubación. No obstante, la magnitud del efecto fue menor que la observada en SH-SY5Y, lo cual podría estar relacionado con el perfil biológico más agresivo de LAN-1.

En conjunto, los resultados sugieren que la fracción etanólica (posiblemente los polifenoles) de *P. djamor*, a pesar de presentar un efecto más tardío, ejerce un mayor y más prolongado potencial citotóxico sobre células de neuroblastoma. Aunque no se han encontrado estudios previos que evalúen específicamente el efecto anticancerígeno de la fracción etanólica de estas especies, se ha descrito que sus extractos etanólicos y metanólicos presentan una marcada actividad antioxidante (Vamanu y Sultana, [2014]; Guzmán et al., [2009]). En neuroblastoma, los compuestos antioxidantes pueden modular la proliferación celular mediante la neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la regulación de vías de señalización asociadas al estrés oxidativo, pudiendo inducir apoptosis o inhibición del crecimiento tumoral (Qi et al., 2022). En concordancia con ello, la fracción etanólica de *P. djamor* demostró una mayor capacidad antioxidante en el ensayo de DPPH en comparación con la fracción de *C. cibarius*, lo cual podría contribuir a explicar su mayor potencial citotóxico observado en las líneas celulares de neuroblastoma.

Finalmente, se evaluó el potencial citotóxico de la fracción lipofílica de ambas especies fúngicas. Al aplicar dicha fracción sobre la línea celular no tumoral CHO, no se observó un efecto citotóxico significativo por parte de ninguna de las fracciones, ya que en ningún caso la viabilidad celular des-

cendió por debajo del 70 %. Sin embargo, no fue posible determinar una concentración inhibitoria mínima o máxima, debido a la ausencia de una tendencia dosis-respuesta clara. Cabe destacar que, debido a la naturaleza lipofílica del formazán, este puede interaccionar con lípidos u otros compuestos hidrofóbicos, modificando su acumulación intracelular y alterando la cinética de la reacción enzimática, lo cual podría explicar la falta de una tendencia definida (Díaz et al., 2007). Por esta razón, sería recomendable complementar estos resultados con otros ensayos de viabilidad celular, como LDH o resazurina.

Posteriormente, la fracción lipofílica fue aplicada sobre las líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1. En la línea SH-SY5Y, la fracción lipofílica de *C. cibarius* indujo un efecto citotóxico significativo en las primeras 48 horas. No obstante, tras 72 horas de incubación, se observó un aumento en la viabilidad celular, con excepción de la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$, en la cual la viabilidad continuó disminuyendo. Esto sugiere que la fracción lipofílica de *C. cibarius* no ejerce un efecto citotóxico sostenido a concentraciones moderadas, observándose un efecto prolongado únicamente a concentraciones elevadas.

De manera similar, en la línea celular LAN-1 se observó un efecto citotóxico inicial seguido de una recuperación parcial de la viabilidad celular. Únicamente la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$ mantuvo una disminución progresiva en la viabilidad, lo cual indica que se requieren concentraciones elevadas para inducir un efecto citotóxico sostenido. En general, las líneas tumorales mostraron una mayor sensibilidad a esta fracción que la línea no tumoral CHO, aunque la ausencia de una tendencia dosis-respuesta clara limita la interpretación biológica de estos hallazgos.

Por otro lado, la fracción lipofílica de *P. djamor* produjo una disminución significativa y sostenida de la viabilidad celular en la línea SH-SY5Y, manteniéndose por debajo del 60 % incluso después de 72 horas de incubación. De igual manera, en la línea LAN-1 se observó un efecto citotóxico prolongado, aunque la disminución en la viabilidad no fue evidente a las 24 horas, sugiriendo que SH-SY5Y presenta una mayor sensibilidad inicial a esta fracción.

El estudio de compuestos lipofílicos de origen fúngico en neuroblastoma continúa siendo limitado. Sin embargo, diversos trabajos han señalado que metabolitos lipofílicos, como ácidos grasos derivados de hongos, pueden ejercer efectos anticancerígenos mediante múltiples mecanismos. Estos compuestos, debido a su carácter anfifílico, pueden integrarse en la membrana celular, alterar su fluidez, modular señales intracelulares, inducir detención del ciclo celular e incluso activar la apoptosis a través de la regulación de ciclinas y caspasas (So et al., 2015). Aunque los mecanismos específicos de las fracciones evaluadas en este estudio aún deben investigarse, los resultados obtenidos respaldan su potencial efecto citotóxico sobre células de neuroblastoma.

A partir de los ensayos citotóxicos realizados, se observó que las fracciones fúngicas de ambas especies ejercen un efecto citotóxico sobre las líneas celulares de neuroblastoma en comparación con la línea celular no tumoral CHO, lo cual respalda su potencial para ser evaluadas en ensayos posteriores. En términos generales, las fracciones fúngicas extraídas de *C. cibarius* mostraron un efecto citotóxico más prolongado en comparación con las fracciones de *P. djamor*, lo que abre la posibilidad de futuras líneas de investigación orientadas a la evaluación de esquemas de dosis repetidas. En este contexto, la fracción etanólica destacó como la más efectiva, al presentar un efecto citotóxico gradual y sostenido en el tiempo. Adicionalmente, se observó que la línea celular SH-SY5Y fue generalmente más susceptible que la línea LAN-1, lo cual podría atribuirse al perfil agresivo de la línea LAN-1 provocado por la amplificación del gen MYCN.

9.4. Determinación del posible mecanismo de muerte celular inducido por las fracciones fúngicas

Al demostrarse que las fracciones fúngicas ejercían un efecto citotóxico sobre las líneas celulares tumorales, con una citotoxicidad limitada en células no tumorales, se buscó determinar los mecanismos de muerte celular inducidos por dichas fracciones. En primer lugar, en el caso de la fracción de polisacáridos, tras su aplicación sobre la línea celular no tumoral CHO se observó la activación de genes asociados a caspasas iniciadoras de la apoptosis extrínseca (*caspasa-8*) e intrínseca (*caspasa-9*), así como de la caspasa ejecutora (*caspasa-3*). Este patrón sugiere que, a la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$, los polisacáridos pueden activar rutas de señalización asociadas a muerte celular incluso en células no tumorales; sin embargo, dicha activación no fue suficiente para inducir una pérdida significativa de la viabilidad metabólica.

En efecto, los ensayos de MTT mostraron que, a esta concentración, la viabilidad celular en CHO se mantuvo por encima del 70 %, lo que indica que, a pesar de la activación transcripcional de genes proapoptóticos, la integridad metabólica de las células no se vio gravemente comprometida. Este fenómeno podría explicarse por al menos dos mecanismos complementarios. Por un lado, los polisacáridos podrían haber inducido una señal inicial de estrés celular capaz de activar transitoriamente la expresión de caspasas, la cual fue posteriormente compensada por mecanismos de supervivencia celular. En este contexto, se ha descrito que la exposición transitoria a estímulos proapoptóticos puede generar una activación parcial de la *caspasa-3*, suficiente para inducir cambios morfológicos asociados a apoptosis sin comprometer de manera irreversible la viabilidad celular. Este proceso, conocido como anastasis, permite a las células revertir el programa apoptótico tras la eliminación del estímulo (Sun et al., 2017), lo que podría explicar la activación de caspasas observada sin una disminución marcada de la actividad metabólica.

Por otro lado, se ha demostrado que las caspasas, particularmente la *caspasa-3*, también pueden cumplir funciones no apoptóticas, incluyendo la regulación de la proliferación celular mediante la escisión proteolítica de proteínas clave como retinoblastoma (Rb) y p21. Asimismo, la activación de la *caspasa-8* puede desempeñar un papel regulador al inhibir la activación aberrante de la necroptosis, dado su efecto inhibitorio sobre *RIPK3*, lo cual es consistente con la ausencia de una amplificación significativa de este gen en las células CHO evaluadas (Abdelghany et al., 2024).

En este contexto, sería relevante evaluar la expresión de genes asociados a recuperación celular y reprogramación fenotípica, como *TGF β* y *Snail*, tras estímulos proapoptóticos subletales. Adicionalmente, el análisis de genes de la familia *Bcl-2* permitiría determinar si la integridad mitocondrial se vio afectada, mientras que ensayos de citometría de flujo utilizando anexina V/PI contribuirían a confirmar la inducción de apoptosis y a establecer si las células fueron capaces de recuperarse tras la exposición a los polisacáridos.

Por otro lado, en las líneas celulares tumorales se observó la activación tanto de la *caspasa-8* como de la *caspasa-9*, siendo esta última la que mostró una amplificación dominante. La apoptosis en células tumorales suele involucrar la activación coordinada de múltiples componentes de la maquinaria apoptótica; sin embargo, el hecho de que la expresión de *caspasa-9* fuera aproximadamente dos veces mayor que la de *caspasa-8* en el caso de *C. cibarius*, y entre dos y dieciséis veces mayor en el caso de *P. djamor*, sugiere que la vía predominante de muerte celular inducida corresponde a la apoptosis intrínseca.

Este mecanismo ha sido previamente descrito para polisacáridos fúngicos en distintos modelos tumorales. De manera general, se ha propuesto que estos compuestos son reconocidos por receptores de señalización como dectina-1 o TLR4, lo que conduce a la activación de vías intracelulares como MAPK o PI3K/Akt. Estas rutas pueden modular la expresión de proteínas de la familia Bcl-2, favoreciendo el aumento de proteínas proapoptóticas como Bax y Bak y la disminución de proteínas antiapoptóticas como Bcl-2. Este desequilibrio altera la permeabilidad de la membrana mitocondrial,

promoviendo la liberación de citocromo c y la subsecuente activación de la *caspasa-9* (M. Wang y Yu, 2022).

En la apoptosis intrínseca, la *caspasa-9* actúa como iniciadora del proceso; sin embargo, la activación de la *caspasa-3* representa el punto de no retorno al ejecutar la fase final de la muerte celular (Bertheloot et al., 2021). En este estudio, se observó una mayor activación de la *caspasa-3* en las líneas celulares expuestas a los polisacáridos de *P. djamor* en comparación con *C. cibarius*. Este hallazgo es consistente con los resultados de los ensayos de MTT, dado que las células tratadas con polisacáridos de *C. cibarius* mostraron recuperación metabólica a las 72 horas, mientras que aquellas expuestas a *P. djamor* no evidenciaron dicha recuperación, lo que sugiere una activación más efectiva y sostenida de la apoptosis intrínseca.

Por otro lado, tras la aplicación de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular no tumoral CHO, no se observó una activación evidente de los genes asociados a rutas de muerte celular. Esto sugiere que dicha fracción no fue capaz de inducir apoptosis o necroptosis en células no tumorales, lo cual coincide con lo observado en los ensayos de MTT, donde se registró una viabilidad celular promedio superior al 80 % incluso tras 72 horas de incubación.

Al aplicar la fracción etanólica de *C. cibarius* sobre la línea celular SH-SY5Y, se observó una activación complementaria de las *caspasas 8* y *9*, lo cual sugiere la participación tanto de la vía extrínseca como intrínseca de la apoptosis. Como se mencionó anteriormente, la apoptosis en células tumorales suele involucrar la activación coordinada de múltiples componentes de la maquinaria apoptótica, lo que podría explicar la activación de ambas rutas. No obstante, dado que no se aislaron componentes individuales de dicha fracción, también podría tratarse de un efecto sinérgico entre distintos metabolitos etanólicos capaces de activar rutas complementarias de muerte celular.

Tras la aplicación de la fracción etanólica de *P. djamor* sobre la misma línea celular, se observó una activación predominante de la vía apoptótica intrínseca, evidenciada por una amplificación considerablemente mayor de la *caspasa 9* en comparación con la *caspasa 8*, lo cual sugiere una activación preferencial de dicha vía.

Una característica relevante de los polifenoles que potencia su posible efecto anticancerígeno es su capacidad de modular el balance redox celular. Estos compuestos pueden actuar tanto como anti-oxidantes, eliminando especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante la donación de electrones, como prooxidantes en células tumorales, incrementando los niveles de ROS hasta un umbral incompatible con la supervivencia celular. El aumento del estrés oxidativo puede inducir un incremento en la relación *Bax/Bcl-2*, favoreciendo la expresión de proteínas proapoptóticas y la activación de caspasas asociadas a la vía intrínseca, como la *caspasa 9* y posteriormente la *caspasa 3* (Kafoud et al., 2023; D'Archivio et al., 2008). En este sentido, dado que la fracción etanólica de *P. djamor* mostró una mayor capacidad antioxidante según el ensayo de DPPH, esto podría contribuir a explicar la activación más marcada de la *caspasa 9* en comparación con la fracción de *C. cibarius*, así como su mayor potencial citotóxico observado en los ensayos de MTT.

Sin embargo, en ninguno de los dos tratamientos en SH-SY5Y se observó una activación significativa de la *caspasa 3*, lo cual podría indicar que las células se encontraban en fases tempranas del proceso apoptótico, en las que la señal aún no ha sido amplificada hacia las caspasas ejecutoras, o bien que se esté produciendo una activación parcial o transitoria de la cascada apoptótica.

En contraste, tras la aplicación de las fracciones etanólicas de ambas especies fúngicas sobre la línea celular LAN-1, se observó una amplificación de los genes asociados a *caspasa 8*, *caspasa 3* y *RIPK3*, lo cual sugiere la activación simultánea de rutas apoptóticas y necroptóticas. Si bien la *caspasa 8* suele actuar como un inhibidor de la necroptosis mediante la escisión de *RIPK1* o *RIPK3*, en este caso se detectó una elevada expresión de ambos genes. Recientemente, se ha descrito que la muerte celular puede involucrar la activación coordinada de múltiples rutas a través de la formación de complejos multiproteicos como el PANoptosoma, en los cuales pueden coexistir componentes de la apoptosis y la necroptosis. Este tipo de mecanismos ha sido reportado en modelos tumorales

como gliomas (Gao et al., 2024). No obstante, dado que se trata de rutas complejas y altamente reguladas, se recomienda realizar análisis adicionales, como estudios transcriptómicos o la evaluación de múltiples marcadores específicos de cada vía, para confirmar con mayor precisión el mecanismo de muerte celular inducido.

Además, cabe destacar que en esta línea celular sí se observó una activación significativa de la *caspasa 3*, lo cual indica que, a diferencia de lo observado en la línea celular SH-SY5Y, en este caso la cascada apoptótica sí progresó hasta la fase ejecutora. Esto sugiere que en la línea celular LAN-1 la señal de muerte celular fue amplificada de manera más eficiente tras la exposición a la fracción etanólica de ambas especies fúngicas.

Este hallazgo contrasta parcialmente con lo observado en los ensayos de MTT, donde la línea LAN-1 mostró una menor disminución en la viabilidad celular en comparación con SH-SY5Y, lo que podría indicar diferencias en la dinámica temporal o metabólica de la respuesta celular. Una posible explicación de esta mayor activación de rutas de muerte celular a nivel molecular podría estar relacionada con las características genéticas propias de la línea LAN-1, la cual se caracteriza por la amplificación del oncogén *MYCN*.

La amplificación de *MYCN* se ha asociado con una reprogramación metabólica que favorece vías como la glutaminólisis y la fosforilación oxidativa (OXPHOS), lo que conlleva a un incremento sostenido en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). En consecuencia, las células con *MYCN* amplificado suelen mantenerse en un estado de estrés oxidativo basal elevado (Epp et al., 2025). Bajo estas condiciones, un incremento adicional de ROS inducido por compuestos bioactivos, como los polifenoles presentes en la fracción etanólica, podría superar la capacidad antioxidante celular, desencadenando daño oxidativo y promoviendo la activación de rutas de muerte celular.

Finalmente, tras la exposición a la fracción lipofílica de ambas especies fúngicas sobre la línea celular no tumoral CHO, se observó una ligera activación de las *caspasas 9* y *3*, lo cual sugiere la posible activación de la ruta intrínseca de la apoptosis. Como se evidenció en la prueba de DPPH, las fracciones lipofílicas aisladas presentan actividad antioxidante. Sin embargo, en ciertos contextos celulares, este tipo de compuestos puede generar un desbalance redox o incluso un estado de estrés reductivo, capaz de activar señales proapoptóticas, como se observó previamente en la fracción etanólica con actividad antioxidante. No obstante, dado que no se evidenció una reducción de la viabilidad celular por debajo del 70 % en el ensayo de MTT, estos resultados podrían indicar la activación de señales tempranas de alerta celular que involucran la expresión de caspasas, sin comprometer de manera significativa la integridad metabólica de las células. Para confirmar si estas señales conducen a muerte celular o a mecanismos de adaptación, sería necesario realizar ensayos adicionales, como citometría de flujo o análisis transcriptómicos.

Tras la aplicación de la fracción lipofílica de *C. cibarius* sobre la línea celular SH-SY5Y, se observó una activación predominante de las *caspasas 8* y *3*, lo cual es consistente con una posible activación de la vía extrínseca de la apoptosis. Generalmente, la exposición a compuestos lipofílicos antioxidantes puede provocar alteraciones en la membrana celular y generar estrés celular, lo que podría explicar la activación simultánea, aunque leve, de la *caspasa 9*. Adicionalmente, la presencia de metabolitos lipofílicos puede inducir lipotoxicidad, provocando estrés del retículo endoplásmico. Este tipo de estrés ha sido asociado con la inducción de la proteína C/EBP homologous protein (CHOP), la cual puede translocarse al núcleo y aumentar la expresión de receptores de muerte como DR5, Fas, TNFR1 y CD40 (Rojas et al., 2014). El aumento en la expresión de estos receptores podría haber favorecido la activación predominante de la vía extrínseca de la apoptosis.

Por otro lado, tras la aplicación de la fracción lipofílica de *P. djamor* sobre la misma línea celular, se observó una activación marcadamente elevada del gen asociado a *RIPK3*, alcanzando valores hasta 200 veces mayores que el control negativo, lo cual sugiere una posible activación de la ruta de la necroptosis. Si bien esta vía no suele ser la ruta predominante de muerte celular tras la exposición a ácidos grasos, se ha reportado su activación por otros compuestos lipofílicos, como terpenoides. La activación diferencial de rutas de muerte celular entre especies fúngicas podría estar relacionada

con diferencias en la composición química de las fracciones, lo cual es consistente con los análisis de FTIR y el resultado positivo en la prueba de Liebermann–Burchard, indicativo de la presencia de terpenoides. No obstante, para confirmar la identidad del metabolito responsable y la vía de muerte celular activada, sería necesario realizar análisis de HPLC-MS y estudios transcriptómicos más amplios.

Finalmente, tras la aplicación de la fracción lipofílica de ambas especies fúngicas sobre la línea celular LAN-1, se observó la activación de los genes asociados a las *caspasas* 8, 9 y 3, siendo la activación de la *caspasa* 8 ligeramente mayor (aproximadamente 9–20 veces superior) en comparación con la *caspasa* 9, lo cual sugiere una posible activación predominante de la vía extrínseca de la apoptosis. En este caso, podrían estar involucrados mecanismos similares a los observados en la línea celular SH-SY5Y, relacionados con la regulación de receptores de muerte. Sin embargo, este tipo de respuesta depende del tipo de ácido graso, del tejido y del contexto celular específico. Por ello, se recomienda realizar un análisis más exhaustivo de las rutas de muerte celular involucradas mediante estudios transcriptómicos y de señalización molecular.

En conjunto, estos resultados indican que *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor* constituyen una fuente potencial de metabolitos polares, semipolares y apolares con actividad citotóxica y proapoptótica. En particular, la fracción etanólica de ambas especies fúngicas se perfila como la fracción con mayor potencial anticancerígeno, debido a su baja citotoxicidad frente a la línea celular no tumoral y a su capacidad de activar rutas de muerte celular en líneas celulares de neuroblastoma. Específicamente, se evidenció una mayor susceptibilidad de la línea celular LAN-1 frente a esta fracción, lo cual sugiere una posible relación con sus características moleculares particulares. Por lo anterior, se recomienda llevar a cabo análisis químicos específicos, como HPLC-MS, RMN y técnicas cromatográficas avanzadas, con el fin de aislar e identificar los metabolitos bioactivos responsables de dicho efecto. Asimismo, se propone complementar estos hallazgos mediante análisis de citometría de flujo, estudios transcriptómicos y/o proteómicos que permitan dilucidar con mayor precisión los mecanismos moleculares involucrados en su actividad antitumoral.

Conclusiones

La extracción etanólica al 50 % resultó ser el método más eficiente de extracción, obteniéndose los mayores porcentajes de rendimiento en comparación con los demás tipos de extracción (16.56 % para *C. cibarius* y 17.27 % para *P. djamor*), seguida de la extracción con agua destilada (9.05 % para *C. cibarius* y 8.49 % para *P. djamor*) y de la extracción con éter de petróleo (0.41 % para *C. cibarius* y 0.88 % para *P. djamor*). Estos resultados pueden atribuirse al amplio rango de solubilidad del etanol, lo cual evidencia la prevalencia de metabolitos de naturaleza semipolar en ambos extractos fúngicos.

A partir de las pruebas colorimétricas cualitativas se demostró la presencia de polisacáridos, polifenoles y compuestos glicosilados en las fracciones acuosa y etanólica, así como de metabolitos de tipo terpenoide o ácidos grasos en la fracción lipofílica. De igual manera, las pruebas cuantitativas permitieron obtener concentraciones de polisacáridos (9.97 mg/mL para *C. cibarius* y 9.29 mg/mL para *P. djamor*) y de polifenoles (1.56 mg de ácido gálico/g de muestra para *C. cibarius*) comparables con las previamente reportadas en la literatura, lo cual respalda la eficiencia del método de extracción aplicado. No obstante, en el caso de la fracción lipofílica, debido a que se desconocía el perfil químico del metabolito lipofílico aislado, no fue posible realizar su cuantificación.

Los análisis de FTIR respaldaron la posible extracción de polisacáridos, polifenoles o compuestos glicosilados y compuestos lipofílicos, como ácidos grasos saturados y no saturados, en ambos extractos fúngicos, a partir de la identificación de enlaces y grupos funcionales característicos de estos metabolitos.

Las pruebas de citotoxicidad mediante MTT permitieron determinar la baja citotoxicidad de las fracciones fúngicas frente a la línea celular no tumoral CHO, ya que en ningún caso se observó una reducción de la viabilidad celular por debajo del 70 %, lo cual sugiere un perfil de seguridad adecuado de las fracciones aisladas.

En contraste, las pruebas de citotoxicidad realizadas sobre las líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1 demostraron que, en general, las fracciones extraídas de *P. djamor* ejercieron un efecto más significativo y sostenido en comparación con las fracciones de *C. cibarius*, evidenciado por una disminución progresiva de la viabilidad celular en función del tiempo de incubación. Asimismo, la línea celular SH-SY5Y mostró una mayor susceptibilidad al efecto citotóxico de las fracciones fúngicas, particularmente frente a la fracción etanólica, la cual presentó una disminución significativa y prolongada de la viabilidad celular.

Los resultados de qPCR indicaron que la activación de las rutas de muerte celular depende tanto del tipo de fracción aislada como de la línea celular evaluada. En la línea celular no tumoral CHO, la exposición a las fracciones acuosa y lipofílica indujo la activación de genes asociados a rutas de muerte celular, lo cual podría reflejar la activación de señales de estrés celular sin un impacto metabólico significativo, mientras que la fracción etanólica no indujo dicha activación. En la línea celular SH-SY5Y, la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* promovió la activación tanto de la vía apoptótica intrínseca como extrínseca, con predominio de la vía intrínseca. Por otra parte, en la línea celular LAN-1 se observó la activación simultánea de la apoptosis extrínseca y la necroptosis tras la exposición a ambas fracciones.

En conjunto, se concluye que la fracción etanólica constituye la fracción fúngica con mayor potencial citotóxico y proapoptótico, al inducir una disminución significativa de la viabilidad celular y la activación de genes asociados a rutas de muerte celular con mayor especificidad sobre líneas tumorales, lo que resalta su relevancia como una fuente prometedora de compuestos bioactivos con posible aplicación anticancerígena.

El presente estudio permitió obtener un primer acercamiento al potencial anticancerígeno de las principales fracciones bioactivas de los hongos *Cantharellus cibarius* y *Pleurotus djamor*; sin embargo, aún existe un amplio campo de exploración en relación con los metabolitos específicos responsables de la actividad observada y los mecanismos de acción involucrados. Con el fin de identificar el o los compuestos bioactivos responsables de la capacidad citotóxica y proapoptótica evidenciada, se recomienda la aplicación de técnicas avanzadas de separación y purificación química, tales como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases (GC) y sistemas acoplados a espectrometría de masas (HPLC-MS, GC-MS), así como técnicas de caracterización estructural como resonancia magnética nuclear (RMN) y cristalografía de rayos X.

De igual manera, para determinar con mayor precisión los mecanismos de acción de los compuestos aislados, se recomienda ampliar el análisis de las rutas de muerte celular evaluadas, considerando vías alternas como la piroptosis o la necrosis regulada. Asimismo, se sugiere la implementación de estudios de transcriptómica o análisis globales de expresión génica, que permitan identificar de manera integral las principales vías celulares alteradas tras la exposición a las fracciones fúngicas. En particular, se recomienda prestar especial atención a la fracción etanólica, debido a su mayor potencial anticancerígeno y a su selectividad frente a líneas celulares tumorales.

- Abdelghany, L., Sillapachaiyaporn, C., & Zhivotovsky, B. (2024). The concealed side of caspases: beyond a killer of cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81. <https://doi.org/10.1007/s00018-024-05495-7>
- Aguiló-Aguayo, I., Walton, J., Viñas, I., & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from mushroom by-products. *LWT*, 77, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.043>
- Alfaro, T., Martinez-Folgar, K., Stern, D., Wilches-Mogollon, M. A., Muñoz, M. P., Quick, H., Alazraqui, M., Ramirez-Zea, M., Miranda, J. J., Lazo, M., Caiaffa, W. T., Roux, A. V. D., & Bilal, U. (2025). Variability and social patterning of cancer mortality in 343 Latin American cities: an ecological study. *The Lancet Global Health*, 13, 268-276. [https://doi.org/10.1016/s2214-109x\(24\)00446-7](https://doi.org/10.1016/s2214-109x(24)00446-7)
- Aris, M. (2009). Origen del melanocito normal y maligno. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 43, 333-340. Consultado el 22 de octubre de 2025, desde <https://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v43n3/v43n3a07.pdf>
- Arnoldo, W., Espinoza, B., Castañón, C., Luis, J., & Herrera, H. (2019). Clima de Guatemala, tendencias observadas e índices de cambio climático. En G. E. U. UVG (Ed.). Sistema Guatemalteco de Ciencias del Cambio Climático. <https://sgccc.org.gt/wp-content/uploads/2019/05/2.-1erRepCCGuaCap2.pdf>
- Balde, E. S., Andolfi, A., Bruyère, C., Cimmino, A., Lamoral-Theys, D., Vurro, M., Damme, M. V., Altomare, C., Mathieu, V., Kiss, R., & Evidente, A. (2010). Investigations of Fungal Secondary Metabolites with Potential Anticancer Activity. *Journal of Natural Products*, 73, 969-971. <https://doi.org/10.1021/np900731p>
- Barnum, K. J., & O'Connell, M. J. (2014). Cell Cycle Regulation by Checkpoints. *Methods in Molecular Biology*, 1170, 29-40. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0888-2_2
- Bertheloot, D., Latz, E., & Franklin, B. S. (2021). Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cellular Molecular Immunology*, 18, 1106-1121. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00630-3>

- Bhoopathi, P., Mannangatti, P., Emdad, L., Das, S. K., & Fisher, P. B. (2021). The quest to develop an effective therapy for neuroblastoma. *Journal of cellular physiology*, 236, 7775-7791. <https://doi.org/10.1002/jcp.30384>
- Bielenberg, D. R., & Zetter, B. R. (2015). The Contribution of Angiogenesis to the Process of Metastasis. *The Cancer Journal*, 21, 267-273. <https://doi.org/10.1097/ppo.0000000000000138>
- Blagodatski, A., Yatsunskaya, M., Mikhailova, V., Tiasto, V., Kagansky, A., & Katanaev, V. L. (2018). Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy. *Oncotarget*, 9, 29259-29274. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25660>
- Borges, G. M., De Barba, F. F. M., Schiebelbein, A. P., Pereira, B. P., Chaves, M. B., Silveira, M. L. L., Pinho, M. S. L., Furlan, S. A., & Wisbeck, E. (2013). Extracellular polysaccharide production by a strain of *Pleurotus djamor* isolated in the south of Brazil and antitumor activity on Sarcoma 180. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 1059-1065. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014005000019>
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., & Flores, R. (2003). Contribución Al Conocimiento De Los Hongos Comestibles De Guatemala. *Revista Científica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 1. <https://doi.org/https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.EdicionEspecial2003.232>
- Brandalise, F., Priori, E. C., Giammello, F., Venuti, M., Ratto, D., Goppa, L., Locatelli, C. A., Savino, E., Roda, E., & Rossi, P. (2025). *Hericium erinaceus* extracts promote neuronal differentiation and excitability through nootropic metabolite activity. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 188, 118204. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118204>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74, 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, 21, 1142-1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-23-0411>
- Chemat, F., & Cravotto, G. (2013). *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4830-3>
- Chen, X., & Xu, B. (2024). Insights into Chemical Components, Health-promoting Effects, and Processing Impact of Golden Chanterelle Mushroom *Cantharellus cibarius*. *Food function*, 15. <https://doi.org/10.1039/d4fo00891j>
- Couanet, D., & Valteau-Couanet, D. (2011). Neuroblastoma. *EMC - Pédiatrie*, 42, 1-15. [https://doi.org/10.1016/S1245-1789\(07\)70261-5](https://doi.org/10.1016/S1245-1789(07)70261-5)
- Cruz-Moreno, B. A., Angélica, A., García-Trejo, J. F., Pérez-García, S. A., & Gutiérrez-Antonio, C. (2023). Identification of Secondary Metabolites of Interest in *Pleurotus djamor* Using Agave tequilana Bagasse. *Molecules*, 28, 557-557. <https://doi.org/10.3390/molecules28020557>
- Curry, R. N., & Glasgow, S. M. (2021). The Role of Neurodevelopmental Pathways in Brain Tumors. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.659055>
- Dakal, T. C., Dhabhai, B., Pant, A., Moar, K., Chaudhary, K., Yadav, V., Ranga, V., Sharma, N. K., Kumar, A., Maurya, P. K., Maciaczyk, J., Schmidt-Wolf, I. G. H., & Sharma, A. (2024).

- Oncogenes and tumor suppressor genes: functions and roles in cancers. *MedComm*, 5, e582. <https://doi.org/10.1002/mco2.582>
- D'Archivio, M., Santangelo, C., Scazzocchio, B., Vari, R., Filesi, C., Masella, R., & Giovannini, C. (2008). Modulatory Effects of Polyphenols on Apoptosis Induction: Relevance for Cancer Prevention. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 213-228. <https://doi.org/10.3390/ijms9030213>
- de Biodiversidad de Guatemala, P. (2025). Biodiversidad de Guatemala. *Portal de Biodiversidad de Guatemala. Digitalización Y Manejo de Colecciones Biológicas*. <https://biodiversidad.gt/portal/checklists/checklist.php?clid=8&pid=3>
- Deveci, E., Tel-Çayan, G., Çayan, F., Yılmaz Altınok, B., & Aktaş, S. (2024). Characterization of Polysaccharide Extracts of Four Edible Mushrooms and Determination of In Vitro Anti-oxidant, Enzyme Inhibition and Anticancer Activities. *ACS Omega*, 9, 25887-25901. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00322>
- Díaz, G., Melis, M., Musin, A., Piludu, M., Piras, M., & Falchi, A. M. (2007). Localization of MTT formazan in lipid droplets. An alternative hypothesis about the nature of formazan granules and aggregates. *European journal of histochemistry : EJH*, 51, 213-218. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17921117/>
- Do, T. T. H., Lai, T. N. B., Stephenson, S. L., & Tran, H. T. M. (2021). Cytotoxicity activities and chemical characteristics of exopolysaccharides and intracellular polysaccharides of *Physarum polycephalum* microplasmodia. *BMC Biotechnology*, 21. <https://doi.org/10.1186/s12896-021-00688-5>
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Dzurendova, S., Zimmermann, B., Kohler, A., Tafintseva, V., Slany, O., Čertík, M., & Shapaval, V. (2020). Microcultivation and FTIR spectroscopy-based screening revealed a nutrient-induced co-production of high-value metabolites in oleaginous *Mucoromycota* fungi. *PLoS ONE*, 15, e0234870-e0234870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234870>
- Elnahas, M. O., Elkhateeb, W. A., & Daba, G. M. (2024). Nutritive profile, pharmaceutical potentials, and structural analysis of multifunctional bioactive fungal polysaccharides—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266, 130893. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130893>
- Epp, S., Egan, D., Poon, E., Aziz, A., Wynne, K., Chesler, L., Halasz, M., & Kolch, W. (2025). Oxphos targeting of MYCN-amplified neuroblastoma. *Frontiers in Oncology*, 15, 1613751-1613751. <https://doi.org/10.3389/fonc.2025.1613751>
- Esteban-Villarrubia, J., Soto-Castillo, J. J., Pozas, J., San Román-Gil, M., Orejana-Martín, I., Torres-Jiménez, J., Carrato, A., Alonso-Gordoa, T., & Molina-Cerrillo, J. (2020). Tyrosine Kinase Receptors in Oncology. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 8529. <https://doi.org/10.3390/ijms21228529>
- Evidente, A. (2024). Advances on anticancer fungal metabolites: sources, chemical and biological activities in the last decade (2012–2023). *Natural products and bioprospecting*, 14. <https://doi.org/10.1007/s13659-024-00452-0>
- Flood, D., Chary, A., Austad, K., Coj, M., Lopez, W., & Rohloff, P. (2018). Patient Navigation and Access to Cancer Care in Guatemala. *Journal of Global Oncology*, 4, 1-3. <https://doi.org/10.1200/jgo.18.00027>

- Flores, R., Ché, G., Garcia, J., Maldonado, M., Bran, M., Morales, O., & Cáceres, R. (2008). Cantharellus y Craterellus En Guatemala: Diversidad y Análisis Microscópico De Siete Especies Representativas En El País. *Revista científica*, 37-43. <https://doi.org/10.54495/rev.cientifica.edicionesspecial2008.188>
- Forfang, K., Zimmermann, B., Kosa, G., Kohler, A., & Shapaval, V. (2017). FTIR Spectroscopy for Evaluation and Monitoring of Lipid Extraction Efficiency for Oleaginous Fungi (T. L. Dawson, Ed.). *PLOS ONE*, 12, e0170611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170611>
- Freshney, R. I. (2022). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. John Wiley Sons.
- Gao, J., Xiong, A., Liu, J., Li, X., Wang, J., Zhang, L., Liu, Y., Xiong, Y., Li, G., & He, X. (2024). PANoptosis: bridging apoptosis, pyroptosis, and necroptosis in cancer progression and treatment. *Cancer Gene Therapy*, 31, 970-983. <https://doi.org/10.1038/s41417-024-00765-9>
- Ge, W., Ren, Y., Dong, C., Shao, Q., Bai, Y., He, Z., Yao, T., Zhang, Y., Zhu, G., Deshmukh, S. K., & Han, Y. (2023). New perspective: Symbiotic pattern and assembly mechanism of Cantharellus cibarius-associated bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1074468>
- Globocan. (2022). Absolute numbers, Incidence and Mortality, Males and Females, in 2022. *Cancer Today*. Consultado el 13 de agosto de 2025, desde https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/bars?mode=cancer&group__populations=1&key=total&populations=320&multiple__populations=1&types=0__1&sort__by=value1&sexes=1__2
- Grasel, S., Ferrão, M. F., & Wolf, C. R. (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.08.020>
- Gul, R., Jan, S. U., Faridullah, S., Sherani, S., & Jahan, N. (2017). Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Alkaloids, and Antioxidant Activity of Crude Plant Extracts from Ephedra intermedia Indigenous to Balochistan. *The Scientific World Journal*, 5873648. <https://doi.org/10.1155/2017/5873648>
- Guzmán, M., Zúñiga, N., Santafé, G. G., Torres, O., & Angulo, A. (2009). Antioxidant activity and chemical study of the fungus Pleurotus djamor collected in Córdoba. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7, 63-69. https://www.researchgate.net/publication/262431518_Antioxidant_activity_and_chemical_study_of_the_fungus_Pleurotus_djamor_collected_in_Cordoba
- Han, Y., Shah, A., Yao, Y., Mutter, R. W., & Xu-Welliver, M. (2025). Clinical Differences Among Histological Categories of Sarcoma: Insights from 97,062 Patients. *Cancers*, 17, 1706-1706. <https://doi.org/10.3390/cancers17101706>
- Harborne, J. (1973). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman; Hall Ltd.
- Hernández-Marañón, E. J., Andrade-Torres, A., Chen, J., Núñez-Pastrana, R., & Llarena-Hernández, R. C. (2023). Nutritional and nutraceutical components of four Cantharellus species (Cantharellaceae, Cantharellales) from the Mountain Region, Veracruz, Mexico. *Acta Botanica Mexicana*, 130. <https://doi.org/10.21829/abm130.2023.2179>

- Holesh, J. E., Martin, A., & Aslam, S. (2023, mayo). *Physiology, Carbohydrates*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459280/>
- Hong, T., Yin, J.-Y., Nie, S.-P., & Xie, M.-Y. (2021). Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X*, 12, 100168. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100168>
- Horbinski, C., Nabors, L. B., Portnow, J., Baehring, J. M., Bhatia, A., Bloch, O., Brem, S., Butowski, N., Cannon, D. M., Chao, S. T., Chheda, M. G., Fabiano, A. J., Forsyth, P., Giglio, P., Hattangadi-Gluth, J. A., Holdhoff, M., Junck, L., Kaley, T., Merrell, R., ... Darlow, S. (2023). NCCN Guidelines® Insights: Central Nervous System Cancers, Version 2.2022. *Journal of The National Comprehensive Cancer Network*, 21, 12-20. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2023.0002>
- Hu, D.-B., Xue, R., Zhuang, X.-C., Zhang, X.-S., & Shi, S.-L. (2023). Ultrasound-assisted extraction optimization of polyphenols from *Boletus bicolor* and evaluation of its antioxidant activity. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1135712>
- Huang, R., Cheung, N.-K. V., Vider, J., Cheung, I. Y., Gerald, W. L., Tickoo, S. K., Holland, E. C., & Blasberg, R. G. (2011). MYCN and MYC regulate tumor proliferation and tumorigenesis directly through BMI1 in human neuroblastomas. *The FASEB Journal*, 25, 4138-4149. <https://doi.org/10.1096/fj.11-185033>
- Izzo, A. A., & Stefanska, B. (2025). Natural products and cancer: From drug discovery to prevention and therapy. *British Journal of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1111/bph.70014>
- Jagadeesh, R., Babu, G., Lakshmanan, H., Oh, O. M.-J., Jang, J. K.-Y., Kong, K. W.-S., & Raaman, N. (2020). Bioactive Sterol Derivatives Isolated from the *Pleurotus djamor* var. *Roseus* Induced Apoptosis in Cancer Cell Lines. *Cardiovascular hematological agents in medicinal chemistry*, 18, 124-134. <https://doi.org/10.2174/1871525718666200303123557>
- Jedinak, A., & Sliva, D. (2008). *Pleurotus ostreatus* inhibits proliferation of human breast and colon cancer cells through p53-dependent as well as p53-independent pathway. *International journal of oncology*, 33, 1307. Consultado el 1 de enero de 2026, desde <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2796484/#S17>
- Jeitler, M., Michalsen, A., Frings, D., Hübner, M., Fischer, M., Koppold-Liebscher, D. A., Murthy, V., & Kessler, C. S. (2020). Significance of Medicinal Mushrooms in Integrative Oncology: A Narrative Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.580656>
- Jiménez, R. A. (2021). Vista de Biogeografía y evolución de la biodiversidad en Guatemala, ¿qué nos ha contado el ADN? *Revista científica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias*, 30, 37-47. <https://doi.org/https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v30i1.19>
- Kafoud, A., Salahuddin, Z., Ibrahim, R. S., Al-Janahi, R., Mazurakova, A., Kubatka, P., & Büsselfeld, D. (2023). Potential Treatment Options for Neuroblastoma with Polyphenols through Anti-Proliferative and Apoptotic Mechanisms. *Biomolecules*, 13, 563-563. <https://doi.org/10.3390/biom13030563>
- Kamihara, J., Ma, C., Fuentes Alabi, S. L., Garrido, C., Frazier, A. L., Rodriguez-Galindo, C., & Orjuela, M. A. (2016). Socioeconomic status and global variations in the incidence of neuroblastoma: call for support of population-based cancer registries in low-middle-income countries. *Pediatric Blood Cancer*, 64, 321-323. <https://doi.org/10.1002/pbc.26244>

- Khan, M. S., Zhang, X., You, L., Fu, X., & Abbasi, A. M. (2014). Structure and Bioactivities of Fungal Polysaccharides. *Springer eBooks*, 1-14. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03751-6_28-1
- Kiddane, A. T., & Kim, G.-D. (2021). Anticancer and Immunomodulatory Effects of Polysaccharides. *Nutrition and Cancer*, 73, 2219-2231. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1861310>
- Kihn-Alarcón, A. J., Alvarado-Muñoz, J. F., Orozco-Fuentes, L. I., Calgua-Guerra, E., Fuentes-de Falla, V., & Velarde, A. (2020). Years of Potential Life Lost Because of Breast and Cervical Cancers in Guatemala. *JCO Global Oncology*, 6, 761-765. <https://doi.org/10.1200/jgo.19.00398>
- Krikorev, M. (2019). *Cantharellus cibarius*, Sweden. *The Global Fungal Red List Initiative*. https://redlist.info/iucn/species_view/200345
- Latorre, Y., Torres, M., Vergara, M., Berrios, J., Sampayo, M. M., Gödecke, N., Wirth, D., Hauser, H., Dickson, A. J., & Altamirano, C. (2023). Engineering of Chinese hamster ovary cells for co-overexpressing MYC and XBP1s increased cell proliferation and recombinant EPO production. *Scientific Reports*, 13, 1482. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28622-z>
- Leacock, P. R., Riddell, J., Wilson, A. W., Zhang, R., Ning, C., & Mueller, G. M. (2017). *Cantharellus chicaoensis* sp. nov. is supported by molecular and morphological analysis as a new yellow chanterelle in midwestern United States. *Mycologia*, 108, 765-772. <https://doi.org/10.3852/15-230>
- Lee, D.-H., Kim, C., Zhang, L., & Lee, Y. J. (2008). Role of p53, PUMA, and Bax in wogonin-induced apoptosis in human cancer cells. *Biochemical Pharmacology*, 75, 2020-2033. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.02.023>
- Lee, J.-E., Jayakody, J. T. M., Kim, J.-I., Jeong, J.-W., Choi, K.-M., Kim, T.-S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J.-M., & Ryu, B.-M. (2024). The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods*, 13, 3151-3151. <https://doi.org/10.3390/foods13193151>
- Lemieszek, M., & Rzeski, W. (2012). Anticancer properties of polysaccharides isolated from fungi of the Basidiomycetes class. *Współczesna Onkologia*, 16, 285-289. <https://doi.org/10.5114/wo.2012.30055>
- Lemieszek, M. K., Nunes, F. M., & Rzeski, W. (2019). Branched mannans from the mushroom *Cantharellus cibarius* enhance the anticancer activity of natural killer cells against human cancers of lung and colon. *Food Function*, 10, 5816-5826. <https://doi.org/10.1039/C9FO00510B>
- Lemieszek, M. K., Souto, E. B., Cardoso, C., Marques, G., & Rzeski, W. (2018). Neuroprotective properties of *Cantharellus cibarius* polysaccharide fractions in different in vitro models of neurodegeneration. *Carbohydrate Polymers*, 197, 598-607. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.038>
- Li, Q., Li, Z., Luo, T., & Shi, H. (2022). Targeting the PI3K/AKT/mTOR and RAF/MEK/ERK pathways for cancer therapy. *Molecular Biomedicine*, 3. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00110-2>
- Li, W.-J., Tang, X.-F., Shuai, X.-X., Jiang, C.-J., Liu, X., Wang, L.-F., Yao, Y.-F., Nie, S.-P., & Xie, M.-Y. (2016). Mannose Receptor Mediates the Immune Response to *Ganoderma atrum* Polysaccharides in Macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 348-357. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04888>

- Liu, X., Renard, C. M., Bureau, S., & Le Bourvellec, C. (2021). Revisiting the contribution of ATR-FTIR spectroscopy to characterize plant cell wall polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 262, 117935. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117935>
- Lopez-Suarez, L., Awabdh, S. A., Coumoul, X., & Chauvet, C. (2022). The SH-SY5Y human neuroblastoma cell line, a relevant in vitro cell model for investigating neurotoxicology in human: focus on organic pollutants. *NeuroToxicology*, 92. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2022.07.008>
- Luginina, E. A., & Sorokina, A. A. (2021). Parameters of *Cantharellus cibarius* Fr. ecological range fragment and resilience to human impact in taiga and sub taiga forest communities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 677, 052077. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/5/052077>
- Ma, G., Yang, W., Fang, Y., Ma, N., Pei, F., Zhao, L., & Hu, Q. (2016). Antioxidant and cytotoxicities of *Pleurotus eryngii* residue polysaccharides obtained by ultrafiltration. *LWT*, 73, 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.049>
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I., & Lee, Y. C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339, 69-72. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001>
- Matthay, K. K., Maris, J. M., Schleiermacher, G., Nakagawara, A., Mackall, C. L., Diller, L., & Weiss, W. A. (2016). Neuroblastoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 2. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.78>
- Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2021). Cell cycle control in cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23, 74-88. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>
- Medina, N., Samayoa, B., Lau-Bonilla, D., Denning, D. W., Herrera, R., Mercado, D., Guzmán, B., Pérez, J. C., & Arathoon, E. (2017). Burden of serious fungal infections in Guatemala. *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, 36, 965-969. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-2920-0>
- Meng, T., Yu, S.-s., Ji, H.-y., Xu, X.-m., & Liu, A.-j. (2021). A novel acid polysaccharide from *Boletus edulis*: extraction, characteristics and antitumor activities in vitro. *Glycoconjugate Journal*, 38, 13-24. <https://doi.org/10.1007/s10719-021-09972-0>
- Merck. (2024). Determination of Protein (Biuret Method) Photometric Determination with Biuret reagent. <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/166/860/sq-protein-biuret-method-appnote-mk.pdf>
- Micelio. (2025). Bloque de cosecha - Ostra rosa (*Pleurotus djamor*). *Micelio Guatemala*. Consultado el 15 de septiembre de 2025, desde <https://www.micelio.com.gt/products/bloque-de-cultivo-en-casa-pleurotus-variedad-ostra>
- Mócsai, A., Ruland, J., & Tybulewicz, V. L. J. (2010). The SYK tyrosine kinase: a crucial player in diverse biological functions. *Nature reviews. Immunology*, 10, 387-402. <https://doi.org/10.1038/nri2765>
- Mokhtar, M., Leow, C. H., Mokhtar, N. F., Xu, Z., Chuah, C., Gobert, G. N., & Leow, C. Y. (2024). Immunomodulatory effects of bioactive polysaccharides from *Pleurotus pulmonarius* on LPS-stimulated THP-1 human macrophages. *Food Bioscience*, 63, 105729. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105729>

- Monari, C., Paganelli, F., Bistoni, F., Kozel, T. R., & Vecchiarelli, A. (2008). Capsular polysaccharide induction of apoptosis by intrinsic and extrinsic mechanisms. *Cellular microbiology*, 10, 2129-37. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01196.x>
- Morandi, F., Bensa, V., Calarco, E., Pastorino, F., Perri, P., Corrias, M. V., Ponzoni, M., & Brignole, C. (2021). The Olive Leaves Extract Has Anti-Tumor Effects against Neuroblastoma through Inhibition of Cell Proliferation and Induction of Apoptosis. *Nutrients*, 13, 2178. <https://doi.org/10.3390/nu13072178>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Nasri, H., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 19, 82. Consultado el 2 de marzo de 2025, desde <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3963332/>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2019). *Lehninger principios de bioquímica* (7.^a ed.). Omega.
- Netea, M. G., Van Der Meer, J. W. M., & Kullberg, B. J. (2007). Recognition of fungal pathogens by Toll-like receptors. En G. D. Brown & M. G. Netea (Eds.). Springer Netherlands.
- Nong, J., Su, C., Li, C., Wang, C., Li, W., Li, Y., Chen, P., Li, Y., Li, Z., She, X., Yuan, Z., Liu, S., Chen, C., Liao, Q., Luo, Y., & Shi, B. (2025). Global, regional, and national epidemiology of childhood neuroblastoma (1990–2021): a statistical analysis of incidence, mortality, and DALYs. *EClinicalMedicine*, 79. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2024.102964>
- Nowacka-Jechalke, N., Nowak, R., Juda, M., Malm, A., Lemieszek, M., Rzeski, W., & Kaczyński, Z. (2018). New biological activity of the polysaccharide fraction from *Cantharellus cibarius* and its structural characterization. *Food Chemistry*, 268, 355-361. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.106>
- Nurgali, K., Rudd, J. A., Was, H., & Abalo, R. (2022). Editorial: Cancer therapy: The challenge of handling a double-edged sword. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1007762>
- Organization, W. H. (2024). Global Cancer Burden growing, Amidst Mounting Need for Services. *World Health Organization*. <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing-amidst-mounting-need-for-services>
- Organization, W. H. (2025, febrero). Cancer. *World Health Organization*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Park, H.-J. (2022). Current Uses of Mushrooms in Cancer Treatment and Their Anticancer Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 10502. <https://doi.org/10.3390/ijms231810502>
- Park, W., Wei, S., Kim, B., Kim, B., Bae, S.-J., Chan Chae, Y., Ryu, D., & Ha, K.-T. (2023). Diversity and complexity of cell death: a historical review. *Experimental Molecular Medicine*, 55, 1573-1594. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01078-x>
- Peng, Y., Han, B., Liu, W., & Zhou, R. (2015). Deproteinization and structural characterization of bioactive exopolysaccharides from *Ganoderma sinense* mycelium. *Separation Science and Technology*, 51, 359-369. <https://doi.org/10.1080/01496395.2015.1086375>

- Pérez-Moreno, J., Guerin-Laguet, A., Flores Arzú, R., & Yu, F.-Q. (Eds.). (2020). *Mushrooms, Humans and Nature in a Changing World* (1.^a ed.). Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-37378-8>
- Phonemany, M., Sysouphanthong, P., Rujanapun, N., Sarker, S. D., Nahar, L., Puttarak, P., Hiran-sai, P., Thongklang, N., & Charoensup, R. (2025). Identification and therapeutic efficacy of *Pleurotus djamor* var *fuscopruinosus*. *Scientific Reports*, 15. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-02900-4>
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M. F., Ak, G., & Zengin, G. (2021). Conventional versus green extraction techniques: a comparative perspective. *Current Opinion in Food Science*, 40, 144-156. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.009>
- Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U., & Eisner, P. (2021). How Does the Phenol Structure Influence the Results of the Folin-Ciocalteu Assay? *Antioxidants*, 10, 811. <https://doi.org/10.3390/antiox10050811>
- PubChem. (2026). *Cantharellus cibarius*. National Library of Medicine. Consultado el 3 de marzo de 2026, desde <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/36066>
- Pugh, T. J., Morozova, O., Attiyeh, E. F., Asgharzadeh, S., Wei, J. S., Auclair, D., Carter, S. L., Cibulskis, K., Hanna, M., Kiezun, A., Kim, J., Lawrence, M. S., Lichtenstein, L., McKenna, A., Pedamallu, C. S., Ramos, A. H., Shefler, E., Sivachenko, A., Sougnez, C., ... Maris, J. M. (2013). The genetic landscape of high-risk neuroblastoma. *Nature genetics*, 45, 279-84. <https://doi.org/10.1038/ng.2529>
- Puia, A., Pandrea, S.-L., Cruceru, J., Puia, I. C., Chedea, V. S., Ciont, C., Pop, O. L., Leopold, L. F., Ranga, F., Urcan, A. C., Nicolescu, A., Bobis, O., Bocsan, I. C., Armean, S., Buzoianu, A. D., & Pop, R. M. (2025). Phenolic Compounds with Antimicrobial Properties in Mushrooms Frequently Encountered in Temperate Deciduous Forests. *Life*, 15, 1653. <https://doi.org/10.3390/life15111653>
- Qiu, B., & Matthay, K. K. (2022). Advancing therapy for neuroblastoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 19, 515-533. <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00643-z>
- Reed, J. C. (2000). Mechanisms of Apoptosis. *The American Journal of Pathology*, 157, 1415-1430. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64779-7](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64779-7)
- Ren, L., Perera, C., & Hemar, Y. (2012). Antitumor activity of mushroom polysaccharides: a review. *Food Function*, 3, 1118. <https://doi.org/10.1039/c2fo10279j>
- Režić Mužinić, N., Veršić Bratinčević, M., Grubić, M., Frleta, R., Čagalj, M., Visković, T., & Popović, M. (2023). Golden Chanterelle or a Gold Mine? Metabolites from Aqueous Extracts of Golden Chanterelle (*Cantharellus cibarius*) and Their Antioxidant and Cytotoxic Activities. *Molecules*, 28, 2110-2110. <https://doi.org/10.3390/molecules28052110>
- Rios, C. I., & De Jesus, O. (2021). Primitive Neuroectodermal Tumor. *PubMed*. Consultado el 2 de mayo de 2021, desde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562165/>
- Rojas, C., Pan-Castillo, B., Valls, C., Pujadas, G., Garcia-Vallve, S., Arola, L., & Mulero, M. (2014). Resveratrol Enhances Palmitate-Induced ER Stress and Apoptosis in Cancer Cells (G. Velasco, Ed.). *PLoS ONE*, 9, e113929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113929>
- Sainero-Alcolado, L., Bexelius, T. S., Santopolo, G., Yuan, Y., Liaño-Pons, J., & Arsenian-Henriksson, M. (2024). Defining neuroblastoma: from origin to precision medicine. *Neuro-Oncology*, 26, 2174-2192. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noae152>

- Salmones, D. (2017). Pleurotus djamor, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. *Revista mexicana de micología*, 46, 73-85. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802017000200073
- Schäfer, P., Muhs, S., Turnbull, L., Garwal, P., Maar, H., Yorgan, T. A., Tolosa, E., Lange, T., & Windhorst, S. (2023). Ex Vivo Model of Neuroblastoma Plasticity. *Cancers*, 15, 1274-1274. <https://doi.org/10.3390/cancers15041274>
- Schoch, C. L. (2020). *Taxonomy Browser (Pleurotus djamor)*. NCBI. Consultado el 14 de septiembre de 2025, desde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?command=show&mode=node&id=34470>
- Shamas-Din, A., Kale, J., Leber, B., & Andrews, D. W. (2013). Mechanisms of Action of Bcl-2 Family Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5, a008714-a008714. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008714>
- Shen, S., Shao, Y., & Li, C. (2023). Different types of cell death and their shift in shaping disease. *Cell Death Discovery*, 9. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01581-0>
- Siegel, R. L., Kratzer, T. B., Giaquinto, A. N., Sung, H., & Jemal, A. (2025). Cancer statistics, 2025. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 75. <https://doi.org/10.3322/caac.21871>
- Silva, F., Veiga, F., Cardoso, C., Dias, F., Cerqueira, F., Medeiros, R., & Cláudia Paiva-Santos, A. (2024). A rapid and simplified DPPH assay for analysis of antioxidant interactions in binary combinations. *Microchemical Journal*, 202, 110801. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110801>
- Singh, A., Saini, R. K., Kumar, A., Chawla, P., & Kaushik, R. (2025). Mushrooms as Nutritional Powerhouses: A Review of Their Bioactive Compounds, Health Benefits, and Value-Added Products. *Foods*, 14, 741. <https://doi.org/10.3390/foods14050741>
- Snarr, B., Qureshi, S., & Sheppard, D. (2017). Immune Recognition of Fungal Polysaccharides. *Journal of Fungi*, 3, 47. <https://doi.org/10.3390/jof3030047>
- So, W., Liu, W., & Leung, K. (2015). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Trigger Cell Cycle Arrest and Induce Apoptosis in Human Neuroblastoma LA-N-1 Cells. *Nutrients*, 7, 6956-6973. <https://doi.org/10.3390/nu7085319>
- Stamets, P., & Zwickey, H. (2014). Medicinal Mushrooms: Ancient Remedies Meet Modern Science. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, 13, 46-47. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4684114/>
- Sucharitha, A., & Bhuvana, D. (2023). An Overview of Cancer. *Advances in Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 1, 1-8. <https://doi.org/10.23880/accp-16000102>
- Sun, G., Guzman, E., Balasanyan, V., Conner, C. M., Wong, K., Zhou, H. R., Kosik, K. S., & Montell, D. J. (2017). A molecular signature for anastasis, recovery from the brink of apoptotic cell death. *The Journal of Cell Biology*, 216, 3355-3368. <https://doi.org/10.1083/jcb.201706134>
- Swabey-Van, E., & Nobile, M. (2024, diciembre). Guatemala prioriza la creación de capacidad, los cuidados paliativos y la mejora del registro de cáncer tras una evaluación del control del cáncer. *Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA)*. Consultado el 13 de agosto de 2025, desde <https://www.iaea.org/es/newscenter/news/guatemala-prioriza-la-creacion-de-capacidad-los-cuidados-paliativos-y-la-mejora-del-registro-de-cancer-tras-una-evaluacion-del-control-del-cancer>

- Talley, S. M., Coley, P. D., & Kursar, T. A. (2002). The Effects of Weather on Fungal Abundance and Richness among 25 Communities in the Intermountain West. *BMC Ecology*, 2. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1472-6785-2-7>
- Tepsongkroh, B., Thailuttakij, C., Supawong, S., & Jangchud, K. (2023). Impact of high pressure pre-treatment and hot water extraction on chemical properties of crude polysaccharide extract obtained from mushroom (*Volvariella volvacea*). *Food chemistry: X*, 19, 100864. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100864>
- Trepa, M., Sułkowska-Ziaja, K., Kała, K., & Muszyńska, B. (2024). Therapeutic Potential of Fungal Terpenes and Terpenoids: Application in Skin Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 29, 1183. <https://doi.org/10.3390/molecules29051183>
- Udchumpisai, W., & Bangyeekhun, E. (2019). Purification, Structural Characterization, and Biological Activity of Polysaccharides from *Lentinus velutinus*. *Mycobiology*, 48, 51-57. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1693482>
- Vamanu, E., & Sultana, N. (2014). Bioactive Compounds, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Extracts from *Cantharellus cibarius*. *Revista de Chimie*, 65, 372-379. https://www.researchgate.net/publication/261360369_Bioactive_Compounds_Antioxidant_and_Anti-inflammatory_Activities_of_Extracts_from_Cantharellus_cibarius
- Wan, X., Jin, X., Xie, M., Liu, J., Gontcharov, A. A., Wang, H., Lv, R., Liu, D., Wang, Q., & Li, Y. (2020). Characterization of a polysaccharide from *Sanghuangporus vaninii* and its antitumor regulation via activation of the p53 signaling pathway in breast cancer MCF-7 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 865-877. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.279>
- Wang, D., Chen, S., Li, Y., Han, Z., Dai, Y., & Huang, Y. (2022). Direct extraction of *Eucommia ulmoides* rubber by high-power ultrasound and optimization with response surface methodology. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 15, 749-756. <https://doi.org/10.1080/17518253.2022.2132837>
- Wang, M., & Yu, F. (2022). Research Progress on the Anticancer Activities and Mechanisms of Polysaccharides From *Ganoderma*. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.891171>
- Wang, W., Tan, J., Nima, L., Sang, Y., Cai, X., & Xue, H. (2022). Polysaccharides from fungi: A review on their extraction, purification, structural features, and biological activities. *Food Chemistry: X*, 15, 100414. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100414>
- Wang, Y., Zhang, C., Zhao, Y., Wu, F., Yue, Y., Zhang, Y., & Li, D. (2025). Ultrasound-assisted optimization extraction and biological activities analysis of flavonoids from *Sanghuangporus sanghuang*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 117, 107326-107326. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2025.107326>
- Weinberg, R. A. (2014). *The biology of Cancer* (Second edition). Garland Science, Taylor Francis Group, LLC.
- Wong-Paz, J. E., Muñoz-Márquez, D. B., Aguilar-Zárate, P., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2014). Microplate Quantification of Total Phenolic Content from Plant Extracts Obtained by Conventional and Ultrasound Methods. *Phytochemical Analysis*, 25, 439-444. <https://doi.org/10.1002/pca.2512>

- Xiao, Z., Zhou, W., & Zhang, Y. (2020, enero). Chapter Ten - Fungal polysaccharides. En M. Can Atayik & U. Cakatay (Eds.). Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1054358919300651>
- Xiong, H., Han, X., Cai, L., & Zheng, H. (2023). Natural polysaccharides exert anti-tumor effects as dendritic cell immune enhancers. *Frontiers in Oncology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1274048>
- Xu, D., Wang, H., Zheng, W., Gao, Y., Wang, M., Zhang, Y., & Gao, Q. (2016). Characterization and immunomodulatory activities of polysaccharide isolated from *Pleurotus eryngii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.016>
- Xu, J., Shen, R., Jiao, Z., Chen, W., Peng, D., Wang, L., Yu, N., Peng, C., Cai, B., Song, H., Chen, F., & Liu, B. (2022). Current Advancements in Antitumor Properties and Mechanisms of Medicinal Components in Edible Mushrooms. *Nutrients*, 14, 2622. <https://doi.org/10.3390/nu14132622>
- Xu, Y., Cui, J., & Puett, D. (2014). Cancer Classification and Molecular Signature Identification. Springer New York, NY.
- Yin, Z., Liang, Z., Li, C., Wang, J., Ma, C., & Kang, W. (2021). Immunomodulatory effects of polysaccharides from edible fungus: a review. *Food Science and Human Wellness*, 10, 393-400. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.04.001>
- Yu, W.-D., Su, G., Li, J., Xu, J., & Wang, X. (2019). Mechanisms and therapeutic potentials of cancer immunotherapy in combination with radiotherapy and/or chemotherapy. *Cancer Letters*, 452, 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.02.048>
- Yu, W., Zhang, Y., Yao, L., Peng, J., Tu, Y., & He, B. (2024). Research progress on the prevention of tumor by fungal polysaccharides. *Trends in Food Science Technology*, 147, 104422-104422. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104422>
- Yuan, S., Vinay Gopal, J., Ren, S., Chen, L., Liu, L., & Gao, Z. (2020). Anticancer fungal natural products: Mechanisms of action and biosynthesis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 202, 112502-112502. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112502>
- Yue, C., Zhang, Q., Sun, F., & Pan, Q. (2025). Global, regional and national burden of neuroblastoma and other peripheral nervous system tumors, 1990 to 2021 and predictions to 2035: visualizing epidemiological characteristics based on GBD 2021. *Neoplasia*, 60, 101122-101122. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2025.101122>
- Zade, S., Upadhyay, T. K., Rab, S. O., Sharangi, A. B., Lakhanpal, S., Alabdallah, N. M., & Saeed, M. (2025). Mushroom-derived bioactive compounds pharmacological properties and cancer targeting: a holistic assessment. *Discover Oncology*, 16. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-02371-z>
- Zafar, A., Khatoon, S., Khan, M. J., Abu, J., & Naeem, A. (2025). Advancements and limitations in traditional anti-cancer therapies: a comprehensive review of surgery, chemotherapy, radiation therapy, and hormonal therapy. *Discover Oncology*, 16. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-02198-8>
- Zaitseva, O., Sergushkina, M., Polezhaeva, T., Solomina, O., & Khudyakov, A. (2025). Mechanisms of action of fungal polysaccharides and their therapeutic effect. *European journal of clinical nutrition*, 79, 383-396. <https://doi.org/10.1038/s41430-024-01527-4>

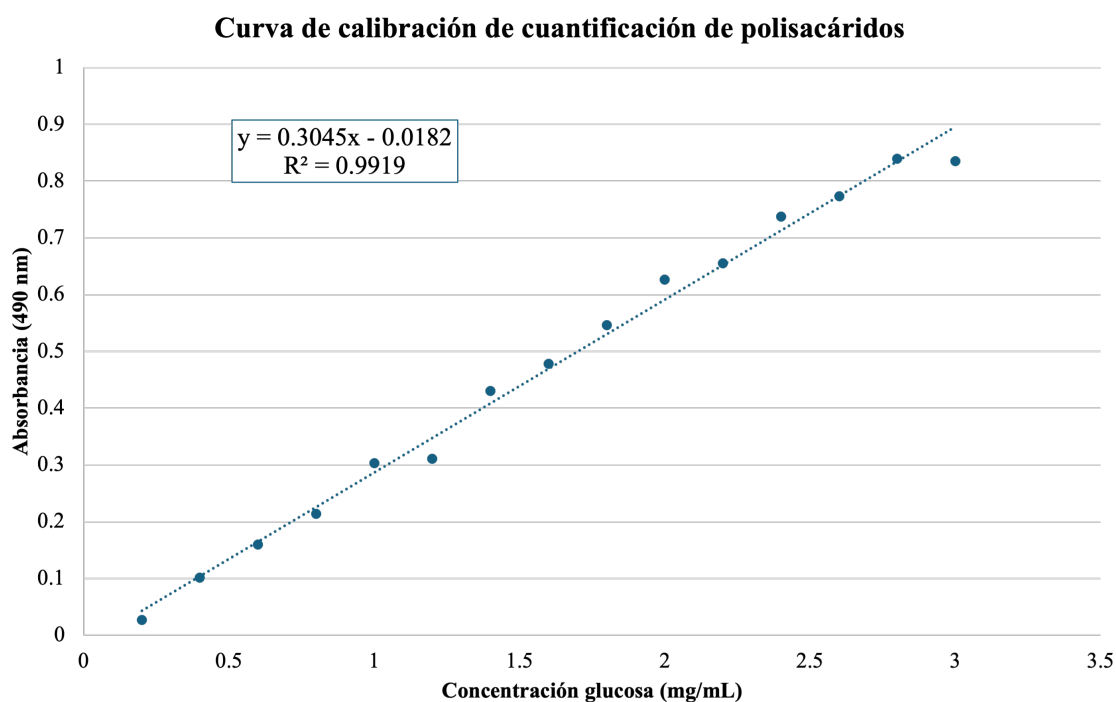
- Zeng, X., Li, P., Chen, X., Kang, Y., Xie, Y., Li, X., Xie, T., & Zhang, Y. (2019). Effects of deproteinization methods on primary structure and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 867-876. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.222>
- Zheng, S., Zhang, W., & Liu, S. (2020). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides and triterpenoids from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* and evaluation of their in vitro antioxidant capacities (B. T. Šiler, Ed.). *PLOS ONE*, 15, e0244749. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244749>

CAPÍTULO 13

Anexos

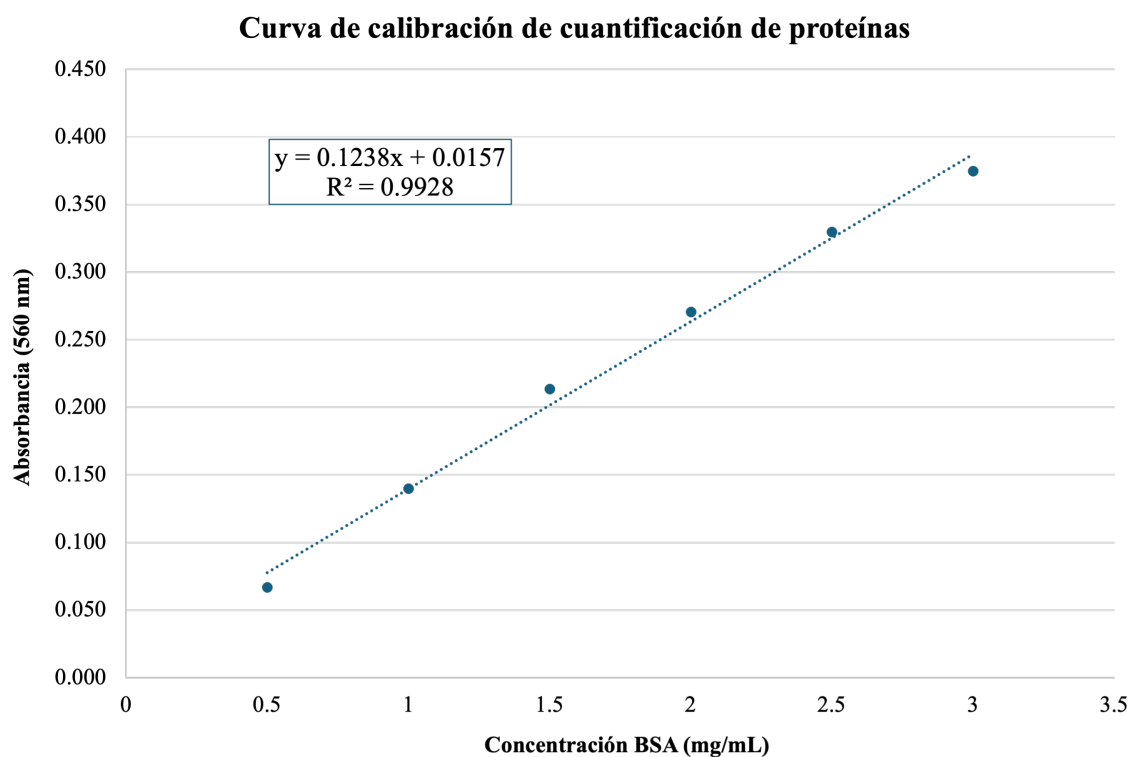
Cuantificación de proteínas y polisacáridos

Figura 19. Curva de calibración para la cuantificación de polisacáridos mediante el método de fenol-ácido sulfúrico



Nota. Se muestra la relación entre la concentración conocida de glucosa ($\mu\text{g/mL}$) y la absorbancia medida a 490 nm. La recta de regresión obtenida se utilizó como referencia para determinar la concentración de polisacáridos en las muestras analizadas.

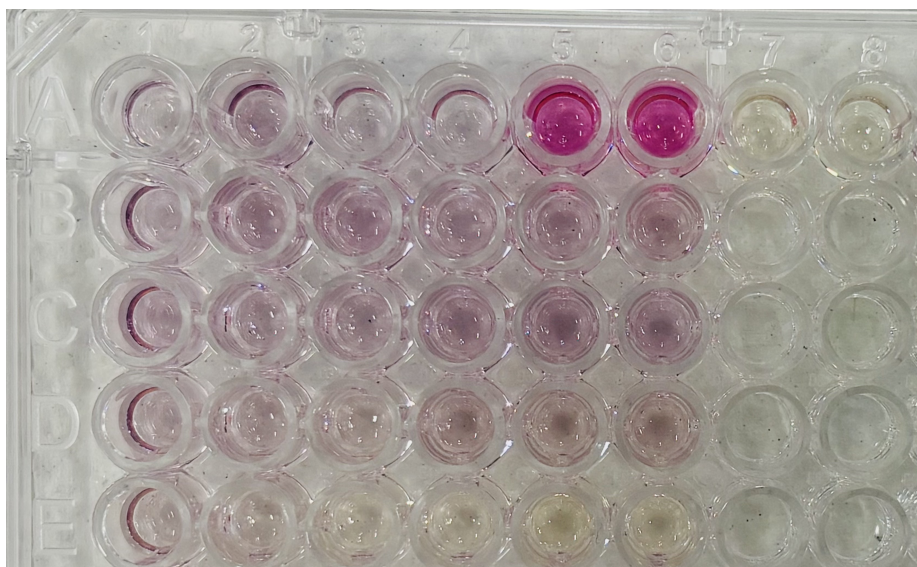
Figura 20. Curva de calibración para la cuantificación de proteínas mediante el método de Biuret. Se muestra la relación entre la concentración conocida de BSA (mg/mL) y la absorbancia medida a 490 nm



Nota. La recta de regresión obtenida se utilizó como referencia para determinar la concentración de proteínas en las muestras analizadas.

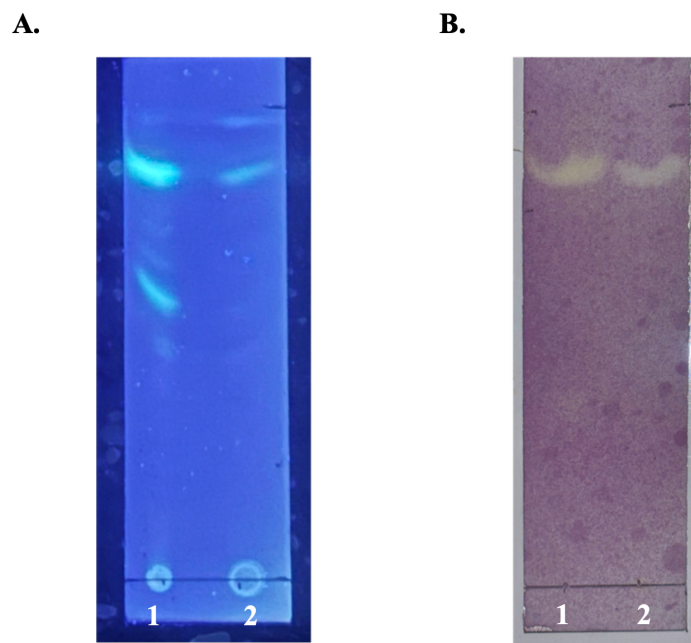
Evaluación de la actividad antioxidante

Figura 21. Ensayo de actividad antioxidante por DPPH realizado en microplaca



Nota. En la fila A se incluyeron los controles del ensayo: A1–A2, blanco; A3–A4, control negativo (agua destilada); A5–A6, control negativo (medio de cultivo suplementado); A7–A8, control positivo (ácido gálico 10 mg/mL). En las filas B–E se colocaron las fracciones fúngicas evaluadas a distintas concentraciones: B1–B2, fracción acuosa de *C. cibarius* (100 µg/mL); B3–B4 (200 µg/mL); B5–B6 (300 µg/mL). C1–C2, fracción acuosa de *P. djamor* (100 µg/mL); C3–C4 (200 µg/mL); C5–C6 (300 µg/mL). D1–D2, fracción etanólica de *C. cibarius* (100 µg/mL); D3–D4 (200 µg/mL); D5–D6 (300 µg/mL). E1–E2, fracción etanólica de *P. djamor* (100 µg/mL); E3–E4 (200 µg/mL); E5–E6 (300 µg/mL).

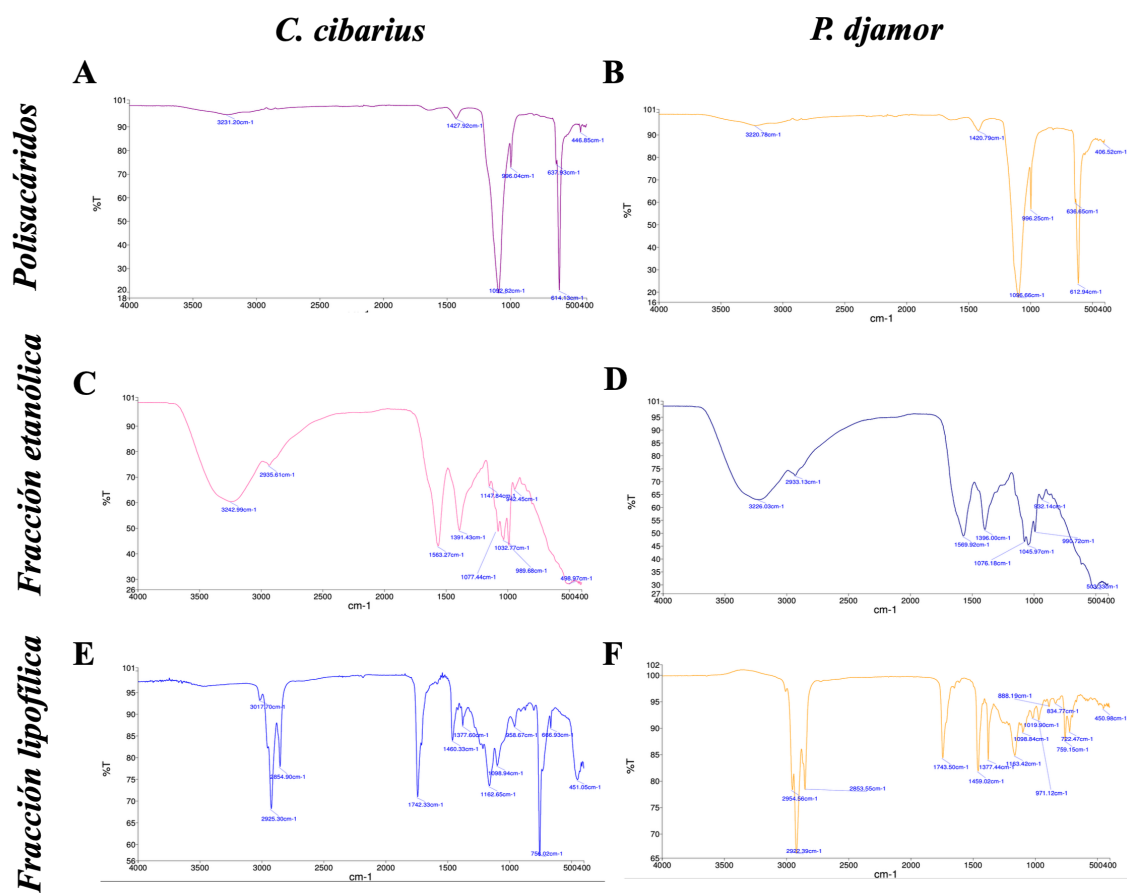
Figura 22. Placa de TLC analítica en sílica gel de las fracciones lipofílicas de (1) *C. cibarius* y (2) *P. djamor*, eluida con hexano:acetato de etilo (7:3)



Nota. La placa se observó bajo luz UV a 365 nm (A) y posteriormente se reveló con el reactivo de DPPH (B).

Caracterización estructural por FTIR

Figura 23. Espectros FTIR de la fracción acuosa, etanólica y lipofílica extraídas de los hongos *C. cibarius* y *P. djamor*



Evaluación de la citotoxicidad en células CHO y determinación del IC₅₀

Cuadro 16. Valores de IC₅₀ obtenidos para la fracción acuosa de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular no tumoral CHO

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>				
24	0	0.08875	1.09065	1.09065
24	0	0.08875	1.09065	1.09065
24	0	0.08875	1.09065	1.09065
24	25	0.08875	1.09065	1.377
24	25	0.08875	1.09065	1.244
24	25	0.08875	1.09065	1.215
24	50	0.08875	1.09065	1.468
24	50	0.08875	1.09065	1.284
24	50	0.08875	1.09065	1.6
24	100	0.08875	1.09065	0.907
24	100	0.08875	1.09065	1.101
24	100	0.08875	1.09065	0.983
24	150	0.08875	1.09065	1.304
24	150	0.08875	1.09065	1.341
24	150	0.08875	1.09065	1.376
24	200	0.08875	1.09065	1.009
24	200	0.08875	1.09065	1.125
24	200	0.08875	1.09065	0.92
24	250	0.08875	1.09065	1.138
24	250	0.08875	1.09065	1.234
24	250	0.08875	1.09065	0.851
24	300	0.08875	1.09065	0.768
24	300	0.08875	1.09065	0.762
24	300	0.08875	1.09065	0.748
24	Control positivo	0.08875	1.09065	0.107

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
24	Control positivo	0.08875	1.09065	0.102
24	Control positivo	0.08875	1.09065	0.099
48	0	0.101625	0.2685	0.2685
48	0	0.101625	0.2685	0.2685
48	0	0.101625	0.2685	0.2685
48	25	0.101625	0.2685	0.322
48	25	0.101625	0.2685	0.327
48	25	0.101625	0.2685	0.338
48	50	0.101625	0.2685	0.34
48	50	0.101625	0.2685	0.306
48	50	0.101625	0.2685	0.294
48	100	0.101625	0.2685	0.341
48	100	0.101625	0.2685	0.308
48	100	0.101625	0.2685	0.337
48	150	0.101625	0.2685	0.28
48	150	0.101625	0.2685	0.308
48	150	0.101625	0.2685	0.322
48	200	0.101625	0.2685	0.362
48	200	0.101625	0.2685	0.333
48	200	0.101625	0.2685	0.33
48	250	0.101625	0.2685	0.361
48	250	0.101625	0.2685	0.365
48	250	0.101625	0.2685	0.315
48	300	0.101625	0.2685	0.426
48	300	0.101625	0.2685	0.416
48	300	0.101625	0.2685	0.412
48	Control positivo	0.101625	0.2685	0.113
48	Control positivo	0.101625	0.2685	0.112
48	Control positivo	0.101625	0.2685	0.111
72	0	0.113	0.594428571	0.594428571
72	0	0.113	0.594428571	0.594428571
72	0	0.113	0.594428571	0.594428571
72	25	0.113	0.594428571	0.424
72	25	0.113	0.594428571	0.367
72	25	0.113	0.594428571	0.451
72	50	0.113	0.594428571	0.456
72	50	0.113	0.594428571	0.377
72	50	0.113	0.594428571	0.412
72	100	0.113	0.594428571	0.511
72	100	0.113	0.594428571	0.505
72	100	0.113	0.594428571	0.38
72	150	0.113	0.594428571	0.453
72	150	0.113	0.594428571	0.666
72	150	0.113	0.594428571	0.693
72	200	0.113	0.594428571	0.504
72	200	0.113	0.594428571	0.388
72	200	0.113	0.594428571	0.614
72	250	0.113	0.594428571	0.358
72	250	0.113	0.594428571	0.388
72	250	0.113	0.594428571	0.356
72	300	0.113	0.594428571	0.398
72	300	0.113	0.594428571	0.665

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
72	300	0.113	0.594428571	0.654
72	Control positivo	0.113	0.594428571	0.14
72	Control positivo	0.113	0.594428571	0.16
72	Control positivo	0.113	0.594428571	0.119
<i>P. djamor</i>				
24	0	0	0.08875	0.08875
24	0	0	0.08875	0.08875
24	0	0	0.08875	0.08875
24	25	0.08875	1.09065	1.676
24	25	0.08875	1.09065	1.252
24	25	0.08875	1.09065	1.406
24	50	0.08875	1.09065	1.363
24	50	0.08875	1.09065	1.363
24	50	0.08875	1.09065	1.386
24	100	0.08875	1.09065	1.07
24	100	0.08875	1.09065	1.09
24	100	0.08875	1.09065	1.178
24	150	0.08875	1.09065	1.442
24	150	0.08875	1.09065	1.26
24	150	0.08875	1.09065	1.408
24	200	0.08875	1.09065	1.211
24	200	0.08875	1.09065	1.551
24	200	0.08875	1.09065	1.405
24	250	0.08875	1.09065	1.007
24	250	0.08875	1.09065	1.082
24	250	0.08875	1.09065	0.888
24	300	0.08875	1.09065	0.803
24	300	0.08875	1.09065	0.668
24	300	0.08875	1.09065	0.957
24	Control positivo	0.08875	1.09065	0.087
24	Control positivo	0.08875	1.09065	0.092
24	Control positivo	0.08875	1.09065	0.089
48	0	0.101625	0.2685	0.2685
48	0	0.101625	0.2685	0.2685
48	0	0.101625	0.2685	0.2685
48	25	0.101625	0.2685	0.311
48	25	0.101625	0.2685	0.321
48	25	0.101625	0.2685	0.265
48	50	0.101625	0.2685	0.307
48	50	0.101625	0.2685	0.298
48	50	0.101625	0.2685	0.277
48	100	0.101625	0.2685	0.268
48	100	0.101625	0.2685	0.263
48	100	0.101625	0.2685	0.258
48	150	0.101625	0.2685	0.243
48	150	0.101625	0.2685	0.237
48	150	0.101625	0.2685	0.241
48	200	0.101625	0.2685	0.3
48	200	0.101625	0.2685	0.293
48	200	0.101625	0.2685	0.295
48	250	0.101625	0.2685	0.286

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
48	250	0.101625	0.2685	0.276
48	250	0.101625	0.2685	0.358
48	300	0.101625	0.2685	0.333
48	300	0.101625	0.2685	0.332
48	300	0.101625	0.2685	0.349
48	Control positivo	0.101625	0.2685	0.105
48	Control positivo	0.101625	0.2685	0.107
48	Control positivo	0.101625	0.2685	0.103
72	0	0.113	0.594428571	0.594428571
72	0	0.113	0.594428571	0.594428571
72	0	0.113	0.594428571	0.594428571
72	25	0.113	0.594428571	0.59
72	25	0.113	0.594428571	0.621
72	25	0.113	0.594428571	0.558
72	50	0.113	0.594428571	0.514
72	50	0.113	0.594428571	0.585
72	50	0.113	0.594428571	0.503
72	100	0.113	0.594428571	0.547
72	100	0.113	0.594428571	0.534
72	100	0.113	0.594428571	0.545
72	150	0.113	0.594428571	0.528
72	150	0.113	0.594428571	0.417
72	150	0.113	0.594428571	0.48
72	200	0.113	0.594428571	0.471
72	200	0.113	0.594428571	0.6
72	200	0.113	0.594428571	0.479
72	250	0.113	0.594428571	0.556
72	250	0.113	0.594428571	0.541
72	250	0.113	0.594428571	0.528
72	300	0.113	0.594428571	0.652
72	300	0.113	0.594428571	0.743
72	300	0.113	0.594428571	0.846
72	Control positivo	0.113	0.594428571	0.14
72	Control positivo	0.113	0.594428571	0.16
72	Control positivo	0.113	0.594428571	0.119

Cuadro 17. Valores de IC_{50} obtenidos para la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular no tumoral CHO

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>				
24	0	0,0995	0,759	0,759
24	0	0,0995	0,759	0,759
24	0	0,0995	0,759	0,759
24	25	0,0995	0,759	0,618
24	25	0,0995	0,759	0,629
24	25	0,0995	0,759	0,665
24	50	0,0891	0,693	0,588
24	50	0,0891	0,693	0,518
24	50	0,0891	0,693	0,613

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
24	100	0,0891	0,693	0,582
24	100	0,0891	0,693	0,568
24	100	0,0891	0,693	0,561
24	150	0,0891	0,693	0,563
24	150	0,0891	0,693	0,574
24	150	0,0891	0,693	0,547
24	200	0,0995	0,759	0,492
24	200	0,0995	0,759	0,506
24	200	0,0995	0,759	0,503
24	250	0,0995	0,759	0,483
24	250	0,0995	0,759	0,471
24	250	0,0995	0,759	0,469
24	300	0,0995	0,759	0,421
24	300	0,0995	0,759	0,464
24	300	0,0995	0,759	0,514
24	Control positivo	0,0891	0,693	0,123
24	Control positivo	0,0891	0,693	0,149
24	Control positivo	0,0891	0,693	0,122
48	0	0,0844	0,916	0,916
48	0	0,0844	0,916	0,916
48	0	0,0844	0,916	0,916
48	25	0,0844	0,916	0,922
48	25	0,0844	0,916	0,905
48	25	0,0844	0,916	0,926
48	50	0,0844	0,916	0,977
48	50	0,0844	0,916	0,899
48	50	0,0844	0,916	0,858
48	100	0,0844	0,916	0,864
48	100	0,0844	0,916	0,879
48	100	0,0844	0,916	0,863
48	150	0,0844	0,916	0,859
48	150	0,0844	0,916	0,849
48	150	0,0844	0,916	0,847
48	200	0,0844	0,916	0,863
48	200	0,0844	0,916	0,794
48	200	0,0844	0,916	0,796
48	250	0,0844	0,916	0,810
48	250	0,0844	0,916	0,817
48	250	0,0844	0,916	0,808
48	300	0,0844	0,916	0,811
48	300	0,0844	0,916	0,805
48	300	0,0844	0,916	0,801
48	Control positivo	0,0844	0,916	0,124
48	Control positivo	0,0844	0,916	0,118
48	Control positivo	0,0844	0,916	0,127
72	0	0,0891	0,897	0,897
72	0	0,0891	0,897	0,897
72	0	0,0891	0,897	0,897
72	25	0,0891	0,897	0,895
72	25	0,0891	0,897	0,960
72	25	0,0891	0,897	0,907
72	50	0,0891	0,897	0,902

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
72	50	0,0891	0,897	0,894
72	50	0,0891	0,897	0,838
72	100	0,0891	0,897	0,830
72	100	0,0891	0,897	0,893
72	100	0,0891	0,897	0,768
72	150	0,0891	0,897	0,847
72	150	0,0891	0,897	0,881
72	150	0,0891	0,897	0,802
72	200	0,0891	0,897	0,773
72	200	0,0891	0,897	0,794
72	200	0,0891	0,897	0,886
72	250	0,0891	0,897	0,810
72	250	0,0891	0,897	0,817
72	250	0,0891	0,897	0,808
72	300	0,0891	0,897	0,820
72	300	0,0891	0,897	0,757
72	300	0,0891	0,897	0,822
72	Control positivo	0,0891	0,897	0,124
72	Control positivo	0,0891	0,897	0,129
72	Control positivo	0,0891	0,897	0,094

P. djamor

24	0	0,115	0,937	0,937
24	0	0,115	0,937	0,937
24	0	0,115	0,937	0,937
24	25	0,115	0,937	0,918
24	25	0,115	0,937	1,01
24	25	0,115	0,937	0,927
24	50	0,115	0,937	0,839
24	50	0,115	0,937	0,868
24	50	0,115	0,937	0,833
24	100	0,115	0,937	0,793
24	100	0,115	0,937	0,814
24	100	0,115	0,937	0,778
24	150	0,115	0,937	0,746
24	150	0,115	0,937	0,754
24	150	0,115	0,937	0,842
24	200	0,115	0,937	0,790
24	200	0,115	0,937	0,743
24	200	0,115	0,937	0,728
24	250	0,115	0,937	0,774
24	250	0,115	0,937	0,762
24	250	0,115	0,937	0,692
24	300	0,115	0,937	0,617
24	300	0,115	0,937	0,621
24	300	0,115	0,937	0,624
24	Control positivo	0,115	0,937	0,0840
24	Control positivo	0,115	0,937	0,0910
24	Control positivo	0,115	0,937	0,0920
48	0	0,142	1,08	1,08
48	0	0,142	1,08	1,08
48	0	0,142	1,08	1,08

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
48	25	0,142	1,08	1,10
48	25	0,142	1,08	1,03
48	25	0,142	1,08	1,10
48	50	0,142	1,08	1,03
48	50	0,142	1,08	1,01
48	50	0,142	1,08	1,00
48	100	0,142	1,08	1,03
48	100	0,142	1,08	0,975
48	100	0,142	1,08	0,854
48	150	0,142	1,08	0,838
48	150	0,142	1,08	0,862
48	150	0,142	1,08	0,802
48	200	0,142	1,08	0,733
48	200	0,142	1,08	0,735
48	200	0,142	1,08	0,747
48	250	0,142	1,08	0,762
48	250	0,142	1,08	0,719
48	250	0,142	1,08	0,727
48	300	0,142	1,08	0,707
48	300	0,142	1,08	0,686
48	300	0,142	1,08	0,681
48	Control positivo	0,142	1,08	0,163
48	Control positivo	0,142	1,08	0,163
48	Control positivo	0,142	1,08	0,154
72	0	0,0984	1,52	1,52
72	0	0,0984	1,52	1,52
72	0	0,0984	1,52	1,52
72	25	0,0984	1,52	1,43
72	25	0,0984	1,52	1,52
72	25	0,0984	1,52	1,40
72	50	0,0984	1,52	1,48
72	50	0,0984	1,52	1,47
72	50	0,0984	1,52	1,44
72	100	0,0984	1,52	1,45
72	100	0,0984	1,52	1,41
72	100	0,0984	1,52	1,44
72	150	0,0984	1,52	1,42
72	150	0,0984	1,52	1,40
72	150	0,0984	1,52	1,44
72	200	0,0984	1,52	1,38
72	200	0,0984	1,52	1,31
72	200	0,0984	1,52	1,34
72	250	0,0984	1,52	1,25
72	250	0,0984	1,52	1,35
72	250	0,0984	1,52	1,32
72	300	0,0984	1,52	1,18
72	300	0,0984	1,52	1,26
72	300	0,0984	1,52	1,43
72	Control positivo	0,0984	1,52	0,105
72	Control positivo	0,0984	1,52	0,120
72	Control positivo	0,0984	1,52	0,105

Cuadro 18. Valores de IC₅₀ obtenidos para la fracción lipofílica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular no tumoral CHO

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>				
24	0	0.0471	0.841125	0.841125
24	0	0.0471	0.841125	0.841125
24	0	0.0471	0.841125	0.841125
24	25	0.0471	0.841125	0.836
24	25	0.0471	0.841125	0.757
24	25	0.0471	0.841125	0.807
24	50	0.0471	0.841125	0.745
24	50	0.0471	0.841125	0.838
24	50	0.0471	0.841125	0.832
24	100	0.0471	0.841125	0.854
24	100	0.0471	0.841125	0.824
24	100	0.0471	0.841125	0.888
24	150	0.0471	0.841125	0.724
24	150	0.0471	0.841125	0.902
24	150	0.0471	0.841125	0.944
24	200	0.0471	0.841125	0.786
24	200	0.0471	0.841125	0.898
24	200	0.0471	0.841125	0.882
24	250	0.0471	0.841125	0.765
24	250	0.0471	0.841125	0.787
24	250	0.0471	0.841125	0.888
24	300	0.0471	0.841125	0.689
24	300	0.0471	0.841125	0.652
24	300	0.0471	0.841125	0.744
24	Control positivo	0.0471	0.841125	0.091
24	Control positivo	0.0471	0.841125	0.086
24	Control positivo	0.0471	0.841125	0.091
48	0	0.08775	0.368625	0.368625
48	0	0.08775	0.368625	0.368625
48	0	0.08775	0.368625	0.368625
48	25	0.08775	0.368625	0.336
48	25	0.08775	0.368625	0.358
48	25	0.08775	0.368625	0.323
48	50	0.08775	0.368625	0.323
48	50	0.08775	0.368625	0.323
48	50	0.08775	0.368625	0.325
48	100	0.08775	0.368625	0.412
48	100	0.08775	0.368625	0.462
48	100	0.08775	0.368625	0.448
48	150	0.08775	0.368625	0.333
48	150	0.08775	0.368625	0.353
48	150	0.08775	0.368625	0.339
48	200	0.08775	0.368625	0.344
48	200	0.08775	0.368625	0.308
48	200	0.08775	0.368625	0.306
48	250	0.08775	0.368625	0.327
48	250	0.08775	0.368625	0.322
48	250	0.08775	0.368625	0.335

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
48	300	0.08775	0.368625	0.358
48	300	0.08775	0.368625	0.317
48	300	0.08775	0.368625	0.309
48	Control positivo	0.08775	0.368625	0.092
48	Control positivo	0.08775	0.368625	0.098
48	Control positivo	0.08775	0.368625	0.094
72	0	0.08225	0.464	0.464
72	0	0.08225	0.464	0.464
72	0	0.08225	0.464	0.464
72	25	0.08225	0.464	0.471
72	25	0.08225	0.464	0.481
72	25	0.08225	0.464	0.5
72	50	0.08225	0.464	0.462
72	50	0.08225	0.464	0.442
72	50	0.08225	0.464	0.433
72	100	0.08225	0.464	0.483
72	100	0.08225	0.464	0.474
72	100	0.08225	0.464	0.415
72	150	0.08225	0.464	0.46
72	150	0.08225	0.464	0.417
72	150	0.08225	0.464	0.377
72	200	0.08225	0.464	0.453
72	200	0.08225	0.464	0.412
72	200	0.08225	0.464	0.397
72	250	0.08225	0.464	0.399
72	250	0.08225	0.464	0.354
72	250	0.08225	0.464	0.375
72	300	0.08225	0.464	0.409
72	300	0.08225	0.464	0.404
72	300	0.08225	0.464	0.397
72	Control positivo	0.08225	0.464	0.093
72	Control positivo	0.08225	0.464	0.09
72	Control positivo	0.08225	0.464	0.094

P. djamor

24	0	0.0471	0.841125	0.841125
24	0	0.0471	0.841125	0.841125
24	0	0.0471	0.841125	0.841125
24	25	0.0471	0.841125	0.799
24	25	0.0471	0.841125	0.824
24	25	0.0471	0.841125	0.87
24	50	0.0471	0.841125	1.062
24	50	0.0471	0.841125	1.102
24	50	0.0471	0.841125	1.05
24	100	0.0471	0.841125	0.973
24	100	0.0471	0.841125	0.868
24	100	0.0471	0.841125	0.955
24	150	0.0471	0.841125	0.922
24	150	0.0471	0.841125	0.983
24	150	0.0471	0.841125	0.999
24	200	0.0471	0.841125	0.856
24	200	0.0471	0.841125	0.883

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
24	200	0.0471	0.841125	0.821
24	250	0.0471	0.841125	0.859
24	250	0.0471	0.841125	0.991
24	250	0.0471	0.841125	0.948
24	300	0.0471	0.841125	0.709
24	300	0.0471	0.841125	0.946
24	300	0.0471	0.841125	0.875
24	Control positivo	0.0471	0.841125	0.07
24	Control positivo	0.0471	0.841125	0.114
24	Control positivo	0.0471	0.841125	0.098
48	0	0.08775	0.368625	0.368625
48	0	0.08775	0.368625	0.368625
48	0	0.08775	0.368625	0.368625
48	25	0.08775	0.368625	0.391
48	25	0.08775	0.368625	0.432
48	25	0.08775	0.368625	0.472
48	50	0.08775	0.368625	0.53
48	50	0.08775	0.368625	0.519
48	50	0.08775	0.368625	0.502
48	100	0.08775	0.368625	0.452
48	100	0.08775	0.368625	0.437
48	100	0.08775	0.368625	0.454
48	150	0.08775	0.368625	0.488
48	150	0.08775	0.368625	0.516
48	150	0.08775	0.368625	0.435
48	200	0.08775	0.368625	0.405
48	200	0.08775	0.368625	0.39
48	200	0.08775	0.368625	0.414
48	250	0.08775	0.368625	0.428
48	250	0.08775	0.368625	0.488
48	250	0.08775	0.368625	0.447
48	300	0.08775	0.368625	0.411
48	300	0.08775	0.368625	0.427
48	300	0.08775	0.368625	0.479
48	Control positivo	0.08775	0.368625	0.094
48	Control positivo	0.08775	0.368625	0.092
48	Control positivo	0.08775	0.368625	0.093
72	0	0.08225	0.464	0.464
72	0	0.08225	0.464	0.464
72	0	0.08225	0.464	0.464
72	25	0.08225	0.464	0.457
72	25	0.08225	0.464	0.398
72	25	0.08225	0.464	0.392
72	50	0.08225	0.464	0.494
72	50	0.08225	0.464	0.498
72	50	0.08225	0.464	0.509
72	100	0.08225	0.464	0.445
72	100	0.08225	0.464	0.469
72	100	0.08225	0.464	0.492
72	150	0.08225	0.464	0.372
72	150	0.08225	0.464	0.429
72	150	0.08225	0.464	0.426

Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
72	200	0.08225	0.464	0.411
72	200	0.08225	0.464	0.427
72	200	0.08225	0.464	0.417
72	250	0.08225	0.464	0.469
72	250	0.08225	0.464	0.081
72	250	0.08225	0.464	0.58
72	300	0.08225	0.464	0.474
72	300	0.08225	0.464	0.538
72	300	0.08225	0.464	0.535
72	Control positivo	0.08225	0.464	0.098
72	Control positivo	0.08225	0.464	0.093
72	Control positivo	0.08225	0.464	0.095

Evaluación de la citotoxicidad en líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1

Cuadro 19. Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción acuosa de *C. cibarius* y *P. djamor* en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>					
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.086125	0.117675	0.087
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.086125	0.117675	0.088
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.086125	0.117675	0.088
SH-SY5Y	24	0	0.086125	0.117675	0.117675
SH-SY5Y	24	0	0.086125	0.117675	0.117675
SH-SY5Y	24	0	0.086125	0.117675	0.117675
SH-SY5Y	24	100	0.086125	0.117675	0.138
SH-SY5Y	24	100	0.086125	0.117675	0.129
SH-SY5Y	24	100	0.086125	0.117675	0.134
SH-SY5Y	24	200	0.086125	0.117675	0.127
SH-SY5Y	24	200	0.086125	0.117675	0.128
SH-SY5Y	24	200	0.086125	0.117675	0.119
SH-SY5Y	24	300	0.086125	0.117675	0.124
SH-SY5Y	24	300	0.086125	0.117675	0.128
SH-SY5Y	24	300	0.086125	0.117675	0.119
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.038125	0.25025	0.043
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.038125	0.25025	0.040
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.038125	0.25025	0.041
SH-SY5Y	48	0	0.038125	0.25025	0.25025
SH-SY5Y	48	0	0.038125	0.25025	0.25025
SH-SY5Y	48	0	0.038125	0.25025	0.25025
SH-SY5Y	48	100	0.038125	0.25025	0.227
SH-SY5Y	48	100	0.038125	0.25025	0.193
SH-SY5Y	48	100	0.038125	0.25025	0.195

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
SH-SY5Y	48	200	0.038125	0.25025	0.099
SH-SY5Y	48	200	0.038125	0.25025	0.091
SH-SY5Y	48	200	0.038125	0.25025	0.095
SH-SY5Y	48	300	0.038125	0.25025	0.096
SH-SY5Y	48	300	0.038125	0.25025	0.096
SH-SY5Y	48	300	0.038125	0.25025	0.095
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.0757	0.33875	0.086
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.0757	0.33875	0.089
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.0757	0.33875	0.083
SH-SY5Y	72	0	0.0757	0.33875	0.33875
SH-SY5Y	72	0	0.0757	0.33875	0.33875
SH-SY5Y	72	0	0.0757	0.33875	0.33875
SH-SY5Y	72	100	0.0757	0.33875	0.338
SH-SY5Y	72	100	0.0757	0.33875	0.283
SH-SY5Y	72	100	0.0757	0.33875	0.303
SH-SY5Y	72	200	0.0757	0.33875	0.305
SH-SY5Y	72	200	0.0757	0.33875	0.257
SH-SY5Y	72	200	0.0757	0.33875	0.270
SH-SY5Y	72	300	0.0757	0.33875	0.275
SH-SY5Y	72	300	0.0757	0.33875	0.270
SH-SY5Y	72	300	0.0757	0.33875	0.242

P. djamor

SH-SY5Y	24	Control positivo	0.086125	0.117675	0.087
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.086125	0.117675	0.088
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.086125	0.117675	0.088
SH-SY5Y	24	0	0.086125	0.117675	0.117675
SH-SY5Y	24	0	0.086125	0.117675	0.117675
SH-SY5Y	24	0	0.086125	0.117675	0.117675
SH-SY5Y	24	100	0.086125	0.117675	0.115
SH-SY5Y	24	100	0.086125	0.117675	0.118
SH-SY5Y	24	100	0.086125	0.117675	0.131
SH-SY5Y	24	200	0.086125	0.117675	0.118
SH-SY5Y	24	200	0.086125	0.117675	0.121
SH-SY5Y	24	200	0.086125	0.117675	0.123
SH-SY5Y	24	300	0.086125	0.117675	0.109
SH-SY5Y	24	300	0.086125	0.117675	0.113
SH-SY5Y	24	300	0.086125	0.117675	0.112
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.038125	0.25025	0.043
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.038125	0.25025	0.040
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.038125	0.25025	0.041
SH-SY5Y	48	0	0.038125	0.25025	0.25025
SH-SY5Y	48	0	0.038125	0.25025	0.25025
SH-SY5Y	48	0	0.038125	0.25025	0.25025
SH-SY5Y	48	100	0.038125	0.25025	0.096
SH-SY5Y	48	100	0.038125	0.25025	0.093
SH-SY5Y	48	100	0.038125	0.25025	0.093
SH-SY5Y	48	200	0.038125	0.25025	0.094
SH-SY5Y	48	200	0.038125	0.25025	0.090
SH-SY5Y	48	200	0.038125	0.25025	0.092
SH-SY5Y	48	300	0.038125	0.25025	0.092
SH-SY5Y	48	300	0.038125	0.25025	0.088

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
SH-SY5Y	48	300	0.038125	0.25025	0.091
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.0757	0.33875	0.086
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.0757	0.33875	0.089
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.0757	0.33875	0.083
SH-SY5Y	72	0	0.0757	0.33875	0.33875
SH-SY5Y	72	0	0.0757	0.33875	0.33875
SH-SY5Y	72	0	0.0757	0.33875	0.33875
SH-SY5Y	72	100	0.0757	0.33875	0.189
SH-SY5Y	72	100	0.0757	0.33875	0.162
SH-SY5Y	72	100	0.0757	0.33875	0.179
SH-SY5Y	72	200	0.0757	0.33875	0.290
SH-SY5Y	72	200	0.0757	0.33875	0.254
SH-SY5Y	72	200	0.0757	0.33875	0.276
SH-SY5Y	72	300	0.0757	0.33875	0.087
SH-SY5Y	72	300	0.0757	0.33875	0.085
SH-SY5Y	72	300	0.0757	0.33875	0.106

Cuadro 20. Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción acuosa de *C. cibarius* y *P. djamor* en la línea de neuroblastoma LAN-1

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>					
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0844
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.091
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.092
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.090
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.098
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.097
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.098
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.092
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.092
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.090
LAN-1	48	Control positivo	0.038125	0.148	0.042
LAN-1	48	Control positivo	0.038125	0.148	0.040
LAN-1	48	Control positivo	0.038125	0.148	0.041
LAN-1	48	0	0.038125	0.148	0.148
LAN-1	48	0	0.038125	0.148	0.148
LAN-1	48	0	0.038125	0.148	0.148
LAN-1	48	100	0.038125	0.148	0.124
LAN-1	48	100	0.038125	0.148	0.125
LAN-1	48	100	0.038125	0.148	0.114
LAN-1	48	200	0.038125	0.148	0.138
LAN-1	48	200	0.038125	0.148	0.129
LAN-1	48	200	0.038125	0.148	0.131
LAN-1	48	300	0.038125	0.148	0.122

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
LAN-1	48	300	0.038125	0.148	0.128
LAN-1	48	300	0.038125	0.148	0.117
LAN-1	72	Control positivo	0.0757	0.171	0.080
LAN-1	72	Control positivo	0.0757	0.171	0.082
LAN-1	72	Control positivo	0.0757	0.171	0.083
LAN-1	72	0	0.0757	0.171	0.171
LAN-1	72	0	0.0757	0.171	0.171
LAN-1	72	0	0.0757	0.171	0.171
LAN-1	72	100	0.0757	0.171	0.166
LAN-1	72	100	0.0757	0.171	0.172
LAN-1	72	100	0.0757	0.171	0.174
LAN-1	72	200	0.0757	0.171	0.164
LAN-1	72	200	0.0757	0.171	0.161
LAN-1	72	200	0.0757	0.171	0.153
LAN-1	72	300	0.0757	0.171	0.158
LAN-1	72	300	0.0757	0.171	0.155
LAN-1	72	300	0.0757	0.171	0.141

P. djamor

LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0844
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.091
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.094
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.092
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.090
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.091
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.092
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.090
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.092
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.091
LAN-1	48	Control positivo	0.038125	0.148	0.042
LAN-1	48	Control positivo	0.038125	0.148	0.040
LAN-1	48	Control positivo	0.038125	0.148	0.041
LAN-1	48	0	0.038125	0.148	0.148
LAN-1	48	0	0.038125	0.148	0.148
LAN-1	48	0	0.038125	0.148	0.148
LAN-1	48	100	0.038125	0.148	0.118
LAN-1	48	100	0.038125	0.148	0.118
LAN-1	48	100	0.038125	0.148	0.125
LAN-1	48	200	0.038125	0.148	0.128
LAN-1	48	200	0.038125	0.148	0.132
LAN-1	48	200	0.038125	0.148	0.132
LAN-1	48	300	0.038125	0.148	0.109
LAN-1	48	300	0.038125	0.148	0.123
LAN-1	48	300	0.038125	0.148	0.131
LAN-1	72	Control positivo	0.0757	0.171	0.080
LAN-1	72	Control positivo	0.0757	0.171	0.082
LAN-1	72	Control positivo	0.0757	0.171	0.083

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
LAN-1	72	0	0.0757	0.171	0.171
LAN-1	72	0	0.0757	0.171	0.171
LAN-1	72	0	0.0757	0.171	0.171
LAN-1	72	100	0.0757	0.171	0.147
LAN-1	72	100	0.0757	0.171	0.147
LAN-1	72	100	0.0757	0.171	0.162
LAN-1	72	200	0.0757	0.171	0.129
LAN-1	72	200	0.0757	0.171	0.138
LAN-1	72	200	0.0757	0.171	0.130
LAN-1	72	300	0.0757	0.171	0.117
LAN-1	72	300	0.0757	0.171	0.128
LAN-1	72	300	0.0757	0.171	0.113

Cuadro 21. Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>					
SH-SY5Y	24	Control positivo	0,0973	0,411	40,000
SH-SY5Y	24	Control positivo	0,0973	0,411	0,0890
SH-SY5Y	24	Control positivo	0,0973	0,411	0,0960
SH-SY5Y	24	0	0,0973	0,411	0,411
SH-SY5Y	24	0	0,0973	0,411	0,411
SH-SY5Y	24	0	0,0973	0,411	0,411
SH-SY5Y	24	100	0,0973	0,411	0,350
SH-SY5Y	24	100	0,0973	0,411	0,371
SH-SY5Y	24	100	0,0973	0,411	0,471
SH-SY5Y	24	200	0,0973	0,411	0,330
SH-SY5Y	24	200	0,0973	0,411	0,350
SH-SY5Y	24	200	0,0973	0,411	0,356
SH-SY5Y	24	300	0,0973	0,411	0,289
SH-SY5Y	24	300	0,0973	0,411	0,329
SH-SY5Y	24	300	0,0973	0,411	0,298
SH-SY5Y	48	Control positivo	0,101	0,436	0,0820
SH-SY5Y	48	Control positivo	0,101	0,436	0,0860
SH-SY5Y	48	Control positivo	0,101	0,436	0,0830
SH-SY5Y	48	0	0,101	0,436	0,436
SH-SY5Y	48	0	0,101	0,436	0,436
SH-SY5Y	48	0	0,101	0,436	0,436
SH-SY5Y	48	100	0,101	0,436	0,427
SH-SY5Y	48	100	0,101	0,436	0,443
SH-SY5Y	48	100	0,101	0,436	0,394
SH-SY5Y	48	200	0,101	0,436	0,414
SH-SY5Y	48	200	0,101	0,436	0,388
SH-SY5Y	48	200	0,101	0,436	0,433
SH-SY5Y	48	300	0,101	0,436	0,393
SH-SY5Y	48	300	0,101	0,436	0,353
SH-SY5Y	48	300	0,101	0,436	0,384
SH-SY5Y	72	Control positivo	0,092	0,59825	0,105
SH-SY5Y	72	Control positivo	0,092	0,59825	0,105

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
SH-SY5Y	72	Control positivo	0,092	0,59825	0,113
SH-SY5Y	72	0	0,092	0,59825	0,59825
SH-SY5Y	72	0	0,092	0,59825	0,59825
SH-SY5Y	72	0	0,092	0,59825	0,59825
SH-SY5Y	72	100	0,092	0,59825	0,707
SH-SY5Y	72	100	0,092	0,59825	0,727
SH-SY5Y	72	100	0,092	0,59825	0,665
SH-SY5Y	72	200	0,092	0,59825	0,714
SH-SY5Y	72	200	0,092	0,59825	0,567
SH-SY5Y	72	200	0,092	0,59825	0,586
SH-SY5Y	72	300	0,092	0,59825	0,565
SH-SY5Y	72	300	0,092	0,59825	0,553
SH-SY5Y	72	300	0,092	0,59825	0,605

P. djamor

SH-SY5Y	24	Control positivo	0,0973	0,411	40,000
SH-SY5Y	24	Control positivo	0,0973	0,411	0,0890
SH-SY5Y	24	Control positivo	0,0973	0,411	0,0960
SH-SY5Y	24	0	0,0973	0,411	0,411
SH-SY5Y	24	0	0,0973	0,411	0,411
SH-SY5Y	24	0	0,0973	0,411	0,411
SH-SY5Y	24	100	0,110	0,211	0,209
SH-SY5Y	24	100	0,110	0,211	0,197
SH-SY5Y	24	100	0,110	0,211	0,203
SH-SY5Y	24	200	0,110	0,211	0,166
SH-SY5Y	24	200	0,110	0,211	0,169
SH-SY5Y	24	200	0,110	0,211	0,158
SH-SY5Y	24	300	0,110	0,211	0,147
SH-SY5Y	24	300	0,110	0,211	0,155
SH-SY5Y	24	300	0,110	0,211	0,158
SH-SY5Y	48	Control positivo	0,101	0,436	0,0820
SH-SY5Y	48	Control positivo	0,101	0,436	0,0860
SH-SY5Y	48	Control positivo	0,101	0,436	0,0830
SH-SY5Y	48	0	0,101	0,436	0,436
SH-SY5Y	48	0	0,101	0,436	0,436
SH-SY5Y	48	0	0,101	0,436	0,436
SH-SY5Y	48	100	0,109	0,300	0,267
SH-SY5Y	48	100	0,109	0,300	0,276
SH-SY5Y	48	100	0,109	0,300	0,264
SH-SY5Y	48	200	0,109	0,300	0,226
SH-SY5Y	48	200	0,109	0,300	0,254
SH-SY5Y	48	200	0,109	0,300	0,241
SH-SY5Y	48	300	0,109	0,300	0,225
SH-SY5Y	48	300	0,109	0,300	0,211
SH-SY5Y	48	300	0,109	0,300	0,229
SH-SY5Y	72	Control positivo	0,092	0,59825	0,105
SH-SY5Y	72	Control positivo	0,092	0,59825	0,105
SH-SY5Y	72	Control positivo	0,092	0,59825	0,113
SH-SY5Y	72	0	0,092	0,59825	0,59825
SH-SY5Y	72	0	0,092	0,59825	0,59825
SH-SY5Y	72	0	0,092	0,59825	0,59825
SH-SY5Y	72	100	0,124	0,645	0,415

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
SH-SY5Y	72	100	0,124	0,645	0,411
SH-SY5Y	72	100	0,124	0,645	0,417
SH-SY5Y	72	200	0,124	0,645	0,390
SH-SY5Y	72	200	0,124	0,645	0,403
SH-SY5Y	72	200	0,124	0,645	0,424
SH-SY5Y	72	300	0,124	0,645	0,328
SH-SY5Y	72	300	0,124	0,645	0,339
SH-SY5Y	72	300	0,124	0,645	0,326

Cuadro 22. Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* en la línea de neuroblastoma LAN-1

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>					
LAN-1	24	Control positivo	0,0880	0,333	0,0900
LAN-1	24	Control positivo	0,0880	0,333	0,0790
LAN-1	24	Control positivo	0,0880	0,333	0,0830
LAN-1	24	0	0,088	0,333	0,333
LAN-1	24	0	0,088	0,333	0,333
LAN-1	24	0	0,088	0,333	0,333
LAN-1	24	100	0,088	0,333	0,287
LAN-1	24	100	0,088	0,333	0,374
LAN-1	24	100	0,088	0,333	0,456
LAN-1	24	200	0,088	0,333	0,249
LAN-1	24	200	0,088	0,333	0,234
LAN-1	24	200	0,088	0,333	0,275
LAN-1	24	300	0,088	0,333	0,196
LAN-1	24	300	0,088	0,333	0,190
LAN-1	24	300	0,088	0,333	0,197
LAN-1	48	Control positivo	0,0978	0,487	0,0970
LAN-1	48	Control positivo	0,0978	0,487	0,100
LAN-1	48	Control positivo	0,0978	0,487	0,0970
LAN-1	48	0	0,0978	0,487	0,487
LAN-1	48	0	0,0978	0,487	0,487
LAN-1	48	0	0,0978	0,487	0,487
LAN-1	48	100	0,0978	0,487	0,499
LAN-1	48	100	0,0978	0,487	0,441
LAN-1	48	100	0,0978	0,487	0,446
LAN-1	48	200	0,0978	0,487	0,415
LAN-1	48	200	0,0978	0,487	0,406
LAN-1	48	200	0,0978	0,487	0,445
LAN-1	48	300	0,0978	0,487	0,342
LAN-1	48	300	0,0978	0,487	0,334
LAN-1	48	300	0,0978	0,487	0,372
LAN-1	72	Control positivo	0,0760	0,651	0,0820
LAN-1	72	Control positivo	0,0760	0,651	0,0860
LAN-1	72	Control positivo	0,0760	0,651	0,0840
LAN-1	72	0	0,0760	0,651	0,651
LAN-1	72	0	0,0760	0,651	0,651
LAN-1	72	0	0,0760	0,651	0,651

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
LAN-1	72	100	0,0760	0,651	0,648
LAN-1	72	100	0,0760	0,651	0,676
LAN-1	72	100	0,0760	0,651	0,662
LAN-1	72	200	0,0760	0,651	0,680
LAN-1	72	200	0,0760	0,651	0,613
LAN-1	72	200	0,0760	0,651	0,614
LAN-1	72	300	0,0760	0,651	0,564
LAN-1	72	300	0,0760	0,651	0,486
LAN-1	72	300	0,0760	0,651	0,534

P. djamor

LAN-1	24	Control positivo	0,0880	0,333	0,0900
LAN-1	24	Control positivo	0,0880	0,333	0,0790
LAN-1	24	Control positivo	0,0880	0,333	0,0830
LAN-1	24	0	0,088	0,333	0,333
LAN-1	24	0	0,088	0,333	0,333
LAN-1	24	0	0,088	0,333	0,333
LAN-1	24	100	0,0973	0,427	0,505
LAN-1	24	100	0,0973	0,427	0,443
LAN-1	24	100	0,0973	0,427	0,661
LAN-1	24	200	0,0973	0,427	0,418
LAN-1	24	200	0,0973	0,427	0,434
LAN-1	24	200	0,0973	0,427	0,513
LAN-1	24	300	0,0973	0,427	0,400
LAN-1	24	300	0,0973	0,427	0,367
LAN-1	24	300	0,0973	0,427	0,419
LAN-1	48	Control positivo	0,0978	0,487	0,0970
LAN-1	48	Control positivo	0,0978	0,487	0,100
LAN-1	48	Control positivo	0,0978	0,487	0,0970
LAN-1	48	0	0,0978	0,487	0,487
LAN-1	48	0	0,0978	0,487	0,487
LAN-1	48	0	0,0978	0,487	0,487
LAN-1	48	100	0,0741	0,817	0,813
LAN-1	48	100	0,0741	0,817	0,849
LAN-1	48	100	0,0741	0,817	0,803
LAN-1	48	200	0,0741	0,817	0,712
LAN-1	48	200	0,0741	0,817	0,998
LAN-1	48	200	0,0741	0,817	1,05
LAN-1	48	300	0,0741	0,817	0,695
LAN-1	48	300	0,0741	0,817	0,731
LAN-1	48	300	0,0741	0,817	0,811
LAN-1	72	Control positivo	0,0760	0,651	0,0820
LAN-1	72	Control positivo	0,0760	0,651	0,0860
LAN-1	72	Control positivo	0,0760	0,651	0,0840
LAN-1	72	0	0,0760	0,651	0,651
LAN-1	72	0	0,0760	0,651	0,651
LAN-1	72	0	0,0760	0,651	0,651
LAN-1	72	100	0,148	1,19	1,20
LAN-1	72	100	0,148	1,19	1,88
LAN-1	72	100	0,148	1,19	1,02
LAN-1	72	200	0,148	1,19	0,777
LAN-1	72	200	0,148	1,19	0,879

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
LAN-1	72	200	0,148	1,19	0,915
LAN-1	72	300	0,148	1,19	0,760
LAN-1	72	300	0,148	1,19	0,851
LAN-1	72	300	0,148	1,19	0,759

Cuadro 23. Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción lipofílica de *C. cibarius* y *P. djamor* en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>					
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.085875	0.093625	0.0863
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.085875	0.093625	0.0862
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.085875	0.093625	0.0862
SH-SY5Y	24	0	0.085875	0.093625	0.093625
SH-SY5Y	24	0	0.085875	0.093625	0.093625
SH-SY5Y	24	0	0.085875	0.093625	0.093625
SH-SY5Y	24	100	0.085875	0.093625	0.100
SH-SY5Y	24	100	0.085875	0.093625	0.098
SH-SY5Y	24	100	0.085875	0.093625	0.0986
SH-SY5Y	24	200	0.085875	0.093625	0.093
SH-SY5Y	24	200	0.085875	0.093625	0.092
SH-SY5Y	24	200	0.085875	0.093625	0.0928
SH-SY5Y	24	300	0.085875	0.093625	0.092
SH-SY5Y	24	300	0.085875	0.093625	0.092
SH-SY5Y	24	300	0.085875	0.093625	0.090
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.07	0.09275	0.0715
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.07	0.09275	0.0714
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.07	0.09275	0.0711
SH-SY5Y	48	0	0.07	0.09275	0.09275
SH-SY5Y	48	0	0.07	0.09275	0.09275
SH-SY5Y	48	0	0.07	0.09275	0.09275
SH-SY5Y	48	100	0.07	0.09275	0.085
SH-SY5Y	48	100	0.07	0.09275	0.082
SH-SY5Y	48	100	0.07	0.09275	0.081
SH-SY5Y	48	200	0.07	0.09275	0.082
SH-SY5Y	48	200	0.07	0.09275	0.084
SH-SY5Y	48	200	0.07	0.09275	0.082
SH-SY5Y	48	300	0.07	0.09275	0.0787
SH-SY5Y	48	300	0.07	0.09275	0.0782
SH-SY5Y	48	300	0.07	0.09275	0.0787
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.08125	0.10325	0.082
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.08125	0.10325	0.083
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.08125	0.10325	0.082
SH-SY5Y	72	0	0.08125	0.10325	0.10325
SH-SY5Y	72	0	0.08125	0.10325	0.10325
SH-SY5Y	72	0	0.08125	0.10325	0.10325
SH-SY5Y	72	100	0.08125	0.10325	0.110
SH-SY5Y	72	100	0.08125	0.10325	0.102
SH-SY5Y	72	100	0.08125	0.10325	0.105
SH-SY5Y	72	200	0.08125	0.10325	0.095

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
SH-SY5Y	72	200	0.08125	0.10325	0.099
SH-SY5Y	72	200	0.08125	0.10325	0.095
SH-SY5Y	72	300	0.08125	0.10325	0.091
SH-SY5Y	72	300	0.08125	0.10325	0.088
SH-SY5Y	72	300	0.08125	0.10325	0.088

P. djamor

SH-SY5Y	24	Control positivo	0.085875	0.093625	0.0863
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.085875	0.093625	0.0862
SH-SY5Y	24	Control positivo	0.085875	0.093625	0.0862
SH-SY5Y	24	0	0.085875	0.093625	0.093625
SH-SY5Y	24	0	0.085875	0.093625	0.093625
SH-SY5Y	24	0	0.085875	0.093625	0.093625
SH-SY5Y	24	100	0.085875	0.093625	0.0895
SH-SY5Y	24	100	0.085875	0.093625	0.0893
SH-SY5Y	24	100	0.085875	0.093625	0.0890
SH-SY5Y	24	200	0.085875	0.093625	0.091
SH-SY5Y	24	200	0.085875	0.093625	0.090
SH-SY5Y	24	200	0.085875	0.093625	0.089
SH-SY5Y	24	300	0.085875	0.093625	0.088
SH-SY5Y	24	300	0.085875	0.093625	0.0878
SH-SY5Y	24	300	0.085875	0.093625	0.0879
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.07	0.09275	0.0715
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.07	0.09275	0.0714
SH-SY5Y	48	Control positivo	0.07	0.09275	0.0711
SH-SY5Y	48	0	0.07	0.09275	0.09275
SH-SY5Y	48	0	0.07	0.09275	0.09275
SH-SY5Y	48	0	0.07	0.09275	0.09275
SH-SY5Y	48	100	0.07	0.09275	0.083
SH-SY5Y	48	100	0.07	0.09275	0.083
SH-SY5Y	48	100	0.07	0.09275	0.085
SH-SY5Y	48	200	0.07	0.09275	0.083
SH-SY5Y	48	200	0.07	0.09275	0.084
SH-SY5Y	48	200	0.07	0.09275	0.083
SH-SY5Y	48	300	0.07	0.09275	0.095
SH-SY5Y	48	300	0.07	0.09275	0.0886
SH-SY5Y	48	300	0.07	0.09275	0.094
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.08125	0.10325	0.082
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.08125	0.10325	0.083
SH-SY5Y	72	Control positivo	0.08125	0.10325	0.082
SH-SY5Y	72	0	0.08125	0.10325	0.10325
SH-SY5Y	72	0	0.08125	0.10325	0.10325
SH-SY5Y	72	0	0.08125	0.10325	0.10325
SH-SY5Y	72	100	0.08125	0.10325	0.099
SH-SY5Y	72	100	0.08125	0.10325	0.095
SH-SY5Y	72	100	0.08125	0.10325	0.095
SH-SY5Y	72	200	0.08125	0.10325	0.089
SH-SY5Y	72	200	0.08125	0.10325	0.091
SH-SY5Y	72	200	0.08125	0.10325	0.091
SH-SY5Y	72	300	0.08125	0.10325	0.095
SH-SY5Y	72	300	0.08125	0.10325	0.092
SH-SY5Y	72	300	0.08125	0.10325	0.091

Cuadro 24. Viabilidad celular determinada mediante el ensayo MTT tras la exposición a la fracción lipofílica de *C. cibarius* y *P. djamor* en la línea de neuroblastoma LAN-1

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
<i>C. cibarius</i>					
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0845
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.101
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.1011
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.102
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.0903
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.091
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.0919
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.098
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.097
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.0975
LAN-1	48	Control positivo	0.06825	0.10775	0.071
LAN-1	48	Control positivo	0.06825	0.10775	0.07
LAN-1	48	Control positivo	0.06825	0.10775	0.0711
LAN-1	48	0	0.06825	0.10775	0.10775
LAN-1	48	0	0.06825	0.10775	0.10775
LAN-1	48	0	0.06825	0.10775	0.10775
LAN-1	48	100	0.06825	0.10775	0.095
LAN-1	48	100	0.06825	0.10775	0.098
LAN-1	48	100	0.06825	0.10775	0.098
LAN-1	48	200	0.06825	0.10775	0.099
LAN-1	48	200	0.06825	0.10775	0.094
LAN-1	48	200	0.06825	0.10775	0.089
LAN-1	48	300	0.06825	0.10775	0.103
LAN-1	48	300	0.06825	0.10775	0.104
LAN-1	48	300	0.06825	0.10775	0.099
LAN-1	72	Control positivo	0.085	0.10825	0.086
LAN-1	72	Control positivo	0.085	0.10825	0.086
LAN-1	72	Control positivo	0.085	0.10825	0.087
LAN-1	72	0	0.085	0.10825	0.10825
LAN-1	72	0	0.085	0.10825	0.10825
LAN-1	72	0	0.085	0.10825	0.10825
LAN-1	72	100	0.085	0.10825	0.102
LAN-1	72	100	0.085	0.10825	0.103
LAN-1	72	100	0.085	0.10825	0.103
LAN-1	72	200	0.085	0.10825	0.111
LAN-1	72	200	0.085	0.10825	0.107
LAN-1	72	200	0.085	0.10825	0.105
LAN-1	72	300	0.085	0.10825	0.102
LAN-1	72	300	0.085	0.10825	0.102
LAN-1	72	300	0.085	0.10825	0.102
<i>P. djamor</i>					
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0845

Línea celular	Tiempo (h)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Abs. blanco	Abs. control neg.	Abs. muestra
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	Control positivo	0.084	0.0935	0.0843
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	0	0.084	0.0935	0.0935
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.098
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.099
LAN-1	24	100	0.084	0.0935	0.1
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.103
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.1
LAN-1	24	200	0.084	0.0935	0.102
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.099
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.098
LAN-1	24	300	0.084	0.0935	0.1
LAN-1	48	Control positivo	0.06825	0.10775	0.071
LAN-1	48	Control positivo	0.06825	0.10775	0.07
LAN-1	48	Control positivo	0.06825	0.10775	0.0711
LAN-1	48	0	0.06825	0.10775	0.10775
LAN-1	48	0	0.06825	0.10775	0.10775
LAN-1	48	0	0.06825	0.10775	0.10775
LAN-1	48	100	0.06825	0.10775	0.1
LAN-1	48	100	0.06825	0.10775	0.101
LAN-1	48	100	0.06825	0.10775	0.097
LAN-1	48	200	0.06825	0.10775	0.096
LAN-1	48	200	0.06825	0.10775	0.092
LAN-1	48	200	0.06825	0.10775	0.093
LAN-1	48	300	0.06825	0.10775	0.092
LAN-1	48	300	0.06825	0.10775	0.091
LAN-1	48	300	0.06825	0.10775	0.09
LAN-1	72	Control positivo	0.085	0.10825	0.086
LAN-1	72	Control positivo	0.085	0.10825	0.086
LAN-1	72	Control positivo	0.085	0.10825	0.087
LAN-1	72	0	0.085	0.10825	0.10825
LAN-1	72	0	0.085	0.10825	0.10825
LAN-1	72	0	0.085	0.10825	0.10825
LAN-1	72	100	0.085	0.10825	0.104
LAN-1	72	100	0.085	0.10825	0.1
LAN-1	72	100	0.085	0.10825	0.099
LAN-1	72	200	0.085	0.10825	0.097
LAN-1	72	200	0.085	0.10825	0.096
LAN-1	72	200	0.085	0.10825	0.096
LAN-1	72	300	0.085	0.10825	0.095
LAN-1	72	300	0.085	0.10825	0.098
LAN-1	72	300	0.085	0.10825	0.094

Resultados cuantificación ARN

Cuadro 25. Concentración y pureza de ARN extraído de líneas celulares tratadas con extractos fúngicos

Línea celular	Extracto fúngico	Especie fúngica	Tiempo (h)	Conc. ARN ($\mu\text{g/ml}$)	A260/280	A260/230
CHO	Control +		12	1019.9	1.80	0.91
CHO	Control -		12	550.4	1.69	0.16
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i>	12	591.4	1.70	0.57
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i>	12	498.5	1.66	0.32
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i>	12	867.1	1.71	0.26
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i>	12	1272.1	1.83	0.31
CHO	Lipofílico	<i>C. cibarius</i>	12	637.2	1.71	1.17
CHO	Lipofílico	<i>P. djamor</i>	12	669.6	1.71	0.29
CHO	Control +		24	491.0	2.31	1.20
CHO	Control -		24	262.1	1.85	0.96
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i>	24	447.5	2.29	2.60
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i>	24	472.3	2.33	7.06
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i>	24	1552.7	1.92	0.38
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i>	24	893.5	1.56	0.35
CHO	Lipofílico	<i>C. cibarius</i>	24	1064.1	1.98	0.31
CHO	Lipofílico	<i>P. djamor</i>	24	1344.2	2.10	0.37
SY5Y	Control +		12	1117.4	1.84	0.28
SY5Y	Control -		12	471.8	2.11	2.72
SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i>	12	1584.3	1.97	0.45
SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i>	12	1208.8	1.85	0.28
SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i>	12	2092.0	2.26	0.78
SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i>	12	3150.1	2.00	0.40
SY5Y	Lipofílico	<i>C. cibarius</i>	12	66.9	1.96	35.88
SY5Y	Lipofílico	<i>P. djamor</i>	12	111.7	1.93	-4.22
SY5Y	Control +		24	1003.4	1.96	0.32
SY5Y	Control -		24	427.6	2.29	1.05
SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i>	24	588.6	1.82	0.15
SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i>	24	987.8	1.96	0.28
SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i>	24	1794.5	2.19	0.42
SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i>	24	4216.0	2.26	0.56
SY5Y	Lipofílico	<i>C. cibarius</i>	24	382.0	2.20	1.91
SY5Y	Lipofílico	<i>P. djamor</i>	24	95.9	1.83	0.12
LAN-1	Control +		12	650.7	1.72	0.17
LAN-1	Control -		12	469.0	2.13	4.13

Línea celular	Extracto fúngico	Especie fúngica	Tiempo (h)	Conc. ARN ($\mu\text{g/ml}$)	A260/280	A260/230
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i>	12	314.1	1.93	0.99
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i>	12	255.3	1.81	0.38
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i>	12	1091.5	1.67	0.28
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i>	12	913.0	1.65	0.23
LAN-1	Lipofílico	<i>C. cibarius</i>	12	283.5	1.89	1.31
LAN-1	Lipofílico	<i>P. djamor</i>	12	401.9	2.03	0.85
LAN-1	Control +		24	240.5	2.01	0.50
LAN-1	Control -		24	102.1	1.68	0.19
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i>	24	257.8	2.06	2.32
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i>	24	424.7	1.97	1.06
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i>	24	857.3	1.57	0.24
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i>	24	898.3	1.43	0.27
LAN-1	Lipofílico	<i>C. cibarius</i>	24	273.9	1.87	0.73
LAN-1	Lipofílico	<i>P. djamor</i>	24	432.6	2.30	1.93

Resultados de amplificación génica mediante RT-qPCR

Cuadro 26. Secuencias de cebadores utilizados para la amplificación de genes relacionados con apoptosis y necroptosis mediante RT-qPCR

Gen	Secuencia Cebador Forward	Secuencia Cebador Reverse	T° alineamiento	Referencia
CASP8	5'-AGAAGAGGGTCATCCT GGGAGA-3'	5'-TCAGGACTTCCTTCAA GGCTGC-3'	60 °C	Bala et al., 2022
CASP9	5'-GTTTGAGGACCTTCGA CCAGCT-3'	5'-CAACGTACCAGGAGCC ACTCTT-3'	60 °C	Bala et al., 2022
CASP3	5'-GGAAGCGAATCAATGG ACTCTGG-3'	5'-GCATCGACATCTGTAC CAGACC-3'	60 °C	Bala et al., 2022
RIPK3	5'-CAAGGAGGGACAGAAA TGGA-3'	5'-TTGTGGAACCTGCTCC TCTT-3'	60 °C	Khorsandi et al., 2017
β -ACT	5'-ACAGAGCCTCGCCTTT GC-3'	5'-CGCGGCGAATCATCAT CCA-3'	60 °C	Rácz et al., 2021

Cuadro 27. Valores de Ct del gen *caspasa-8* determinados por RT-qPCR en líneas celulares tratadas con extractos acuosos, etanólicos y lipofílicos de *C. cibarius* y *P. djamor*

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Cts Gen	Cts β -actina
CHO	Acuosa	Negativo (0 ug/ml)	28.71	21.55
CHO	Acuosa	Negativo (0 ug/ml)	28.63	21.55
CHO	Acuosa	Control positivo	31.91	30.22
CHO	Acuosa	Control positivo	31.91	30.09
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	28.21	25.07
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	28.24	25.14
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	30.71	27.09
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	30.71	26.86
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 ug/ml)	28.33	22.22
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 ug/ml)	28.26	21.89
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	33.54	35.13
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	34.57	35.13
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	30.31	26.09
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	31.37	26.13
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	32.02	28.62
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	31.94	28.66
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 ug/ml)	29.18	22.65

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Cts Gen	Cts β -actina
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 ug/ml)	29.38	22.66
LAN-1	Acuosa	Control positivo	33.45	34.42
LAN-1	Acuosa	Control positivo	34.02	34.42
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	29.65	23.28
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	29.78	23.33
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	30.54	25.81
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	30.43	25.78
CHO	Etanólica	Negativo (0 ug/ml)	39.84	25.11
CHO	Etanólica	Negativo (0 ug/ml)	38.50	25.12
CHO	Etanólica	Control positivo	37.07	26.61
CHO	Etanólica	Control positivo	34.98	27.18
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	0.00	25.40
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	0.00	25.07
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	0.00	24.97
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	0.00	24.83
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 ug/ml)	38.23	34.61
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 ug/ml)	39.03	35.95
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	37.07	37.87
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	39.01	38.19
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.60	37.03
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.35	36.61
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	36.01	33.58
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	37.07	38.07
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 ug/ml)	38.36	24.73
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 ug/ml)	38.01	24.67
LAN-1	Etanólica	Control positivo	37.07	25.01
LAN-1	Etanólica	Control positivo	37.01	25.03
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.56	31.12
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.58	31.12
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	36.22	31.51
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	37.38	32.30
CHO	Lipofílica	Negativo (0 ug/ml)	30.63	21.29
CHO	Lipofílica	Negativo (0 ug/ml)	30.02	21.29
CHO	Lipofílica	Control positivo	31.85	30.02
CHO	Lipofílica	Control positivo	31.57	29.90
CHO	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	31.10	24.20
CHO	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	30.68	24.18
CHO	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	31.48	26.42
CHO	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	31.85	26.10
SH-SY5Y	Lipofílica	Negativo (0 ug/ml)	28.16	21.49
SH-SY5Y	Lipofílica	Negativo (0 ug/ml)	28.07	21.49
SH-SY5Y	Lipofílica	Control positivo	32.40	33.29
SH-SY5Y	Lipofílica	Control positivo	32.37	33.29
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	27.97	26.13
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	28.01	26.11
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	29.58	27.94
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	29.76	28.16
LAN-1	Lipofílica	Negativo (0 ug/ml)	28.97	22.45
LAN-1	Lipofílica	Negativo (0 ug/ml)	28.93	22.48
LAN-1	Lipofílica	Control positivo	31.91	33.27
LAN-1	Lipofílica	Control positivo	32.29	33.22
LAN-1	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	28.88	27.39
LAN-1	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	28.45	27.44
LAN-1	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	30.13	28.91
LAN-1	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 ug/ml)	29.88	28.52

Cuadro 28. Valores de Ct obtenidos mediante RT-qPCR para la expresión de *caspasa-9* en diferentes líneas celulares tratadas con fracciones fúngicas

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
CHO	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	32.0653	21.55
CHO	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	32.9159	21.55
CHO	Acuosa	Control positivo	34.0998	30.22

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
CHO	Acuosa	Control positivo	33.7799	30.09
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.5419	25.07
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.5440	25.14
CHO	Acuosa	Pol <i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.0389	27.09
CHO	Acuosa	Pol <i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.0389	26.86
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	32.3643	22.22
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	31.4638	21.89
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	34.4401	35.13
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	33.5187	35.13
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.3471	26.09
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.5624	26.13
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	33.4698	28.62
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.5567	28.66
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	34.0203	22.65
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	33.1498	22.66
LAN-1	Acuosa	Control positivo	33.8067	34.42
LAN-1	Acuosa	Control positivo	34.2880	34.42
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	32.5958	23.28
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	32.6666	23.33
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	32.6305	25.81
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.0185	25.78
CHO	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.7896	25.11
CHO	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	39.0023	25.11
CHO	Etanólica	Control positivo	37.3426	26.61
CHO	Etanólica	Control positivo	37.9847	27.18
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	0.0000	25.40
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	0.0000	25.07
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	0.0000	24.97
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	0.0000	24.83
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.7600	34.61
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	39.0000	35.95
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	38.1015	37.87
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	38.3728	38.19
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.1002	37.03
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.1350	36.61
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.9800	38.07
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	35.0545	38.07
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	34.2152	24.73
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	34.4413	24.67
LAN-1	Etanólica	Control positivo	33.4163	25.01
LAN-1	Etanólica	Control positivo	33.3291	25.03
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	36.0776	32.10
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	35.9800	31.12
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	36.4901	31.51
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	36.5343	32.30
CHO	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	33.5058	21.29
CHO	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	33.5164	21.29
CHO	Lipofilica	Control positivo	33.9613	30.02
CHO	Lipofilica	Control positivo	33.7587	29.90
CHO	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	34.1854	24.20
CHO	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	32.7457	24.18
CHO	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.3192	26.10
CHO	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.3192	26.10
SH-SY5Y	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	32.1924	21.49
SH-SY5Y	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	32.1924	21.49
SH-SY5Y	Lipofilica	Control positivo	34.5080	33.29
SH-SY5Y	Lipofilica	Control positivo	34.5080	33.29
SH-SY5Y	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	34.0502	26.13
SH-SY5Y	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.8920	26.11
SH-SY5Y	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	33.6597	27.94
SH-SY5Y	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.1464	28.16
LAN-1	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	33.0129	22.45
LAN-1	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	33.0129	22.48
LAN-1	Lipofilica	Control positivo	33.7971	33.27
LAN-1	Lipofilica	Control positivo	33.7971	33.22
LAN-1	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.3178	27.39

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
LAN-1	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	34.3079	27.44
LAN-1	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.6581	28.91
LAN-1	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.3369	28.52

Cuadro 29. Valores de Ct obtenidos mediante RT-qPCR para la expresión del gen de la *caspasa-3* normalizado con β -actina en diferentes líneas celulares tratadas con fracciones fúngicas

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
CHO	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	24.1020568	23.24077875
CHO	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	24.1020568	23.24077875
CHO	Acuosa	Control positivo	23.7237978	29.48529078
CHO	Acuosa	Control positivo	23.7237978	29.48529078
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	26.42362177	27.90493054
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	25.78244986	27.90493054
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	27.37017058	28.15126268
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	26.42362177	28.15126268
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	24.2280952	27.5025175
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	24.2280952	27.5025175
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	23.9220745	30.0908231
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	23.9220745	30.0908231
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.9805992	27.37017058
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.9805992	27.37017058
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	23.7381822	27.78746044
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	23.7381822	27.78746044
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	23.5423802	22.62007728
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	23.5423802	22.62007728
LAN-1	Acuosa	Control positivo	23.8542898	28.71325135
LAN-1	Acuosa	Control positivo	23.8542898	28.71325135
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.8175883	24.4357372
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.8175883	24.4357372
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	23.5899267	26.42362177
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	23.5899267	26.42362177
CHO	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	32.50560232	29.15222072
CHO	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	34.21727659	29.32692991
CHO	Etanólica	Control positivo	30.27426087	23.22637791
CHO	Etanólica	Control positivo	30.90666673	23.3653577
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	34.58290648	25.3495311
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	32.38210713	24.84834443
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	31.01542323	22.36870407
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	31.71036627	22.05264459
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.31988732	36.61612166
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.23863437	36.263368
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	34.29104294	38.24923692
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	34.2145298	38.64182805
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	36.74	32.45453774
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	36.98	34.53165395
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	33.16614629	29.98210078
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	33.10721583	31.71625834
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.32203066	28.4779946
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.90508929	28.18049267
LAN-1	Etanólica	Control positivo	33.41632872	33.23088988
LAN-1	Etanólica	Control positivo	33.32912347	33.23088988
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	34.15490151	33.20136039
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.73210148	33.20136039
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.13638574	33.1046455
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	34.12169301	33.1046455
CHO	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	24.1020568	21.29279811
CHO	Lipofilica	Negativo (0 μ g/ml)	24.1020568	21.28703448
CHO	Lipofilica	Control positivo	23.7237978	30.0163807
CHO	Lipofilica	Control positivo	23.7237978	29.89606675
CHO	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.8128274	24.19839772
CHO	Lipofilica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.8128274	24.17694419
CHO	Lipofilica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	26.13110626	26.09614943

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
CHO	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	27.44052966	26.09614943
SH-SY5Y	Lipofílica	Negativo (0 μ g/ml)	24.2280952	21.48527197
SH-SY5Y	Lipofílica	Negativo (0 μ g/ml)	24.2280952	21.48527197
SH-SY5Y	Lipofílica	Control positivo	23.9220745	33.29259104
SH-SY5Y	Lipofílica	Control positivo	23.9220745	33.29259104
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	24.0269852	26.13110626
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	24.0269852	26.11338917
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	24.0467566	27.93923011
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	24.0467566	28.16330626
LAN-1	Lipofílica	Negativo (0 μ g/ml)	23.5423802	22.45462378
LAN-1	Lipofílica	Negativo (0 μ g/ml)	23.5423802	22.47921431
LAN-1	Lipofílica	Control positivo	23.8542898	33.27088577
LAN-1	Lipofílica	Control positivo	23.8542898	33.22246076
LAN-1	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.7349763	27.39260395
LAN-1	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	23.7349763	27.44052966
LAN-1	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	23.6903586	28.91303268
LAN-1	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	23.6903586	28.51729136

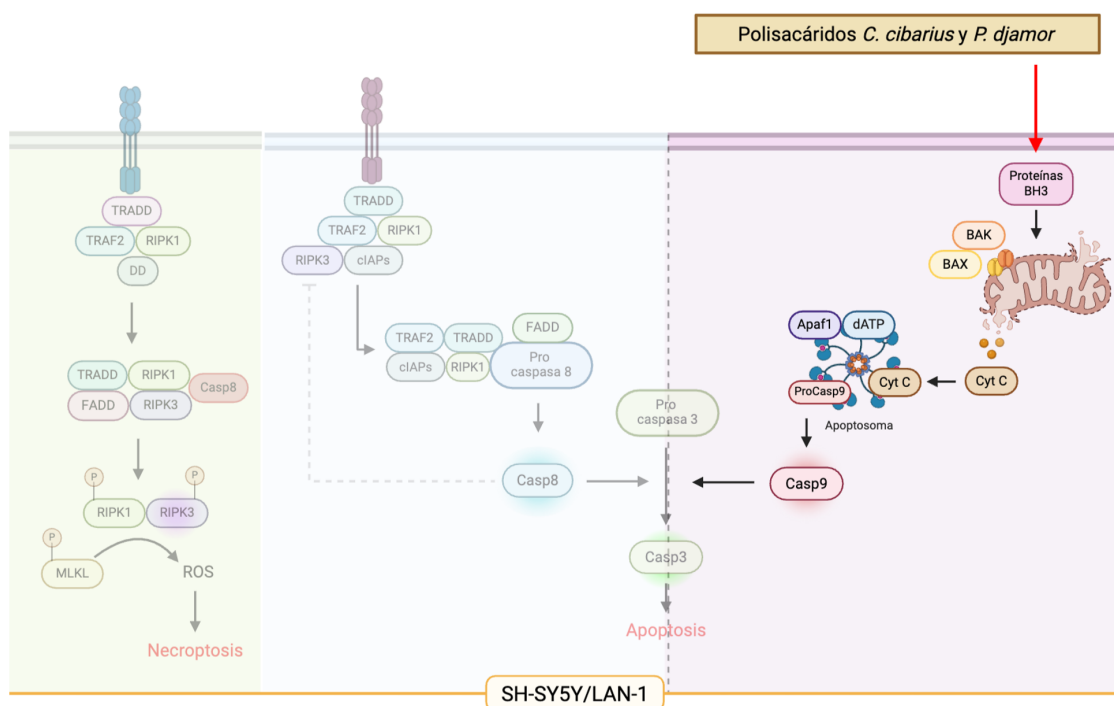
Cuadro 30. Valores de Ct obtenidos mediante RT-qPCR para la expresión del gen *RIPK3* en líneas celulares tratadas con extractos de *C. cibarius* y *P. djamor*

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
CHO	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	27.02531774	23.24077875
CHO	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	27.02531774	23.24077875
CHO	Acuosa	Control positivo	31.00215992	29.48529078
CHO	Acuosa	Control positivo	31.00215992	29.48529078
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	32.86125591	27.90493054
CHO	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	32.86125591	27.90493054
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	31.77266374	28.15126268
CHO	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	31.77266374	28.15126268
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	30.51683913	27.5025175
SH-SY5Y	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	30.51683913	27.5025175
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	33.45718208	30.0908231
SH-SY5Y	Acuosa	Control positivo	33.45718208	30.0908231
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	31.72165414	27.37017058
SH-SY5Y	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	31.72165414	27.37017058
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	31.42324009	27.78746044
SH-SY5Y	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	31.42324009	27.78746044
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	25.78244986	22.62007728
LAN-1	Acuosa	Negativo (0 μ g/ml)	25.78244986	22.62007728
LAN-1	Acuosa	Control positivo	29.80658202	28.71325135
LAN-1	Acuosa	Control positivo	29.80658202	28.71325135
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	27.24192636	24.4357372
LAN-1	Acuosa	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	27.24192636	24.4357372
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	28.89114502	26.42362177
LAN-1	Acuosa	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	28.89114502	26.42362177
CHO	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	29.05	29.15222072
CHO	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	28.33	29.32692991
CHO	Etanólica	Control positivo	27.18018129	23.22637791
CHO	Etanólica	Control positivo	27.378954	23.3653577
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	31.16671102	25.3495311
CHO	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	33.1136847	24.84834443
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	0	22.36870407
CHO	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	0	22.05264459
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.31988732	36.61612166
SH-SY5Y	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.23863437	36.263368
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	34.29104294	38.24923692
SH-SY5Y	Etanólica	Control positivo	34.2145298	38.64182805
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	36.74	32.45453774
SH-SY5Y	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 μ g/ml)	36.98	34.53165395
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	33.16614629	29.98210078
SH-SY5Y	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 μ g/ml)	33.10721583	31.71625834
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 μ g/ml)	38.32203066	28.4779946

Línea celular	Fracción fúngica	Tipo de muestra	Ct Gen	Ct β -actina
LAN-1	Etanólica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	38.90508929	28.18049267
LAN-1	Etanólica	Control positivo	34.77272508	33.23088988
LAN-1	Etanólica	Control positivo	35.18018129	33.23088988
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	35.72026071	33.20136039
LAN-1	Etanólica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	35.64399225	33.20136039
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	36.482947	33.23088988
LAN-1	Etanólica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	36.390284	33.23088988
CHO	Lipofílica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	27.02531774	21.29279811
CHO	Lipofílica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	27.02531774	21.28703448
CHO	Lipofílica	Control positivo	31.00215992	30.0163807
CHO	Lipofílica	Control positivo	31.00215992	29.89606675
CHO	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	30.04047545	24.19839772
CHO	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	30.04047545	24.17694419
CHO	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	31.00760373	26.42198007
CHO	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	31.00760373	26.09614943
SH-SY5Y	Lipofílica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	30.51683913	21.48527197
SH-SY5Y	Lipofílica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	30.51683913	21.48527197
SH-SY5Y	Lipofílica	Control positivo	33.45718208	33.29259104
SH-SY5Y	Lipofílica	Control positivo	33.45718208	33.29259104
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	33.11717023	26.13110626
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	33.11717023	26.11338917
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	29.19664236	27.93923011
SH-SY5Y	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	29.19664236	28.16330626
LAN-1	Lipofílica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	25.78244986	22.45462378
LAN-1	Lipofílica	Negativo (0 $\mu\text{g/ml}$)	25.78244986	22.47921431
LAN-1	Lipofílica	Control positivo	29.80658202	33.27088577
LAN-1	Lipofílica	Control positivo	29.80658202	33.22246076
LAN-1	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	31.052954	27.39260395
LAN-1	Lipofílica	<i>C. cibarius</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	31.052954	27.44052966
LAN-1	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	31.67532764	28.91303268
LAN-1	Lipofílica	<i>P. djamor</i> (200 $\mu\text{g/ml}$)	31.67532764	28.51729136

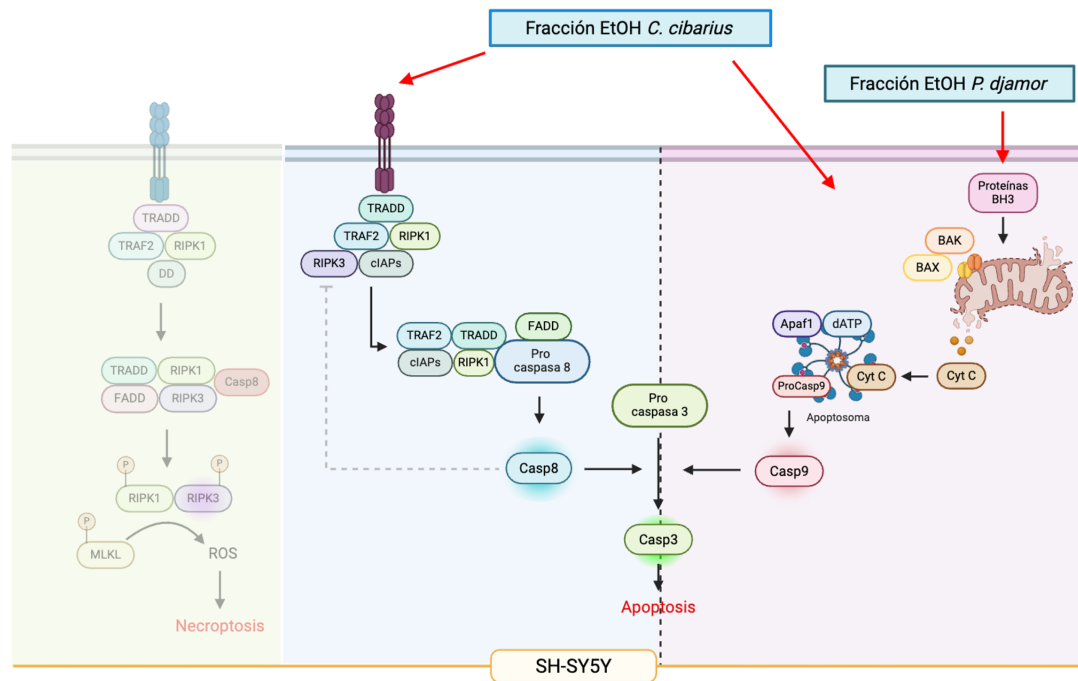
Mecanismos celulares propuestos del potencial anticancerígeno

Figura 24. Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción acuosa de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre líneas celulares de neuroblastoma SH-SY5Y y LAN-1



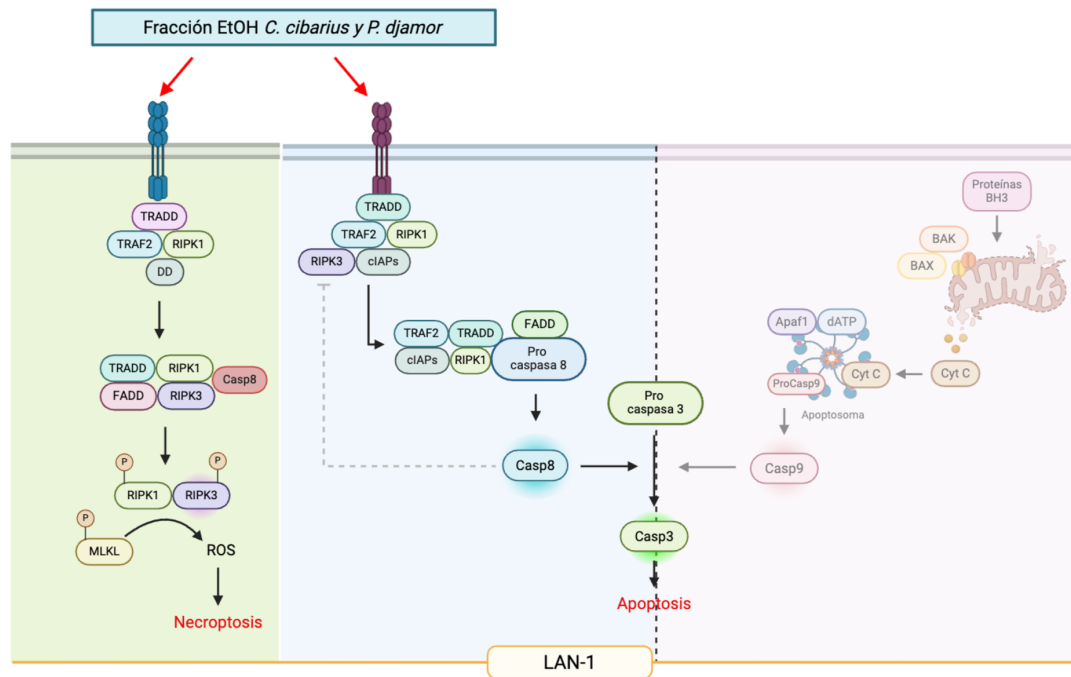
Nota. Elaboración propia.

Figura 25. Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular de neuroblastoma SH-SY5Y



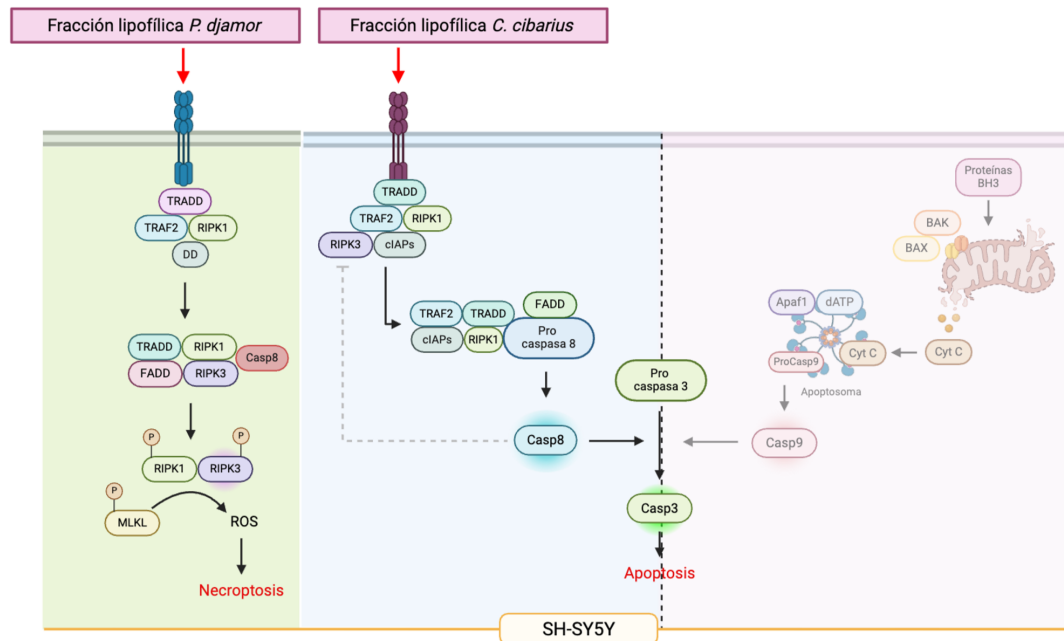
Nota. Elaboración propia.

Figura 26. Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular de neuroblastoma LAN-1



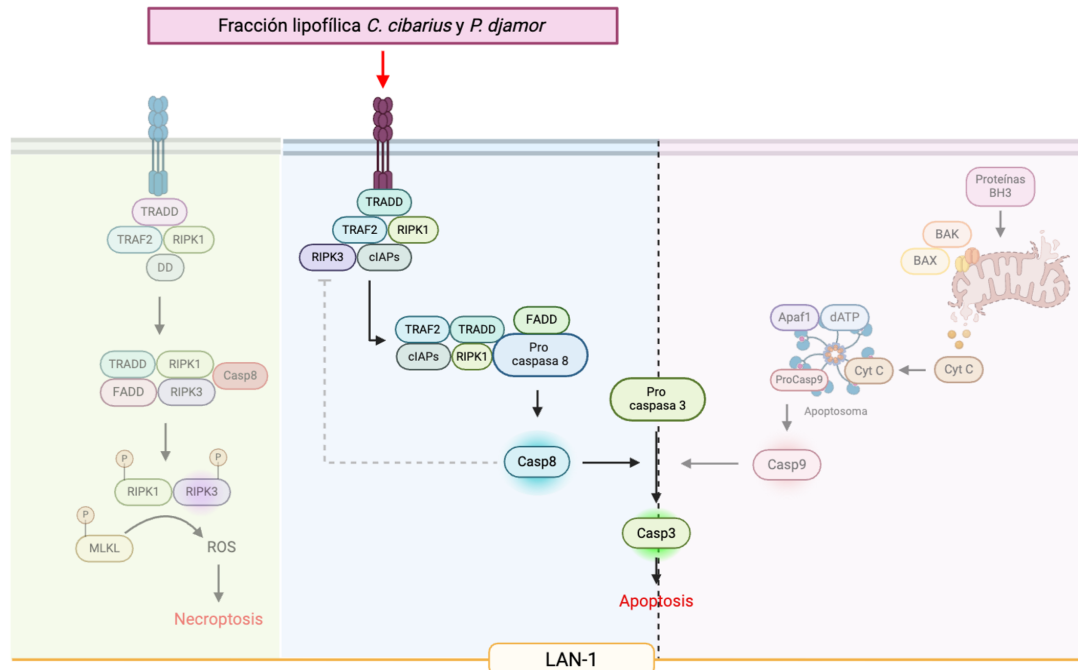
Nota. Elaboración propia.

Figura 27. Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular de neuroblastoma SH-SY5Y



Nota. Elaboración propia.

Figura 28. Mecanismo celular propuesto del potencial anticancerígeno de la fracción etanólica de *C. cibarius* y *P. djamor* sobre la línea celular de neuroblastoma LAN-1



Nota. Elaboración propia.