



IMPLICACIONES DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA INDUCCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ALCALOIDES OXINDOL TERPÉNICOS

Ana C. Ramos Valdivia, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), México, D.F. 07360, aramos@cinvestav.mx

respuesta antioxidante, Uncaria tomentosa, Hamelia patens

El estrés oxidativo es una alteración metabólica asociada a las condiciones de estrés biótico y abiótico al generarse cantidades excesivas de especies reactivas de oxígeno (ERO), y que conduce mediante una cascada de señalización y de segundos mensajeros a diferentes respuestas de defensa antioxidante que incluye la biosíntesis de metabolitos secundarios (1,2). Los alcaloides oxindol monotérmicos AOM (isopteropodina, mitrafilina, rincofilina y sus isómeros) son producidos por un limitado número de especies de plantas de climas tropicales como *Uncaria tomentosa* (uña de gato) propia de la región amazónica y *Hamelia patens* "coralillo" o "chacloco" con un alto contenido AOM (pteropodina, derivados de pteropodina e isómeros), que se encuentra en algunas regiones de México. Diversas investigaciones han demostrado que los AOM tienen características antioxidantes y poseen importantes actividades farmacológicas como antileucémico, antitumoral e inmunoestimulante. En las estrategias de producción biotecnológica de AOM y con el objeto de mejorar sus rendimientos, nos hemos dirigido a identificar los factores que regulan su biosíntesis en plantas y, alternativamente, las condiciones de cultivo para su producción.

En nuestras investigaciones un hallazgo significativo fue el encontrar que al llevar los cultivos de células o raíces en suspensión de *U. tomentosa* a biorreactores, se provocó un incremento de la producción de AOM de más de 10 veces, lo cual correlacionó con un mayor nivel de ERO, en específico de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) provocado por el estrés hidrodinámico del reactor, así como un aumento de la respuesta celular antioxidante enzimática y no enzimática. De manera análoga hemos comprobado tanto en cultivo de raíces de *U. tomentosa* como en plántulas de *H. patens* que la inducción del estrés oxidativo ocurre con la adición o aplicación de H_2O_2 . Así mismo, el uso de inhibidores de la formación de glutatión solo o en combinación con jasmonatos (3) también incrementó en un menor tiempo la producción de AOM. Estos cambios estuvieron estrechamente relacionados con los niveles de la actividad enzimática y la expresión de genes importantes de la biosíntesis de los alcaloides indolterpénicos, como son estrictosidina sintasa, estrictosidina glucosidasa, triptófano descarboxilasa y deoxixilulosa sintasa. Con el uso de herramientas de proteómica y metabolómica hemos analizado los vínculos de la inducción-respuesta del estrés oxidativo y la biosíntesis de estos alcaloides AOM a nivel de proteínas y metabolitos.

Nuestros resultados sugieren la existencia de un papel regulatorio del metabolismo intermediario de la estrictosidina, confirman las limitaciones en la provisión de los precursores terpénicos, así como la inducción de proteínas involucradas en la biosíntesis de tioles, compuestos fenólicos y aquellas relacionadas con el estrés y respuesta antioxidante. Cabe destacar que en condiciones de estrés, el incremento de AOM estuvo acompañado por la predominancia de otros metabolitos primarios y secundarios tales como sacarosa, triptófano, glutamina, estrictosidina entre otros, y un aumento en el contenido de ácido clorogénico y de metabolitos involucrados en su biosíntesis.

1. Ramos-Valdivia AC, Huerta-Heredia AA, Trejo-Tapia G, Cerda-García-Rojas CM. (2012). Secondary metabolites as non-enzymatic plant protectors from oxidative stress, In: *Oxidative Stress in Plants: Causes, Consequences and Tolerance*, eds Anjum NA, Umar S, Ahmad A. IK International Publishers, New Delhi. p 413-441.
2. Selmar D, Kleinwachter M (2013) Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. *Plant Cell Physiol* 54:817-826.
3. Vera-Reyes I, Huerta-Heredia AA, Ponce-Noyola T, Flores-Sanchez IJ, Esparza-García F, Cerda-García-Rojas, CM, Trejo-Tapia G, Ramos-Valdivia AC. (2013) Strictosidine-related enzymes involved in the alkaloid biosynthesis of *Uncaria tomentosa* root cultures grown under oxidative stress. *Biotechnol. Prog.* 29: 621-630.