



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Básicas e Ingeniería
Posgrado en Energía y Medio Ambiente

“Biomarcadores para estimar la capacidad adaptativa de la anémona *Bunodosoma cavernatum*; propuesta como modelo de vulnerabilidad”

TESIS

Para obtener el grado de: Maestro en Ciencias
(Energía y Medio Ambiente)

Presenta:

Biól. Exp. Fernando Misael Matadamas Guzmán

Matrícula: 2213801080

ORCID: 0009-0002-3487-6652

Correo electrónico: fmatadamasg@gmail.com

Co-Directoradas:

Dra. Mayra Pamela Becerra Amezcua

Dra. Xochitl Guzmán García

Asesora:

Dra. María Isabel Del Carmen Guerrero Legarreta

Jurado:

Presidenta: Dra. María Isabel Del Carmen Guerrero Legarreta

Secretaria: Dra. Norma Angelica Santibañez Aguascalientes

Vocal: Dr. Antonio Zoilo Márquez García

Iztapalapa, Ciudad de México a 18 de Diciembre del 2024

El Posgrado en Energía y Medio Ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I), pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad del CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología). Así mismo, el CONAHCYT apoyo la realización de este proyecto mediante la beca **811418**.

El análisis para la obtención de resultados de esta tesis se llevó a cabo en el PIMVS (Predio e Instalación para el Manejo de Vida Silvestre) “CIDMIRA” (Centro de Investigación y Docencia para el Manejo Integral de los Recursos Acuáticos) con registro ante SEMARNAT DGVS-02594/1806, ubicado en el Laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Hidrobiología. Esta investigación contó con financiamiento de los proyectos: “Indicadores de Integridad Ecológica y Salud Ambiental” y “Biomoléculas activas de origen animal” de la UAM-I (2023-2026).

Agradezco al **proyecto: “Moléculas bioactivas y biomarcadores ecotoxicológicos en la anémona *Bunodosoma sp.* para su uso biotecnológico”**. Apoyado por el “CONAHCYT” en la convocatoria **“Ciencia de Frontera, 2023”**.

Comité Sinodal

Dra. María Isabel Del Carmen Guerrero Legarreta. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Biotecnología.

Presidenta.

Dra. Norma Angélica Santibañez Aguascalientes. Facultad de Ciencias Biológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Secretaria.

Dr. Antonio Zoilo Márquez García. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Hidrobiología.

Vocal.

Comité Tutorial

Dra. Mayra Pamela Becerra Amezcua. Laboratorio de Ecotoxicología. Departamento de Hidrobiología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. UAM-I.

Co-Directora.

Dra. Xochitl Guzmán García. Laboratorio de Ecotoxicología. Departamento de Hidrobiología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. UAM-I.

Co-Directora.

Dra. María Isabel Del Carmen Guerrero Legarreta. Laboratorio de Macromoléculas. Departamento de Biotecnología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. UAM-I.

Asesora.

Agradecimientos

A la **Dra. Mayra Pamela Becerra Amezcua** por su invaluable asesoría y apoyo durante el desarrollo de esta tesis. Su generosidad al compartir su vasto conocimiento, su dedicación al enseñar las técnicas de biología molecular, así como la paciencia con la que me ha guiado, han sido fundamentales para mi crecimiento profesional y personal. Sus consejos y su manera de explicar los procesos de forma tan clara y precisa me han permitido no solo entender mejor los conceptos, sino también disfrutar del aprendizaje. Gracias por su confianza y por estar dispuesta a ayudarme en cada paso del camino. Me siento afortunado de haber contado con su asesoría, y valoro profundamente todo lo que me ha enseñado. Agradezco también las sesiones a distancia que me ofreció, lo que me permitió continuar con el trabajo de investigación de manera eficiente a pesar de las distancias. Gracias por la revisión profunda y detallada del documento de tesis, así como por su capacidad de generar vínculos con otros investigadores e instituciones, lo cual fue clave para el desarrollo de mi investigación. También agradezco su apoyo en el uso de herramientas para el desarrollo didáctico de presentaciones visuales, que han sido fundamentales para comunicar de manera efectiva los resultados de mi trabajo.

A la **Dra. Xochitl Guzmán García** por brindarme la oportunidad de desarrollar una línea de investigación que ha despertado en mí una profunda pasión por los procesos de regeneración, su generosidad al permitirme explorar este fascinante campo y por su invaluable asesoría durante todo el proceso. Sus largas horas de revisión y su acompañamiento en la escritura de esta tesis han sido fundamentales para el avance de este trabajo. Su vasta experiencia y conocimientos histológicos me han proporcionado una perspectiva única que enriqueció enormemente mi formación. Gracias por darme la oportunidad de dirigirme a sus grupos de docencia, lo que me permitió desarrollarme profesionalmente, y por ofrecerme el espacio para aplicar mis habilidades de nado durante las prácticas de campo, experiencia que sin duda dejó huella en mi aprendizaje. Además, agradezco la orientación que me brindó para el montaje y mantenimiento de sistemas experimentales acuáticos, una de las facetas más enriquecedoras de esta investigación. Su enseñanza sobre cómo

comunicarme de manera oral, mejorar la redacción de textos científicos y en la búsqueda de referencias, ha sido crucial para poder presentar este trabajo de manera clara y coherente. Finalmente, su confianza al permitirme divulgar ciencia en eventos para la comunidad. Gracias por su apoyo incondicional, por su dedicación y por ser una fuente constante de inspiración.

A la **Dra. María Isabel Del Carmen Guerrero Legarreta** por su invaluable asesoramiento y por su visión sobre el uso de biomoléculas potenciales como alimento o con efectos terapéuticos. Su orientación ha sido clave para el desarrollo y enfoque de esta investigación, dándome una perspectiva amplia y de gran relevancia en el campo. Por el apoyo económico brindado como ayudante de investigador, el cual me permitió continuar con mi formación y realizar un trabajo de investigación de calidad. Además, agradezco su apoyo en la adquisición de materiales y reactivos fundamentales para el desarrollo de esta investigación, lo cual fue esencial para llevar a cabo los experimentos necesarios. Por el respaldo financiero para los traslados, hospedajes y transportes durante la presentación de mi investigación en congresos y foros, lo que me permitió compartir y difundir el trabajo realizado. Aprecio profundamente el tiempo que dedicó a la revisión de la tesis contribuyendo significativamente a mejorar la calidad de este trabajo. Finalmente, agradezco enormemente la confianza que me ha brindado al permitir que su nombre esté presente en mis investigaciones. Es un honor poder representarla como una profesora emérita, cuyo ejemplo de excelencia y dedicación siempre será una fuente de inspiración.

"Estas mujeres son un verdadero ejemplo de empoderamiento, demostrando con su sabiduría, dedicación y liderazgo que no hay límites para alcanzar el éxito y transformar el conocimiento en acción."

A mi **familia**, en especial a mi padre, **Lucio Matadamas García**, por su constante impulso y motivación para realizar un posgrado. Gracias por tu compañía y apoyo durante los traslados en algunos viajes que fueron fundamentales para esta investigación. Tu apoyo moral ha sido esencial en la culminación de este trabajo de tesis, siempre brindándome la fuerza y el aliento necesarios en los momentos clave.

Gracias también por ser un ejemplo a seguir como hombre, jefe de familia y amigo. Tu fortaleza, sabiduría y dedicación han marcado mi camino, y me siento profundamente agradecido por tenerte como guía en cada etapa de mi vida. A mi hermana, la **Dra. Meztli Lucia Matadamas Guzmán**, por haber jugado un papel clave en inspirarme a realizar un posgrado. Eres un ícono de las mujeres por la ciencia, participando y trabajando alrededor del mundo, y has sido un ejemplo a seguir para mí. Aspiro a tener tú mismo nivel de entrega, dedicación y constancia en la ciencia, cualidades que siempre me han motivado a seguir adelante. Además, agradezco profundamente el brindarme tu experiencia y ayuda en la interpretación de algunos resultados de esta investigación. Tu apoyo ha sido fundamental para una mayor comprensión y análisis de los mismos, lo cual ha enriquecido enormemente el desarrollo de este trabajo. A mi madre, la **Dra. Xochitl Guzmán García**, por ser la principal fuente de motivación desde mi niñez para convertirme en investigador. Desde que nací, he estado inmerso en la ciencia gracias a ti, y espero poder continuar tu ejemplo y legado con el mismo compromiso y pasión que siempre has mostrado. Agradezco profundamente todas las charlas y orientaciones que me has brindado a lo largo de mi vida, siempre guiándome en los momentos decisivos. Gracias por escuchar mis dilemas y pensamientos, por siempre ver lo bueno en mí y por hacerme sentir orgulloso de lo que soy. Tu apoyo incondicional ha sido la base que me ha permitido llegar hasta aquí y seguir persiguiendo mis sueños. A los tres integrantes de mi familia, por su cariño y amor incondicional. Gracias por estar siempre a mi lado, por su apoyo constante y por brindarme la fuerza necesaria en cada etapa de este proceso. Su amor ha sido mi motor, y sin él, este logro no habría sido posible. Cada uno de ustedes ha jugado un papel fundamental en mi vida, y me siento profundamente agradecido por todo lo que me han dado.

A la **M.C. Lorena Hernández Orihuela**, por su asesoría durante mi estancia y en la realización del análisis proteómico de la anémona. Su experiencia y orientación fueron fundamentales para el éxito de estos análisis, y su apoyo me permitió avanzar en una parte crucial de esta investigación. Agradezco también la confianza que me brindó al permitirme utilizar su material de laboratorio, así como la

explicación detallada del procesamiento de muestras para los análisis proteínicos. Además, valoro profundamente el cálido recibimiento que me ofreció en el Laboratorio Universitario de Proteómica del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México en Cuernavaca, lo cual facilitó enormemente mi trabajo y enriqueció mi experiencia en el campo. Al **M.C. Juan Olivares** por su apoyo en la precipitación de muestras para la obtención de proteínas y el préstamo de equipo para el desarrollo del experimento.

Al **Dr. Juan Carlos Segoviano Ramírez.**, por generosamente compartirme su amplia experiencia en Histología. Gracias por enseñarme a describir los tejidos con precisión y por orientarme en el uso adecuado de equipos especializados durante la estancia en la Unidad de Bioimagen del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud perteneciente a la Universidad Autónoma de Nuevo León en Monterrey. Sus valiosas sugerencias sobre el potencial de mi investigación para la obtención de sustancias novedosas me han motivado a seguir explorando nuevas posibilidades en este campo.

A la **Dra. Arisaí del Carmen Hernández Sámano**, por su valiosa asesoría en la extracción de colágeno de anémona y por su apoyo en la obtención de los resultados de esta investigación realizados en el Laboratorio de Neurofarmacología Marina en el Instituto de Neurobiología perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México en Juriquilla, Querétaro. Agradezco especialmente su explicación detallada del procesamiento por cromatografía en la anémona, lo cual me permitió generar ideas clave para la separación de sustancias con un potencial biotecnológico.

A la **Dra. Leydi Maribel Carrillo Cocom**, por su valiosa enseñanza en la técnica de cultivos celulares realizada en el Laboratorio de Cultivo Celular de la Facultad de Ingeniería Química en la Universidad Autónoma de Yucatán en Mérida. Gracias por compartir su conocimiento y por guiarme en la realización del trabajo "Estudios de actividad biológica de compuestos marinos y cultivo primario de anémonas", el cual ha sido una parte fundamental de mi experiencia profesional.

A la **Dra. María de los Ángeles Fortis Barrera**, por el préstamo de su equipo de laboratorio para el procesamiento de mis muestras en el Laboratorio de Farmacología del Departamento de Ciencias de la Salud en la Universidad Autónoma Metropolitana. Agradezco también su generosidad al brindarme su tiempo para explicarme detalladamente el uso del equipo, lo cual fue fundamental para el avance de esta investigación.

A la **Dra. Reyna Carmen Fierro Pastrana** y al **Dr. Humberto González Márquez**, por su generoso apoyo al brindarme el préstamo del equipo necesario para el análisis proteínico en las muestras experimentales de mi investigación.

A la **Dra. María Isabel Del Carmen Guerrero Legarreta**, a la **Dra. Norma Angélica Santibañez Aguascalientes** y al **Dr. Antonio Zoilo Márquez García**, quienes generosamente han dedicado su tiempo y conocimiento a la revisión y mejora de este trabajo de tesis. Agradezco a cada uno de ustedes por compartir su vasta experiencia y por ayudarme a ajustar la metodología y los resultados de esta investigación, contribuyendo a su solidez y rigor académico. Las observaciones y sugerencias realizadas en la redacción de este documento han sido de gran valor, permitiéndome mejorar la claridad y precisión de mis ideas. Asimismo, agradezco enormemente que hayan aceptado ser sinodales de mi investigación. Su participación ha sido esencial para culminar con éxito esta etapa de mi formación académica.

A la **Dra. Beatriz Adriana Silva Torres**, Coordinadora del Posgrado, por su constante e invaluable apoyo durante todo este proceso académico. Su grata atención, paciencia y disposición para ayudarme en los trámites administrativos fueron esenciales para facilitar mi avance en el programa. De igual manera, quiero expresar mi agradecimiento por el apoyo económico brindado para realizar estancias de investigación, lo que fue fundamental para el progreso de mi trabajo y la consolidación de mis conocimientos. A la **M. en C. María Iseo González Christen**, por su invaluable ayuda y asesoría en los trámites administrativos relacionados con el posgrado. Agradezco su orientación en los trámites para la

asignación de la beca, lo cual me permitió continuar con mis estudios de manera más tranquila y enfocada en mi investigación.

A la **Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) Unidad Iztapalapa**, por ser mi casa de estudios durante este significativo proceso académico. Gracias a esta institución tuve la oportunidad de crecer como estudiante y como ser humano, lo que me permitió desarrollar habilidades que no solo me han formado profesionalmente, sino también en mi vida personal. La experiencia vivida en la UAM me ha permitido aprender y reflexionar sobre los retos que enfrenta nuestra sociedad, y de igual manera, me ha dado las herramientas para contribuir con mis propios conocimientos.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT)** por el apoyo económico brindado a través de la beca de manutención, la cual fue esencial para poder continuar con mis estudios de posgrado.

A mis compañeras y amigas de laboratorio **Berenice** y **Mabel**, por todas las risas, pláticas y salidas que compartimos a lo largo de esta etapa. Gracias por ser parte fundamental de mi vida durante la maestría, por el trabajo en equipo, por su apoyo constante y por su amistad incondicional. Sin ustedes, este camino no habría estado lleno de la alegría y motivación que aportaron con su energía positiva y su presencia. Cada momento que compartimos, ya fuera de trabajo o de relajación, fue crucial para hacer de este proceso algo más llevadero y divertido. Gracias por ser las grandes amigas y compañeras que son, por su dedicación, por hacer que cada día fuera más especial.

A mis queridos amigos **Iñaqui, Misael, Hugo, Lemus, Sam y TT**. Gracias por brindarme días llenos de alegría, amistad y buenos momentos durante este proceso tan importante. Su capacidad para alegrarme en los momentos difíciles y su presencia constante fueron esenciales para mantenerme motivado y enfocado en mi objetivo. Cada uno de ustedes contribuyó de manera única a que este viaje fuera más llevadero y memorable.

A mis compañeros y amigos del basquetbol: **Ulises, Pacha, Diegito, Betote, Flama, Paco, Armando, Lucio y Xochitl**. Gracias por ser no solo mis compañeros en la cancha, sino también en la vida. Los entrenamientos, los partidos y las horas compartidas en equipo fueron más que solo momentos de deporte, fueron experiencias que me enseñaron sobre esfuerzo, disciplina y trabajo en equipo, lecciones que también me acompañaron en mi vida académica.

Índice

1. Resumen:.....	1
2. Abstract	2
3. Introducción.....	3
4. Generalidades.....	5
5. Estado del Arte.....	7
6. Hipótesis	13
7. Objetivo general.	13
8. Objetivos específicos.	13
9. Método	15
9.1. Trabajo de campo.....	15
9.2. Mantenimiento de organismos.....	16
9.3. Trabajo de Laboratorio.....	16
9.3.1. Sedación y manejo de organismos.	16
9.3.2. Bioensayo de herida.....	16
9.3.3. Análisis Morfológico	17
9.3.4. Análisis Tisular	17
9.3.5. Análisis Proteómico.....	18
9.3.6. Cuantificación de proteínas por el método de Bradford.	18
9.3.7. Análisis de proteína mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE-SDS).	19
9.3.8. Análisis de proteínas por espectrometría de masas.....	19
9.3.8.1. Precipitación de proteínas.	19
9.3.8.2. Digestión.	19
9.3.8.3. Desalado.....	20

9.3.8.4. Cuantificación.....	20
9.3.8.5. Análisis LC-MS/MS	20
9.4. Asociación de respuestas biológicas con los parámetros de vulnerabilidad (capacidad adaptativa, exposición y sensibilidad)	21
9.5. Cálculo de los parámetros de vulnerabilidad	22
9.5.1. Determinación de la capacidad adaptativa.....	22
9.5.2. Determinación de los parámetros de vulnerabilidad (Exposición y Sensibilidad).....	23
9.6. Implementación en la propuesta del modelo de vulnerabilidad	24
10. Resultados	25
10.1. Mantenimiento y manejo de organismos experimentales: Anémonas	25
10.2. Descripción morfológica de la anémona de mar	25
10.3. Caracterización histológica: <i>Bunodosoma cavernatum</i>	27
10.4. Bioensayo de herida en la región de la columna	32
10.5. Histopatología durante el cierre de herida	34
10.6. Cuantificación de las respuestas tisulares	36
10.7. Proteómica.....	38
10.8. Relación de Respuestas Biológicas Tisulares y Proteínicas en la Reparación Tisular.....	44
10.9. Estimación de la Capacidad Adaptativa.....	46
10.10. Propuesta del Modelo de Vulnerabilidad	47
11. Discusión.....	50
11.1. Cnidarios como modelos de investigación.....	50
11.2. Determinación de la especie.....	50
11.3. Descripción histológica	50
11.4. Bioensayo de regeneración	52

11.5. Histopatología durante el cierre de herida	53
11.6. Biomarcadores proteínicos	54
11.7. Enzimas relacionadas a la Reestructuración muscular	55
11.8. Enzimas relacionadas a la Inflamación.....	55
11.9. Enzimas relacionadas a la Fibrosis	57
11.10. Vulnerabilidad en sistemas biológicos	59
12. Conclusiones.....	62
13. Referencias	66
14. Anexos	84

Índice de figuras:

Figura 1: Aspecto general de la anémona <i>Bunodosoma cavernatum</i>	6
Figura 2: Respuestas biológicas y biomarcadores para estimar la vulnerabilidad.....	11
Figura 3: Modelo de vulnerabilidad tomado de CIRCA.....	12
Figura 4: Resumen de la metodología empleada para el desarrollo de investigación.....	15
Figura 5: Descripción fotográfica de la zona donde se asocian las anémonas y su manejo experimental.....	17
Figura 6: Esquema del procedimiento para la eliminación de sales en la determinación proteínica.....	20
Figura 7: Descripción de la anémona <i>Bunodosoma sp.</i> en el CIDMIRA-UAM-I.....	25
Figura 8: Morfología de las anémonas de mar.....	26
Figura 9: Descripción histológica de la anémona de mar.....	29,30,31
Figura 10: Análisis morfológico de la herida.....	33
Figura 11: Análisis morfológico de la herida con microscopio estereoscópico de alta resolución.....	34
Figura 12: Análisis histopatológico de una herida en la columna.....	35
Figura 13: Representación histológica.....	37
Figura 14: Relación del área de Fibrosis (μm^2) con respecto al tiempo posterior a la herida.....	38
Figura 15: Patrón electroforético de las biopsias.....	39
Figura 16: Proteínas totales presentes en los tiempos experimentales durante el bioensayo de herida.....	40

Índice de Tablas:

Tabla 1: Indicadores, factores y rangos utilizados para la determinación del parámetro de la capacidad adaptativa.....	23
Tabla 2: Indicadores, factores y rangos utilizados para la determinación del parámetro de exposición.....	23
Tabla 3: Indicadores, factores y rangos utilizados para la determinación del parámetro de sensibilidad.....	24
Tabla 4: Cuantificación de las respuestas tisulares (μm^2).....	37
Tabla 5: Enzimas involucradas en el proceso de reparación tisular y celular de la anémona <i>Bunodosoma cavernatum</i> en cada tiempo experimental.....	42
Tabla 6: Enzimas presentes en diferentes tiempos de experimentación.....	43
Tabla 7: Relación de las enzimas con los procesos de inflamación, fibrosis y reestructuración de la red muscular.....	45
Tabla 8: Determinación del valor numérico para estimar la capacidad adaptativa.....	47
Tabla 9: Determinación del valor numérico para estimar la exposición.....	48
Tabla 10: Determinación del valor numérico para estimar la sensibilidad.....	48
Tabla 11: Cálculo de vulnerabilidad para la anémona <i>Bunodosoma cavernatum</i> utilizando los promedios de cada parámetro.....	49
Tabla 12: Tiempos establecidos en la aparición de respuestas biológicas durante lesiones.....	54

1. Resumen:

El calentamiento global ha modificado los patrones climáticos y de oleaje del mar, provocando daños en los organismos marinos, como las anémonas de mar. Las anémonas emplean estrategias biológicas para sobrevivir, como la reparación de tejidos y la síntesis de proteínas. Nosotros proponemos que las respuestas biológicas ante una herida, a nivel morfológico, tisular y proteínicos, evidencia la capacidad adaptativa de la anémona, que le permiten hacer frente al daño ambiental y proponer un modelo de vulnerabilidad. Por ello el objetivo de esta investigación fue utilizar biomarcadores morfológicos, tisulares y proteínicos en la anémona de mar, para estimar la capacidad adaptativa y proponerla dentro del modelo de vulnerabilidad. Para abordar este objetivo, se utilizaron anémonas de mar de Tecolutla, Veracruz, México, debido a que sus condiciones ambientales son representativas de las variaciones que estas anémonas experimentan en su hábitat natural. Las anémonas fueron colocadas en un medio artificial controlado para su mantenimiento y se les sometió a cambios graduales de temperatura con el fin de inducir la sedación. Para evaluar la capacidad de reparación tisular, se tomó una primera biopsia en la región de la columna (T0) y posteriormente una segunda biopsia en diferentes grupos representando las 8, 24, 48 y 72 h. Se fotodocumentaron los cambios morfológicos en la región de la herida. Adicionalmente, se analizaron las biopsias a nivel tisular y proteínico. Por un lado, se cuantificaron tres biomarcadores a nivel tisular: el cúmulo celular, el tejido conectivo *de novo* y la aparición de nuevas estructuras musculares, que representan respectivamente la inflamación, fibrosis y regeneración muscular. Por otro lado, se caracterizó el perfil proteómico de las biopsias utilizando espectrometría de masas. Finalmente, se asociaron las respuestas biológicas (morfológicas, tisulares y proteínicas) con la definición de cada parámetro de capacidad adaptativa, exposición y sensibilidad, para generar una matriz de datos y calcular la vulnerabilidad. Como resultado, caracterizamos el estado basal de las anémonas y lo comparamos contra los cambios ante la herida. Todos los organismos generaron una cicatriz después de las 72h. Se observaron cúmulos celulares en la biopsia a las 8 h posterior a la herida, cambios en el tejido conectivo en todos los tiempos experimentales, y reestructuración de la red muscular específicamente en la biopsia de 72 h. El análisis proteómico reveló la presencia de un centenar de proteínas, de las cuales, las proteínas enzimáticas dieron información valiosa de procesos metabólicos, fisiológicos y patológicos. Se asociaron siete enzimas que estuvieron implicadas directamente con las respuestas biológicas tisulares (inflamación, fibrosis y regeneración muscular). Finalmente, para calcular la vulnerabilidad se integraron los biomarcadores ya mencionados para evaluar la capacidad adaptativa, sensibilidad y exposición para cada tiempo. La vulnerabilidad de la anémona ante una herida, indicó que a menor tiempo experimental (T 08) el organismo es más vulnerable (5.67), y a mayor tiempo experimental (T 72) es menos vulnerable (-0.11). En este trabajo las respuestas biológicas, inflamación, fibrosis y reestructuración de la red muscular, reflejaron un patrón durante la reparación tisular en los tejidos en la anémona. El patrón de respuestas tisulares está directamente relacionado con la función de ciertas proteínas enzimáticas, mostrando que las respuestas proteínicas regulan los procesos de reparación tisular. La relación de las respuestas morfológicas, tisulares y proteínicas en anémonas ha sido poco estudiada, a pesar que revela procesos biológicos en la reparación tisular. Se recomienda la utilización de los modelos de vulnerabilidad con el propósito de generar escenarios del estrés ambiental e información para enfrentar la crisis climática.

Palabras Clave: Respuestas Biológicas, Herida, Reparación tisular, Capacidad Adaptativa, Vulnerabilidad.

2. Abstract

Global warming has altered ocean wave and climate patterns, causing damage to marine organisms, such as sea anemones. These organisms employ biological strategies to survive, including tissue repair and protein synthesis. We propose that the biological responses to injury, at the morphological, tissue, and protein levels, demonstrate the anemones adaptive capacity to cope with environmental damage, and we aim to propose a vulnerability model. Therefore, the objective of this research was to use morphological, tissue, and protein biomarkers in sea anemones to estimate their adaptive capacity and incorporate these findings into the vulnerability model. To achieve this objective, sea anemones from Tecolutla, Veracruz, Mexico were selected due to the environmental conditions there, which closely resemble the variations these anemones encounter in their natural habitat. The anemones were placed in a controlled artificial environment for maintenance and subjected to gradual temperature changes in order to induce sedation. To assess their tissue repair capacity, an initial biopsy was taken from the column region (T0), followed by additional biopsies from different groups at 8, 24, 48, and 72 hours. Morphological changes in the wound region were documented through photography. Additionally, the biopsies were analyzed at both tissue and protein levels. At the tissue level, three biomarkers were quantified: cell accumulation (inflammation), *de novo* connective tissue formation (fibrosis), and the appearance of new muscle structures (muscle regeneration). At the protein level, the biopsies' proteomic profiles were characterized using mass spectrometry. Biological responses (morphological, tissue, and protein changes) were then linked to the adaptive capacity, exposure, and sensitivity parameters to generate a data matrix for calculating vulnerability. As a result, we characterized the basal state of the anemones and compared it to the changes observed in response to wound. All anemones formed scars after 72 hours. At 8 hours post-injury, cell clusters were observed in the biopsy, while changes in connective tissue were evident at all experimental time points. Muscle network restructuring was specifically noted in the 72 hours biopsy. The proteomic analysis revealed the presence of over 100 proteins, many of which are enzymatic. These enzymatic proteins provided valuable insights into metabolic, physiological, and pathological processes. Seven enzymes were directly associated with tissue biological responses namely, inflammation, fibrosis, and muscle regeneration. Finally, the biomarkers were integrated to evaluate adaptive capacity, sensitivity, and exposure for each time point, enabling the calculation of vulnerability. The results indicated that the anemone's vulnerability to injury was highest at the shortest experimental time ($T_{08} = 5.67$) and lowest at the longest time ($T_{72} = -0.11$). In this study, the biological responses, such as inflammation, fibrosis, and muscle network restructuring, reflected a clear pattern during tissue repair in the anemone. These tissue responses are directly linked to the function of certain enzymatic proteins, which regulate the tissue repair processes. Although the relationship between morphological, tissue, and protein responses in sea anemones has been little studied, our findings reveal important biological processes involved in tissue repair. The use of vulnerability models is recommended for generating environmental stress scenarios and providing crucial data to address the ongoing climate crisis.

Key words: Biological Responses, Wound, Tissular Reparation, Adaptive Capacity, Vulnerability.

3. Introducción

La degradación ambiental mundial ha ido en incremento por diversas actividades humanas, como la extracción de recursos naturales y el desecho de residuos contaminantes al medio ambiente. Un proceso derivado de las actividades antropogénicas es el Cambio Climático (CC), el cual se refiere a los cambios a largo plazo de la temperatura (calentamiento global) y los patrones climáticos (tormentas e incrementos de oleaje), lo cual genera problemas en la sobrevivencia de los organismos que habitan diferentes ecosistemas (Gomez Orea, 2013). El CC afecta el medio ambiente terrestre y marino, provocando efectos negativos, interactivos y acumulativos sobre la biota (Kim, 2015). Uno de los ecosistemas vulnerables por el CC, son los arrecifes de coral, ya que el incremento de oleaje del océano tiene implicaciones biológicas, ecológicas y geomórficas (Yao et al., 2020).

La degradación ambiental mundial ha ido en incremento por diversas actividades humanas, como la extracción de recursos naturales y el desecho de residuos contaminantes al medio ambiente (Gomez Orea, 2013). El Cambio Climático (CC), se refiere a los cambios a largo plazo de la temperatura y los patrones climáticos (tormentas e incrementos de oleaje): estos cambios pueden ser naturales o por actividades humanas que aceleran el almacenamiento de calor en la tierra (IPCC, 2022). Una de las causas del calentamiento climático es la generación de problemas en la sobrevivencia y salud de los organismos que habitan diferentes ecosistemas (Gomez Orea, 2013; Leal Filho et al., 2022), ya que, afecta el medio ambiente terrestre y marino, provocando efectos negativos, interactivos y acumulativos sobre la biota (Kim, 2015). Uno de los organismos afectados por el CC son las anémonas, al tener organismos simbiotes como Symbiodiniaceae, las altas temperaturas y el incremento de la presión parcial del dióxido de carbono provocadas por el CC, induce blanqueamiento en estos organismos y por lo tanto cambios en su fisiología (Pryor et al., 2021). De manera análoga, el incremento del oleaje es un factor que genera daños físicos en sistemas arrecifales, ecosistemas naturales de las anémonas, con implicaciones biológicas y ecológicas para estos organismos (Yao et al., 2020).

Las anémonas, pertenecen al grupo de Cnidarios, desempeñan un papel importante en el ecosistema marino. Son animales predadores que se alimentan de organismos de vida libre como crustáceos, moluscos y peces, actuando como vínculo entre los ecosistemas pelágicos y bentónicos; desempeñan funciones biogeoquímicas clave en los ecosistemas bentónicos. En su mayoría son animales solitarios, pero algunos muestran simbiosis, especialmente en ecosistemas de arrecife de coral donde ofrecen refugio y protección a otros animales del arrecife y a cambio reciben restos de comida y desechos metabólicos de peces como fuente de nitrógeno (Briones-Fourzán et al., 2012; Menezes & Thakur, 2022). Sus respuestas biológicas son importantes ya que, proporcionan información de su estado fisiológico y sobre su capacidad para responder ante el cambio climático, lo que eventualmente puede permitir diseñar estrategias para poder mitigar o reducir el daño causado por el CC (Reyna-Fabián et al., 2018). Para determinar el estado fisiológico de un organismo, se utilizan biomarcadores, respuestas biológicas que se miden y evalúan (Hook et al., 2014; Lomartire et al., 2021). Las anémonas han desarrollado estrategias biológicas para adaptarse a los cambios del ambiente, entre ellas se encuentra el proceso de regeneración y reparación tisular, habilidades que participa en la regulación del estrés ambiental, ya que permite hacer frente a heridas inducidas por el cambio ambiental. La regeneración es la capacidad del organismo completamente desarrollado para reemplazar tejidos mediante el crecimiento o la redirección de los patrones del tejido somático (Wolpert et al., 2015). El mecanismo de reparación tisular comprende diversas fases en las cuales intervienen procesos de inflamación, fibrosis y miogénesis (Midwood et al., 2004; Pacheco, 2017). La inflamación es una respuesta del sistema inmune que asegura la sobrevivencia de los organismos durante una infección o lesión y es necesaria para el mantenimiento de la homeostasis de los tejidos (Ahmed, 2011). La fibrosis implica la formación de tejido conjuntivo fibroso o granular (cicatrización) para reemplazar la falta de otro tipo de tejido, pero no restaura la función normal del tejido, mientras que la miogénesis involucra procesos de proliferación y diferenciación celular, generando estructuras musculares nuevas que conducen a la restauración de la función normal (Neighbors & Tannehill-Jones, 2010). La redirección de los patrones del tejido

implica la activación de procesos celulares, bioquímicos, proteínicos y genéticos, estas respuestas son evidentes a través del uso de biomarcadores (Baraja-Vásquez et al., 2005; Coronato et al., 1999; Wolpert et al., 2015). Los biomarcadores proteínicos proporcionan información de la adaptabilidad y la fisiología de un organismo en relación con su entorno, brindando una herramienta para el análisis de respuestas de los organismos ante el estrés ambiental (Kim, 2015). Las respuestas biológicas y los biomarcadores dan cuenta del estatus fisiológico de los organismos y pueden asociarse como indicadores de vulnerabilidad, facilitando la toma de decisión en la planeación del uso de recursos acuáticos y de gestión ambiental (Jerónimo-Juárez et al., 2020)

4. Generalidades

Los Cnidarios, al igual que otros animales invertebrados, se han utilizado como modelos para estudios de regeneración (Wolpert et al., 2015), se ha demostrado que poseen gran capacidad de adaptabilidad por su aparición hace 700 millones de años (Moyes & Schulte, 2007). Dentro de los cnidarios se encuentran las anémonas de mar, organismos que actualmente son utilizados en investigaciones de evolución, fisiología, evolución y regeneración (Amiel et al., 2015; Cheung et al., 2024; Singer, 1971).

Las anémonas de mar, presentan forma de pólipo, término utilizado para describir una forma de tubo que está rodeada de tentáculos en la región apical (parte oral del organismo) y un disco basal que le permite fijarse al substrato dándole un carácter sésil (Fig. 1). Las anémonas presentan una característica celular del grupo al que pertenecen, la presencia de células denominadas cnidocitos. Ciertos organelos (cnido o nematocisto) de los cnidocitos tienen características punzantes y adhesivas con lo cual pueden generar una respuesta venenosa al contacto (Lazcano Pérez et al., 2020). La pared del cuerpo está compuesta de epitelio externo (ectodermo) y de epitelios que recubren la cavidad gástrica (gastrodermis). Estas dos capas, están separadas por una sustancia parecida a un gel, denominada mesoglea donde existen más de 20 tipos celulares (Wolpert et al., 2015). Las anémonas, presentan células especializadas como los cnidocitos, amebocitos, las células mioepiteliales,

intersticiales, sensoriales o nerviosas y glandulares, entre otras (Zamponi, 2007; Zamponi & Deserti, 2009). Las células intersticiales, con capacidad totipotente, son denominadas células madre y dan origen a células especializadas como los cnidocitos. Se ha propuesto que la alta capacidad regenerativa entre células epiteliales y células madre es similar (Gold & Jacobs, 2013; Wolpert et al., 2015). En estudios de evolución, se considera que las células mioepiteliales son las primeras células musculares en aparecer en animales. El primer grupo de animales en presentar células mioepiteliales es el de los cnidarios. Su principal función es la de recubrir y proteger al organismo del medio externo y provocar contracciones musculares (Hündgen, 1984).

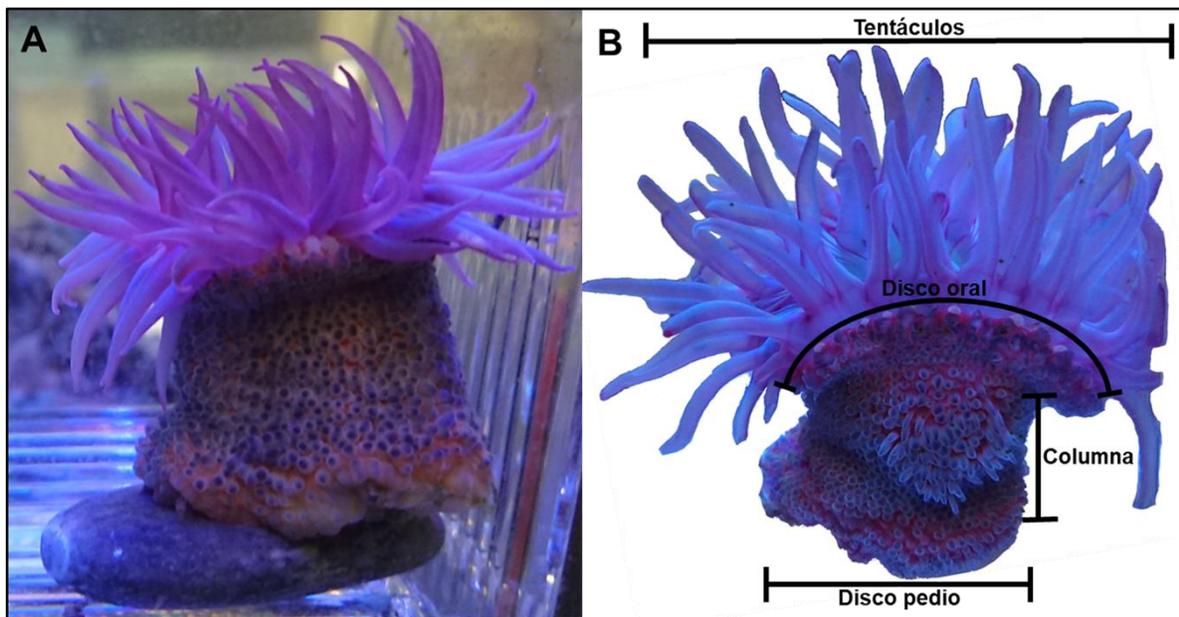


Fig. 1. Aspecto general de la anémona *Bunodosoma cavernatum*. En A) observe en la región apical los tentáculos y en la región subyacente una estructura cilíndrica cubierto por verrugas. En B) se señalan las secciones morfológicas de la anémona (tentáculos, disco oral, columna y disco pedio).

5. Estado del Arte

Los cnidarios son organismos antiguos que aparecieron aproximadamente hace 580 a 700 millones de años, los cuales emplean estrategias biológicas eficaces para resistir los cambios en el ambiente, como la regeneración, que les permite sobrevivir a heridas (Darling et al., 2005; Galliot & Schmid, 2002; Moyes & Schulte, 2007). Los cnidarios representan buenos modelos de estudio, debido a la posición clave que ocupan en el árbol evolutivo y por ser los primeros organismos en presentar células de tipo muscular (Moyes & Schulte, 2007). La regeneración de anémonas se ha estudiado por medio de la amputación de la región oral, reportándose que células intersticiales indiferenciadas pueden estar generando proliferación celular y que además mediante la migración celular pueden compensar la pérdida de células derivadas de las heridas. Sin embargo, los estudios que describen los eventos morfológicos, celulares y moleculares son escasos y muy heterogéneos en sus enfoques experimentales (Amiel et al., 2015; Singer, 1971; van der Burg et al., 2020), a pesar que, debido a su tamaño, estos organismos son de fácil colecta y permiten realizar estudios tisulares. La reparación del tejido es una serie de eventos superpuestos (respuesta inflamatoria, fibrosis, regeneración) que comienza inmediatamente después de la inducción de una herida (Midwood et al., 2004). Las anémonas de mar, son un modelo de investigación que responde fácilmente a las heridas (Amiel et al., 2015; Young, 1974) y que utiliza su capacidad de reparación de tejidos para sobrevivir ante diversos estresores, como depredadores y cambios ambientales bruscos (van der Burg et al., 2020).

En el reino animal se ha reportado la capacidad de síntesis de proteínas y otras respuestas moleculares ante diversos estresores ambientales (Baraja-Vásquez et al., 2005; Chen et al., 2018). La estructura y función de las proteínas (proteómica) permite conocer el estado de una célula, tejido u órgano al momento de la obtención de la muestra, permitiendo relacionar sus respuestas biológicas con el entorno. Esta herramienta se ha empleado para identificar biomarcadores de contaminación y enfermedades. En problemáticas ambientales, como la acidificación del océano, se ha reportado un cambio en la concentración de proteínas involucradas con la

energía del metabolismo y respiración en organismos marinos (Kim, 2015). En la actualidad, existen pocos estudios del papel de las proteínas en anémonas ante fenómenos de cambio climático (Domínguez-Pérez et al., 2018; Maskrey, 2021; Melendez-Perez et al., 2023; Sproles et al., 2019). Se ha reportado la participación de proteínas que intervienen en la señalización molecular durante el desarrollo y diferenciación de las anémonas (Kusserow et al., 2005). Estudios recientes mostraron que los neuropéptidos controlan una serie de procesos biológicos como la contracción muscular, la diferenciación neuronal y la metamorfosis (Takahashi, 2020). Otras proteínas y genes con factores transcriptómicos controlan la diferenciación celular, de esta manera se ha reportado que ciertas proteínas como la actina, miosina II, tropomiosina y enzimas como creatina fosfocinasa actúan durante la diferenciación de tipo muscular (Wolpert et al., 2015). Específicamente, cuando se genera una herida en los cnidarios, se ha reportado la participación de genes (Wnt) y proteínas (β -catenina) que participan en los procesos de regeneración. Existen factores de transcripción miogénicos (MyoD y MRFs) que actúan en el desarrollo y estructuración de los músculos, sin embargo, en las anémonas se desconoce cómo se desarrollan y como se reestructuran los músculos (Jahnel et al., 2014). En la base de datos de UniProt (<https://www.uniprot.org/>), se han reportado proteínas de anémonas de mar, sin embargo, se desconoce la función de la mayoría. Los biomarcadores proteínicos, dan evidencia de proteínas específicas, como las denominadas regeneradoras (lectinas tipo C) que participan en la diferenciación y proliferación de diferentes tipos celulares asociadas a patologías (Parikh et al., 2012). Para comprender los procesos de regeneración y reparación tisular en anémonas, e inferir su respuesta ante una herida provocada por estrés ambiental como el incremento de oleaje, las técnicas de proteómica pueden ayudar a este proceso.

Los cambios ambientales y el estrés ambiental, propician respuestas biológicas y patologías que pueden detectarse con ayuda de biomarcadores en los organismos acuáticos. Existen reportes, sobre el efecto del estrés ambiental y cada efecto tiene una implicación fisiológica, metabólica y, por lo tanto, una interpretación ecológica (Hoegh-Guldberg et al., 2007). Es importante mencionar que también las

habilidades biológicas de los organismos para sobrevivir ante los cambios ambientales, puede ser alterada por la toxicidad (Hook et al., 2014). El biomonitoreo, considera componentes fisiológicos, biológicos y bioquímicos; y la suma de estas respuestas da una evaluación sobre la salud de los individuos (Newman & Newman, 2009). El uso de biomarcadores está ampliamente recomendado para evaluar el efecto del estrés ambiental, tal es el caso de la histopatología y la proteómica. La histología permite conocer las características internas de un organismo, así como sus tejidos y células que lo conforman (Azin et al., 2021). Al conocer la conformación “basal” de un organismo, se pueden dar diagnósticos de salud mediante la identificación de anormalidades de tejidos o células (Saraiva et al., 2015). Por otra parte, recientemente se han realizado investigaciones de proteómica para analizar cambios fisiológicos provocados por el estrés ambiental. El uso de biomarcadores, también permite hacer un análisis diferencial del efecto de las variaciones ambientales sobre la fisiología de las anémonas. Los estudios de proteómica en cnidarios o anémonas son escasos, por lo que su estudio representa el encuentro de biomoléculas novedosas que faciliten entender y explicar sus procesos biológicos (Alcantar Orozco, 2020).

Organizaciones como el Panel Intergubernamental ante el Cambio Climático ha establecido que los cambios ambientales, puede llevar a impactos graves y generalizados. Derivado de estas condiciones, ciertos grupos de especies no son capaces de adaptarse o reubicarse, provocando un riesgo de extinción (Carantoña & Hernández, 2017). Los análisis de vulnerabilidad otorgan información sobre la magnitud del daño esperado por el cambio climático. Además, permite diseñar estrategias de adaptación para poder mitigar o reducir el daño causado (Reyna-Fabián et al., 2018). Los estudios de vulnerabilidad y de capacidad adaptativa de los organismos, se requieren para generar programas para la conservación de la biodiversidad y cuidado del ambiente.

En algunas regiones de México se han realizado estudios de la calidad del ambiente y de las alteraciones en organismos provocadas por estrés ambiental (Gold-Bouchot et al., 2007). Sin embargo, no existen estudios sobre las anémonas donde se evalué

el impacto del cambio climático y sus consecuencias, como heridas provocadas por el incremento e impacto del oleaje, y menos aún sobre los procesos fisiológicos que se activan para ajustarse a este cambio. En nuestro país, se ha reportado una gran variedad de tipos de anémonas desde la región norte del estado de Veracruz hasta la región del Caribe (González-Muñoz et al., 2013). Tecolutla, Veracruz es la playa más cercana a la ciudad de México, es una región contaminada por el vertimiento de aguas residuales y residuos tóxicos sin tratamiento, con sobrepoblación, mal manejo de la basura y falta de educación ambiental (Gómez Bernal et al., 2021; Ramírez-Trejo et al., 2019). En Tecolutla, se distribuyen diferentes géneros y especies de anémonas que no han sido identificadas taxonómicamente a excepción del género *Bunodosoma cavernatum* la cual fue identificada mediante caracteres taxonómicos morfológicos (Valdez Peralta, 2022; Valdez-Peralta et al., 2019). Las anémonas pueden ser utilizadas como bioindicadores para el monitoreo de los efectos del cambio climático. Para evitar el sacrificio de los animales durante las investigaciones, se recomienda la obtención de biopsias que pueden ser analizadas a través de biomarcadores de respuestas biológicas (Vignoli et al., 2004). El uso de las anémonas facilita los estudios histopatológicos y proteómicos, ya que estos biomarcadores dan cuenta del estado fisiológico de los organismos y permiten al mismo tiempo, vincular las respuestas biológicas con la vulnerabilidad de la especie (Fig. 2).

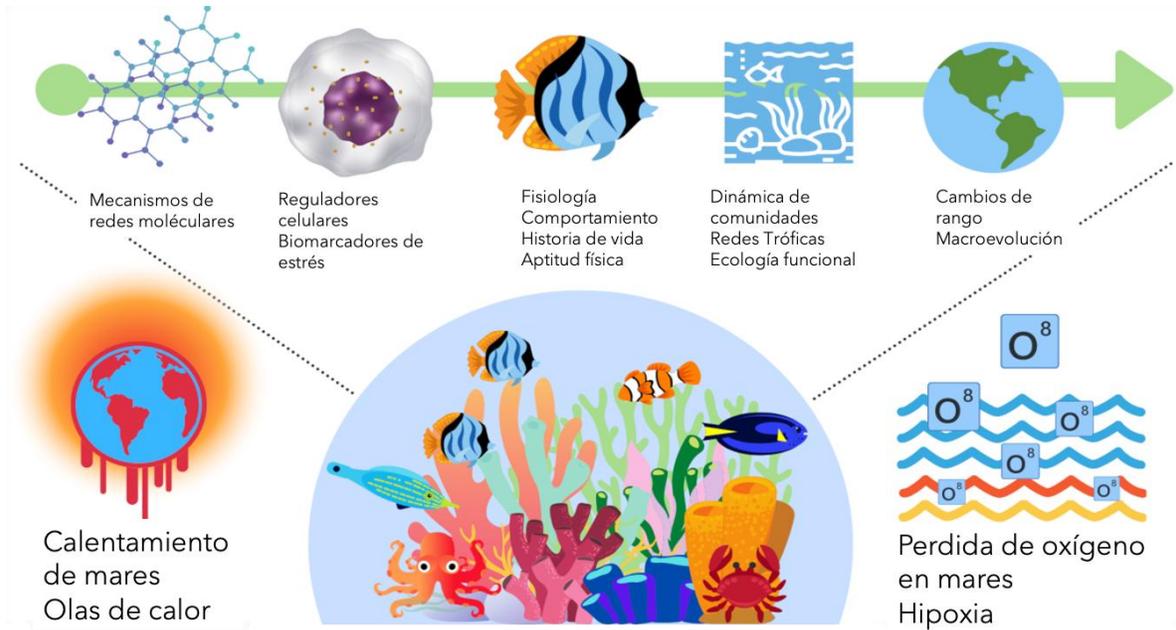


Fig. 2. Respuestas biológicas y biomarcadores para estimar la vulnerabilidad. (Tomado de Madeira et al., 2022).

Los modelos de vulnerabilidad (Fig. 3) permiten determinar la predisposición de un sistema que puede ser afectado negativamente por un factor determinado, sin embargo, el concepto de vulnerabilidad ha sido utilizado en diferentes disciplinas, como la agrícola, económica y social, pero no hay un consenso de su significado (Fortini & Schubert, 2017; Ruiz-Montoya et al., 2017). A pesar de ello, existe la necesidad de conocer cómo los sistemas biológicos, pueden dar respuesta a situaciones de presión o perturbación, con la finalidad de adoptar medidas de prevención, resistencia y mitigación. En la evaluación del cambio climático, el IPCC promueve la definición de vulnerabilidad como “el grado por el cual un sistema es susceptible o incapaz de hacer frente a los efectos adversos del cambio climático”, en el cual, el sistema es expuesto, es sensible y tiene capacidad adaptativa” (Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2023). En cambio, no se ha podido concertar una definición de la vulnerabilidad de sistemas biológicos, la cual es escasamente tratada, aunque necesaria para la gestión ambiental. El enfoque elegido para evaluar la vulnerabilidad debe basarse en los objetivos de los profesionales, la confianza en los datos e información existentes y los recursos

disponibles (Staudinger et al., 2016). Diversos autores coinciden que la evaluación de vulnerabilidad contempla los parámetros de; daño o **exposición** a situaciones de estrés, de la **sensibilidad** que tienen los organismos, y la **capacidad adaptativa** para hacer frente a la tensión y sus impactos o consecuencias (Brinker & Jones, 2012; Fortini & Schubert, 2017; B. E. Young et al., 2009, 2012). La gestión ambiental, requiere de líneas de acción que reduzcan la vulnerabilidad y conocer y fortalecer la capacidad adaptativa de los sistemas biológicos para moderar daños potenciales, tomar ventaja de las oportunidades, y hacer frente a sus consecuencias (DOF, 2024). En consecuencia, este trabajo busca evaluar, mediante las respuestas biológicas, la capacidad adaptativa de la anémona *Bunodosoma cavernatum*, induciendo una herida similar a las provocadas por el incremento del oleaje derivado del cambio climático y, proponer un modelo de vulnerabilidad.

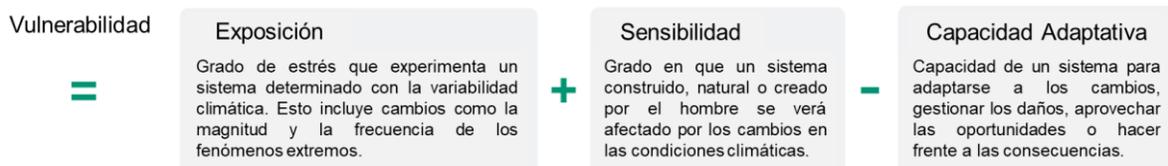


Fig. 3. Modelo de vulnerabilidad tomado de CIRCA (Connecticut Institute for Resilience & Climate Adaptation, 2021).

6. Hipótesis

Las respuestas biológicas ante una herida, como los cambios morfológicos, tisulares y proteínicos, evidencian la capacidad adaptativa de la anémona *Bunodosoma cavernatum*, que le permiten hacer frente al daño ambiental y proponer un modelo de vulnerabilidad.

7. Objetivo general.

- Estimar la capacidad adaptativa de la anémona *Bunodosoma cavernatum*, induciendo una herida y cuantificando las respuestas biológicas mediante biomarcadores morfológicos, tisulares y proteínicos dentro de un modelo de vulnerabilidad

8. Objetivos específicos.

- Desarrollar un protocolo para la colecta, transporte, mantenimiento y sedación de las anémonas, que permita la obtención de biopsias sin el sacrificio del modelo experimental.

- Reconocer y caracterizar la estructura tisular de las anémonas para evidenciar las respuestas biológicas que se inducen a partir de una herida.

- Realizar un bioensayo induciendo una herida para evaluar las respuestas biológicas a través del tiempo y seleccionar patrones del proceso de regeneración.

- Reconocer y cuantificar biomarcadores morfológicos y tisulares, durante el proceso de regeneración, como indicadores de la capacidad adaptativa.

- Caracterizar perfiles proteínicos mediante geles de electroforesis a diferentes tiempos experimentales para evidenciar cambios en su proteómica en procesos de regeneración tisular.

- Analizar el proteoma mediante espectrofotometría de masas para identificar las proteínas que participan en el proceso de reparación tisular.

- Identificar las respuestas de los biomarcadores morfológicos, tisulares y proteínicos para estimar la capacidad adaptativa.
- Proponer biomarcadores morfológicos, tisulares y proteínicos observados, como indicadores potenciales de exposición y sensibilidad para estimar el modelo de vulnerabilidad.

9. Método

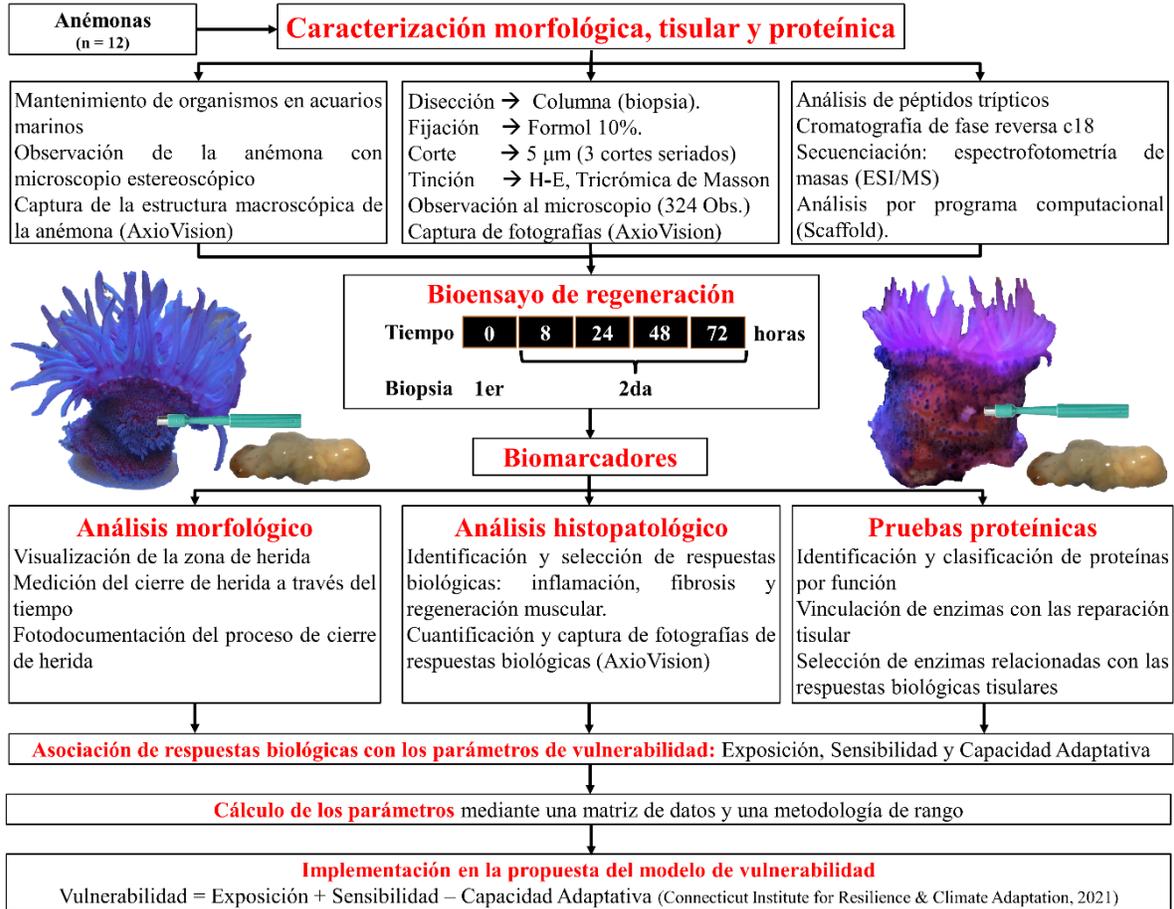


Fig. 4. Resumen de la metodología empleada para el desarrollo de investigación.

9.1. Trabajo de campo

Se desarrollaron incidentalmente doce ejemplares de anémona de Tecolutla, Veracruz (Anexo 1), en el PIMVS – CIDMIRA-UAMI (Predio e Instalaciones para el Manejo de Vida Silvestre – Centro de Investigación y Docencia para el Manejo Integral de Organismos Acuáticos SEMARNAT-UAMI 09-LR0900-11-17). Para garantizar el bienestar animal se mantuvieron a los organismos en un espacio adecuado, con alimentación suficiente y con condiciones ambientales apropiadas. Se colocaron en una zona de cuarentena por dos semanas para asemejar las condiciones fisicoquímicas del medio ambiente, como la temperatura, salinidad, luz, etc; y observar su comportamiento en un medio artificial.

9.2. Mantenimiento de organismos

Los organismos fueron aclimatados en dispositivos con control de temperatura (25-30 °C) y salinidad (35-37 ppm) (Valdez Peralta, 2022). Estas mismas condiciones se mantuvieron durante el mantenimiento y la experimentación en el laboratorio.

9.3. Trabajo de Laboratorio

9.3.1. Sedación y manejo de organismos. Para el manejo de las anémonas se utilizó un vaso de precipitado con agua de su medio. El proceso de anestesia consistió en bajar la temperatura del agua salina mediante la adición de 30 ml de agua de mar refrigerada cada minuto durante 18 repeticiones. Alcanzando una temperatura de 15 °C del agua con los organismos, y se colocó el recipiente en el congelador hasta alcanzar una temperatura de 0 °C.

9.3.2. Bioensayo de herida. Se realizó un bioensayo con doce organismos divididos en cuatro lotes de tres organismos para evaluar la regeneración como indicador de la capacidad adaptativa. Los tiempos experimentales para cada lote fueron 8, 24, 48 y 72 h. A cada organismo se les realizó una primera biopsia en la zona media de la columna con un sacabocados para biopsias dermatológicas (punch) de 3 mm de diámetro (Vignoli et al., 2004). Después del tiempo establecido para cada lote, se tomó una segunda biopsia sobre el borde de la herida. Las biopsias se analizaron mediante técnicas histológicas y proteómicas. En la Fig. 5. se representa el procedimiento de colecta, transporte, mantenimiento, sedación y toma de biopsias del proyecto de investigación desarrollado.

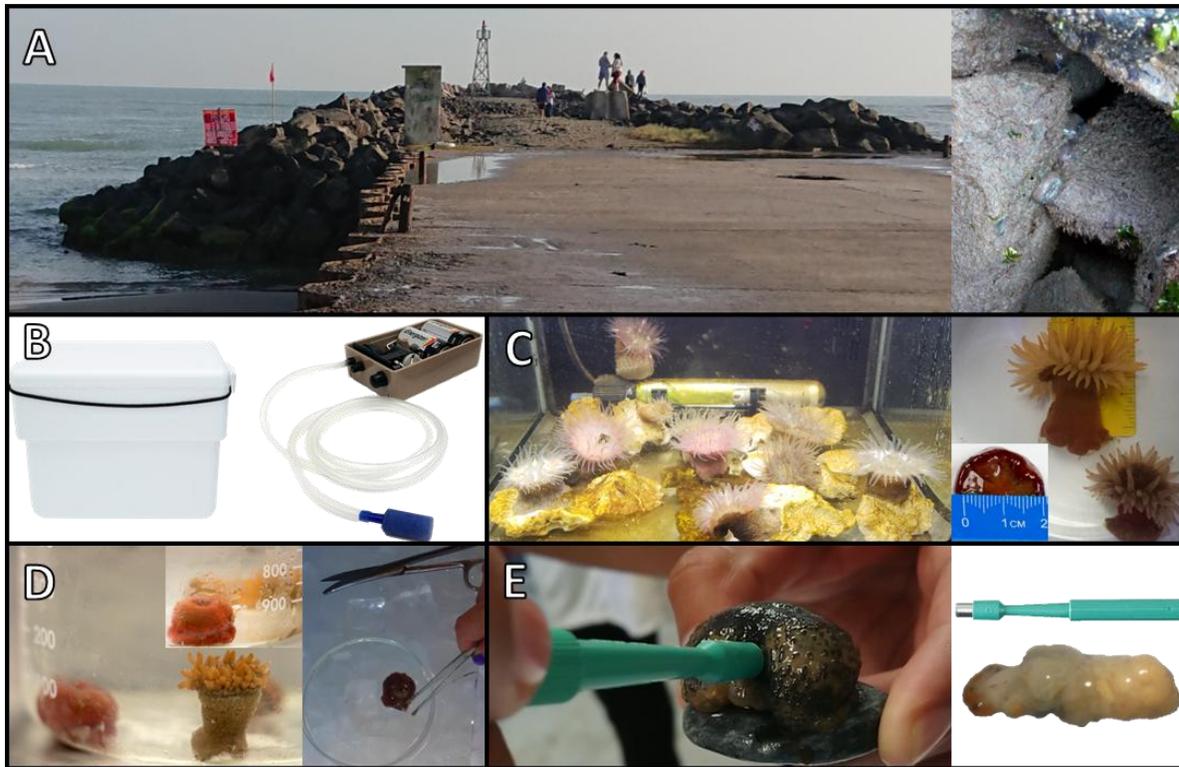


Fig. 5. Descripción fotográfica de la zona rocosa donde se asocian las anémonas y su manejo experimental. A) Zona rocosa donde se asocian organismos bentónicos. B) Transporte de organismos mediante recipientes de unicel con una bomba de aire acoplada. C) Montaje de acuarios con los parámetros fisicoquímicos recomendados y mantenimiento de organismos. D) Sedación de las anémonas de mar mediante cambios parciales de agua salada fría y con una base de hielo. E) Obtención de biopsias mediante un punch en la región de la columna.

9.3.3. Análisis Morfológico. Se colocaron los organismos en recipientes cuadrados de plástico para realizar observaciones detalladas de las anémonas de mar con ayuda de un microscopio estereoscópico marca MOTIC SMZ 1618 Porta Óptica y un SteREO Discovery.V20. Se realizó una captura de fotografías mediante una cámara AxioCam MR3 y se procesaron con un programa computacional AxioVs40 V 4.8.2.0. Con ayuda de los microscopios se analizó y fotodocumentó la estructura macroscópica de la anémona, de manera análoga, se dio seguimiento del proceso de cierre de la herida en los diferentes tiempos experimentales.

9.3.4. Análisis Tisular. Tres biopsias de cada lote de organismos, se fijaron con formol al 10%. Las biopsias fueron incluidas en parafina para su análisis histológico.

Se obtuvieron, con ayuda de microtomo, tres cortes seriados de 5 μm . Los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina y Tricromica de Masson, para evidenciar la presencia de músculo, colágeno y epitelios (Prophet et al., 1995). Los tejidos se analizaron en un microscopio óptico marca CARL ZEISS® Primo Star y en un microscopio invertido Axio Observer Z1 Apotome, para reconocer las estructuras tisulares características (mesoglea y red muscular) y grupos celulares característicos (cnidocitos, células epiteliomusculares y células epidérmicas), así como las respuestas tisulares derivadas de la herida en la región de la columna. Posteriormente, se seleccionaron 3 secciones por cada laminilla que fueron observados con objetivos de 10X y 40X para lograr una amplificación, con un total de 324 observaciones, para analizar las respuestas biológicas derivadas de la herida. Cada sección se digitalizó con una cámara CANON® modelo Power Shot G10, con ayuda de un programa computacional AxioVs40 V 4.8.2.0, las imágenes se procesaron mediante la función “measurement function”, para obtener el área (μm^2) de cada una de las alteraciones y así poder determinar los cambios graduales a través de los tiempos experimentales. Los datos fueron recabados en la base de datos ETMIRA (<https://ecotoxicologia.com>), para su posterior análisis.

9.3.5. Análisis Proteómico. Para obtener la concentración de proteína total de la biopsia, se utilizó un buffer de fosfatos (PO_4 's) 20 mM, pH 7, se centrifugó en dos ocasiones a 13,000 g por 20 y 15 min respectivamente a 4 °C. Tres biopsias de cada lote, se congelaron con nitrógeno líquido para romper el tejido, para esto se colocó la muestra en un mortero y con ayuda del pistilo se trituro y se pulverizó para posteriormente colocarlo en un tubo eppendorf.

Se estandarizó el método de extracción de proteínas con dos soluciones amortiguadoras (Buffer de fosfatos, pH 7 y Tris 100 mM, NaCl 0.5 M, EDTA 10 mM, pH 7.5). La muestra se centrifugó 15 min a 14,000 rpm a 4°C en una centrifuga refrigerada (Velocity 14R, 6627001, Dynamica). El sobrenadante fue recuperado y almacenado a -20°C hasta su utilización.

9.3.6. Cuantificación de proteínas por el método de Bradford. Se realizó una curva de calibración con albumina de suero bovino (0.5 mg/mL). Se colocaron diferentes

concentraciones de proteína. Posteriormente se agregó 1 mL de reactivo de Bradford y se leyó en un espectrofotómetro a 595 nm. Cada una de las absorbancias obtenidas se graficó, para realizar una curva y obtener la ecuación para saber la cantidad de proteína presente en las muestras a procesar.

9.3.7. Análisis de proteína mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE-SDS). Para el análisis electroforético de las proteínas a diferentes tiempos experimentales, se realizaron geles de poliacrilamida al 12%, colocando 15 µg de proteína, en condiciones desnaturalizantes de acuerdo a la metodología originalmente descrita por Laemmli (1970). Los geles se corrieron durante 20 min a 120 V. Los geles fueron teñidos para su análisis con tinción de Coomasie.

9.3.8. Análisis de proteínas por espectrometría de masas

9.3.8.1. Precipitación de proteínas. Se utilizó acetona al 100% con una proporción 4 a 1 con la muestra. La muestra quedó a una concentración de acetona al 80%. Se colocó la muestra en un ultra congelador a -70 °C durante 1 h. Posteriormente se centrifugaron 10 min a 14,000 RPM a 4 °C y se retiró el sobrenadante, para colocarlas en un congelador a 4 °C durante 1 día para evaporar la acetona restante. Sin residuos de acetona, se resuspendió la muestra con 200 µL de agua MiliQ y se centrifugó 5 min a 14,000 RPM. Se tomó el sobrenadante y mediante alícuotas de 2 µL se cuantificaron las muestras mediante un Nanodrop a 280 nm. Es importante que las muestras contengan una concentración mayor de 50 mg/mL para poder procesarlas y posteriormente se almacenan las muestras totales a -20 °C en un congelador.

9.3.8.2. Digestión. En un volumen de 60 µL de agua miliQ se resuspendieron 50 µg de muestra, se adicionaron 20 µL de urea y 30 µL de DTT 10 mM (ditiotreitól). Se colocó por 30 min a 60 °C. Se dejó enfriar a temperatura ambiente cubriendo la muestra con aluminio para evitar su degradación. Se adicionaron 30 µL de IAA 50 mM (ácido indol-3-acético) por 30 min a temperatura ambiente. Se adicionaron 10 µL de DTT. Se adicionaron 200 µL de ABC 50mM (bicarbonato de amonio) y se agitó la muestra. Se adicionaron 25 µL de Tripsina 0.1 µg/ µL, posteriormente las muestras se dejaron reposar a 37 °C en una incubadora por 18 h.

9.3.8.3. Desalado. Para la purificación de la muestra se realizó una cromatografía con puntas de micropipetas especializadas ZipTip C18 fase reversa marca Milipore. El lavado de las puntas consistió en tomar 20 μL de acetonitrilo (ACN), realizar 5 lavados y desechar. Después se tomaron 20 μL de agua ácida (H_2OH) y se realizaron 5 lavados. Ya con las puntas lavadas, se tomó la muestra y se resuspendió con la punta para cargar las proteínas en la columna. Al saturar la columna, se tomaron 20 μL de H_2OH y se vertieron en la muestra 3 veces para eliminar sales dentro de la columna. Se tomaron 20 μL de una solución 50/50 de H_2OH y ACN para eluir las proteínas en un tubo nuevo (Fig. 6).

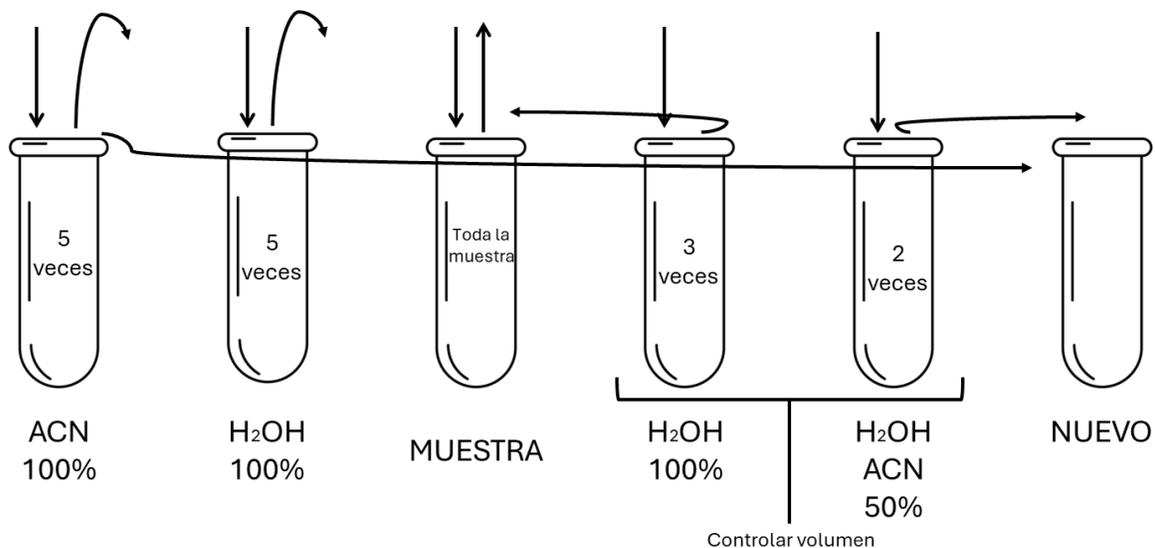


Fig. 6. Esquema del procedimiento para la eliminación de sales en la determinación proteínica. Imagen de Mendoza Cruz (2024).

9.3.8.4. Cuantificación. Se secaron las muestras en un Speedback aproximadamente durante 12 h. Se resuspendieron con 20 μL de agua MiliQ y se agitaron para posteriormente centrifugar por 5 min a 14,000 rpm. Las muestras se cuantificaron en un Nanodrop y se procesaron en un HPLC.

9.3.8.5. Análisis LC-MS/MS. Un Sistema LC-MS que comprende un Ultimate 3000 Dionex – LTQ Orbitrap Velos (Thermo Fisher Scientific, USA) y una columna capilar C18 PEPMAP (Thermo Fisher Scientific, USA) fueron usados para analizar los péptidos trípticos generados por una solución digestiva de cada muestra. Antes de

realizar el análisis, el equipo LTQ Orbitrap Velos se calibró utilizando una solución de iones positivos mixtos (LTQ ESI, Pierce, Thermo Fisher Scientific, USA). Para el análisis, se inyectaron 0.5 µg de péptidos tripticos en el sistema. Los péptidos se separaron utilizando un gradiente de 4%-85% de disolvente B (disolvente A era agua y el disolvente B acetonitrilo, ambos con 0,1% de ácido fórmico) durante 120 min, manteniendo un caudal de 300 nL/min. Todos los espectros se adquirieron en el modo de iones positivos. El método de adquisición implicó una exclusión dinámica ajustada a un máximo de 500 iones y 70 s de duración de la exclusión. Los espectros MS de barrido completo de m/z 400 a 1600 se adquirieron con un poder de resolución de 60 000, un ancho de aislamiento de 3,0 Da y 35 unidades de energía de colisión normalizadas arbitrarias. Se utilizaron alternativamente la disociación inducida por colisión y la disociación activada por colisión de alta energía para la fragmentación. El análisis de los espectros fue realizado mediante el programa computacional Scaffold (TM) versión: Scaffold_5.3.3. Las proteínas determinadas fueron comparadas con las reportadas en la base de datos de UniProt (<https://www.uniprot.org/>) (Bateman et al., 2023) para determinar su función.

9.4. Asociación de respuestas biológicas con los parámetros de vulnerabilidad (capacidad adaptativa, exposición y sensibilidad)

Las respuestas biológicas derivadas del bioensayo de herida se clasificaron en tres niveles de organización biológica, los cuales son el morfológico, el tisular y el proteínico. Se relacionó cada respuesta biológica con la definición de cada parámetro del modelo de vulnerabilidad (Fig. 3.). La capacidad adaptativa se relacionó con las respuestas biológicas de la anémona que permiten adaptarse al cambio o hacer frente a las consecuencias después de la herida. Se seleccionó el proceso de cicatrización, de regeneración muscular y la presencia de proteínas que participan en la miogénesis. El parámetro de exposición se asoció con la magnitud y el grado de estrés, derivado de una herida. Se consideró el diámetro de la herida (mm), los procesos inflamatorios y la presencia de proteínas relacionadas con la inflamación. Por último, el parámetro de sensibilidad vinculó las respuestas biológicas que reflejarán el grado de efecto en el sistema por condiciones del estrés.

En este caso se utilizó el cierre gradual de la herida, la fibrosis y las proteínas asociadas con la fibrosis.

9.5. Cálculo de los parámetros de vulnerabilidad

Para estimar los parámetros de vulnerabilidad se utilizó la clasificación de los niveles de organización (morfológico, tisular y proteínico) como indicadores. Los indicadores fueron evaluados mediante factores, que son las unidades cualitativas o cuantitativas de las respuestas biológicas durante el bioensayo de la herida. Los factores fueron analizados utilizando una metodología de rango, que es una ponderación de aritmética para obtener un valor numérico de 0 a 5. El valor numérico depende de la medida cualitativa o cuantitativa para cada factor. La metodología de rango, tiene un valor mínimo de 0, y un valor máximo de 5, donde 0 indica el menor valor asociado al factor, y 5 del mayor valor asociado al factor. La metodología de rango se estableció por presencia, presencia parcial o ausencia de factores, o bien con las magnitudes asignadas a las respuestas biológicas. Los valores obtenidos de cada factor dentro de los indicadores, fueron promediados para obtener el valor del indicador para cada parámetro. Por último, se obtuvo el promedio de los indicadores para asignar el valor de cada parámetro. El parámetro, indicadores, factores, unidades y metodología de rango se ilustran en la Tabla 1, 2 y 3.

9.5.1. Determinación de la capacidad adaptativa. Los factores analizados para calcular el valor de la capacidad adaptativa fueron los procesos de cicatrización, de regeneración muscular y la presencia de proteínas que participan en la miogénesis. La unidad utilizada fue presencia o ausencia de los factores (Tabla 1).

Tabla 1. Indicadores, factores y rangos utilizados para la determinación del parámetro de la capacidad adaptativa.

Indicadores de la Capacidad Adaptativa										
Parámetro	Datos			Metodología de Rango						Valor asignado
	Indicador	Factor	Unidad	0	1	2	3	4	5	
Capacidad adaptativa	Morfológico	Cicatrización	Ausencia / Presencia	Sin Herida	Herida abierta	---	---	---	Cicatriz	Ausencia o presencia de cicatriz
	Tisular	Reestructuración red muscular	Ausencia / Presencia	Sin daño en red muscular	Sin regeneración red muscular	---	---	---	Regeneración red muscular	Promedio de la ausencia o presencia de la red y/o base muscular
		Reparación base muscular	Ausencia / Presencia	Sin daño en base muscular	Ausencia de base muscular	---	Regeneración parcial base muscular	---	Regeneración base muscular	
	Proteínico	Isoforma X8 similar a la titina	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de regeneración	---	---	---	Actividad enzimática de regeneración	Promedio de la ausencia o presencia de enzimas involucradas en la miogénesis
		Homólogo de titina	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de regeneración	---	---	---	Actividad enzimática de regeneración	
		Fosfopiruvato hidratasa	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de regeneración	---	---	---	Actividad enzimática de regeneración	
Valor de Capacidad adaptativa =									Promedio indicadores	

9.5.2. **Determinación de los parámetros de vulnerabilidad (Exposición y Sensibilidad).** La exposición fue evaluada mediante los siguientes factores: la magnitud de la herida, los procesos inflamatorios y la presencia de proteínas relacionadas con la inflamación. La unidad utilizada fue el diámetro de la herida (mm) y la presencia o ausencia de los factores (Tabla 2).

Tabla 2. Indicadores, factores y rangos utilizados para la determinación del parámetro de exposición.

Indicadores de Exposición										
Parámetro	Datos			Metodología de Rango						Valor asignado
	Indicador	Factor	Unidad	0	1	2	3	4	5	
Exposición	Morfológico	Diámetro de la herida	mm	0	1	2	3	4	5	mm de la herida
	Tisular	Aglomeración celular (inflamación)	Ausencia / Presencia	Sin proceso inflamatorio	Sin aglomerado celular	---	---	---	Aglomerado celular	Promedio de la ausencia o presencia de inflamación
		Cistationina gamma-liasa	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de inflamación	---	---	---	Actividad enzimática de inflamación	Promedio de la ausencia o presencia de enzimas involucradas en la inflamación
	Proteínico	Proteína 1 similar a quitinasa-3	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de inflamación	---	---	---	Actividad enzimática de inflamación	
Valor de Exposición =									Promedio indicadores	

La sensibilidad fue evaluada mediante los siguientes factores: el cierre gradual de la herida (mm), la fibrosis (μm^2) y las proteínas asociadas con la fibrosis. La unidad

utilizada fue la medida en longitud de la herida, el área de fibrosis y por la presencia o ausencia de proteínas asociadas a la fibrosis (Tabla 3).

Tabla 3. Indicadores, factores y rangos utilizados para la determinación del parámetro de sensibilidad.

Indicadores de Sensibilidad											
Parámetro	Datos			Metodología de Rango						Valor asignado	
	Indicador	Factor	Unidad	0	1	2	3	4	5		
Sensibilidad	Morfológico	Cierre de la herida	mm	0	≤ 0.5	0.6 - 1.5	1.6 - 2	2.1 - 2.5	≥ 3	mm del cierre de la herida	
	Tisular	Fibrosis (área)	μm ²	0	≤ 38,317	38,318 – 58,729	58,730 – 101,045	101,046 – 549,261	≥ 549,262	μm ² de fibrosis	
	Proteínico	β-galactosidasa	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de fibrosis	---	---	---	---	Actividad enzimática de fibrosis	Promedio de la ausencia o presencia de enzimas
		Procolágeno-prolina 4-dioxigenasa	Ausencia / Presencia	Actividad enzimática sin herida	Inactividad enzimática de fibrosis	---	---	---	---	Actividad enzimática de fibrosis	involucradas en la fibrosis
Valor de Sensibilidad =										Promedio indicadores	

Los datos fueron utilizados para estimar los parámetros de vulnerabilidad (capacidad adaptativa, exposición y sensibilidad) mediante los promedios de los tres indicadores para cada tiempo experimental (T08, T24, T48, T72).

9.6. Implementación en la propuesta del modelo de vulnerabilidad

Para calcular la vulnerabilidad (Fig. 3.) se utilizó la fórmula propuesta por CIRCA (Connecticut Institute for Resilience & Climate Adaptation, 2021).

Para indicar que tan vulnerable es el sistema biológico ante las heridas en los diferentes tiempos experimentales, se realizó una ponderación de rango aritmética de -5 a 10, donde el valor máximo obtenido del modelo propuesto es 10, lo que implica la máxima vulnerabilidad; y el valor mínimo es -5, lo que implica la mínima vulnerabilidad. Se obtuvieron tres rangos, que son baja vulnerabilidad (de -5 a 0), media vulnerabilidad (de 0.1 a 5) y alta vulnerabilidad (de 5.1 a 10).

10. Resultados

10.1. Mantenimiento y manejo de organismos experimentales: Anémonas

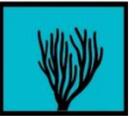
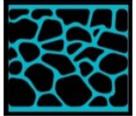
El control adecuado de los organismos en el sistema del CIDMIRA permitió preservar su estado fisiológico durante el período de mantenimiento y describir sus procesos de vida generales (Fig. 7).

El método de anestesia permitió la relajación de las anémonas, evitando la contracción del organismo. Al tener al organismo sedado se logró obtener tres regiones: disco oral (tentáculos), columna y disco pedio.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA

Nombre científico: *Bunodosoma* sp. Nombre común: Anémona



Diagnosis: Anémona con disco pedio para sujetarse. Regularmente con vesículas uniformes redondeadas con nematocistos. Estructuras musculares desarrolladas. Tentáculos y mesenterios dispuestos de forma hexámera. De color rojo a naranja en la base (columna) y de blanco a rojizo en los tentáculos.

Origen: Tecolutla, Veracruz
Fecha: 2021-2023
No. organismos: 12
Tipo de alimentación: Zooplancton liquido
Cantidad de alimento: 0.75 ml p/organismo
Parámetros fisicoquímicos:
Salinidad: 30-35 ppm
Temperatura: 23-28 °C
pH: 8
Amonio: 0 mg/L
Oxígeno disuelto: 6 mg/L
Permiso SEMARNAT: 09/LR-0900/11/17





Fig. 7. Descripción de la anémona *Bunodosoma* sp. en el CIDMIRA-UAM-I (Centro de Investigación y Docencia para el Manejo Integral de Recursos Acuáticos de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa).

10.2. Descripción morfológica de la anémona de mar

Los organismos colectados tuvieron un diámetro de 7 a 15 mm de diámetro completamente expandidos en la región del disco oral y tentáculos. El disco oral,

con un tamaño aproximado de 6 mm, tuvo un aspecto liso con franjas radiales blancas, una coloración blanca rosada y naranja en la zona cercana a la boca. Los tentáculos se encontraban de 5 a 6 ciclos con un total de 80 tentáculos aproximadamente, tenían un aspecto liso con una terminación cónica de un largo de 4 mm aproximadamente. Los tentáculos internos tenían una longitud mayor de aproximadamente 6 mm. Mostraban movimientos contráctiles y una coloración azul en la parte interna, una coloración naranja rodeando el tentáculo y una coloración blanca en la parte más externa del tentáculo. La columna cilíndrica tuvo una longitud de aproximadamente 7 mm de altura cubierta abundantemente de vesículas dispuesta en 90 hileras aproximadamente. El color fue café, rojizo y rosado en algunos organismos. El disco pedio tuvo un diámetro de aproximadamente 6 mm, con color café y con una sustancia mucosa pegajosa. En la Fig. 8 se visualizan los tentáculos, boca, disco oral, columna, vesículas y gastrodermis de la anémona.

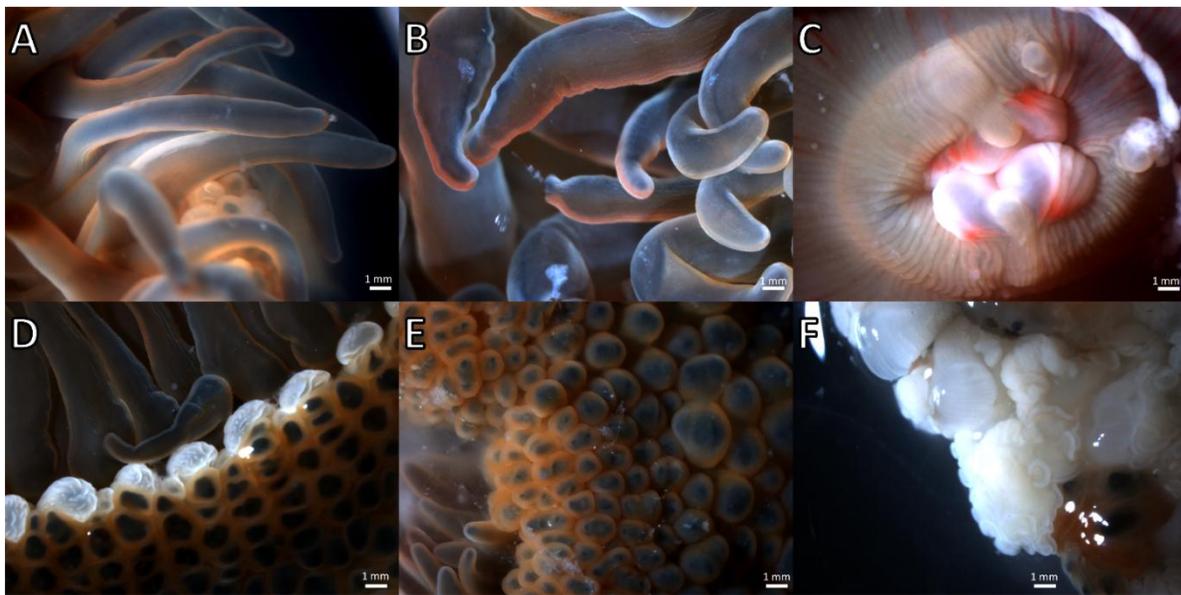


Fig. 8. Morfología de las anémonas de mar. A) y B) Tentáculos dispuestos horizontal y verticalmente. C) Disco oral de la anémona. D) Proyecciones marginales, denotando la zona donde se unen los tentáculos y columna. E) Vesículas recubriendo toda la región de la columna. F) Gastrodermis de la anémona de mar.

10.3. Caracterización histológica: *Bunodosoma cavernatum*.

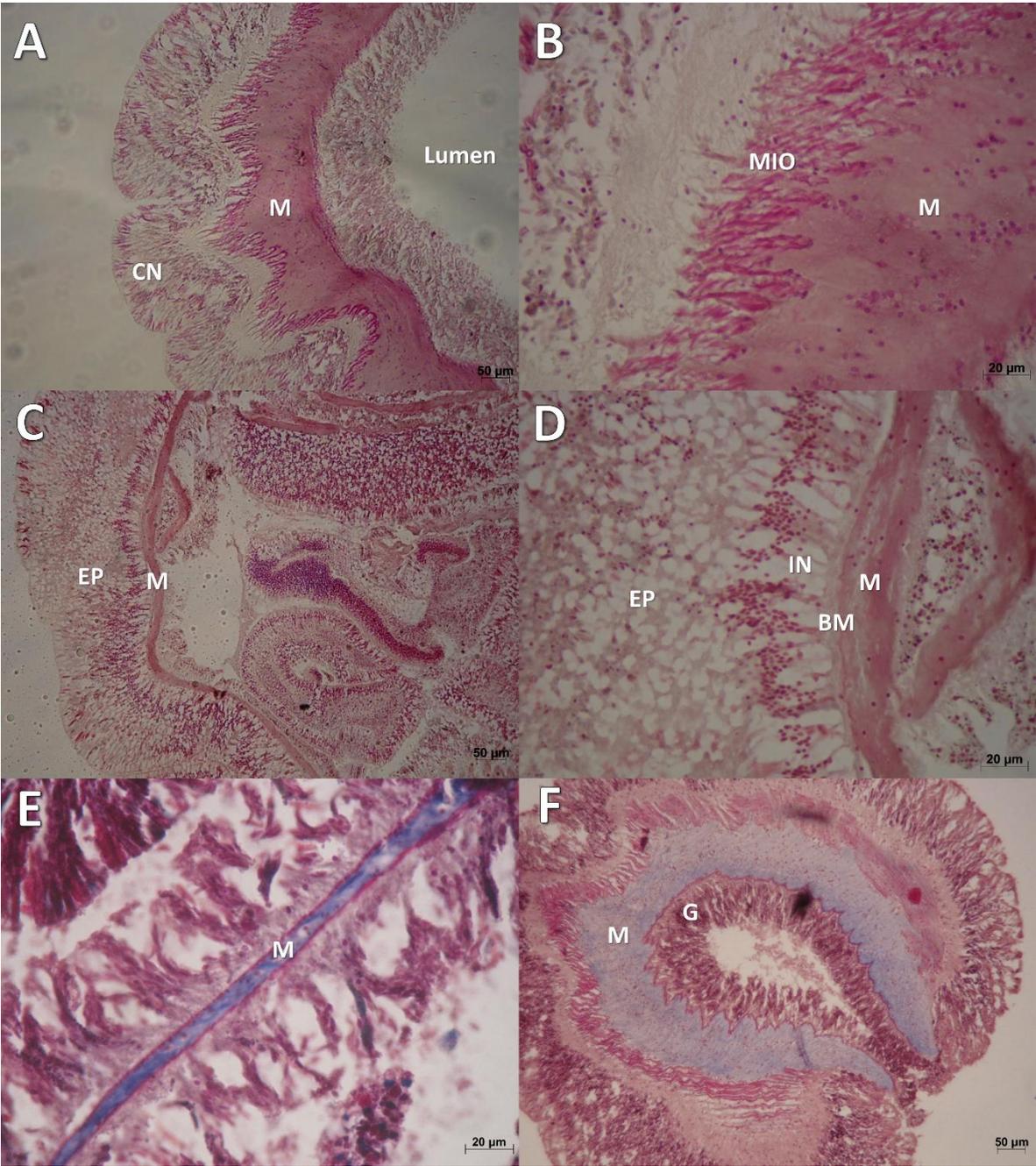
Tentáculos. La estructura tisular de los tentáculos, está compuesto por tejido epitelial escamoso, el cual recubre las células urticantes denominadas cnidocitos. También, se observó una proporción de tejido conectivo denominado mesoglea en la zona continua de las células epiteliales. Por último, se observan estructuras musculares que anclan las células epiteliomusculares con la mesoglea, denominados mionemas (Fig. 9 A y B).

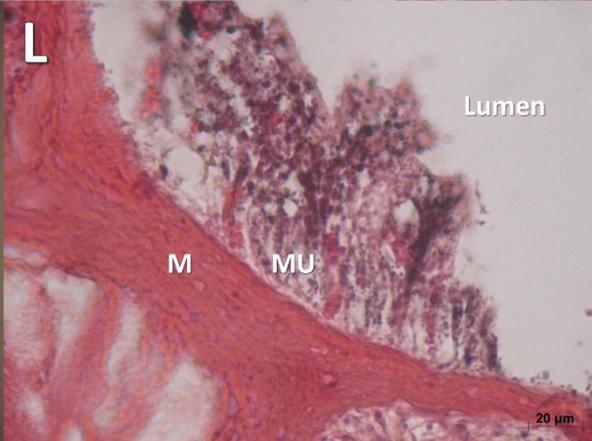
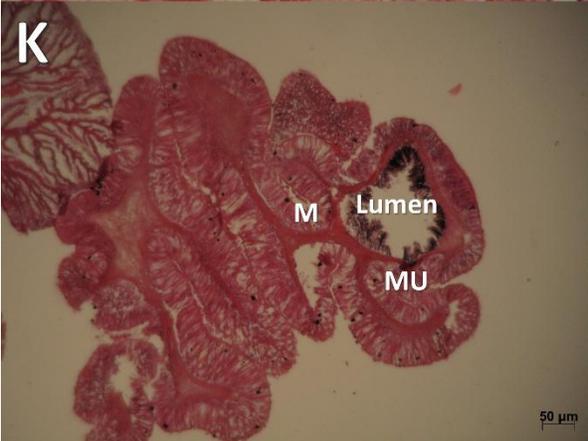
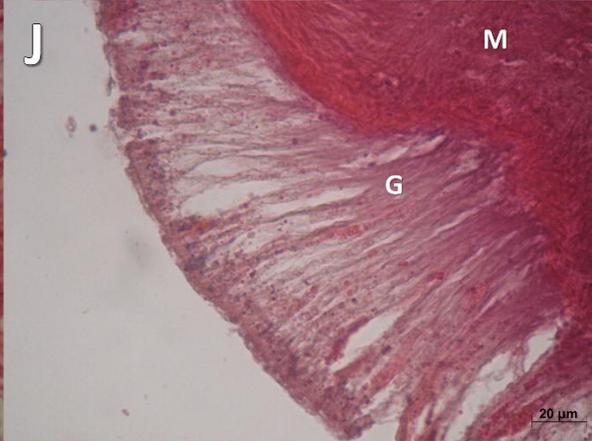
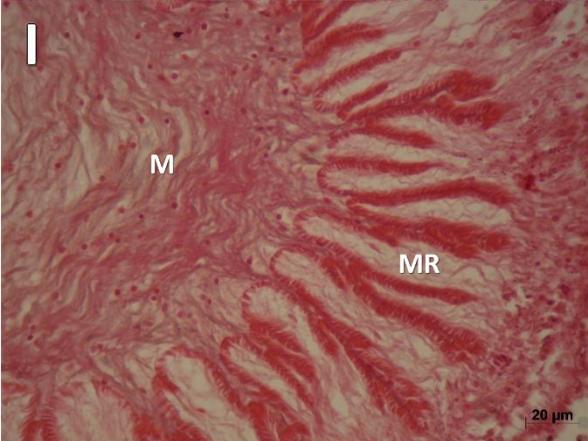
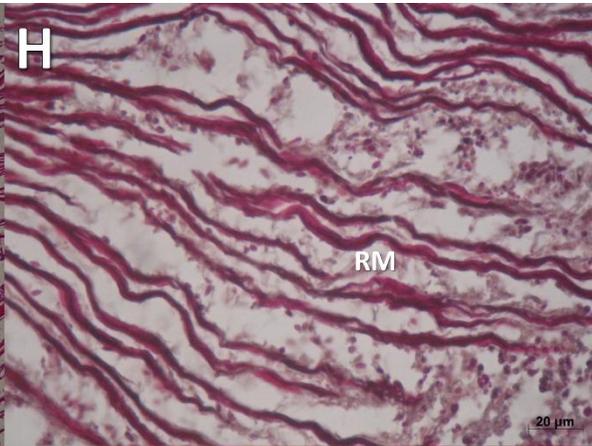
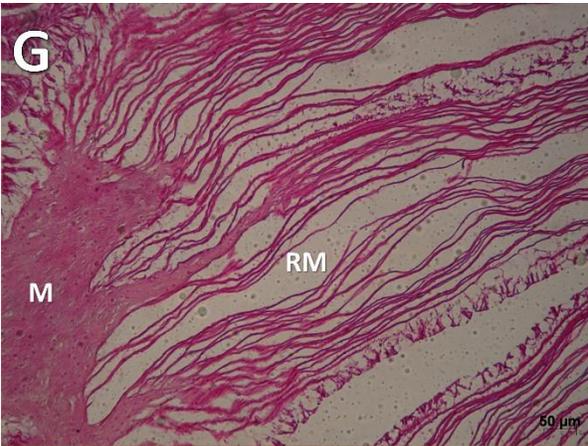
Columna. La región externa de la columna está recubierta de tejido epitelial estratificado escamoso, asociado a una base muscular en las que se distinguen fibras musculares longitudinales. Junto a la base muscular se observa un tejido conectivo denominado mesoglea. Las fibras musculares están incluidas en la capa intermedia, entre los epitelios y la mesoglea, y se proyectan desde la base de la célula epitelial y a lo largo de la mesoglea. Por otra parte, en la región basal del tejido epitelial que recubre la columna, se ubica un cúmulo de células denominadas células intersticiales (Fig. 9 C y D). La mesoglea se conforma de fibras de colágeno (Fig. 9 E y F) evidente al realizar la tinción tricrómica de Masson en regiones del ectodermo y gastrodermis. En las regiones internas de la columna, se observaron estructuras musculares transversales y longitudinales que conforman una red muscular, la cual están asociados a mesoglea. En la Fig. 9 G y H, se muestra el aspecto de la red muscular. En regiones próximas a la red muscular también se identificó una estructura muscular dispuesta en hileras con una unión estrecha entre sí, lo que asemeja al músculo retractor de estos organismos (Fig. 9 I). En la región gatodérmica, visualizamos células glandulares, las cuales cuentan con una morfología alargada con sus núcleos celulares en la región media de la estructura celular. En la zona que se proyecta hacia el lumen de luz, se observa una unión estrecha entre las células glandulares (Fig. 9 J). En regiones donde se observa un lumen de luz, se visualizan células que segregan una sustancia con una tinción basófila predominante, sugiriendo que es un moco rico en componentes ácidos. A estas células se les denomina mucocitos (Fig. 9 K y L). En la región basal de la columna, se visualizaron estructuras con fines reproductivos, como los ovocitos con un núcleo prominente dispuesto a la periferia y una membrana con tinción eosinofila

(Fig. 9. M); y las espermatogonias, que pueden estar en diferentes etapas de maduración dependiendo del desarrollo morfológico de los espermatozoides (Fig. 9 N, O y P).

Disco pedio. La región que permite adherirse al sustrato se denomina disco pedio. El disco pedio se caracterizó por presentar mucocitos asociadas a mesoglea (Fig. 9 Q y R).

En resumen, se observaron los principales tejidos característicos de los animales; tejido epitelial, conectivo y muscular los cuales van a permitir realizar diferentes funciones en las anémonas de mar.





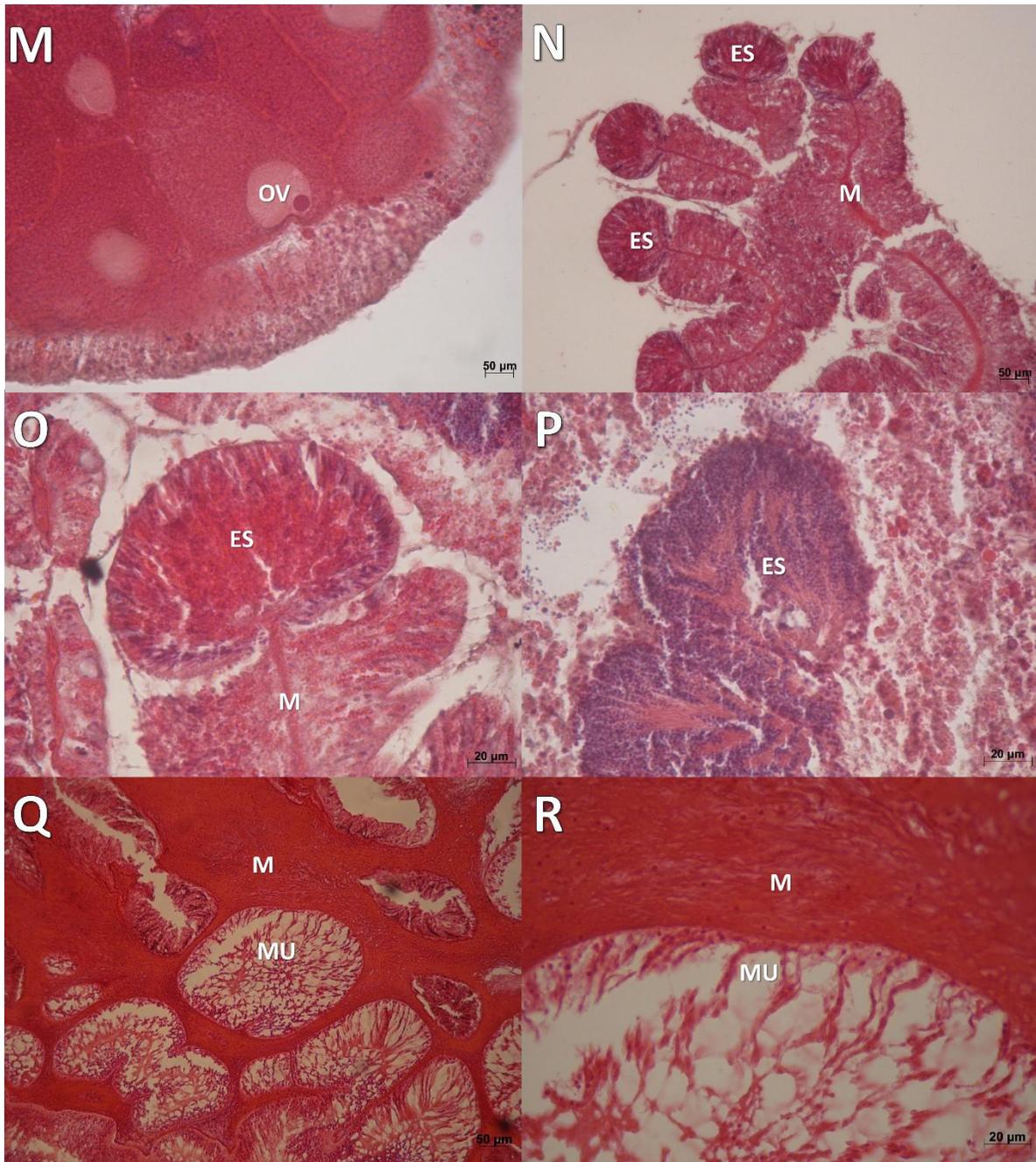


Fig. 9. Descripción histológica de la anémona de mar. A) Tentáculo. Se observan un corte longitudinal de tentáculo, observe cnidocitos en forma aplanada, asociados a una porción de la mesoglea. B) Extensiones de las células epitelio musculares a la mesoglea, denominados mionemas. C) Columna. Ectodermo recubierto de células epitelio musculares asociadas a mesoglea. D) Cúmulos de células intersticiales en la región basal de las epitelio musculares. Presencia de base muscular entre las células epitelio musculares y la mesoglea. E y F*) Tinción de fibras de colágeno en la región de mesoglea cercana al ectodermo y mesodermo. G) Red muscular

anclada a mesoglea en la región interna de la columna. H) Sin tinción positiva en la red muscular con tricrómica de Masson. I) Musculo retractor presente en la región interna de la columna. J) Células glandulares asociadas a mesoglea en la gastrodermis. K y L) Mucocitos con prominente tinción denotando secreciones. M) Identificación de un Ovocito en la región basal de la columna. N y O) Espermatogonias inmadura en la región basal de la columna. P) Espermatogonia madura, donde se visualiza el conjunto de espermatozoides de color morado y sus colas alargadas de color rojizo. Q y R) Disco Pedio. Mucocitos asociadas a mesoglea. BM: Base Muscular. CN: Cnidocitos. EP: Células Epiteliomusculares. ES: Espermatogonia. G: Células Glandulares. IN: Células Intersticiales. M: Mesoglea. MIO: Mionemas. MR: Músculo Retractor. MU: Mucocitos. RM: Red Muscular. OV: Ovocito. Tinción H-E. * Masson.

10.4. Bioensayo de herida en la región de la columna

La anatomía macroscópica y microscópica fue relevante durante el bioensayo de herida. El cierre de la herida fue progresivo a través del tiempo, en el cual se observa una porción gastrodérmica expuesta por la herida y su recubrimiento por la generación de una cicatriz o tejido granular. También se visualizó la aparición de una vesícula sobre la cicatriz después de una semana de la inducción de la herida (Fig. 10).

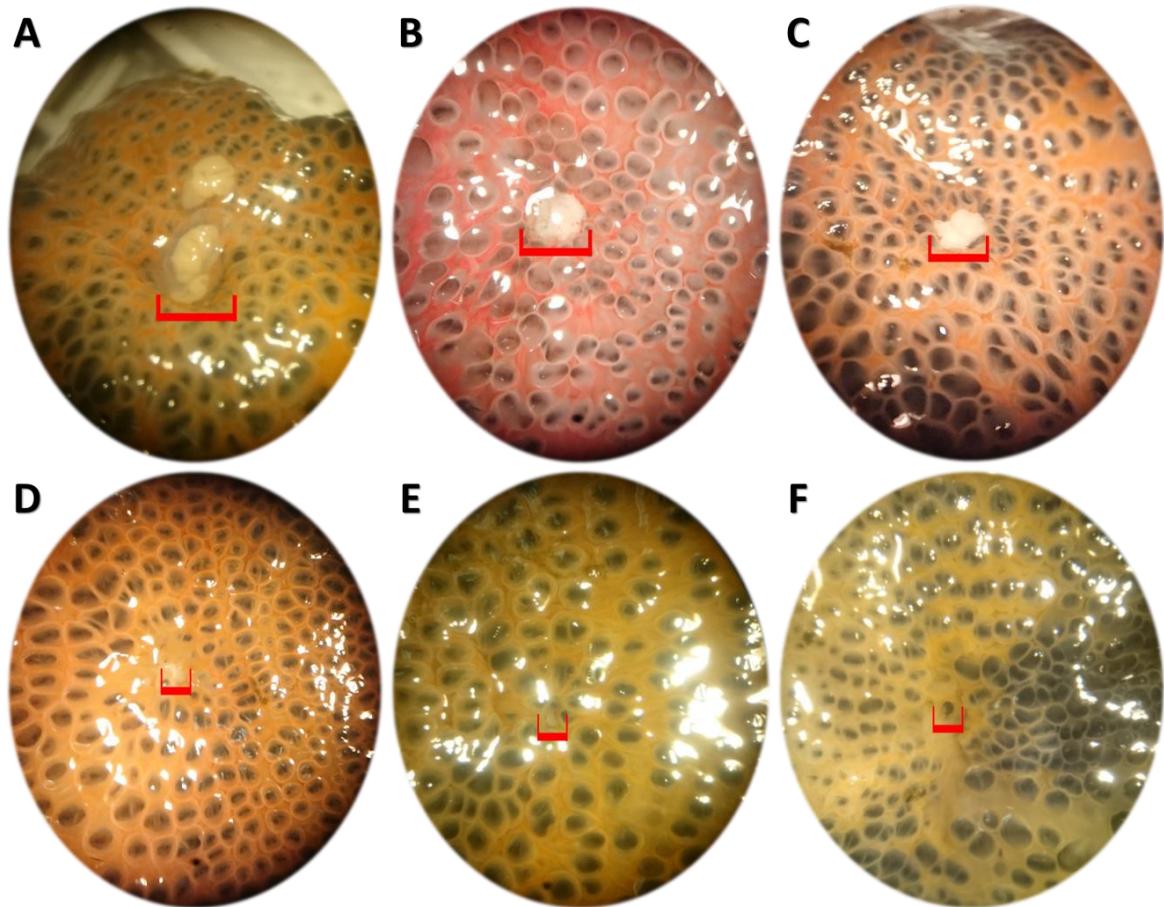


Fig. 10. Análisis morfológico de la herida. A) Herida inicial de 3 mm de diámetro. B) Cierre de herida a las 8 h. C) Cierre de herida a las 24 h. D) Cierre de herida a las 48 h. E) Formación de cicatriz a las 72 h. F) Formación de vesícula a las 168 h.

La herida mostró una progresión de cierre de aproximadamente 0.5 mm entre cada tiempo experimental (08, 24, 48, y 72 h) hasta generar una cicatriz a las 72 h (Fig. 11).

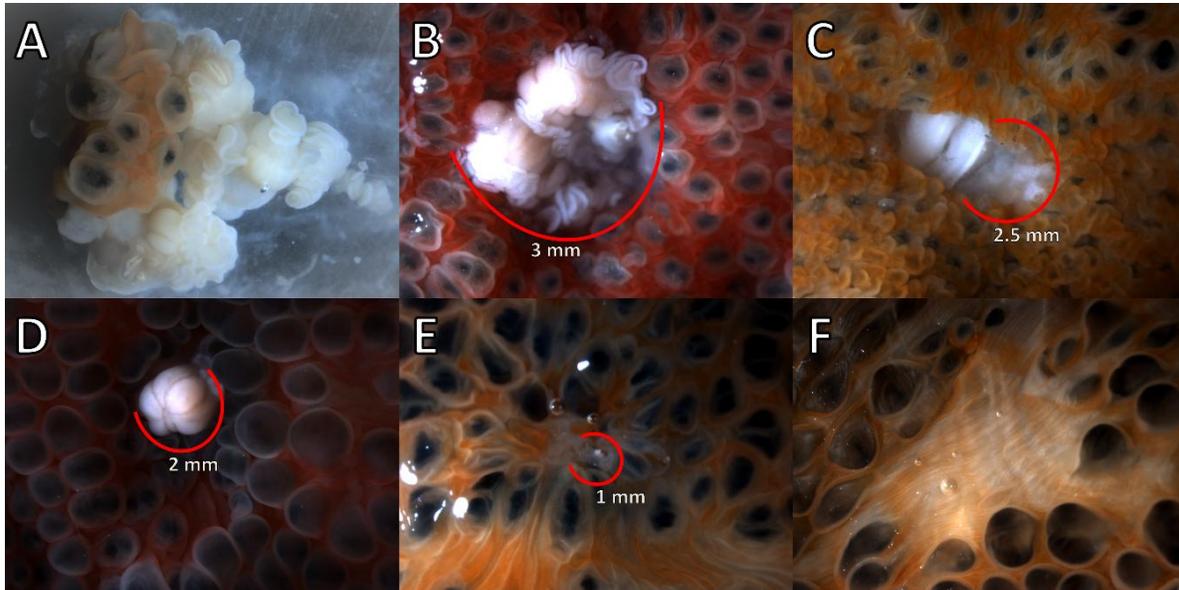


Fig. 11. Análisis morfológico de la herida con microscopio estereoscópico de alta resolución. A) Biopsia obtenida de la región de columna de la anémona de mar. B) Herida inicial de 3 mm de diámetro. C) Herida de aproximadamente 2.5 mm a las 08 h. D) Herida de aproximadamente 2 mm a las 24 h. E) Herida de aproximadamente 1 mm a las 48 h. F) Formación de una cicatriz en la región de la herida.

10.5. Histopatología durante el cierre de herida

El análisis tisular de las biopsias en cada tiempo establecido reflejó una respuesta biológica característica. A las 08 h de la lesión se presentó una actividad celular abundante dentro de una porción de mesoglea, lo cual se asocia a un proceso inflamatorio caracterizado por un cúmulo celular (Fig. 12 A). A las 24 h se observó fibrosis cerca de un epitelio simple no especializado, el cual se caracteriza por la aparición de un tejido conectivo “*de novo*” en regiones en donde hubo pérdida de otro tipo de tejido (Fig. 12 B). A las 48 h fue evidente la aparición de una base muscular la cual delimita las células mioepiteliales de la mesoglea (Fig. 12 C). Y a las 72 h se observó la formación de la red muscular asociada a mesoglea con una actividad celular dispuesta a la periferia, además de la formación de colágeno dentro de la red muscular (Fig. 12 D y E). Por último, a las 624 h se observó una morfología tisular normal, en la cual las diferentes estructuras celulares estuvieron totalmente delimitadas y en la cual el organismo no presentó una alteración fisiológica (Fig. 12 F).

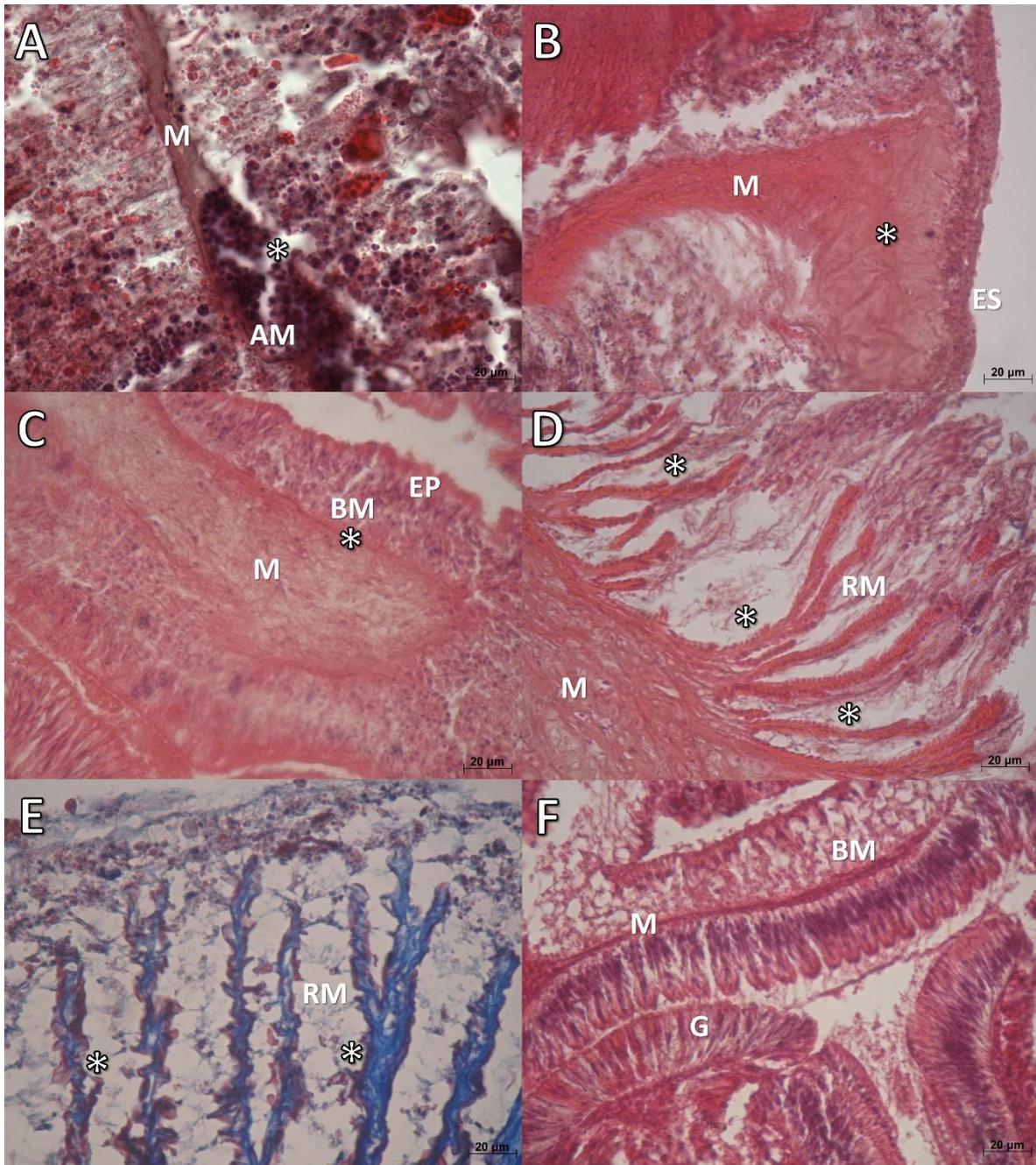


Fig. 12. Análisis histopatológico de una herida en la columna. A) 8 h. Cúmulo de amebocitos en mesoglea. B) 24 h. Fibrosis y aparición de tejido epitelial simple no especializado. C) 48 h. Aparición de base muscular. D, E) 72 h. Formación de fibras musculares con porciones de colágena en su interior. F) 624 h. Morfología celular normal. AM: Amebocitos. BM: Base Muscular. EP: Células Epiteliomusculares. ES: Epitelio Simple. G: Células Glandulares. M: Mesoglea. RM: Red Muscular. Tinción H-E. * Masson.

10.6. Cuantificación de las respuestas tisulares

Las respuestas tisulares relevantes; inflamación, fibrosis y restructuración de la red muscular, fueron cuantificadas (Tabla 4). El proceso inflamatorio, se observó en los cortes tisulares 8 h posteriores a la herida provocada en la anémona, durante este proceso se observó la activación de grupos celulares, llamados amebocitos, que llevan a cabo la fagocitosis. El cúmulo de amebocitos implicó un área de $5634 \mu\text{m}^2$ (Fig. 13 A). Durante la fibrosis (desde las 8 h, hasta las 72 h), se observaron grupos celulares y complementos extracelulares que se encargan de la creación de fibras colágeno y elastina con el fin de rellenar estructuras faltantes de otro tipo de tejido. En el caso de la fibrosis, fue notoria desde las 8 a las 72 h ($n = 4$) posteriores a la herida, se observó un promedio de $186,839 \mu\text{m}^2$ de área impactada (Fig. 13 B y C), sin embargo, esta respuesta biológica mostró una tendencia a disminuir a lo largo del tiempo experimental (Fig. 14). Por otra parte, a las 72 h, también fue posible observar la regeneración de la red muscular evidente por la presencia de paquetes celulares dispuestos en la periferia de las fibras musculares, mostrando una conformación alargada que indica la formación y crecimiento de estructuras musculares cuya medida fue de $1725 \mu\text{m}^2$ (Fig. 13 D). Sin embargo, cabe aclarar que las respuestas biológicas no son discriminativas con respecto al tiempo, ni unidireccionales.

Tabla 4. Cuantificación de las respuestas tisulares (μm^2)			
Tiempo	Cúmulo de células	Tejido conectivo "de novo"	Reestructuración de red muscular
8	5634	549262	No determinado
24	No determinado	101046	No determinado
48	No determinado	58730	No determinado
72	No determinado	38318	1725

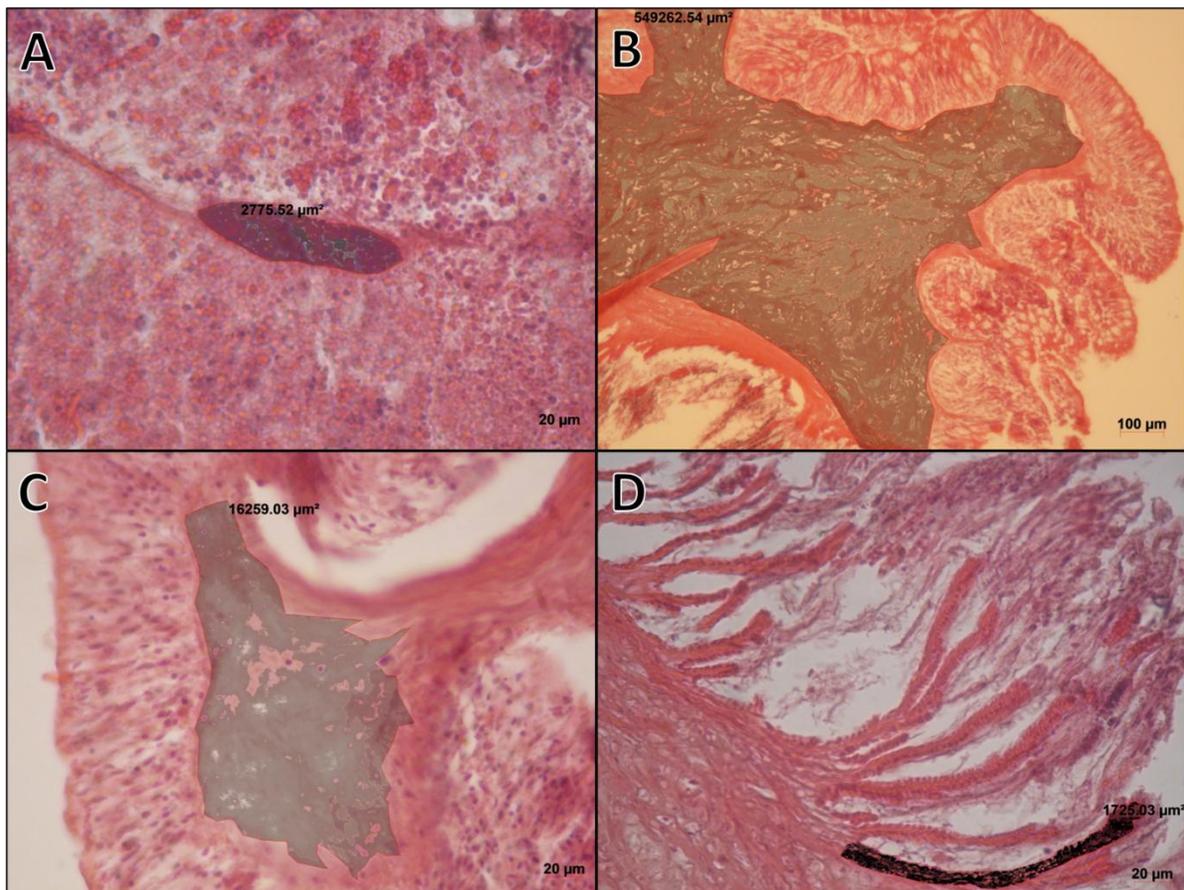


Fig. 13. Representación histológica. A. Se observa el área de los cúmulos celulares. B y C. Se observa el área de tejido conectivo "de novo". D. Se observa el área de la red muscular reestructurada.

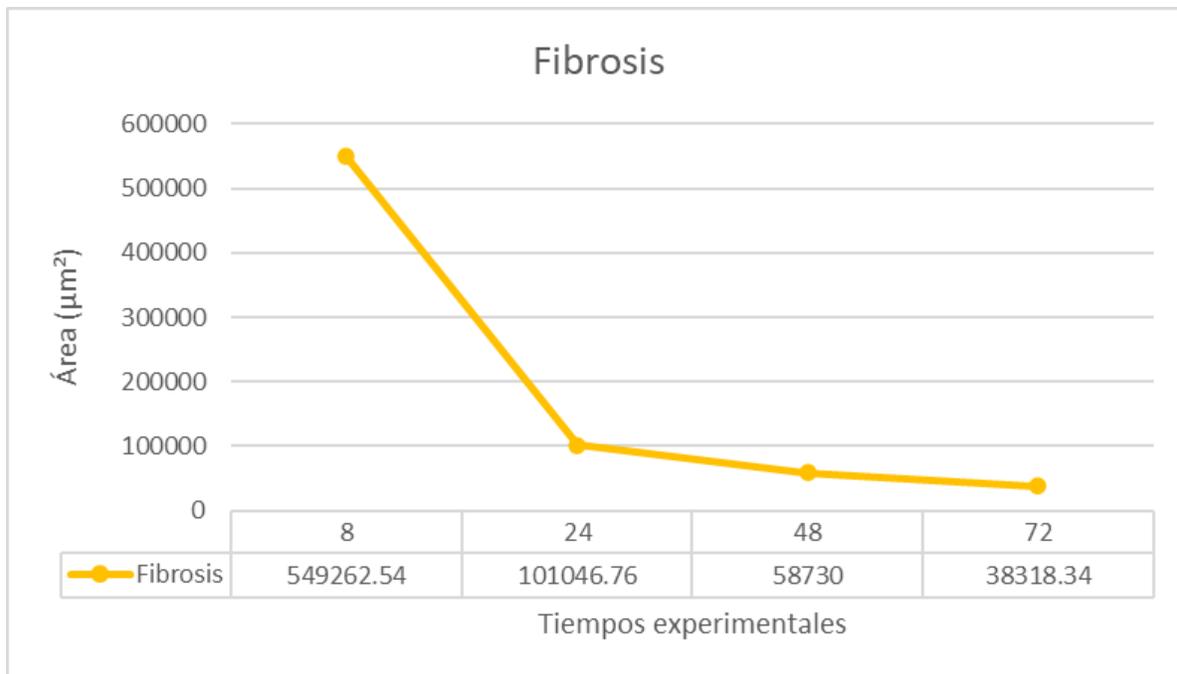


Fig. 14. Relación del área de Fibrosis (μm^2) con respecto al tiempo posterior a la herida. Promedio de $186839 \mu\text{m}^2$.

10.7. Proteómica

Para el análisis de las proteínas fueron utilizadas dos diferentes soluciones amortiguadoras para estandarizar la extracción de las cuales se determinó que con la solución de Tris 100 mM, NaCl 0.5 M, EDTA 10 mM, pH 7.5 se obtuvo una mayor cantidad de proteínas y fue la utilizada para todos los procedimientos de análisis de proteínas. La biopsia pesó aproximadamente 180.26 mg y su contenido fue de aproximadamente 0.4 mg de proteína total. El perfil proteómico permitió observar que existen proteínas presentes en todos los tiempos experimentales en este rango de pesos moleculares, sin embargo, se observaron proteínas específicas solo en algunos tiempos experimentales, por ejemplo, en el T08 se observó una proteína de aproximadamente 70 kDa, en el T24 se ausentó una proteína de aproximadamente 45 kDa. También se observó que en todos los tiempos experimentales hubo una disminución de la proteína de aproximadamente, 50 kDa, lo que indicó que existen proteínas involucradas en la regeneración celular que pueden ser identificadas por sus perfiles proteómicos (Fig. 15).

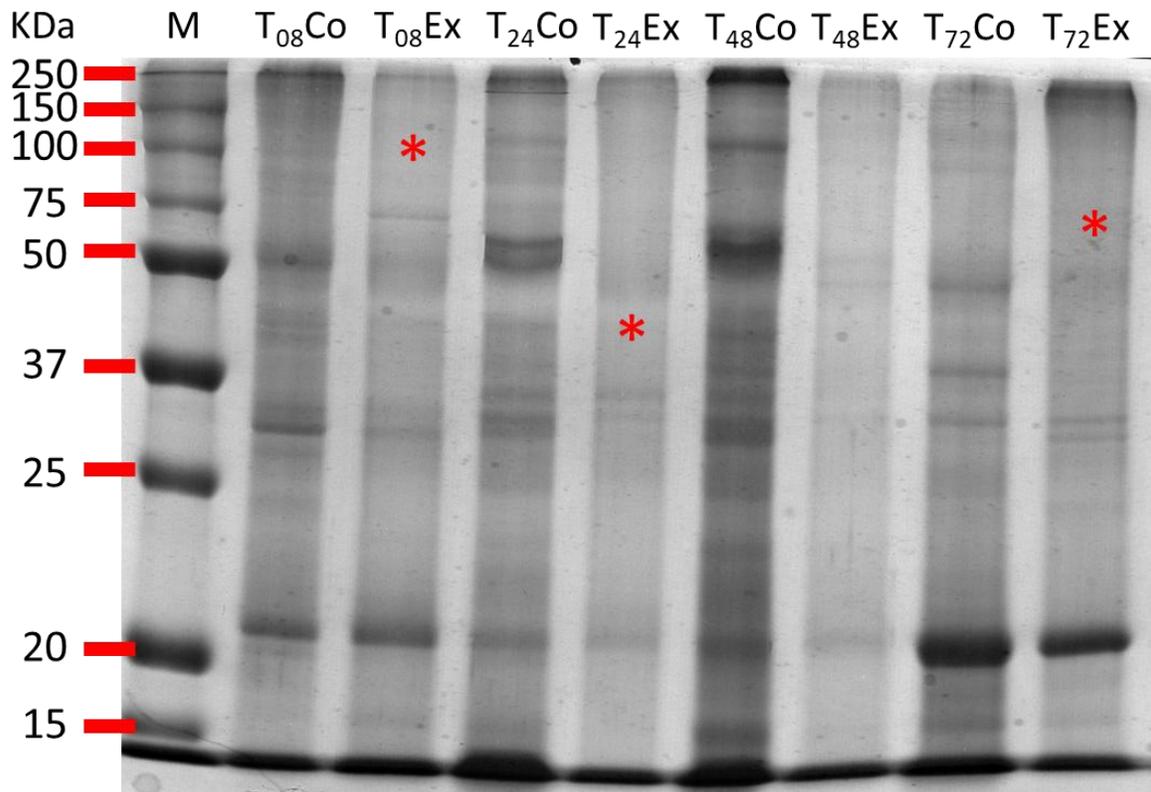


Fig. 15. Patrón electroforético de las biopsias testigo (T0) con respecto a las biopsias realizadas después de la lesión (T08, T24, T48, T72).

El análisis proteínico mediante secuenciación masiva por espectrometría de masas permitió identificar proteínas específicas involucradas en el proceso de reparación tisular. Más de un centenar de proteínas (Fig. 16) fueron determinadas durante el proceso experimental, las cuales se relacionan con procesos estructurales, enzimáticos, reproducción, exocitosis, toxinas, genéticos, antioxidantes, bioluminiscencia, reguladoras, transporte y algunas proteínas no caracterizadas. En esta tesis se reportaron proteínas específicas en la muestra control, como la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa, y en los diferentes tiempos experimentales, como la Isoforma X8 similar a la titina, por ser consideradas las de mayor relevancia en procesos de reparación tisular (Anexo 2). Sin embargo, algunas proteínas, como la fructosa-bifosfato aldolasa, pueden asociarse a uno, o más tiempos experimentales (Anexo 3).

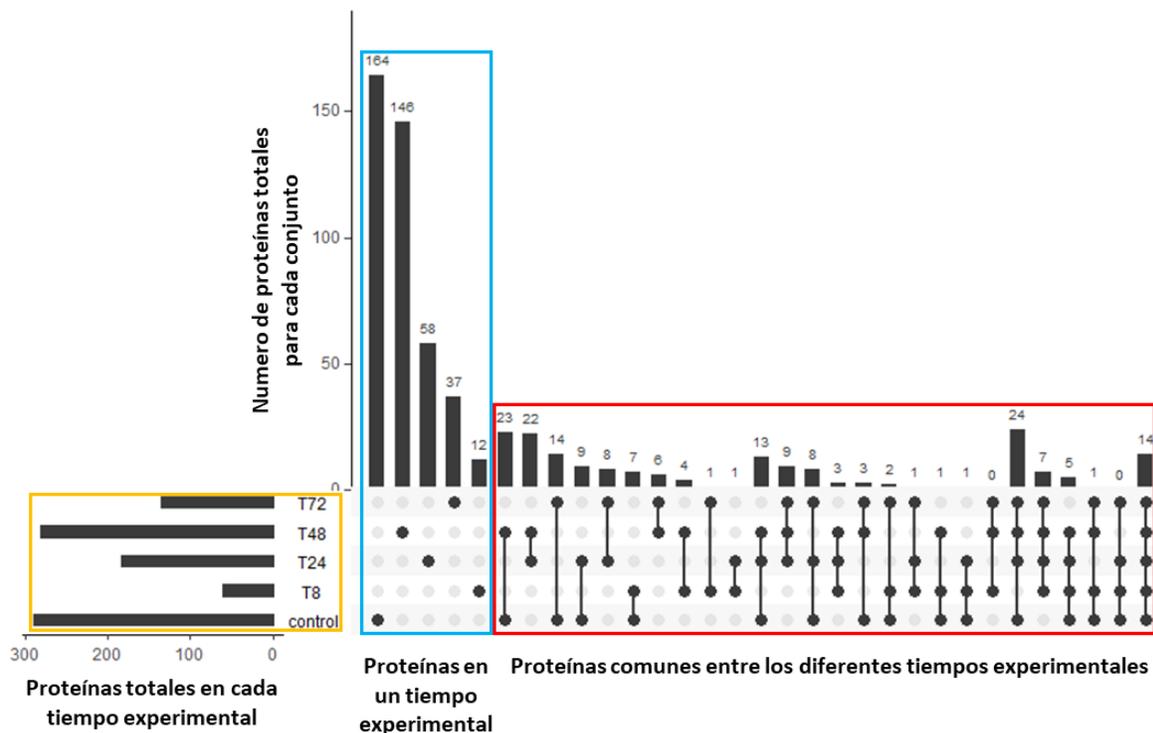


Fig. 16. Proteínas totales presentes en los tiempos experimentales durante el bioensayo de herida. En la gráfica de lado izquierdo se muestra el número de proteínas totales detectadas para cada muestra experimental. En la gráfica de lado derecho, se observa el número de proteínas detectadas en un solo tiempo experimental o si esa proteína se detecta en más tiempos experimentales. Cada barra indica el número de proteínas presentes en cada tiempo experimental (obsérvese el punto debajo de cada barra), también se muestra las proteínas presentes en diferentes tiempos experimentales (puntos unidos con una línea).

Las enzimas encontradas fueron divididas de acuerdo con su función y vinculadas con procesos de reparación de tejidos (homeostasis, regeneración de tejidos y respuestas biológicas ante un estrés). En el tiempo 0 (antes la generación de una herida) se identificaron seis enzimas que tienen como función principal mantener la homeostasis. Este conjunto de proteínas permitió conocer el estado basal proteínico de la anémona antes de la generación de una herida y no se registró su presencia en los tiempos experimentales (T08, T24, T48, T72). Se identificaron enzimas que se presentaban particularmente en cada tiempo y que tenían una función relacionada a la reparación de tejidos (Tabla 5). En resumen, las proteínas

presentes en la anémona intervienen en procesos subcelulares, celulares, tisulares, metabólicos y de control de la homeostasis. Las enzimas descritas, están involucradas en procesos biológicos multifactoriales, es decir, observamos la presencia de enzimas que participan en procesos nerviosos, reepitelización, apoptosis, diferenciación celular, regulación de reparación y daño a ADN, comunicación celular, inmunológicos, actividad fibrinolítica, inflamación, miogénesis, metabolismo energético, proliferación celular y formación de estructuras musculares, entre otros procesos.

Algunas enzimas se encontraron en todos los tiempos experimentales, entre las cuales destacan cinco por su presencia constante en los procesos biológicos, durante el bioensayo. Otras enzimas (ocho) se presentaron en dos o más tiempos experimentales. Las proteínas descritas en este apartado funcionan en la formación de estructuras musculares clave para la contracción muscular, en procesos mitocondriales, en la respuesta inmune, en la desintoxicación celular por radicales libres y en los procesos digestivos (Tabla 6). Las proteínas descritas en la Tabla 6 intervienen en la sobrevivencia celular, la reparación de ADN, la estructuración muscular, la síntesis de colágeno, en los procesos inmunes, la remodelación de los tejidos, la homeostasis, la respuesta inflamatoria, la regeneración muscular y la degradación tisular. Las proteínas tienen una función determinada durante el proceso de reparación tisular, pero también participan de manera diferencial durante el tiempo posterior a la herida.

Tabla 5. Enzimas involucradas en el proceso de reparación tisular y celular de la anémoma *Bunodosoma cavernatum* en cada tiempo experimental.

Tiempo (h)	Enzima	Función (Bateman et al., 2023)
0 horas	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa	Juega un rol crítico en la síntesis de colesterol celular para la homeostasis
	Proteína que contiene dominio POZ (POxvirus y dedo de Zinc)	Participa en la diferenciación mesenquimal y promueve la diferenciación miogénica
	Inositol hexakisfosfato y difosfoinositol-pentakisfosfato quinasa	Mantenimiento de la integridad celular, el crecimiento celular y la interacción con complejos proteínicos relacionados con actina (ARP) para su funcionamiento
	Fosfatidilinositol-3-fosfato fosfatasa	Regula los filamentos intermediarios de desmina que se encargan del ensamblaje y arquitectura de vacuolas. Es importante recalcar que también tienen una función en el mantenimiento del músculo esquelético, pero no participa en la miogénesis.
	Proteína con dominio OTU	Regulación de la energía del metabolismo (pertenece a la superfamilia de proteínas asociadas al tumor ovárico/proliferación celular)
	Proteína homóloga de cistinosisina	Participa en la degradación de células apoptóticas engullidas
08 horas	Proteína que contiene el dominio tioredoxina	Actúa como un regulador positivo de la señalización ciliar y participa en la ciliogénesis
	Endoquitinasa ácida	Esta proteína funciona como defensa contra los hongos patógenos que contienen quitina.
24 horas	Ácido graso 2-hidroxilasa	Síntesis de galactoesfingolípidos, esfingolípidos y glicoesfingolípidos relacionados respectivamente, con la vaina de mielina y la formación de capas epidérmicas relacionados con la barrera de permeabilidad
	Proteína-serina/treonina fosfatasa	Implicada en un amplio rango de procesos celulares (apoptosis, diferenciación, respuesta de daño a ADN, sobrevivencia celular, regulación de canales iónicos, regulación del ciclo circadiano) en respuesta a hormonas esteroideas, hormona tiroidea, calcio, ácidos grasos, TGF-Beta, estresores oxidativos y estresores genotóxicos
48 horas	Proteína similar a la endoquitinasa ácida	Defensa contra patógenos fúngicos.
	Enzima convertidora de angiotensina	Involucrada en procesos vasculares y reguladora en la diferenciación de células madre hematopoyéticas
	Proteína tipo carboxipeptidasa B	Relacionada con la disminución de la fibrinólisis, eliminando los residuos de lisina C-terminal de la fibrina
	Cistationina gamma-liasa	Participa en procesos inflamatorios y de miogénesis
	Proteína Tipo elastasa-1	Regula la formación de elastina
	Poli [ADP-ribosa] polimerasa	Regula la reparación de ADN
	Proteína similar a la glucosilgalactosilhidroxilisina glucosidasa	Regula la hidrólisis de la glucosa en el colágeno, participando en el metabolismo energético del organismo (Hamazaki & Hamazaki, 2016)
Proteína-tirosina-fosfatasa	Estimula el ciclo celular durante la mitosis y mejora la proliferación celular	
	Isoforma X8 similar a la titina	Proteína con sitios de unión para proteínas asociadas al músculo, por lo que sirve como plantilla de adhesión para el ensamblaje de la maquinaria contráctil en las células musculares
	Proteína UDP-N-acetilhexosamina pirofosforilasa	Tiene un papel en el metabolismo y actúa como regulador de la inmunidad innata en respuesta a la infección por virus.
72 horas	β-galactosidasa	Formación de fibras elásticas extracelulares (elastogénesis) y en el desarrollo del tejido conectivo.
	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (GTP)	Participa en la gluconeogénesis, en la formación de ácidos grasos y es importante para reconocer procesos de infección a través de macrófagos

Tabla 6. Enzimas presentes en diferentes tiempos de experimentación.

Enzima	Función (Bateman et al., 2023)	Tiempo experimental				
		0	8	24	48	72
Fructosa-bifosfato aldolasa	Conecta los filamentos de actina, en el complejo proteínico de actomiosina que se encarga de la contracción muscular	X	X	X	X	X
Proteína que contiene dominio AAA+ ATPasa	Se encarga de la síntesis de proteínas mitocondriales, de la replicación del ADN mitocondrial y está implicada en la inmunidad innata antiviral mediado por mitocondrias	X	X	X	X	X
Proteína tipo lisozima	Actúa como un péptido antibacteriano	X	X	X	X	X
Superóxido dismutasa [Cu-Zn]	Destruye los radicales que normalmente se producen dentro de las células y que son tóxicos para los sistemas biológicos	X	X	X	X	X
Catepsina L1	Desempeña un papel en los procesos digestivos	X	X	X	X	X
Serina/treonina-proteína fosfatasa 4, subunidad reguladora tipo 3	Prevenir la muerte celular inducida por caspasa (<i>in vitro</i>)	X		X		
Homólogo de titina	Componente clave en el ensamblaje y funcionamiento de los músculos. Determina las propiedades de extensibilidad de los sarcómeros del músculo. En las células no musculares, parece desempeñar un papel en procesos mitóticos	X			X	
Procolágeno-prolina 4-dioxigenasa	Participa en la síntesis de colágeno	X			X	
Nucleótido deshidratasa RSAD2 dependiente de S-adenosilmetionina	Desempeña un papel en la inmunidad antiviral, inhibe la replicación viral, activa y diferencia células inmunes	X			X	
Proteína 1 similar a quitinasa-3	Pertenece a la familia de las lectinas y desempeña su función en la remodelación de los tejidos, la homeostasis y en la respuesta inflamatoria (regulando la sensibilización a alérgenos, la apoptosis de las células inflamatorias, la acumulación de células dendríticas y la diferenciación de macrófagos)			X	X	
Fosfopiruvato hidratasa	Desarrollo y la regeneración del tejido muscular	X		X		X
Serina/treonina proteína quinasa no específica	Señalización de la respuesta inmune y la supervivencia intracelular	X		X	X	
Lactoilglutación liasa	Interviene en los procesos de diferenciación y maduración de osteoclastos, y la degradación de tejido ósea, reportado en vertebrados			X	X	X

10.8. Relación de Respuestas Biológicas Tisulares y Proteínicas en la Reparación Tisular.

A pesar de que existen diferentes enzimas asociadas con los tiempos experimentales cuya función ya fue descrita, se seleccionaron enzimas reportadas por su participación en los procesos de inflamación, fibrosis y restructuración de la red muscular, observadas durante el bioensayo de reparación de tejidos (Bateman et al., 2023). La inflamación se asoció con las enzimas cistationina gamma-liasa y la proteína 1 similar a quitinasa-3; la fibrosis se asoció con las enzimas β -galactosidasa y la procolágeno-prolina 4-dioxigenasa; la restructuración de la red muscular se asoció con las enzimas isoforma X8 similar a la titina, el homólogo de la proteína titina y la proteína fosfopiruvato hidratasa (Tabla 7). Las respuestas biológicas tisulares y proteínicas tienen un papel importante en la recuperación y la resiliencia de la anémona.

Tabla 7. Relación de las enzimas con los procesos de inflamación, fibrosis y restructuración de la red muscular

Enzimas asociadas a la inflamación	Función (Bateman et al., 2023)
Cistationina gamma-liasa	Participa en una gran variedad de procesos fisiológicos como la vasodilatación, la protección de huesos e inflamación. Contribuye en la miogénesis
Proteína 1 similar a quitinasa-3	Lectina que se une a carbohidratos con preferencia por la quitina. No tiene actividad quitinasa. Puede desempeñar un papel en la remodelación tisular. Desempeña un papel en la respuesta inflamatoria.
Enzimas asociadas a la fibrosis	Función (Bateman et al., 2023)
β -galactosidasa	No tiene actividad catalítica de beta-galactosidasa. Participa en la formación de fibras elásticas extracelulares (elastogénesis) y en el desarrollo del tejido conectivo. En las células productoras de elastina, se asocia con la tropoelastina intracelularmente y funciona como una chaperona molecular que facilita las secreciones de tropoelastina y su ensamblaje en fibras elásticas.
Procolágeno-prolina 4-dioxigenasa	Participa en la síntesis de colágeno
Enzimas asociadas a la regeneración muscular	Función (Bateman et al., 2023)
Isoforma X8 similar a la titina	Esta proteína contiene sitios de unión para proteínas asociadas al músculo, por lo que sirve como plantilla de adhesión para el ensamblaje de la maquinaria contráctil en las células musculares.
Homólogo de titina	Componente clave en el ensamblaje y funcionamiento de los músculos. Determina las propiedades de extensibilidad de los sarcómeros del músculo. En las células no musculares, parece desempeñar un papel en procesos mitóticos.
Fosfopiruvato hidratasa	Esta proteína parece tener una función en el desarrollo y la regeneración del tejido muscular.

10.9. Estimación de la Capacidad Adaptativa

Se estimó la capacidad adaptativa utilizando indicadores y factores asociados. En este trabajo se buscó establecer el indicador que refleje de manera adecuada la capacidad adaptativa. La regeneración de estructuras musculares da evidencia de la rehabilitación del movimiento y de su capacidad de ajustarse a un cambio, es decir de su capacidad adaptativa. La restructuración de tejido muscular involucra el desarrollo y crecimiento de estructuras que fueron dañadas durante el experimento. Morfológicamente el factor evaluado fue la cicatrización, mientras que el indicador tisular fue evaluado con el factor de la reparación de la base muscular y la restructuración de la red muscular. El indicador proteínico incluyó la presencia o ausencia de enzimas relacionadas con la función y reparación muscular (la Isoforma X8 similar a la titina, el homólogo de la proteína titina y la proteína fosfopiruvato hidratasa). La presencia o ausencia de los factores permitió estimar la capacidad adaptativa, donde el valor de la capacidad adaptativa de las anémonas 08 h posteriores a la lesión fue 1, mientras que a las 24 h fue 1.78, a las 48 h fue 2.56 y por último a las 72 h fue 4.11, valores que reflejan la habilidad de restructurar el tejido muscular y en consecuencia recobrar la movilidad ante una herida (Tabla 8). La restructuración del tejido muscular es una evidencia del potencial y/o habilidad del sistema biológico para ajustarse a situaciones de daño, en este caso producidas por la herida.

Tabla 8. Determinación del valor numérico para estimar la capacidad adaptativa.

Estimación de la Capacidad Adaptativa							
Parámetro	Datos			Tiempos Experimentales			
	Indicador	Factor	Unidad	08 h	24 h	48 h	72 h
Capacidad adaptativa	Morfológico	Cicatrización	Ausencia / Presencia	1	1	1	5
	Tisular	Reestructuración red muscular	Ausencia / Presencia	1	2	3	5
		Reparación de base muscular	Ausencia / Presencia				
	Proteínico	Isoforma X8 similar a la titina	Ausencia / Presencia	1	2.33	3.67	2.33
		Homólogo de titina	Ausencia / Presencia				
		Fosfopiruvato hidratasa	Ausencia / Presencia				
Valor de Capacidad Adaptativa =				1	1.78	2.56	4.11

10.10. Propuesta del Modelo de Vulnerabilidad

El modelo de vulnerabilidad considera la exposición. La inflamación da evidencia de la fase en donde se relaciona el sistema biológico con la fuente de estrés, es decir la herida provocada. Una herida puede ser de mayor o menor impacto dependiendo de sus dimensiones y su respuesta primaria ante un estímulo de estrés. En consecuencia, en este trabajo los factores considerados para evaluar la exposición fueron: el área de la herida (mm^2), la presencia o ausencia de la aglomeración celular (inflamación), y de enzimas relacionadas con procesos inflamatorios (la cistationina gamma-liasa y la proteína 1 similar a quitinasa-3). El parámetro de exposición calculado fue de 3 a las 08 h, de 2.33 a las 24 h, de 3 a las 48 h y de 1.67 a las 72 h, pudiendo estimar el daño primario ante una fuente de estrés (Tabla 9).

Tabla 9. Determinación del valor numérico para estimar la exposición.

Estimación de la Exposición							
Datos				Tiempos Experimentales			
Parámetro	Indicador	Factor	Unidad	08 h	24 h	48 h	72 h
Exposición	Morfológico	Diámetro de la herida	mm	3	3	3	3
	Tisular	Aglomeración celular (inflamación)	Ausencia / Presencia	5	1	1	1
	Proteínico	Cistationina gamma-liasa	Ausencia / Presencia	1	3	5	1
		Proteína 1 similar a quitinasa-3	Ausencia / Presencia				
Valor de Exposición =				3	2.33	3	1.67

Un cambio gradual a través del tiempo experimental (desde las 8 h, hasta las 72 h) es el proceso fibrótico, a través del cual se infiere la sensibilidad del tejido ante la lesión. La fibrosis es una respuesta gradual del sistema biológico que es afectado adversamente por la lesión, por lo cual se propone como un indicador del parámetro de sensibilidad. El parámetro de sensibilidad fue evaluado mediante indicadores que implican los rangos del calibre de la herida, el área (μm) de la fibrosis y la presencia o ausencia de enzimas asociadas con la fibrosis (la β -galactosidasa y la procolágeno-prolina 4-dioxigenasa). Los valores estimados para el parámetro de sensibilidad fueron de 3.67 a 2.33 en los intervalos de tiempos experimentales (Tabla 10). Estos valores relativamente graduales sugieren como el sistema fue afectado adversamente por la fuente de estrés.

Tabla 10. Determinación del valor numérico para estimar la sensibilidad.

Estimación de la Sensibilidad							
Datos				Tiempos Experimentales			
Parámetro	Indicador	Factor	Unidad	08 h	24 h	48 h	72 h
Sensibilidad	Morfológico	Cierre de la herida	mm	5	4	3	2
	Tisular	Fibrosis (área)	μm^2	5	4	3	2
	Proteínico	β -galactosidasa	Ausencia / Presencia	1	1	3	3
		Procolágeno-prolina 4-dioxigenasa	Ausencia / Presencia				
Valor de Sensibilidad =				3.67	3	3	2.33

Al relacionar los tres parámetros dentro del modelo de vulnerabilidad de la anémona ante una herida, se estimó a las 8 h una vulnerabilidad de 5.67, a las 24 h de 3.56, a las 48 h de 3.44 y a las 72 h de -0.11, implicando estos resultados que, a las 8 h de sufrir una herida, se generó una mayor vulnerabilidad ante esta fuente de estrés (Tabla 11).

Tabla 11. Cálculo de vulnerabilidad para la anémona *Bunodosoma cavernatum* utilizando los promedios de cada parámetro.

Estimación de la Vulnerabilidad				
Vulnerabilidad = Exposición + Sensibilidad – Capacidad Adaptativa				
Tiempo	Exposición	Sensibilidad	Capacidad Adaptativa	Vulnerabilidad
08 h	3	3.67	1	5.67
24 h	2.33	3	1.78	3.56
48 h	3	3	2.56	3.44
72 h	1.67	2.33	4.11	-0.11

11. Discusión

11.1. Cnidarios como modelos de investigación

El modelo experimental utilizado fue fácil de mantener en condiciones de laboratorio, no se observó tasa de mortalidad en los organismos experimentales. Algunos autores han utilizado a los cnidarios para diferentes investigaciones a nivel celular, del desarrollo de heridas, en la respuesta inmunitaria y en procesos regenerativos, entre otras (Cheung et al., 2024; Levanoni et al., 2024; Rathinam et al., 2024; Work et al., 2024). Sin embargo, el trabajo que se desarrolló permitió obtener las condiciones ideales para anestésiar, obtener muestras tisulares y evitar el sacrificio de los organismos, por lo cual constituye una aportación para utilizar los cnidarios como modelos experimentales.

11.2. Determinación de la especie

Las anémonas, como otros cnidarios, requieren una batería de pruebas morfológicas, tisulares y moleculares para la identificación de sus relaciones filogenéticas (Forero Mejía et al., 2020; Herrera-Bojórquez et al., 2020). Para poder clasificar de manera más eficiente la especie a las que pertenecen las anémonas, se sugiere realizar un análisis del cnidoma (conjunto de diferentes tipos de cnidocitos) y filogenia molecular (Forero Mejía et al., 2024; Mejía-Sánchez & Marques, 2013). Las anémonas de Tecolutla, Veracruz han sido identificadas dentro del género *Bunodosoma*. Los caracteres, como el número de tentáculos dispuestos en la región oral o la presencia de vesículas en disposición longitudinal, coinciden con las claves taxonómicas señalando que se trata de la especie *Bunodosoma cavernatum* (González-Muñoz et al., 2013; Valdez Peralta, 2022; Valdez-Peralta et al., 2019), sin embargo, es esencial llevar a cabo pruebas moleculares para asegurar la correcta identificación de la especie, ya que este tipo de organismos tienen abundantes diferencias morfológicas interespecie.

11.3. Descripción histológica

El análisis tisular dio evidencias de la presencia de cnidocitos en la región de los tentáculos y la columna. Los cnidocitos tienen diversas funciones como la captura

de alimento, como mecanismo de defensa y pueden dividirse de acuerdo con su morfología. Debajo de la capa epitelial del tentáculo, se ubican estructuras musculares denominadas mionemas, las cuales se ha reportado son extensiones de las células epiteliomusculares que recubren la mesoglea (Strömberg & Östman, 2017). En la estructura más prominente, que es la columna, se reconocieron principalmente los tejidos epitelial, conjuntivo y muscular, lo cual coincide con la descripción de otros autores. Zamponi & Deserti (2009) han descrito la presencia de células y tejidos característicos en las anémonas, coincidiendo con la descripción tisular reportada en este trabajo para la región de los tentáculos, la columna y el disco pedio. En la región externa de la columna, se observaron células mioepiteliales o epiteliomusculares, las cuales confieren una capacidad de protección y contracción. En la base de las células mioepiteliales, se encontraron las células intersticiales, las cuales se ha reportado como células indiferenciadas, con carácter multipotente y alta capacidad proliferativa. De igual importancia, en la región externa e interna de la columna, se observó un tejido conectivo denominado mesoglea que fue teñido con la tinción tricrómica de Masson. Esta técnica permitió diferenciar la mesoglea de las regiones epiteliales y musculares, tiñendo de color azul la mesoglea por la presencia de fibras de colágeno, mientras que los epitelios se diferencian en tonos color rosa (Spano & Flores, 2013). En la mesoglea se encontraron células denominadas amebocitos cuya función es la de transporte de gases, nutrientes y de defensa inmunitaria (Gold & Jacobs, 2013). Las células intersticiales y amebocitos, por su capacidad multipotencial, sugieren una función análoga. Otras estructuras dentro de la región interna de la columna son la red muscular en disposición longitudinal, transversal y circular; y los músculos retractores, los cuales amplían la capacidad regulatoria del esqueleto hidrostático (controlando el contenido hídrico) mediante su distensión o contracción (Kier, 2012). Las células glandulares ubicadas en la región más externa de la gastrodermis, tienen la capacidad de secretar gránulos o vesículas con actividad lisosomal, para la digestión de alimentos en la cavidad gastrovascular. Pero, además, se pueden encontrar en la superficie externa del organismo para protegerse o digerir otros agentes extraños u organismos que compitan por el espacio (Berzins et al., 2021).

En la región epidérmica se encontraron células denominadas mucocitos, los cuales se ha reportado, secretan un moco compuesto de polisacáridos, proteínas y lípidos, lo que colabora con la alimentación y la eliminación de sedimento. Mediante esta secreción, el organismo adquiere protección contra de la desecación y genera una barrera ante factores fisicoquímicos, como la salinidad, los cambios de temperatura y la exposición a los rayos ultravioleta. Por último, se cree que el moco se relaciona con la respuesta inmune innata mediante el reconocimiento de agentes extraños (Berzins et al., 2021). En la región basal de la columna, se identificaron estructuras con funciones reproductivas, como los ovocitos y las espermatogonias que, comparado con otros estudios, la morfología y tinción son similares. Además, se reconocieron el estado de madurez de las espermatogonias con la visualización de espermatozoides no desarrollados y espermatozoides desarrollados (Schlesinger et al., 2010; Scott & Harrison, 2009).

En la parte basal de las anémonas, en el disco pedio, se ubicaron células denominadas mucocitos, las cuales ya se han reportado, permiten la adhesión a piedras u otros objetos mediante secreciones de un compuesto de quinonas y polisacáridos (sulfatados, carboxilados y β -glicanos) (Clarke et al., 2020). En resumen, las anémonas son capaces de percibir estímulos, contraerse y realizar una serie de funciones de defensa, protección, reparación, alimentación, respiración, locomoción, reproducción y de secreción de sustancias. En este trabajo sobresale otra contribución; la descripción de los tejidos y las células para inferir los procesos fisiológicos que permiten la sobrevivencia y el desarrollo de estos organismos.

11.4. Bioensayo de regeneración

Los procesos de regeneración son necesarios para la homeostasis, permitiendo la reparación tisular en los organismos que han sufrido una herida. En cnidarios, se ha observado una gran capacidad regenerativa al poder formar su cuerpo entero. Se ha reportado que, tras una amputación en cnidarios, a las 8 h se observa una regeneración temprana en la etapa de cicatrización (formación de tejido granular) de la herida, a las 24 h una etapa de crecimiento activo y proliferación celular, y, por

último, a las 72 h una etapa posterior de remodelación y morfogénesis (Schaffer et al., 2016). En la anémona se observó a las 8 h un cúmulo celular, indicando la participación de células que regulan procesos inflamatorios y la formación de un posible tejido análogo al tejido de granulación para el cierre de la herida. A las 24 h se observaron procesos de reepitelización y fibrosis, lo cual indicó una alta proliferación celular por la formación y diferenciación de células en la remodelación de la capa epitelial. A las 48 h y 72 h se denotó la reparación de tejido muscular, asociando dicha respuesta biológica a la morfogénesis del organismo con el fin de recuperar su forma y función después de una herida.

11.5. Histopatología durante el cierre de herida

El diseño experimental de este estudio, permitió observar las respuestas biológicas en la recuperación de la herida. En las anémonas se presentaron procesos como la aglomeración celular, fibrosis, formación de tejido epitelial y colágeno *de novo*; reestructuración de bases musculares y la red muscular; y cicatrización en un intervalo de 8 a 72 h. En estudios histopatológicos de la evolución temporal de las lesiones, en vertebrados, se ha descrito que existe una reacción leucocitaria, aumento de fibroblastos, reepitelización, reparación de tejido muscular, formación de colágeno y estructuras musculares, llegando a la cicatrización en un periodo entre los 10 min hasta los 21 días (Cabrerizo Medina et al., 2015; Fossey et al., 2018; Pacheco, 2017). Mientras que, en invertebrados, como la estrella de mar, los intervalos de tiempo para la cicatrización van desde unas cuantas horas, hasta lapsos de 14 a 20 días después de sufrir una amputación, hasta generar una epidermis nueva (Cortés Rivera et al., 2016). En consecuencia, las respuestas biológicas para la recuperación de la herida en la anémona se presentaron en menor tiempo (Tabla 12). La histopatología puede indicar que algún efecto esperado realmente está ocurriendo y, por lo tanto, confirma (o descarta) el análisis molecular y bioquímico (Costa, 2018). Las respuestas biológicas observadas a nivel tisular pueden coadyuvar a la asociación con respuestas proteínicas específicas.

Tabla 12. Tiempos establecidos en la aparición de respuestas biológicas durante lesiones.

Respuesta biológica	Reportado en vertebrados	Reportado en invertebrados	Observaciones en anémonas en el desarrollo de la investigación
Granulación celular	Reacción leucocitaria 10 min – 24 h (Cabrerizo Medina et al., 2015; Pacheco, 2017).	Contracción de la epidermis y de la región alrededor de la herida después de unas horas (Cortés Rivera et al., 2016).	Granulación de Amebocitos (T 8 h).
Fibrosis	Aumento de fibroblastos 24-72 h (Cabrerizo Medina et al., 2015).	Cerrado de la herida (día 14). Nueva epidermis cubre totalmente la herida y se aprecia una protuberancia de tejido nuevo de color más claro (día 20). 32 días en generar una estrella de mar nueva (Cortés Rivera et al., 2016).	Presencia de tejido conectivo cerca de la región epidérmica (T 24 h).
Reaparición de tejido muscular.	3 días (Fossey et al., 2018).		Presencia de Base Muscular (T 48 h).
Formación de estructuras musculares.	21 días (Fossey et al., 2018).		Formación de Red Muscular (T 72 h).
Cicatriz.	10-15 días (Cabrerizo Medina et al., 2015).		Formada entre las 72-84 h.

11.6. Biomarcadores proteínicos

Las pruebas moleculares son una herramienta útil para el estudio de los cnidarios, sin embargo, estos organismos filogenéticamente antiguos representan un reto, ya que tienen asociaciones biológicas con otros microorganismos y el medio marino donde se desarrollan, tiene influencia sobre su concentración de sales. La proteómica permite identificar diferentes tipos y funciones de las proteínas en las anémonas. Se han incluido proteínas en bases de datos, sin embargo, se desconoce la función de gran parte de ellas (Bateman et al., 2023). La función de las proteínas en relación con la homeostasis, regeneración de tejidos y respuestas biológicas ante un estrés, se documentaron con la información reportada en la base de datos UniProt y otras investigaciones (Se reportan en el Anexo 4). Sin embargo, no se consideraron para la estimación de vulnerabilidad.

Se ha reportado en UniProt que proteínas, como la cistationina gamma-liasa, están directamente relacionadas con las respuestas biológicas (inflamación, fibrosis o

reestructuración de tejido muscular) descritas en la progresión de una herida (Zhang et al., 2021), sin embargo, se desconoce en algunos casos su función en invertebrados. Tampoco, se ha descrito la relación de la presencia de las proteínas, durante el proceso de cierre de una herida en la anémona.

11.7. Enzimas relacionadas a la Reestructuración muscular

Se ha reportado que los músculos de los organismos bilaterales están conformados por proteínas similares a la titina (Isoforma X8, Homólogos de la titina). En cambio, en estudios en cnidarios, hay una ausencia de los genes que codifican para las proteínas sarcoméricas (titina), infiriendo que el tejido muscular ha evolucionado de manera diferente en comparación con los metazoos bilaterales (Lindstedt & Nishikawa, 2017; Steinmetz et al., 2012). En los resultados se muestra la presencia de isoformas de titina en el tiempo T48, lo cual sugiere que hay una participación de proteínas de la familia de las titinas en el proceso de reparación tisular.

La proteína fosfopiruvato hidratasa, pertenece a la familia de las enolasas, las cuales, participan en la vía glucolítica, para la producción de energía. Se sugiere que, durante la ontogénesis, se produce una transición hacia isoformas específicas en tejidos con altos requerimientos energéticos como en los músculos estriados y en el cerebro. Sin embargo, aún falta conocer los mecanismos moleculares que controlan la expresión de los genes para la transcripción de la enolasas (Keller et al., 1995). Se determinó la presencia de la fosfopiruvato hidratasa, una enolasa presente a las 24 y 72 h, lo que infiere que la proteína participa en procesos miogénicos con requerimiento energético a lo largo del cierre de la herida. Cabe destacar que aún no hay información de la función de esta proteína en anémonas.

11.8. Enzimas relacionadas a la Inflamación

La cistationina gamma-liasa (CSE) es la enzima productora de sulfuro de hidrógeno (H₂S) predominante en células de mamíferos. El interés en la enzima CSE y su regulación está creciendo debido a las funciones del H₂S (proliferación celular, diferenciación celular, estrés oxidativo, bioenergética celular y metabolismo). El H₂S es un gasotransmisor altamente difusible que influye en funciones celulares y orgánicas; y tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y efectos

citoprotectores. Además, se ha descrito que el H₂S tiene un potencial regenerativo en el músculo esquelético durante el envejecimiento y lesiones en humanos (Lambertini et al., 2017; Zhang et al., 2021). Sus funciones son objeto de investigaciones y se espera un aumento de estudios comparativos que describan la señalización en una variedad de invertebrados que viven en condiciones de hipoxia (Moroz & Kohn, 2011). La proteína cistationina gamma-liasa se presentó a las 48 h después de la inducción de la lesión, lo que puede indicar su participación en procesos antiinflamatorios y regenerativos en el proceso de reparación tisular.

La proteína 1 similar a quitinasa-3 está regulada positivamente en procesos inflamatorios intestinales. Se caracteriza por una fuerte afinidad de unión a la quitina, sin actividad enzimática aparente para catalizar la quitina. La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza, se encuentra abundantemente en hongos, crustáceos, entre otros. Debido a que la quitina está completamente ausente en los mamíferos, la exposición o infecciones con quitina, o estructuras similares a la quitina, inducen una respuesta inmunológica (Mizoguchi, 2006). Se ha reportado en humanos, que los macrófagos activados segregan grandes cantidades de quitinasas (quitotriosidasa), desempeñando un posible rol en la defensa contra patógenos que contienen quitina, como los hongos. Otra proteína que tiene afinidad a la quitina, es la glicoproteína homóloga de 39 kDa del cartílago humano (HC gp-39), la cual actúa como una lectina (Renkema et al., 1998). Investigaciones más recientes destacan que la proteína 1 similar a quitinasa-3 participa en la respuesta ante lesiones inducidas por antígenos y oxidantes; y en la reparación y remodelación de tejidos mediante la regulación de procesos biológicos como la apoptosis, piroptosis, activación del inflamasoma, entre otros (Zhao et al., 2020). Se tiene un particular interés en las quitinasas por su potencial uso en el control biológico de plagas y en estudios de inmunidad innata. Las quitinasas forman parte de la respuesta inmune innata de plantas y animales, y funcionan degradando partes quitinosas de patógenos potenciales. El proceso evolutivo de las quitinasas y su relación con la actividad inmune no es conocido por completo, por lo cual se realizaron estudios de quitinasas en cnidarios. Se ha descrito que las quitinasas en cnidarios funcionan como defensa inmunitaria (Mali

et al., 2004). La proteína 1 similar a quitinasa-3 se hizo presente durante los tiempos T24 y T48, probablemente generando una respuesta inmunitaria contra infecciones provocada por la herida y en la reparación de diferentes tipos de tejidos.

11.9. Enzimas relacionadas a la Fibrosis

Se ha reportado que la proteína β -galactosidasa es una enzima que tiene isoformas inactivas relacionadas con la respuesta inmunológica, el ensamblaje de fibras elásticas y el desarrollo de tejido conectivo (Hinek et al., 2000; Privitera et al., 1998). También se ha descrito una correlación entre la expresión de SA- β -Gal (β -galactosidasa asociada a la senescencia) en fibroblastos y los procesos fibróticos en el tejido conectivo (Valieva et al., 2022). Además, esta proteína es utilizada como marcador de la senescencia celular, proceso que se define por la detención del ciclo celular en respuesta a diferentes estímulos, deteniendo la proliferación celular, alterando la funcionalidad celular y generando un ambiente proinflamatorio (Pena Larrea et al., 2023). En investigaciones previas también se describió que los procesos senescentes promueven la diferenciación de miofibroblastos, la formación de tejido de granulación y la cinética del cierre de la herida, en si en la reparación tisular y los procesos de cicatrización (Demaria et al., 2014). En estudios en cnidarios, se ha utilizado la SA- β -Gal para demostrar fases de senescencia en lesiones provocadas por una herida, y analizar procesos regenerativos (Salinas-Saavedra et al., 2023). También se han realizado tinciones de β -galactosidasa (β -gal) en fibroblastos para estudios de longevidad que indican una relación de la senescencia, con genes de longevidad como FoxO y genes ortólogos HEY1 y LONF3 (Ottaviani et al., 2020). La proteína β -galactosidasa se registró a las 72 h después de lesión, lo cual sugiere que está relacionada con lo observado en este tiempo experimental, donde hay un desarrollo de tejido conectivo, procesos fibróticos, la formación de tejido de granulación para sanar la herida, guardando relación de estas respuestas biológicas con la formación de la cicatriz a las 72 h en el nivel morfológico.

El colágeno es la proteína más abundante en los organismos animales, brindándoles estructura y sostén en sus cuerpos. Su forma molecular está

conformada por tres hélices y una cadena de aminoácidos específica Pro-Hyp-Gly (prolina-hidroxiprolina-glicina). Un componente responsable de la formación de la Hyp, es la procolágeno-prolina 4-dioxigenasa (prolil 4-hidroxilasa), la cual sufre una hidroxilación de un residuo de prolina para formar un componente de Hyp. La Hyp se ha encontrado en tejido vegetal, en fermentaciones microbianas y se utilizan como precursoras de productos farmacéuticos (Hara et al., 2014; Okuyama et al., 2004). En organismos marinos se ha reportado la presencia de colágeno. En las esponjas, el colágeno, en forma de fibras de espongina, participa en la adhesión celular y el soporte mecánico (Mills & Canfield, 2014). En cnidarios se ha descrito que el colágeno conforma la matriz extracelular y la capa interna de los nematocistos. El uso de sustancias tóxicas en esponjas y cnidarios han sido utilizados como sistemas de protección, lo cual infiere no haya un desarrollo de estructuras de protección derivadas del colágeno (Garrone, 1999). En investigaciones recientes, se ha utilizado el colágeno marino en cosmética, industria farmacéutica, ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. Además, se ha descrito su función en la morfogénesis, la reparación y la remodelación tisular (Balikci et al., 2024; Sheehy et al., 2018). La procolágeno-prolina 4-dioxigenasa se presentó a las 48 h, lo cual sugiere que hay formación de fibras de colágeno en los procesos de reparación tisular. La síntesis de las enzimas anteriormente descritas sugiere que estos organismos cuentan con una capacidad de reparación tisular impresionante, lo cual podría ser una fuente de productos con una actividad biológica de importancia biotecnológica y farmacéutica (Leal et al., 2022).

No existe una caracterización del proteoma en la anémona *Bunodosoma cavernatum* de Tecolutla, Veracruz, por lo que el establecimiento del protocolo para la extracción y determinación de las proteínas es novedoso y constituye un indicio primario para comprender la biología de los cnidarios. Además, el reconocimiento de las proteínas que potencialmente pueden variar a diferentes tiempos después de una herida constituye un primer acercamiento para entender los procesos de reparación tisular de estos animales. El entendimiento de estos procesos es invaluable para determinar la vulnerabilidad de estos organismos. Así mismo, en un

futuro se pretende caracterizarlo a gran escala con miras a determinar mecanismos de reparación tisular que puedan ser aplicables al ámbito clínico.

El biomarcador histopatológico permite identificar las alteraciones tisulares durante la reparación posterior a una herida, reconociendo la microanatomía y funcionalidad. El análisis tisular puede vincularse a respuestas biológicas, como la abundancia de una proteína determinada, al relacionar vías biológicas con cambios en células y tejidos. La respuesta proteínica es un indicador clave durante el proceso de reparación tisular. Los biomarcadores tisulares y proteínicos permitieron analizar las respuestas biológicas en los tiempos experimentales relacionados con la reparación tisular.

11.10. Vulnerabilidad en sistemas biológicos

Los estudios de vulnerabilidad han sido objeto de numerosas discusiones, desde la propuesta de parámetros indicadores y factores, hasta el desarrollo de modelos específicos para el cálculo de vulnerabilidad (Carantoña & Hernández, 2017; CIRCA (Connecticut Institute for Resilience & Climate Adaptation), 2021; Lam et al., 2014; Seaborn et al., 2021). La ventaja que ofrece el modelo de vulnerabilidad es que permiten analizar el efecto del cambio climático considerando parámetros del riesgo de un sistema (Díaz Caravantes, 2018). En este trabajo, a diferencia de otras propuestas de vulnerabilidad, se incluyen como indicadores las respuestas biológicas de los cnidarios para establecer la vulnerabilidad de la especie ante heridas. Una especie se considera vulnerable cuando es amenazada su capacidad física, pérdida genética o extinción debido al cambio climático; si bien existen pocos trabajos que consideren las respuestas biológicas para evaluar la vulnerabilidad de la especie (Carantoña & Hernández, 2017; Huey et al., 2012; Jerónimo-Juárez et al., 2020). La propuesta de determinar la vulnerabilidad de la especie en relación con el efecto del cambio climático ofrece ventajas en términos de la regulación, restauración e implementación de medidas para el cuidado de comunidades tan importantes como los son los arrecifes coralinos (Foden et al., 2013; Reyna-Fabián et al., 2018).

Dentro de los sistemas biológicos, también se ha determinado la vulnerabilidad en humanos desde un punto de vista patológico, como la aterosclerosis donde es evidente la respuesta inflamatoria y fibroproliferativa excesiva (Bertomeu Ruiz & Zambón Rados, 2002; Goncalves et al., 2021; Lafont, 2003; Pasterkamp et al., 1998). Un grupo de características o respuestas biológicas como: la acumulación focal de lípidos y carbohidratos complejos, aparición de depósitos de calcio, hemorragia, presencia de células inflamatorias y tejido fibroso; se han relacionado en conjunto para calcular un índice de vulnerabilidad que implica identificar en las arterias, estrías grasas o placas lipídicas con alto riesgo de ruptura. El índice de vulnerabilidad propuesto se calculó como una relación de la suma del área teñida de lípidos, macrófagos y hemorragia (componentes desestabilizadores de la placa), y la suma del área teñida de células musculares lisas y colágeno (componentes estabilizadores). Con este índice se pueden predecir eventos cardiovasculares utilizando características histológicas (Goncalves et al., 2021). El índice de vulnerabilidad de estos estudios, así como el determinado en las anémonas, proporcionan evidencias experimentales y de reparación tisular para validar el índice de vulnerabilidad como una herramienta importante que incorpora nuevas tecnologías como el análisis de imagen mediante programas computacionales como AxioVison. En estudios clínicos, además del índice de vulnerabilidad, se consideran variables como la edad, el sexo, enfermedades crónicas, entre otras, para predecir el riesgo de sufrir un evento fatal, de manera análoga, este estudio recomienda incluir factores complementarios para la predicción de sobrevivencia de las anémonas. En el presente estudio se muestra por primera vez que a través del cálculo de vulnerabilidad asociando indicadores morfológicos, tisulares y proteínicos, es posible inferir la importancia de las respuestas biológicas en los procesos de reparación tisular y sobrevivencia de los organismos ante heridas.

Existen interacciones ecológicas que pueden generar heridas o estrés ambiental a las anémonas de mar, como lo son la depredación. Diversos autores reportan que el sistema de tentáculos, conformados por cnidocitos con actividad toxicológica, sirven de defensa contra depredadores, pero no se especifica cuáles son los organismos específicos responsables (J. Prentis et al., 2018; Menezes & Thakur,

2022). Ciertos reportes indican que peces y moluscos se alimentan de las anémonas de mar, lo cual sugiere que estos organismos sufren de heridas por estos depredadores (Ates, 1989; Edmunds et al., 1976). En condiciones de acuario y de laboratorio, se observó que estos organismos presentan comportamientos de canibalismo si es que dos organismos se encuentran muy cerca de otro, y si hay un contacto entre ellos. Además, al mantener las condiciones naturales de los organismos en los acuarios, se mantuvo la biota colectada, lo que incluyó algas marinas y cangrejos. Estos últimos causaron la desaparición de anémonas, lo que sugiere que hay crustáceos que pueden ser depredadores de anémonas. Los depredadores podrían considerarse en un futuro como un indicador ecológico en los modelos de vulnerabilidad propuestos.

El análisis de las respuestas biológicas en organismos acuáticos representa un reto ya que, son colectados de manera aleatoria lo que podría sesgar los resultados, sin embargo, hemos reducido esta variable, analizando diferentes biomarcadores en diferentes tiempos experimentales. Asimismo, el hecho que la población estudiada sea de un número reducido de individuos (doce), se justifica con la naturaleza del estudio, que caracterizó el aspecto fisiológico, histológico y proteínico, por lo que la estimación de la vulnerabilidad calculada es confiable para identificar a los individuos vulnerables ante un daño provocado por heridas.

Las anémonas y otros organismos son estudiados por su capacidad de regeneración, sin embargo, las respuestas biológicas han sido escasamente integradas en los modelos de vulnerabilidad de organismos acuáticos, por lo que es recomendable incrementar los estudios (Cheung et al., 2024; Galliot & Schmid, 2002; Jerónimo-Juárez et al., 2020; Schaffer et al., 2016; Valdez Peralta, 2022).

12. Conclusiones

La utilización de las anémonas, como modelo de investigación, generó información relevante sobre su acondicionamiento en sistemas experimentales, permitiendo al mismo tiempo la investigación sin el sacrificio de los organismos. El manejo de los organismos permitió conocer aspectos morfológicos y fisiológicos.

Las características morfológicas de la anémona de mar como el color, el número de tentáculos, la presencia de hileras de vesículas, el tamaño, entre otros caracteres, han sido utilizados para la determinación taxonómica en México, de acuerdo a esto la especie encontrada en Tecolutla es *Bunodosoma cavernatum*, sin embargo, es necesario ampliar la determinación de la especie con pruebas moleculares para corroborar la especie.

La caracterización tisular permitió describir tejidos y células relevantes en la sobrevivencia y desarrollo de la anémona estudiada. A nivel tisular se identificó que los tejidos se asocian con la protección, transporte de sustancias y movimiento, evidenciando actividad de células epiteliomusculares, intersticiales, musculares, mionemas, amebocitos, glandulares, mucocitos y reproductivas. Mediante la identificación de las principales estructuras tisulares y celulares que constituyen estos organismos, permitieron reconocer la composición estructural de los tentáculos, la región oral, la columna y el disco pedio.

La descripción tisular también permitió reconocer la interacción entre tejidos, fibras de colágeno y células, que conforman estructuras especializada como el epitelio contráctil, la mesoglea, la red muscular, los músculos retractores, el sistema gonadal y la gastrodermis.

El diseño experimental permitió observar el proceso de cierre de herida y las respuestas biológicas asociadas, desde la generación de la herida hasta que se restaura la funcionalidad del organismo.

Las respuestas biológicas como la inflamación, fibrosis y reestructuración de la red muscular, reflejaron un patrón durante la reparación tisular en los tejidos en la

anémoma. Los patrones tisulares y celulares evidencian los mecanismos biológicos que permiten reparar o ajustarse a las consecuencias derivadas de la herida.

Las respuestas tisulares implicadas en el proceso de reparación tisular incluyen la granulación celular (inflamación), fibrosis, regeneración de estructuras musculares y la cicatrización (tejido de granulación). En este trabajo, se demostró que los tejidos musculares y los procesos de cicatrización se desarrollan en menor tiempo que los vertebrados y algunos invertebrados.

Las respuestas tisulares de inflamación y reestructuración de la red muscular, no se presentaron en todos los tiempos experimentales, a diferencia de la fibrosis, la cual permitió realizar un análisis cuantitativo en los diferentes tiempos experimentales. Por ello es recomendable el uso de variables cualitativas y cuantitativas.

El análisis proteínico permitió reconocer proteínas constitutivas y proteínas involucradas en el proceso de un daño morfofisiológico. Las proteínas estuvieron presentes en uno o diferentes tiempos experimentales dependiendo de la condición morfofisiológica del organismo.

Las proteínas enzimáticas se determinaron en los diferentes tiempos experimentales, generando información del proceso fisiológico del organismo.

El patrón de respuestas tisulares está directamente relacionado con la función de enzimas específicas, como la cistationina gamma-liasa, demostrando que las respuestas proteínicas regulan los procesos de reparación tisular. Algunas proteínas descritas en este trabajo no han sido descritas para las anémonas, y menos aún en procesos de cierre de una herida y reparación tisular.

El método de herida y los tiempos experimentales fueron adecuados para analizar las respuestas morfológicas, tisulares y proteínicas, ya que fue posible obtener respuestas biológicas a diferentes niveles de organización, por lo que se proponen como indicadores.

Las enzimas relacionadas con la regeneración muscular, como la Isoforma X8 similar a la titina, el homólogo de titina y la fosfopiruvato hidratasa, intervienen en

procesos miogénicos, sugiriendo un rol importante en la rápida regeneración en la anémona.

Asociamos las respuestas biológicas derivadas de la herida, a las definiciones de los parámetros de vulnerabilidad, lo que nos permitió construir una matriz de datos.

La capacidad adaptativa estuvo directamente relacionada con la cicatrización y la regeneración muscular. El cálculo de la capacidad adaptativa fue de 4.11 a las 72 h, y de 1 a las 08 h, lo que indica que los organismos tienen una mayor capacidad adaptativa a las 72 h.

La exposición se relacionó con el calibre de la herida y los factores asociados a la inflamación. El cálculo de la exposición fue de 3 en el menor tiempo (08 h), y de 1.67 en el mayor tiempo (72 h), lo que indica que los organismos tienen una mayor exposición a las 08 h.

La sensibilidad se estimó con el cierre de la herida gradual y los factores asociados a la fibrosis. El cálculo de la sensibilidad a través de los tiempos experimentales fue de 3.67 a las 08 h, y de 2.33 a las 72 h, denotando una mayor sensibilidad a las 08 h.

Se estima que la vulnerabilidad fue mayor a las 8 h (5.67), en comparación con los diferentes tiempos experimentales, donde se calculó la menor vulnerabilidad a las 72 h (-0.11). El modelo propuesto fue útil para estimar la vulnerabilidad de las anémonas ante una herida provocada intencionalmente, ya que permitió asociar un valor con el estado fisiológico y la sobrevivencia de los organismos experimentales.

La propuesta de este modelo de vulnerabilidad en la anémona permite generar escenarios del estrés ambiental, del impacto del cambio climático y de los fenómenos hidrometeorológicos extremos, como el incremento del oleaje por ciclones y huracanes, lo que constituye una herramienta adicional para los estudios de gestión e impacto ambiental de la fauna de los sistemas ecológicos.

Es importante continuar con la validación de los modelos de vulnerabilidad y las respuestas biológicas empleadas, con el propósito de generar información para enfrentar la crisis climática.

13. Referencias

- Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6(4), 274. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1123-9>
- Alcantar Orozco, E. de J. (2020). *Estudio proteómico del efecto del estrés térmico responsable del blanqueamiento de arrecifes coralinos en el holobionte del “coral de fuego” Millepora complanata*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Amiel, A. R., Johnston, H. T., Nedoncelle, K., Warner, J. F., Ferreira, S., & Röttinger, E. (2015). Characterization of morphological and cellular events underlying oral regeneration in the sea anemone, *Nematostella vectensis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 28449–28471. <https://doi.org/10.3390/ijms161226100>
- Ates, R. M. L. (1989). Fishes that eat sea anemones, a review. *Journal of Natural History*, 23(1), 71–79. <https://doi.org/10.1080/00222938900770041>
- Azin, M., Amrollahi Biuki, N., & Ranjbar, M. S. (2021). Histological study of internal structure of sea anemones *Anthopleura buddemeieri* and *Stichodactyla haddoni*. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 9(1), 1–18. <https://doi.org/10.22124/JAPB.2021.10596.1252>
- Balikci, E., Baran, E. T., Tahmasebifar, A., & Yilmaz, B. (2024). Characterization of Collagen from Jellyfish *Aurelia aurita* and Investigation of Biomaterials Potentials. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04848-5>
- Baraja-Vásquez, G. E., Baldwin-Sevilla, C., Barbosa Cisneros, O. Y., & Sánchez-Rodríguez, S. H. (2005). Las proteínas de estrés calórico Hsp60, 70 y 90 participan en la adaptación de los caprinos a las zonas áridas. *REDVET*.
- Bateman, A., Martin, M.-J., Orchard, S., Magrane, M., Ahmad, S., Alpi, E., Bowler-Barnett, E. H., Britto, R., Bye-A-Jee, H., Cukura, A., Denny, P., Dogan, T., Ebenezer, T., Fan, J., Garmiri, P., da Costa Gonzales, L. J., Hatton-Ellis, E., Hussein, A., Ignatchenko, A., ... Zhang, J. (2023). UniProt: the Universal Protein

Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D523–D531.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>

Bertomeu Ruiz, A., & Zambón Rados, D. (2002). La placa aterogénica: fisiopatología y consecuencias clínicas. *Medicina Integral*, 40(9), 394–405.
<http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-la-placa-aterogenicafisiopatologia-consecuencias-13041112>

Berzins, I. K., Yanong, R. P. E., LaDouceur, E. E. B., & Peters, E. C. (2021). Cnidaria. En E. E. B. LaDouceur (Ed.), *Invertebrate Histology* (pp. 55–86). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119507697.ch3>

Brinker, S. R., & Jones, C. (2012). The Vulnerability of Provincially Rare Species (Species-at-Risk) to Climate Change in the Lake Simcoe Watershed, Ontario, Canada. En *CLIMATE CHANGE RESEARCH REPORT CCRR-31* (Vol. 31). Ministry of Natural Resources.

Briones-Fourzán, P., Pérez-Ortiz, M., Negrete-Soto, F., Barradas-Ortiz, C., & Lozano-Álvarez, E. (2012). Ecological traits of Caribbean sea anemones and symbiotic crustaceans. *Marine Ecology Progress Series*, 470, 55–68.
<https://doi.org/10.3354/meps10030>

Cabrerizo Medina, E., Villanueva de la Torre, H. V., & Villadiego, M. S. (2015). Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones. *Cuadernos de Medicina Forense*, 21(3–4), 127–134.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-76062015000200005

Carantoña, T., & Hernández, D. (2017). Indicador de vulnerabilidad de especie ante el cambio climático en áreas naturales protegidas, Venezuela. *Terra Nueva Etapa*, XXXIII(53), 75–103.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=72152384004>

- Chen, B., Feder, M. E., & Kang, L. (2018). Evolution of heat-shock protein expression underlying adaptive responses to environmental stress. *Molecular Ecology*, 27(15), 3040–3054. <https://doi.org/10.1111/mec.14769>
- Cheung, S., Bredikhin, D., Gerber, T., Steenbergen, P. J., Basu, S., Bailleul, R., Hansen, P., Paix, A., Benton, M. A., Korswagen, H. C., Arendt, D., Stegle, O., & Ikmi, A. (2024). Systemic coordination of whole-body tissue remodeling in sea anemone local regeneration. *bioRxiv*, 1–21. <https://doi.org/10.1101/2024.03.20.585927>
- CIRCA (Connecticut Institute for Resilience & Climate Adaptation). (2021). *Climate Change Vulnerability Index (CCVI)*. University of Connecticut. <https://storymaps.arcgis.com/stories/e45fb304d10b4917b6adb0d5bf11dac5>
- Clarke, J. L., Davey, P. A., Aldred, N., & Aldred, N. (2020). Sea anemones (*Exaiptasia pallida*) use a secreted adhesive and complex pedal disc morphology for surface attachment. *BMC Zoology*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40850-020-00054-6>
- Coronato, S., Di Girolamo, W., Salas, M., Spinelli, O., & Laguens, G. (1999). Biología de las proteínas del shock térmico. *MEDICINA (Buenos Aires)*, 59, 477–486.
- Cortés Rivera, Y., Hernández, R. I., San Martín del Angel, P., Zarza Meza, E., Cuervo González, R., Cortés Rivera, Y., Hernández, R. I., San Martín del Angel, P., Zarza Meza, E., & Cuervo González, R. (2016). Potencial regenerativo de la estrella de mar *Linckia guildinguii*. *Hidrobiológica*, 26(1), 103–108. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972016000100013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Costa, P. M. (2018). *The Handbook of Histopathological Practices in Aquatic Environments* (1st ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-01962-9>
- Darling, J. A., Reitzel, A. R., Burton, P. M., Mazza, M. E., Ryan, J. F., Sullivan, J. C., & Finnerty, J. R. (2005). Rising starlet: the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis*. *BioEssays*, 27(2), 211–221. <https://doi.org/10.1002/bies.20181>

- Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S. A., Rodier, F., Toussaint, W., Mitchell, J. R., Laberge, R. M., Vijg, J., VanSteege, H., Dollé, M. E. T., Hoeijmakers, J. H. J., deBruin, A., Hara, E., & Campisi, J. (2014). An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Developmental Cell*, 31(6), 722–733. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.012>
- Díaz Caravantes, R. E. (2018). Vulnerabilidad y riesgo como conceptos indisociables para el estudio del impacto del cambio climático en la salud. *Región y sociedad*, 30(73). <https://doi.org/10.22198/rys.2018.73.a968>
- DOF. (2024). Ley General de cambio climático. En *Diario Oficial de la Federación*.
- Domínguez-Pérez, D., Campos, A., Alexei Rodríguez, A., Turkina, M., Ribeiro, T., Osorio, H., Vasconcelos, V., & Antunes, A. (2018). Proteomic Analyses of the Unexplored Sea Anemone *Bunodactis verrucosa*. *Marine Drugs*, 16(2), 42. <https://doi.org/10.3390/md16020042>
- Edmunds, M., Potts, G. W., Swinfen, R. C., & Waters, V. L. (1976). Defensive behaviour of sea anemones in response to predation by the opisthobranch mollusc *Aeolidia papillosa* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 56(1), 65–83. <https://doi.org/10.1017/S0025315400020440>
- Foden, W. B., Butchart, S. H. M., Stuart, S. N., Vié, J. C., Akçakaya, H. R., Angulo, A., DeVantier, L. M., Gutsche, A., Turak, E., Cao, L., Donner, S. D., Katariya, V., Bernard, R., Holland, R. A., Hughes, A. F., O'Hanlon, S. E., Garnett, S. T., Şekercioğlu, Ç. H., & Mace, G. M. (2013). Identifying the World's Most Climate Change Vulnerable Species: A Systematic Trait-Based Assessment of all Birds, Amphibians and Corals. *PLoS ONE*, 8(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065427>
- Forero Mejia, A. C., Molodtsova, T., Östman, C., Bavestrello, G., & Rouse, G. W. (2020). Molecular phylogeny of Ceriantharia (Cnidaria: Anthozoa) reveals non-monophyly of traditionally accepted families. En *Zoological Journal of the*

- Linnean Society* (Vol. 190, pp. 397–416). The Linnean Society of London.
<https://academic.oup.com/zoolinnean/article/190/2/397/5669841>
- Forero-Mejia, A. C., Duchatelet, L., & Östman, C. (2024). Cnida Morphology as Taxonomic Tools within Tube-Dwelling Anemones (Ceriantharia, Cnidaria). *Oceans*, 5(3), 491–521. <https://doi.org/10.3390/oceans5030029>
- Fortini, L., & Schubert, O. (2017). Beyond exposure, sensitivity and adaptive capacity: a response based ecological framework to assess species climate change vulnerability. *Climate Change Responses*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s40665-017-0030-y>
- Fossey, S. L., Greg Hall, D., & Leininger, J. R. (2018). Skeletal Muscle. En *Boorman's Pathology of the Rat* (pp. 281–298). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391448-4.00017-4>
- Galliot, B., & Schmid, V. (2002). Cnidarians as a model system for understanding evolution and regeneration. En *International Journal of Developmental Biology* (Vol. 46, Número 1, pp. 39–48). <https://doi.org/10.1387/ijdb.11902686>
- Garrone, R. (1999). Collagen, a common thread in extracellular matrix evolution. *Proceedings / Indian Academy of Sciences*, 111(1), 51–56. <https://doi.org/10.1007/BF02869895>
- Gold, D. A., & Jacobs, D. K. (2013). Stem cell dynamics in Cnidaria: Are there unifying principles? *Development Genes and Evolution*, 223(1–2), 53–66. <https://doi.org/10.1007/s00427-012-0429-1>
- Gold-Bouchot, G., Zapata-Pérez, O., Ceja-Moreno, V., Rodríguez- Fuentes, G., Simá-Alvarez, R., Aguirre-Macedo, Ma. L., & Vidal-Martínez, V. M. (2007). Biological effects of environmental pollutants in the American Oyster. *Int. J. Environment and Health*, 1(2), 171–184.
- Gómez Bernal, J. M., Barrera Escorcia, G., Guzmán García, X., Ruiz Huerta, E. A., & Ramírez Romero, P. (2021). Tecolutla, paraíso ecológico en peligro. *Temas*

de *Ciencia y Tecnología*, 25(73), 15–22.
<http://repositorio.utm.mx:8080/jspui/handle/123456789/372>

Gomez Orea, D. (2013). *Evaluación de impacto ambiental* (3ra ed.). Ediciones Mundi-Prensa.

Goncalves, I., Sun, J., Tengryd, C., Nitulescu, M., Persson, A. F., Nilsson, J., & Edsfeldt, A. (2021). Plaque vulnerability index predicts cardiovascular events: A histological study of an endarterectomy cohort. *Journal of the American Heart Association*, 10(15). <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.021038>

González-Muñoz, R., Simões, N., Tello-Musi, J. L., & Rodríguez, E. (2013). Sea anemones (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) from coral reefs in the southern Gulf of Mexico. *ZooKeys*, 341, 77–106. <https://doi.org/10.3897/zookeys.341.5816>

Hamazaki, H., & Hamazaki, M. H. (2016). Catalytic site of human protein-glucosylgalactosylhydroxylysine glucosidase: Three crucial carboxyl residues were determined by cloning and site-directed mutagenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469(3), 357–362. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.005>

Hara, R., Uchiumi, N., Okamoto, N., & Kino, K. (2014). Regio- and stereoselective oxygenation of proline derivatives by using microbial 2-oxoglutarate-dependent dioxygenases. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 78(8), 1384–1388. <https://doi.org/10.1080/09168451.2014.918490>

Herrera-Bojórquez, L. G., González-Muñoz, R., León-Deniz, L. V., Arjona-Torres, G., & Sima-Álvarez, R. (2020). Sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) from the coast of Yucatán, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91(4). <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3195>

Hinek, A., Zhang, S., Smith, A. C., & Callahan, J. W. (2000). Impaired elastic-fiber assembly by fibroblasts from patients with either Morquio B disease or infantile GM1-gangliosidosis is linked to deficiency in the 67-kD spliced variant of β -

- galactosidase. *American Journal of Human Genetics*, 67(1), 23–36.
<https://doi.org/10.1086/302968>
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C. D., Sale, P. F., Edwards, A. J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C. M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R. H., Dubi, A., & Hatziolos, M. E. (2007). Coral Reefs Under Rapid Climate Change and Ocean Acidification. *Science*, 318(5857), 1737–1742.
<https://doi.org/10.1126/science.1152509>
- Hook, S. E., Gallagher, E. P., & Batley, G. E. (2014). The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. En *Integrated Environmental Assessment and Management* (Vol. 10, Número 3, pp. 327–341). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/ieam.1530>
- Huey, R. B., Kearney, M. R., Krockenberger, A., Holtum, J. A., Jess, M., & Williams, S. E. (2012). Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 367, 1665–1679. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0005>
- Hündgen, M. (1984). Cnidaria: Cell Types. En *Biology of the Integument* (pp. 47–56). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-51593-4_5
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2023). *Climate Change 2022 – Impacts, Adaptation and Vulnerability: Working Group II Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009325844>
- IPCC. (2022). Annex I: Glossary. En J. B. R. Matthews (Ed.), *Global Warming of 1.5°C* (pp. 541–562). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157940.008>
- J. Prentis, P., Pavasovic, A., & S. Norton, R. (2018). Sea Anemones: Quiet Achievers in the Field of Peptide Toxins. *Toxins*, 10(1), 36. <https://doi.org/10.3390/toxins10010036>

- Jahnel, S. M., Walzl, M., & Technau, U. (2014). Development and epithelial organisation of muscle cells in the sea anemone *Nematostella vectensis*. *Frontiers in Zoology*, 11(1), 44. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-11-44>
- Jerónimo-Juárez, J. R., Matadamas-Guzman, M. L., Guerrero Legarreta, I., Segoviano-Ramírez, J. C., Zarate-Hernández, M. del R., Arteaga-Silva, M., & Guzmán-García, X. (2020). Tissue biomarkers as vulnerability indicators in the clam *Polymesoda caroliniana*. En *ISJ* (Vol. 17). <https://doi.org/https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v0i0.186-197>
- Keller, A., Rouzeau, J., Farhadian, F., Wisnewsky, C., Marotte, F., Lamande, N., Samuel, J., Schwartz, K., Lazar, M., Lucas, M., Rouzeau, J.-D., Farhadian, F., Marotte, F., Samuel, J.-L., & Lazar, M. (1995). *Differential expression of OC- and p-enolase genes during rat heart development and hypertrophy*. www.physiology.org/journal/ajpheart
- Kier, W. M. (2012). The diversity of hydrostatic skeletons. *Journal of Experimental Biology*, 215(8), 1247–1257. <https://doi.org/10.1242/jeb.056549>
- Kim, S.-K. (2015). *Springer Handbook of Marine Biotechnology* (S.-K. Kim, Ed.; 1a ed.). Springer Dordrecht Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-53971-8>
- Kusserow, A., Pang, K., Sturm, C., Hrouda, M., Lentfer, J., Schmidt, H. A., Technau, U., von Haeseler, A., Hobmayer, B., Martindale, M. Q., & Holstein, T. W. (2005). Unexpected complexity of the Wnt gene family in a sea anemone. *Nature*, 433(7022), 156–160. <https://doi.org/10.1038/nature03158>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lafont, A. (2003). Basic aspects of plaque vulnerability. En *Heart* (Vol. 89, Número 10, pp. 1262–1267). www.heartjnl.com

- Lam, N. S. N., Arenas, H., Brito, P. L., & Liu, K. B. (2014). Assessment of vulnerability and adaptive capacity to coastal hazards in the Caribbean Region. *Journal of Coastal Research*, 70, 473–478. <https://doi.org/10.2112/SI70-080.1>
- Lambertini, E., Penolazzi, L., Angelozzi, M., Grassi, F., Gambari, L., Lisignoli, G., De Bonis, P., Cavallo, M., & Piva, R. (2017). *The expression of cystathionine gamma-lyase is regulated by estrogen receptor alpha in human osteoblasts*. www.impactjournals.com/oncotarget
- Lazcano Pérez, J. F., Salazar Campos, Z., & González-Márquez, H. (2020). Anémonas, corales y medusas: los cnidarios y su importancia médica. *Revista Digital Universitaria*, 21(2). <https://doi.org/10.22201/codeic.16076079e.2020.v21n2.a4>
- Leal, E., Suescún-Bolívar, P., & Múnera- Gómez, M. (2022). Mecanismos inmunológicos en Cnidaria: un sistema inmune basal de gran complejidad e interés bioprospectivo. *Revista de Biología Tropical*, 70(1). <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop..v70i1.49798>
- Leal Filho, W., Ternova, L., Parasnis, S. A., Kovaleva, M., & Nagy, G. J. (2022). Climate Change and Zoonoses: A Review of Concepts, Definitions, and Bibliometrics. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(2), 893. <https://doi.org/10.3390/ijerph19020893>
- Levanoni, J., Rosner, A., Lapidot, Z., Paz, G., & Rinkevich, B. (2024). Coral Tissue Regeneration and Growth Is Associated with the Presence of Stem-like Cells. *Journal of Marine Science and Engineering*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/jmse12020343>
- Lindstedt, S., & Nishikawa, K. (2017). Huxleys' Missing Filament: Form and Function of Titin in Vertebrate Striated Muscle. En *Annual Review of Physiology* (Vol. 79, pp. 145–166). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034152>

- Lomartire, S., Marques, J. C., & Gonçalves, A. M. M. (2021). Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. *Ecological Indicators*, 122, 107207. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107207>
- Madeira, C., Lucey, N., & Calosi, P. (2022). Thermal and Hypoxia Vulnerability in Tropical Marine Systems: Advances in Physiology, Ecology and Evolution. *Marine Science and Engineering*. https://www.mdpi.com/journal/jmse/special_issues/Fiona_Thermal_and_Hypoxia_Vulnerability_in_Tropical_Marine_Systems
- Mali, B., Möhrlein, F., Frohme, M., & Frank, U. (2004). A putative double role of a chitinase in a cnidarian: Pattern formation and immunity. *Developmental and Comparative Immunology*, 28(10), 973–981. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.04.002>
- Maskrey, D. K. (2021). *The behavioural, metabolic and proteomic effects of temperature stress on bold and shy beadlet anemones (Actinia equina)*. University of Liverpool.
- Mejía-Sánchez, N., & Marques, A. C. (2013). Nematocyst study in ethanol preserved cubozoan Getting information from ethanol preserved nematocysts of the venomous cubomedusa *Chiropsalmus quadumanus*: a simple technique to facilitate the study of nematocysts. En *Lat. Am. J. Aquat. Res* (Vol. 41, Número 1).
- Melendez-Perez, A. M., Escobar Niño, A., Carrasco-Reinado, R., Martin Diaz, L., & Fernandez-Acero, F. J. (2023). Proteomic Approach to *Anemonia sulcata* and Its Symbiont *Symbiodinium* spp. as New Source of Potential Biotechnological Applications and Climate Change Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(16), 12798. <https://doi.org/10.3390/ijms241612798>
- Mendoza Cruz, B. (2024). *Evaluación del estado de salud de corales ante el cambio climático* [Tesis de Licenciatura]. Universidad Autónoma Metropolitana.

- Menezes, C., & Thakur, N. L. (2022). Sea anemone venom: Ecological interactions and bioactive potential. *Toxicon*, 208, 31–46. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.01.004>
- Midwood, K. S., Williams, L. V., & Schwarzbauer, J. E. (2004). Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. En *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* (Vol. 36, Número 6, pp. 1031–1037). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.12.003>
- Mills, D. B., & Canfield, D. E. (2014). Oxygen and animal evolution: Did a rise of atmospheric oxygen “trigger” the origin of animals? *BioEssays*, 36(12), 1145–1155. <https://doi.org/10.1002/bies.201400101>
- Mizoguchi, E. (2006). Chitinase 3-Like-1 Exacerbates Intestinal Inflammation by Enhancing Bacterial Adhesion and Invasion in Colonic Epithelial Cells. *Gastroenterology*, 130(2), 398–411. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.12.007>
- Moroz, L. L., & Kohn, A. B. (2011). Parallel evolution of Nitric Oxide signaling: Diversity of synthesis and memory pathways. *Frontiers in Bioscience*, 16(6), 2008–2051. <https://doi.org/10.2741/3837>
- Moyes, C. D., & Schulte, P. M. (2007). *Principios de Fisiología Animal* (1ra ed.). Artmed Editora.
- Neighbors, M., & Tannehill-Jones, R. (2010). *Human Diseases* (3rd ed.). Delmar Cengage Learning. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=_FjCCAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Neighbors+Jones+Human+disease&ots=NBVNbzIFHB&sig=up0QWOC857WEIcAnKp6xRJAXhIU#v=onepage&q=Neighbors Jones Human disease&f=false
- Newman, M. C., & Newman, M. C. (2009). *Fundamentals of Ecotoxicology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781439883129>

- Okuyama, K., Hongo, C., Fukushima, R., Wu, G., Narita, H., Noguchi, K., Tanaka, Y., & Nishino, N. (2004). Crystal structures of collagen model peptides with Pro-Hyp-Gly repeating sequence at 1.26 Å resolution: Implications for proline ring puckering. *Biopolymers - Peptide Science Section*, 76(5), 367–377. <https://doi.org/10.1002/bip.20107>
- Ottaviani, A., Eid, R., Zoccola, D., Pousse, M., Dubal, J. M., Barajas, E., Jamet, K., Lebrigand, K., Lapébie, P., Baudoin, C., Giraud-Panis, M. J., Rouan, A., Beauchef, G., Guéré, C., Vié, K., Barbry, P., Tambutté, S., Gilson, E., & Allemand, D. (2020). Longevity strategies in response to light in the reef coral *Stylophora pistillata*. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76925-2>
- Pacheco, Ricardo. (2017). Reparación aguda de los tendones flexores. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 43, S27–S36. <https://doi.org/10.4321/S0376-78922017000300007>
- Parikh, A., Stephan, A. F., & Tzanakakis, E. S. (2012). Regenerating proteins and their expression, regulation, and signaling. En *Biomolecular Concepts* (Vol. 3, Número 1, pp. 57–70). De Gruyter Mouton. <https://doi.org/10.1515/bmc.2011.055>
- Pasterkamp, G., Schoneveld, A. H., van der Wal, A. C., Haudenschild, C. C., Clarijs, R. J. G., Becker, A. E., Hillen, B., & Borst, C. (1998). Relation of arterial geometry to luminal narrowing and histologic markers for plaque vulnerability: the remodeling paradox. *Coronary Artery Disease*, 32(3), 655–662.
- Pena Larrea, L., de Blas Rodríguez, M., Naves Díaz, M., & Gómez Alonso, C. (2023). Cellular senescence as a pathogenic factor and potential therapeutic target in osteoporosis. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 15(3), 115–124. <https://doi.org/10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00013>
- Privitera, S., Prody, C. A., Callahan, J. W., & Hinek, A. (1998). The 67-kDa Enzymatically Inactive Alternatively Spliced Variant of β -Galactosidase Is

Identical to the Elastin/Laminin-binding Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 273(11), 6319–6326. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.11.6319>

Prophet, E. B., Mills, B., Arrington, J. B., & Sobin, L. H. (1995). *Métodos Histotecnológicos* (C. S. Heffess & F. G. Mullick, Eds.; 1a ed.). Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP).

Pryor, S. H., Andrews, L., Kelaher, B. P., Tagliafico, A., & Scott, A. (2021). Ocean temperature, but not acidification, causes sea anemone bleaching under a near-future climate scenario. *Coral Reefs*, 40(2), 355–364. <https://doi.org/10.1007/s00338-021-02050-9>

Ramírez-Trejo, V., Becerra-Amezcuca, P., Hernández-Calderas, I., Romero, P. R., Vázquez-Botello, A., & Guzmán-García, X. (2019). Health Diagnosis of the Fish *Scomberomorus cavalla* from Tecolutla, Ver. México. En *Pollution of Water Bodies in Latin America* (pp. 291–310). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8_16

Rathinam, R. B., Acharya, A., Robina, A. J., Banu, H., & Tripathi, G. (2024). The immune system of marine invertebrates: Earliest adaptation of animals. *Comparative Immunology Reports*. <https://doi.org/10.1016/j.cirep.2024.200163>

Renkema, G. H., Boot, R. G., Au, F. L., Donker-Koopman, W. E., Strijland, A., Muijsers, A. O., Hrebicek, M., & Aerts, J. M. F. G. (1998). Chitotriosidase a chitinase, and the 39-kDa human cartilage glycoprotein, a chitin-binding lectin, are homologues of family 18 glycosyl hydrolases secreted by human macrophages. *European Journal of Biochemistry*, 251(1–2), 504–509. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2510504.x>

Reyna-Fabián, M., Espinoza, A., Seingier, G., Ortiz-Lozano, L., & Espejel, I. (2018). De la evaluación ecológica a la socio-ecológica: la vulnerabilidad de los arrecifes de coral ante los factores de estrés asociados al cambio climático. *Sociedad y Ambiente*, 6(17), 59–92.

- Ruiz-Montoya, L., Álvarez-Gordillo, G., Ramírez-Marcial, N., & Cruz-Salazar, B. (2017). *Vulnerabilidad social y biológica ante el cambio climático en la Reserva de la Biósfera Selva El Ocote* (Primera edición). El Colegio de la Frontera Sur.
- Salinas-Saavedra, M., Febrimarsa, Krasovec, G., Horkan, H. R., Baxevanis, A. D., & Frank, U. (2023). Senescence-induced cellular reprogramming drives cnidarian whole-body regeneration. *Cell Reports*, *42*(7). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112687>
- Saraiva, A., Costa, J., Serrão, J., Cruz, C., & Eiras, J. C. (2015). A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, *448*, 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.028>
- Schaffer, A. A., Bazarsky, M., Levy, K., Chalifa-Caspi, V., & Gat, U. (2016). A transcriptional time-course analysis of oral vs. aboral whole-body regeneration in the Sea anemone *Nematostella vectensis*. *BMC Genomics*, *17*(1), 718. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3027-1>
- Schlesinger, A., Kramarsky-Winter, E., Rosenfeld, H., Armoza-Zvoloni, R., & Loya, Y. (2010). Sexual Plasticity and Self-Fertilization in the Sea Anemone *Aiptasia diaphana*. *PLoS ONE*, *5*(7), e11874. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011874>
- Scott, A., & Harrison, P. L. (2009). Gametogenic and reproductive cycles of the sea anemone, *Entacmaea quadricolor*. *Marine Biology*, *156*(8), 1659–1671. <https://doi.org/10.1007/s00227-009-1201-6>
- Seaborn, T., Griffith, D., Kliskey, A., & Caudill, C. C. (2021). Building a bridge between adaptive capacity and adaptive potential to understand responses to environmental change. En *Global Change Biology* (Vol. 27, Número 12, pp. 2656–2668). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/gcb.15579>
- Sheehy, E. J., Cunniffe, G. M., & O'Brien, F. J. (2018). Collagen-based biomaterials for tissue regeneration and repair. En *Peptides and Proteins as Biomaterials for*

Tissue Regeneration and Repair (pp. 127–150). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100803-4.00005-X>

Singer, I. I. (1971). Tentacular and oral-disc regeneration in the sea anemone, *Aiptasia diaphana*. 3. Autoradiographic analysis of patterns of tritiated thymidine uptake. *Journal of embryology and experimental morphology*, 26(2), 253–270.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4400497>

Spano, C., & Flores, V. (2013). Staining protocol for the histological study of sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) with recommendations for anesthesia and fixation of specimens. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(5), 1019–1024. <https://doi.org/10.3856/vol41-issue5-fulltext-23>

Sproles, A. E., Oakley, C. A., Matthews, J. L., Peng, L., Owen, J. G., Grossman, A. R., Weis, V. M., & Davy, S. K. (2019). Proteomics quantifies protein expression changes in a model cnidarian colonised by a thermally tolerant but suboptimal symbiont. *The ISME Journal*, 13(9), 2334–2345.
<https://doi.org/10.1038/s41396-019-0437-5>

Staudinger, M., Hilberg, L., Janowiak Maria, & Swanston Chris. (2016). Northeast and midwest regional species and habitats at greatest risk and most vulnerable to climate impacts. En A. Bryan & K. Terwilliger (Eds.), *Integrating climate change into the state wildlife action plans*. Northeast Climate Science Center.
<https://necasc.umass.edu/projects/integrating-climate-change-state-wildlife-action-plans>

Steinmetz, P. R. H., Kraus, J. E. M., Larroux, C., Hammel, J. U., Amon-Hassenzahl, A., Houlston, E., Wörheide, G., Nickel, M., Degnan, B. M., & Technau, U. (2012). Independent evolution of striated muscles in cnidarians and bilaterians. *Nature*, 487(7406), 231–234. <https://doi.org/10.1038/nature11180>

Strömberg, S. M., & Östman, C. (2017). The cnidome and internal morphology of *Lophelia pertusa* (Linnaeus, 1758) (Cnidaria, Anthozoa). *Acta Zoologica*, 98(2), 191–213. <https://doi.org/10.1111/azo.12164>

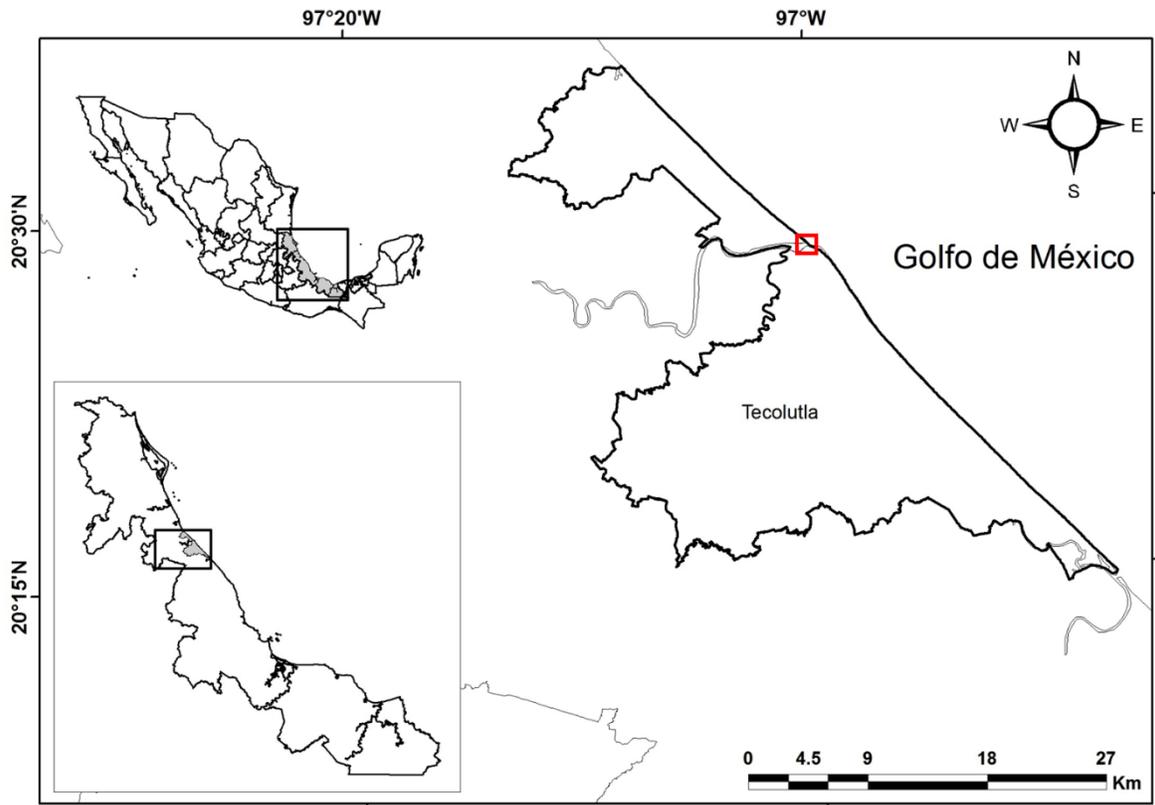
- Takahashi, T. (2020). Comparative Aspects of Structure and Function of Cnidarian Neuropeptides. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00339>
- Valdez Peralta, H. I. (2022). *Integración de respuestas fisiológicas y bioquímicas como indicadores de vulnerabilidad ambiental en la anémona Bunodosoma cavernatum (Bosc, 1802) (Cnidaria: Anthozoa: Actinaria)*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Valdez-Peralta, H. I., Hernández-Caldera, I., Cordero-Ramos, D. I., Márquez-Ramos, J. A., Matadamas-Guzmán, F. M., Guerrero-Legarreta, I., Segoviano-Ramírez, J. C., Del Rio Portilla, M. A., & Guzmán-García, X. (2019). Morphological and tissue analysis of sea anemones of Tecolutla, Veracruz, México. *XX Congreso de la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular, VIII International Congress of Histology and Tissue Engineering y VI Congreso Iberoamericano de Histología*, 45–50.
- Valieva, Y., Ivanova, E., Fayzullin, A., Kurkov, A., & Igrunkova, A. (2022). Senescence-Associated β -Galactosidase Detection in Pathology. En *Diagnostics* (Vol. 12, Número 10). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/diagnostics12102309>
- van der Burg, C. A., Pavasovic, A., Gilding, E. K., Pelzer, E. S., Surm, J. M., Smith, H. L., Walsh, T. P., & Prentis, P. J. (2020). The Rapid Regenerative Response of a Model Sea Anemone Species *Exaiptasia pallida* Is Characterised by Tissue Plasticity and Highly Coordinated Cell Communication. *Marine Biotechnology*, 22(2), 285–307. <https://doi.org/10.1007/s10126-020-09951-w>
- Vignoli, M., Ohlerth, S., Rossi, F., Pozzi, L., Terragni, R., Corlazzoli, D., & Kaser-Hotz, B. (2004). Computed tomography-guided fine-needle aspiration and tissue-core biopsy of bone lesions in small animals. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 45(2), 125–130. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2004.04020.x>

- Wolpert, L., Tickle, C., & Arias, A. (2015). *Principles of development* (5th ed.). Oxford University Press.
- Work, T. M., Singhakarn, C., & Weatherby, T. M. (2024). Cytology in cnidaria using *Exaiptasia* as a model. *Diseases of Aquatic Organisms*, 158, 37–53. <https://doi.org/10.3354/dao03781>
- Yao, Y., Liu, Y., Chen, L., Deng, Z., & Jiang, C. (2020). Study on the wave-driven current around the surf zone over fringing reefs. *Ocean Engineering*, 198. <https://doi.org/10.1016/j.oceaneng.2020.106968>
- Young, B. E., Byers, E., Gravuer, K., Hall, K. R., Hammerson, G. A., Redder, A., Szabo, K., & Newmark, J. E. (2009). Using the NatureServe Climate Change Vulnerability Index: A Nevada Caset Study. En *NatureServe*. www.natureserve.org
- Young, B. E., Hall, K. R., Byers, E., Gravuer, K., Hammerson, G., Redder, A., & Szabo, K. (2012). Rapid Assessment of Plant and Animal Vulnerability to Climate Change. En *Wildlife Conservation in a Changing Climate* (pp. 129–150). University of Chicago. <https://doi.org/https://doi.org/10.7208/9780226074641-007>
- Young, J. A. C. (1974). The Nature of Tissue Regeneration After Wounding in the Sea Anemone *Calliactis Parasitica* (Couch). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 54(3), 599–617. <https://doi.org/10.1017/S0025315400022773>
- Zamponi, M. O. (2007). El sistema mesoendoesqueletal en anémonas de mar (Cnidaria, Hexacorallia, Actiniaria). *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 26, 43–52. https://www.ragc.gal/sites/default/files/revistas/articulos/pdf/sistema_mesoendoesqueletal.pdf

- Zamponi, M. O., & Deserti, M. I. (2009). Análisis comparativo entre las morfologías y ecologías de las formas pólipos (Cnidaria , Hydrozoa , Anthozoa) similares en hábitats disímiles. *Revista Real Académica Galega de Ciencias*, 28, 37–70.
- Zhang, Y., Masters, L., Wang, Y., Wu, L., Pei, Y., Guo, B., Parissenti, A., Lees, S. J., Wang, R., & Yang, G. (2021). Cystathionine gamma-lyase/H₂S signaling facilitates myogenesis under aging and injury condition. *FASEB Journal*, 35(5). <https://doi.org/10.1096/fj.202002675R>
- Zhao, T., Su, Z., Li, Y., Zhang, X., & You, Q. (2020). Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases. En *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 5, Número 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00303-7>

14. Anexos

Anexo 1



Mapa señalando la región de obtención de las anémonas de mar en el municipio de Tecolutla, Veracruz, México (Jerónimo-Juárez et al., 2020).

Anexo 2

Respuestas proteínicas específicas en los tiempos experimentales			
Control (T0)	T24	T48	T72
1-fosfatidilinositol 4-quinasa	3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (Fragmento)	Similar a la endoquitinasa ácida	
1-fosfatidilinositol-3-fosfato 5-quinasa	Delta (14)-esterol reductasa	Proteína que contiene dominio aldehído deshidrogenasa	Adenosilhomocisteinasa
3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa	Proteína que contiene el dominio DUF1907	Enzima convertidora de angiotensina	Beta-galactosidasa
	Ácido graso 2-hidroxilasa	Beta-N-acetilhexosaminidasa	Citoquinina ribósido 5'-monofosfato fosforribohidrolasa

Adenosilhomocisteinasa	Proteína que contiene dominio Fe2OG dioxigenasa	Tipo carboxipeptidasa B	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (GTP)
ADP-ribosilarginina hidrolasa	Proteína que contiene dominio catalítico integrasa	Catalasa	No receptor de tirosina-proteína fosfatasa tipo 13
Arf-GAP con GTPasa, repetición de ANK y proteína tipo 1 que contiene dominio PH	NAD (+) quinasa		Proteína que contiene un dominio similar a dipeptidil-peptidasa Xaa-Pro
Proteína que contiene dominio BTB	Proteína quinasa no específica de serina/treonina	catepsina X	
Carboxipeptidasa Q	Proteína que contiene dominio Nudix hidrolasa	Isoforma X1 similar a la proteína 2 que contiene dominio CUB y peptidasa	
	Proteína que contiene el dominio PA14	Cistationina gamma-liasa	
Homólogo de cistinosina	Proteína que contiene dominio PLAT	Tipo elastasa-1	
Eliminada en tumores cerebrales malignos 1 isoforma X2 similar a una proteína	proteína-serina/treonina fosfatasa	Endonucleasa	
Ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa tipo 4	Ubiquitina transferasa E3 tipo RBR	Glutamato deshidrogenasa	
Enzima convertidora de endotelina 1	Proteína que contiene el dominio C-terminal de la enzima activadora de ubiquitina E1	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	
Guanilato ciclasa		Proteína que contiene dominio HECT	
Ubiquitina transferasa E3 tipo HECT		Ubiquitina transferasa E3 tipo HECT	
Inositol hexakisfosfato y difosfoinositol-pentakisfosfato quinasa		Proteína DDB_G0281931 que contiene repeticiones ricas en leucina	
Similar a L-fucosa quinasa		Subunidad del complejo ATPasa mitocondrial ATP10	
Manosiltransferasa		Serina/treonina proteína quinasa no específica	
Proteína quinasa no específica de Serina/treonina		Proteína que contiene dominio catalítico peptidasa S9 proil oligopeptidasa	
Nucleotidiltransferasa MAB21L1		Péptido-O-fucosiltransferasa	
Proteína que contiene dominio OTU		similar al plasminógeno	

Fosfatidilinositol-3-fosfato fosfatasa		Proteína que contiene dominio PLAT	
Proteína que contiene dominio de proteína quinasa		Poli [ADP-ribosa] polimerasa	
Subunidad reguladora de proteína fosfatasa 1, isoforma X1 similar a 12A		Tipo proteína quinasa 4	
Proteína que contiene dominio de transcriptasa inversa		Proteína que contiene dominio de proteína quinasa	
Proteína que contiene dominio RGS		Proteína similar a la glucosilgalactosilhidroxilisina glucosidasa	
Ubiquitina transferasa E3 tipo RING		proteína-tirosina-fosfatasa	
Isoforma X1 similar a la proteasa 6 específica de sentrina		Receptor proteína tirosina quinasa	
Serina/treonina-proteína quinasa 40		Tipo retina deshidrogenasa 1	
S-formilglutación hidrolasa		Ubiquitina transferasa E3 tipo RING	
Esfingomielina fosfodiesterasa tipo 4		Isoforma X8 similar a la titina	
UDP-glucuronosiltransferasa		Ubiquitina carboxilo terminal hidrolasa MINDY	
		UDP-N-acetilhexosamina pirofosforilasa	

Anexo 3

Respuestas proteínicas en dos o más tiempos experimentales		
Presentes en todos los tiempos	Presente en 3 tiempos	Presente en 2 tiempos
Aminopeptidasa W07G4.4		Beta-N-acetilhexosaminidasa
Proteína que contiene el dominio citosol amino peptidasa	Ácido similar a la quitinasa de mamíferos (Ausente Control)	Proteína 1 similar a quitinasa-3
Fructosa-bifosfato aldolasa	Beta-hexosaminidasa (Ausente Control)	Factor de iniciación de la traducción eucariota tipo 2-alfa quinasa 1
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	Tipo catepsina B (Ausente T72)	Proteína que contiene el dominio GH18
Tipo lisozima		Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Fragmento)
Malato deshidrogenasa	Proteína que contiene el dominio GH18 (Ausente Control)	Serina/treonina proteína quinasa no específica

Isoforma X1 similar a la peroxiredoxina-2	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (Fragmento) (Ausente Control)	Pectina acetilesterasa
Proteína MUCHO DESPUÉS DEL ROJO LEJOS 3-like	Lactoilglutación liasa (Ausente Control)	Peptidilprolil isomerasa
Superóxido dismutasa [Cu-Zn]	Nucleósido difosfato quinasa (Ausente T48)	Procolágeno-prolina 4-dioxigenasa
Proteína que contiene dominio de tioredoxina	Fosfopiruvato hidratasa (Ausente T48)	Proteína disulfuro-isomerasa
Triosafosfato isomerasa	Proteína disulfuro-isomerasa (Ausente T24)	Proteína que contiene dominio de proteína quinasa
Tipo catepsina L1		Proteína MUCHO DESPUÉS DEL ROJO LEJOS 3-like
Proteína que contiene dominio AAA+ ATPasa		Ubiquitina transferasa E3 tipo RING
		Nucleótido deshidratasa RSAD2 dependiente de S-adenosilmetionina
		Serina/treonina-proteína fosfatasa 4, subunidad reguladora tipo 3
		Homólogo de titina
		Triosafosfato isomerasa
		Ubiquitina carboxilo terminal hidrolasa tipo 19

Anexo 4

La 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa juega un rol crítico en la síntesis de colesterol celular para la homeóstasis. Algunas proteínas son constitutivas por que participan de manera constante, tal es el caso de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa que participa en la síntesis del colesterol, lípido con función estructural y metabólica, que se encuentra principalmente anclado a las membranas celulares. El colesterol es esencial para el crecimiento de los tejidos, así como para la síntesis de hormonas esteroideas, ácidos biliares y vitamina D (Méndez et al., 2021). En invertebrados se ha reportado la presencia de genes involucrados en la síntesis de la proteína 3-hidroxi relacionada también con la síntesis de terpenoides.

La proteína, que contiene dominio BTB, participa en la diferenciación mesenquimal y que promueve la diferenciación miogénica. Se han descrito proteínas con dominios BTB en musculo esquelético las cuales tienen como función la diferenciación miofibrilar (Paxton et al, 2011) (Pisani et al, 2004). Las proteínas BTB son las encargadas de designar el tipo de miofibrilla que se va a generar de acuerdo a la necesidad del tejido muscular.

La homóloga de cistinosina participa en la degradación de células apoptóticas engullidas. Las células apoptóticas en los animales son fagocitadas por células fagocíticas y posteriormente se degradan dentro de los fagosomas. (Yu X. et al, 2008). La muerte celular es, pues, un fenómeno inherente a la vida y permite que aquellas células que no funcionan correctamente, ya sea debido a su envejecimiento, a lesiones fortuitas o a la intervención médica (quimioterapia o radioterapia en el tratamiento del cáncer) sean destruidas de una manera controlada (Oropesa M. 2015). La proteína homóloga de cistinosina es crucial para la degradación de células apoptóticas engullidas por los fagosomas.

La proteína inositol hexakisfosfato y difosfoinositol-pentakisfosfato quinasa es requerida para mantener la integridad celular, el crecimiento celular y para la interacción con complejos ARP (Componente esencial del citoesqueleto de actina en la levadura y es necesario para el movimiento de los parches de actina). Además, son requeridas para el funcionamiento del citoesqueleto de actina cortical (Feoktistova et al, 1999). Los pirofosfatos de inositol (PP-InsP) son un subgrupo único de señales intracelulares con diversas funciones, muchas de las cuales pueden verse como reflejo de un papel general en la homeostasis metabólica. Un ejemplo es la proteína 5-InsP7, que regula la dinámica de la familia de las Dineínas, proteínas motoras asociadas a los microtúbulos (Randall et al, 2020).

La proteína que contiene dominio OTU permite regular la energía del metabolismo y desempeña un papel en la homeostasis de las células T, necesario para las respuestas normales de las células T, incluida la producción de IFNG e IL2. La energía del metabolismo se regula por varios genes implicados en el metabolismo de la glucosa, los lípidos y la fosforilación oxidativa mediante la estabilización del receptor delta activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR δ) (Zhou N. et al, 2022). Se ha demostrado que la deficiencia de Otud7b atenúa la activación de Zap70 y sus vías posteriores y altera la activación y diferenciación de las células T, lo que hace que ratones sean refractarios a las respuestas autoinmunitarias e inflamatorias mediadas por las células T (Hu H. et al, 2016).

La fosfatidilinositol-3-fosfato fosfatasa regula los filamentos intermediarios de desmina que se encargan del ensamblaje y arquitectura de vacuolas. Es importante recalcar que también tienen una función en el mantenimiento del músculo esquelético, pero no participa en la miogénesis. La miotubularina (fosfatidilinositol-3-fosfato fosfatasa) controla la arquitectura de los filamentos intermedios de desmina en el músculo esquelético humano y de ratón (Hnia K. et al, 2011). Cuando existe o se induce la falta de la miotubularina, se generan patologías relacionadas con el tejido muscular.

El ácido graso 2-hidroxisalasa tiene como función la síntesis de galactoesfingolípidos de la vaina de mielina, así como de la síntesis de esfingolípidos y de glicosfingolípidos relacionados en la formación de cuerpos laminares epidérmicos críticos para la barrera de permeabilidad de la piel. Se han realizado investigaciones que proponen que el ácido graso 2-hidroxisalasa es la enzima responsable de la formación de ceramida alfa-hidroxisalada en los oligodendrocitos del cerebro de los mamíferos (Eckhardt et al., 2005). Los esfingolípidos que contienen ácidos grasos 2-hidroxisalados se encuentran entre los componentes lipídicos más abundantes de la vaina de mielina y, por lo tanto, se cree que desempeñan un papel importante en la formación y función de la mielina (Zoeller et al., 2008). Las ceramidas en el estrato córneo de los mamíferos comprenden una mezcla heterogénea de especies moleculares que sirven a la barrera de permeabilidad epidérmica, una función esencial para la supervivencia en un entorno terrestre. Además de una variación de las especies de esfingol, la hidroxisalación de los ácidos grasos unidos a amida contribuye a la diversidad de las ceramidas epidérmicas. La 2-hidroxisalasa de ácidos grasos, codificada por el gen FA2H, el homólogo en los mamíferos de FAH1 en la levadura, cataliza la síntesis de esfingolípidos que contienen ácidos grasos 2-hidroxi (Uchida et al., 2007).

La proteína quinasa no específica de serina/treonina la cual está implicada en un amplio rango de procesos celulares (apoptosis, diferenciación, respuesta de daño a ADN, sobrevivencia celular, regulación de canales iónicos, regulación del ciclo circadiano) en respuesta a hormonas esteroideas y tiroideas, calcio, ácidos grasos, TGF-Beta y estresores oxidativos y genotóxicos. Participa en el control del mecanismo de respuesta de daño a ADN, mediante la activación de puntos de control y la reparación de daños en el ADN mediante, por ejemplo, la regulación de la señalización ATM/ATR y la desfosforilación de PRKDC y TP53BP1. Por último, inhibe la apoptosis mediada por ASK1/MAP3K5 inducida por estrés oxidativo.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00118

Matrícula: 2213801080

Biomarcadores para estimar la capacidad adaptativa de la anémona *Bunodosoma cavernatum*; propuesta como modelo de vulnerabilidad.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 18 del mes de diciembre del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MARIA ISABEL DEL CARMEN GUERRERO LEGARRETA
DR. ANTONIO ZOILO MARQUEZ GARCIA
DRA. NORMA ANGELICA SANTIBAÑEZ AGUASCALIENTES

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (ENERGÍA Y MEDIO AMBIENTE)

DE: FERNANDO MISAEL MATADAMAS GUZMAN

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



FERNANDO MISAEL MATADAMAS GUZMAN

ALUMNO

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

DR. ROMAN LINARES ROMERO

PRESIDENTA

DRA. MARIA ISABEL DEL CARMEN
GUERRERO LEGARRETA

VOCAL

DR. ANTONIO ZOILO MARQUEZ GARCIA

SECRETARIA

DRA. NORMA ANGELICA SANTIBAÑEZ
AGUASCALIENTES