ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Bionatura

International Journal of Biotechnology and Life Sciences



Pineda-Insuasti, J. (2026). [Imagen generada por IA]. ChatGPT.

Scopus®
2016-2023

https://cebaecuador.org/

https://www.uco.edu.co/

https://bioecologicos.com/

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente

CEBA

https://cebaecuador.org/
https://revistabionatura.org/

- ACUERDO MINISTERIO DEL AMBIENTE No 026
- REGISTRO OFICIAL No 579
- ACREDITACIÓN SENESCYT-ACR-UNIDAD-24-5
- RUC: 1091728237001

Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente
Periférico Sur s/n y calle A, FSA. San Antonio. Ibarra-Ecuador.
Código Postal 100109
https://cebaecuador.org/
https://revistabionatura.org/
info@cebaecuador.org, inf.ceba@gmail.com
Cel.: (+593) 99 579 7813

REPÚBLICA DEL ECUADOR

Ministerio del Ambiente

senescyt
Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación

29/10/2026 © https://cebaecuador.org/. 2026 1

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

Mortiño
(*Vaccinium spp.*)
Full Spectrum Extract

- Alto poder antioxidante.
- Salud cardiovascular y circulatoria.
- Beneficios Digestivos y Urinarios
- Anti edad y rejuvenecimiento.

NS: 806013-ALN4236

CONTACTO: info.biodiversity@gmail.com
Cel. +593 99 758 9267, Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
https://cebaecuador.org/, inf.ceba@gmail.com
Cel + 593 99 579 7813, Ibarra-Ecuador



CENTRO ECUATORIANO DE BIOTECNOLOGÍA DEL AMBIENTE - CEBA, es una institución de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i), constituida bajo la forma de Fundación de utilidad común, sin fines de lucro, religioso, racial y político. Es una persona jurídica de derecho privado, reconocida por el estado ecuatoriano mediante Acuerdo del Ministerio del Ambiente (MAATE) No 026 (17/03/2009), Con Registro Oficial No 579 (28/04/2009) y ACREDITACIÓN SENESCYT-ACR-UNIDAD-24-5 (17/06/2024). CEBA difunde los resultados científicos a través de sus revistas:

Bionatura: ISSN 1390-9355 (online) e ISSN 1390-9347 (impresa). https://revistabionatura.org/
Biorrefinería: ISSN 2602-8530 (online). https://cebaecuador.org/publicaciones/revista-biorrefineria/

Filosofía
CEBA mantiene su propia filosofía para el Desarrollo Social y Económico del ser humano, fundamentada en las **3S** (sabiduría, salud y seguridad).

Misión
Aportar al Desarrollo Sustentable del Ecuador y de América Latina con enfoque de Bioeconomía, mediante la aplicación de la ciencia, la tecnología y la Innovación, que permita el máximo aprovechamiento de los recursos y contribuya con el bienestar del ser humano y del planeta.

Visión
Poner al alcance de todas las personas, la cooperación científica, técnica y empresarial para la Seguridad Alimentaria, la Seguridad Energética y la Seguridad Ambiental.

Valores
Integridad, calidad, responsabilidad, liderazgo, colaboración y diversidad.

Enfoque estratégico
CEBA, se alinea con los objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la ONU y planifica su intervención a través de la "Estrategia Ecuatoriana de Bioeconomía - Horizonte 2035", fundamentada en el aprovechamiento de la Biodiversidad, las Biomasas y las Biorrefinerías.

Julio Pineda Insuasti, PhD
DIRECTOR EJECUTIVO- CEBA

Contacto
Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín, San Antonio. Ibarra-Ecuador
https://cebaecuador.org/
inf.ceba@gmail.com
info@cebaecuador.org
Cel: (+593) 99 579 7813

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Bionatura

La Revista Bionatura (en inglés, Bionatura Journal) del Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), fue creada en el año 2015 con la finalidad de difundir los resultados científicos y tecnológicos obtenidos de la investigación aplicada en el marco de la **Estrategia ecuatoriana de Bioeconomía-Horizonte 2035**, en el campo de las ciencias naturales, Ciencias de la Vida la Biotecnología, ensayos clínicos y médicos, Biodiversidad y Ecología en general. Publica manuscritos científicos originales del tipo empírico, revisiones, metodológicas y estudios de caso. Se edita en versión digital e impresa en idioma inglés y español con una frecuencia trimestral y está dirigida a la comunidad científica a nivel internacional. Los autores mantienen sus derechos sobre los artículos sin restricciones y opera bajo la política de Acceso Abierto a la Información, bajo la licencia de Creative Commons 4.0 CC BYNC-SA (Reconocimiento-No Comercial-Compartir igual). La revista utiliza Open Journal Systems, que es un gestor de revistas de acceso abierto y un software desarrollado, financiado y distribuido de forma gratuita por el proyecto Public Knowledge Project sujeto a la Licencia General Pública de GNU. La revista se encuentra inscrita en el Registro Nacional de Publicaciones Seriadas de la SENESCYT Ecuador e ISSN International Centre, Francia (https://portal.issn.org/custom-search/print/1390-9355/public).

La *misión* es aporta con conocimiento científico, técnico y económico para el desarrollo de la Bioeconomía Ecuatoriana y del mundo, mediante el uso eficiente y equilibrado de los recursos naturales, así como el aprovechamiento adecuado de los recursos genéticos microbianos, las biomasas de carbono disponible y los bioprocesos tecnológicos existentes, que permita el máximo aprovechamiento del conocimiento para el bienestar del ser humano y del planeta.

La *visión* es inspirar a las futuras generaciones para que aporten con el desarrollo social y económico del planeta, basado en una Bioeconomía respetuosa con el medioambiente y el ser humano.

El *objetivo* es difundir el conocimiento sobre los avances de la ciencia, la tecnología y la innovación de la Bioeconomía Ecuatoriana y del mundo, mediante la herramienta online, que permita llegar a la mayoría de la población.

Revista Bionatura tiene alcance nacional e internacional, con especial enfoque en el desarrollo de la Bioeconomía y dirigida a la comunidad científica.

Cobertura de Temáticas

- Ciencias Naturales
- Ciencias de la Vida
- Biotecnología
- Biomedicina
- Microbiología
- Biología
- Biodiversidad
- Bioquímica

Contacto

https://revistabionatura.org/
editor@revistabionatura.org
info@revistabionatura.org
Cel. (+593) 99 579 7813

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Equipo Editorial

Julio Pineda Insuasti, PhD
Director Ejecutivo CEBA/ CEBA Executive Director

Alejandro Pineda Soto, MSc.
Director Científico CEBA/ CEBA Scientific Director

Gustavo Reyes Lara, MSc.
Director Innovación / Innovación Director

Daymé Mederos Matos, MSc.
Director Técnico / Technical Director

- **Luisa Matos Mosqueda, PhD**
  Editor Jefe / Chief Editor

- **Lourdes Crespo Zafra, PhD**
  Redacción y Corrección / Writing and Correction

- **Nicolas Vaca Viteri, Tec.**
  Diseño Gráfico/ Graphic Design

- **Gabriela Veloz Salazar, MSc.**
  Asistente publicación / Publishing Assistant

Contacto
https://revistabionatura.org/
editor@revistabionatura.org
info@revistabionatura.org
Cel. +593 99 579 7813
Ibarra-Ecuador

https://cebaecuador.org/

BIONATURA
(BIONATURA JOURNAL)
ISSN 1390-9355 soporte online
ISSN 1390-9347 soporte impreso
https://revistabionatura.org/
editor@revistabionatura.org
https://portal.issn.org/custom-search/print/1390-9355/public

BIORREFINERÍA
(BIOREFINERY JOURNAL)
ISSN 2602-8530 soporte online
https://www.cebaecuador.org/publicaciones/revista-biorrefineria/
https://portal.issn.org/custom-search/print/2602-8530/public
biorrefineria.ceba@gmail.com

CONSEJO EDITORIAL / EDITORIAL BOARD

CONSEJO EDITORIAL PRINCIPAL/ PRINCIPAL EDITORIAL BOARD

Dr. Fernando Albericio, Ph.D. Full Professor. University of KwaZulu-Natal. Durban, South Africa.
Dr. Spiros N. Agathos, Ph.D. Full Professor. Université Catholique de Louvain - UCLouvain. Louvain-la-Neuve, Belgium.
Dr. Frank Alexis. Research / Full Professor. Vice Chancellor Of Research and Innovation. Yachay Tech University, Ecuador.

CONSEJO EDITORIAL / EDITORIAL BOARD

Dr. Gerardo Ferbeyre. Full Professor. Département de biochimie.Faculté de Médecine. Université de Montréal, Canadá.
Dr Frank Camacho Casanova. Ph.D , Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Chile.
Dr. Eduardo López Collazo. Director IdiPAZ Institute of Biomedical Research, La Paz Hospital, España.
Dr.Yovani Marrero-Ponce, Ph.D. Full Professor. Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito, Ecuador.
Dr. Manuel Limonta, Prof. PhD. Director: Regional Office for Latin American and the Caribbean International Council for Science (ICSU). Doctor honoris causa Autonomous Metropolitan University of México City (UAM). Dr. Honoris Causa - Universidad Central Ecuador.
Dr. Dagoberto Castro – Restrepo. Prof. PhD. Research and Development Director. Universidad Catolica del Oriente. Rio Negro. Colombia.
Dr. Michael Szardenings. PhD. Ligand Development Unit.Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology.Germany.
Dra. Luciana Dente. Research Professor University of Pisa, Italy.
Dr. Costantino Vetriani. Research / Full Professor. Rutgers, The State University of New Jersey. USA.
Dr. Si Amar Dahoumane, PhD. Research / Professor. Yachay Tech University, Ecuador.
Dr. Amit Chandra, MD, MSC, FACEP Global Health Specialist, Emergency PhysicianMillennium Challenge Corporation, London School of Economics and Political Science.
Dr. Silvio e. Perea, PhD. Head of the Molecular Oncology Laboratory. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Cuba.
Dra. Maritza Pupo. Profesora investigadora. Facultad de Biología. Universidad de la Habana, Cuba.
Dr. Fidel Ovidio Castro. Founder, Profesor investigador. Tecelvet, Chile.
Dra. Olga Moreno. Partner, Head Patent Division. Jarry IP SpA, Chile.
Dr. Carlos Borroto. Asesor de Transferencia de Tecnología. Dirección General at Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán (CICY), México.
Dr. Javier Menéndez. Manager Specialist Process and Product 5cP. Sanofi Pasteur, Canadá.
Dr. Pedro Valiente. Profesor investigador. Facultad de Biología. Universidad de la Habana, Cuba.
Dr. Diógenes Infante. Prometeo / SENESCYT. Especialista de primer nivel en Biotecnología. Universidad de Yachay Tech, Ecuador.
Dra. Georgina Michelena. Profesora Investigador. Organización de las Naciones Unidas. (ONU), Suiza.
Dr. Francisco Barona, Profesor Asociado. Langebio Institute, México
Dr. Gustavo de la Riva. Profesor Investigador Titular. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, México.
Dr. Manuel Mansur. New Product Introduction Scientist (NPI) at Elanco Animal Health Ireland, Irlanda.
Dr. Rolando Pajón. Associate Scientist, Meningococcal Pathogenesis and Vaccine Researc. Center for Immunobiology and Vaccine Development, UCSF Benioff Children's Hospital Oakland", Estados Unidos.
Dra. Lleana Rosado Ruiz-Apodaca. Profesor / Investigador. Universidad de Guayaquil, Ecuador.
Dr. Carlos Eduardo Giraldo Sánchez, PhD. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente. Rionegro-Antioquia/Colombia.
Dr. Mario Alberto Quijano Abril, PhD. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente. Rionegro-Antioquia/Colombia.
Dr. Felipe Rojas Rodas, PhD. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente.Rionegro-Antioquia/Colombia.
Dra. Isabel Cristina Zapata Vahos. Profesor / Investigador. Universidad Católica de Oriente.Rionegro-Antioquia/Colombia.
Dr. Felipe Rafael Garcés Fiallos, PhD. Profesor / Investigador. Vicerrectorado de Investigación, Gestión Social del Conocimiento y Posgrado Universidad de Guayaquil (UG), Ecuador.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Dra. Daynet Sosa del Castillo, PhD. Directora del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador. CIBE-ESPOL.
Dra. Consuelo Macías Abraham. Especialista de II Grado en Inmunología, Investigadora y Profesora Titular, Doctora en Ciencias Médicas y Miembro Titular de la Academia de Ciencias de Cuba. Directora del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI), de La Habana, Cuba.
Dr. René Delgado, PhD. IFAL / Presidente Sociedad Cubana de Farmacología. Cuba.
Dr. Ramón Guimil. Senior Director. Oligonucleotide Chemistry bei Synthetic Genomics, Estados Unidos.
Dr. Eduardo Penton. MD, PhD. Investigador Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba.
Dr. Julio Raúl Fernández Massó, PhD. Investigador Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba
Dra. Lisset Hermida. Investigadora Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba.
Dr. Tirso Pons. Staff Scientist. Structural Biology and Biocomputing Programme (CNIO), España.
Dr. Che Serguera. French Institute of Health and Medical Research. MIRCen, CEA, Fontenay-aux-Roses Paris, France.
Dr. Jorge Roberto Toledo. Profesor Asociado. Universidad de Concepción, Chile.
Dr. Oliberto Sánchez. Profesor Asociado. Universidad de Concepción, Chile.
Dr. Aminael Sánchez Rodríguez, PhD. Director del departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.
Dra. Celia Fernández Ortega. PhD. Investigadora Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Editora ejecutiva Biotecnología Aplicada. Cuba.
Dra. Ligia Isabel Ayala Navarrete, PhD. Profesor / Investigador. Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE. Ecuador.
Dr. Nalini kanta Sahoo, PhD. Professor & Head Department Marri Laxman Reddy Institute of Pharmacy. Hyderabad, Andhra Pradesh, India.
Dr. Saman Esmaeilnejad, PhD. Department of medical sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
Dr. Olukayode Karunwi, PhD. Research / Professor. Clemson University. Clemson, United States.
César Paz-y-Miño, MD. MSc. Dr. Facultad de Ciencias de la Salud “Eugenio Espejo”, Universidad UTE, Quito, Ecuador.
Dra. Rosa Victoria González Zambrano, PhD. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López: Calceta, Provincia de Manabí, Euador.
Dr. Gualberto León Revelo, PhD. Universidad Politécnica Estatal Del Carchi: Tulcán, Carchi, Euador.
Dr. Ernesto Alonso Rosero Delgado, PhD. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.
Juan Carlos Fiallos Quinteros, MSc.
Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente: Ibarra, Imbabura, Ecuador.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

CONTENIDO

1. The potential of cream formulation containing artichoke waste extract and probiotic as antimicrobial and photoprotective agents ……. 9
2. Interaction Mechanisms of Bioactive Compounds with α-Synuclein: A Docking and Molecular Dynamics Study…….. 23
3. Severidad de los trastornos temporomandibulares en adultos mayores …… 48
4. Glucósidos de esteviol de Stevia rebaudiana: composición química, receptores gustativos y factores que determinan el perfil sensorial ……. 59
5. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and difficult laparoscopic cholecystectomy in acute calculous cholecystitis: a two-centre cohort…… 76
6. Perfil epidemiológico y clínico de pacientes críticos: delimitación de fenotipos mediante clúster bietápico …… 93
7. Evaluación de la obtención de un extracto acuoso rico en polifenoles a partir de Salicornia bigelovii mediante optimización de parámetros de extracción…….. 111
8. Productos de la colmena: una revisión de sus potencialidades para la seguridad alimentaria y la sostenibilidad agrícola ……..…… 138
9. In vivo assessment of acute toxicity in OF1 mice of five synthetic heterocyclic derivatives of biological interest ……..…… 148
10. Profesionalización de especialistas en Medicina Familiar sobre profilaxis preexposición al virus de inmunodeficiencia humana …… 158

Bionatura
ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

The potential of cream formulation containing artichoke waste extract and probiotic as antimicrobial and photoprotective agents

Meltem Asan-Ozusaglam[1] * Ali Saglam[2,] Merve Alan[3], Mehmet Cobanoglu[4]

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Aksaray University, Aksaray, 68100, Türkiye; meltemozusaglam@gmail.com.
ORCID (https://orcid.org/0000-0002-3638-1306.)
*Correspondence: meltemozusaglam@gmail.com

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/ (Doi10.70373/RB/2026.11.03.1)

Abstract

This study investigated the potential of artichoke (*Cynara scolymus L.*) processing waste as a natural biological resource for pharmaceutical and cosmetic applications. For this purpose, acetone extracts were obtained from artichoke waste under hot (AWAC-H) and cold (AWAC-C) conditions. The antimicrobial activities of the extracts were examined against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). According to the disc diffusion test results, the inhibition zone diameters for the AWAC-H extract were determined to be in the range of 7.57–12.32 mm, and for the AWAC-C extract, in the range of 9.45–11.64 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the extracts were found to be between 12.5–50 mg/mL, and the minimum bactericidal concentration (MBC) values were between 25–100 mg/mL. The study also evaluated the sun-protective properties of the extracts. Spectrophotometric analyses revealed sun protection factor (SPF) values of 18.81 for AWAC-H and 25.67 for AWAC-C. Furthermore, the SPF and antimicrobial properties of cream formulations prepared using artichoke extracts and the probiotic bacterium *Lactobacillus fermentum* MA-7 were investigated. The highest SPF value with 24.99 was obtained in the cream formulation containing AWAC-H extract and probiotic. Based on antimicrobial activity test results, higher inhibitory activity was observed in both the extract and probiotic-containing cream groups. The results indicate that the acetone extracts from artichoke processing waste may be evaluated as natural ingredients in pharmaceutical and cosmetic formulations.

Keywords

Artichoke waste; acetone extract; antimicrobial activity; sun protection factor; probiotic; cream formulation

Introduction

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Artichoke (*Cynara scolymus*) is native to the Mediterranean region and is widely used as a food source and as a medicine in traditional medicine [1]. The United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) stated that 1.516.955 tons of artichokes were produced worldwide in 2020 [2]. Artichokes are a valuable food source thanks to their significant health benefits, but their production, harvesting, and processing generate a substantial amount of waste, leading to sustainability issues [3]. Crop waste, such as leaves, husks and roots, constitutes a notable amount of organic waste, estimated to be between 2.800 and 3.800 million tons annually [4]. Food processing waste management is becoming a very serious environmental problem today [5]. Agricultural waste of plant origin has significant potential as a biological resource due to the secondary metabolites it contains, namely phenolic compounds, flavonoids and phenolic acids [6.7]. The waste generated during processing can make up to 60% more than the edible portion of the artichoke. This waste is rich in secondary metabolites, therefore evaluating its ecological and economic aspects is important [8]. If the waste is not decomposed or reused, it can cause significant soil and water pollution [9]. These secondary metabolites are attracting considerable interest in cosmetic, pharmaceutical, and biomedical applications due to their antimicrobial and antioxidant effects [10]. Due to these characteristics, plant waste is not only a potential environmental problem, but also a sustainable and low-cost resource [11]. Therefore, artichokes are a noteworthy agricultural product due to both the quantity produced and the large-scale plant waste generated during processing [12].

Ultraviolet (UV) radiation causes oxidative stress in the skin and is a significant environmental factor that can lead to biochemical damage such as photoaging [13]. UV-B rays, particularly those in the 290-320 nm range, cause oxidative damage and DNA mutations in the epidermis, triggering various dermatological problems [14]. However, prolonged exposure to UV-B rays from the sun can be harmful because it can damage DNA, cause sunburns, and significantly increase the risk of skin cancer [15,16]. Additionally, UV-B can weaken the immune system and cause premature aging [17]. Therefore, using topical sunscreens against UV-B rays from the sun protects the skin from photoaging and sunburn, and reduces the possibility of skin cancer [18]. Although synthetic sun filters containing chemicals have been used for many years, they have disadvantages such as loss of photostability, allergenic potential, and environmental toxicity [14]. This situation has necessitated the development of organic and natural sunscreen components. Plant extracts are rich in polyphenols, flavonoids, and tannins, and can provide both chemical and biological protection thanks to their absorbance harmful UV rays and neutralize free radicals [19]. Artichokes contain secondary metabolites such as flavonoids, anthocyanins, pectin, inulin, and vitamins; these components have beneficial effects on various diseases [20]. These secondary metabolites exhibit anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, and anticarcinogenic properties, as well as photoprotective effects [21-23]. The skin

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

protects the body from external factors and harbors a complex microflora consisting of numerous microorganisms on its surface [24]. When this microflora balance is disrupted, pathogenic microorganisms such as *E. coli, S. aureus, Candida* species and *P. aeruginosa* can cause infections [25]. The concerns about the side effects of skincare products have made the exploration of new, natural, chemical-free treatment approaches an urgent need [26]. Various studies have shown that probiotics and their metabolites have a significant effect in the treatment of skin disorders. Therefore, probiotics are a suitable natural option for strengthening the skin microflora [27].

The potential of the extract from the artichoke processing wastes (outer leaves, bracts, and stems) as a natural bioactive compound was aimed to determine in the pharmaceutical and cosmetic areas. Therefore, the antimicrobial potential of the acetone extract (AWAC) from artichoke by-products against various test bacteria was investigated. The sun protection factor (SPF) values of probiotic cream blends containing AWAC-H and AWAC-C have been tested to determine their potential as cheaper and safer alternatives to dangerous chemical substances in sunscreens. The antimicrobial potential of creams containing AWAC and probiotic blends was tested against test bacteria for pharmaceutical purposes.

Materials and methods

Plant Material

Artichoke waste fractions were sourced from a local market in Adana (Türkiye) in July 2025. The plant material consists of outer leaflets, outer leaves, and other inedible parts such as stems unsuitable for consumption.

Preparation of Extract from Artichoke Waste Products

Artichoke waste was washed with distilled water. After drying at room temperature, the artichoke waste was powdered and stored in brown glass bottles in a dry and dark environment until extraction. Two different extraction methods at cold and hot conditions were applied using the dried plant material. Cold acetone extraction was carried out for two days; during this process, the samples were subjected to ultrasonic treatment for 10 minutes and kept at 4°C. The hot acetone extraction method was applied for two days, with extraction in a hot water bath for 6 hours a day. Acetone was used as a solvent in both methods. After the extraction processes, the solvent was evaporated. The acetone artichoke extracts obtained by the cold extraction method was named AWAC-C, and the acetone artichoke extract obtained by the hot extraction method was named AWAC-H. After dissolution with dimethyl sulfoxide (DMSO), the extracts were sterilized using membrane filters (0.45 µm) and then kept at 4°C.

Determination of Antimicrobial Activity

Test microorganisms

In the studies, active cultures of *E. coli*, MRSA, *S. aureus*, and *P. aeruginosa* were grown at 37°C in Nutrient Broth (NB) and agar media. Additionally, *L. fermentum*, as a probiotic, was cultured at 37°C in Man-Rugose-Sharpe (MRS) medium. Before use in the experiments, the test bacteria were standardized to a 0.5 McFarland standard.

Disc diffusion method

The extracts were evaluated for their antibacterial activity against test microorganisms using the disc diffusion method [35]. Briefly, the extracts were dropped onto sterile disc placed on agar medium inoculated with test bacteria. After incubation, the inhibition zone was measured using a caliper.

Microdilution method

Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) of the extracts was tested using the two-fold microbroth dilution method [36]. Briefly, the extracts were prepared in serial concentrations (100–6.25 mg/mL) using liquid culture medium. The bacterial inoculum was added serially to tubes. After incubation, the extract concentration at which no visible microbial growth was recorded as the MIC. Then, the samples were dropped onto appropriate agar media. After incubation, the concentrations at which no microbial growth on the agar medium were recorded as the MBC value.

Determination of Sun Protection Factor (SPF)

The sun-protective effect of the extract was determined by spectrophotometric method [37]. After dilution with ethanol, the absorbance was obtained by spectrophotometer. The measured values were evaluated in SPF calculation using Mansur equation [34].In addition, the sun-protective effect of artichoke extracts was also analyzed by formulating them together with a probiotic and a commercial cream. SPF values were determined by dissolving the prepared sunscreen formulations at concentrations of 2.5-10.0 mL. The absorbance values of the prepared samples were measured, and the SPF values were calculated using the Mansur equation [34].

Determination of Antimicrobial Activity of the Developed Cream Formulations

Antimicrobial cream groups developed with AWAC and/or *L. fermentum* were prepared in a commercial cream using methods developed by Handali et al., [39] and Chen et al., [40] with some modifications [41,42]. The antimicrobial activities of the developed cream groups were tested on microorganisms using the well diffusion method. The cream formulations were placed in 6 mm

diameter wells with a volume of 100 µL on agar medium inoculated with bacteria [43]. The Petri dishes were incubated at appropriate temperatures. The inhibition zone was measured using a caliper.

Statistical Analysis

The mean and standard deviation (SD) of three separate measurements are given. Analysis of variance was performed using GNU SPSS software. Three-Way analysis of variance (ANOVA) was used to obtain significant differences. Significant differences between means were analyzed using Tukey's post-hoc test. A p-value < 0.0001 was considered statistically significant.

Results

Antimicrobial Activity

The acetone extracts (AWAC-H and AWAC-C) from artichoke processing waste produced inhibitory activity on all tested microorganisms (Table 1). The inhibition zones formed by the AWAC-H extract ranged from 7.57 mm (MRSA) to 12.32 mm (*S. aureus*). The inhibition zones of the AWAC-C extract were determined to be between 9.45 mm (*E. coli*) and 11.64 mm (*S. aureus*). The disc diffusion test results show that the acetone extracts obtained from artichoke waste can inhibit both Gram (+) and Gram (–) bacteria. Statistical analysis based on letter grouping revealed that the inhibition zone diameters differed significantly both among the tested microorganisms and between the extracts (*p<0.0001). Overall, the AWAC-H extract showed higher inhibition activity on some tested microorganisms.

Table 1. The results of disc diffusion method

Microorganisms	Zone Diameter of Inhibition (mm±SD)			
	AWAC-H	**AWAC-C**	**P**	**AM**
E.coli O157:H7	10.11 ± 0.55^{a1}	9.45 ± 0.39^{a1}	17.8 ± 0.11^{a2}	19.72 ± 1.18^{a3}
P. aeruginosa ATCC 27853	9.55 ± 0.54^{ab1}	10.21 ± 0.80^{a1}	18.44 ± 0.37^{a2}	23.65 ± 1.13^{b3}
S. aureus ATCC 25923	12.32 ± 0.66^{c1}	11.64 ± 1.36^{a2}	21.41 ± 0.53^{b3}	23.85 ± 0.76^{b4}
MRSA ATCC 43300	7.57 ± 1.33^{b1}	9.92 ± 0.23^{a1}	8.59 ± 0.34^{c1}	0 ± 0^{c2}

Column Factor values are lettered and Row Factor values are numbered to express statistical significance (p<0.0001, Three-Way ANOVA). For artichoke extracts, F(3,16) = 6.673 (rows) and F(3,16) = 12.70 (columns)

[b] AWAC-H: Artichoke hot acetone extracts, AWAC-C: Artichoke cold acetone extracts

[c] P: Penicillin (10 µg/disc), AM: Ampicillin (10 µg/disc)

The MIC and MBC values of the extracts against the tested microorganisms were found to be between 12.5-50 mg/mL and 25-100 mg/mL, respectively (Table 2).

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Table 2. Micro-dilution test results of the artichoke extracts

Microorganisms	AWAC-H (mg/mL)		AWAC-C (mg/mL)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
E. coli O157:H7	25	50	50	100
P. aeraginosa ATCC 27853	12.5	25	25	100
S.aureus ATCC 25923	12.5	25	25	50
MRSA ATCC 43300	12.5	25	25	25

[a] AWAC-H: Artichoke hot acetone extracts, AWAC-C: Artichoke cold acetone extracts

The Sun Protection Activity

The sun protection factor (SPF) of AWAC-H and AWAC-C extracts was determined in vitro using a spectrophotometric method. According to the results obtained, the SPF of the AWAC-C extract was obtained as 25.67, and the SPF value of the AWAC-H extract was determined as 18.81 (Figure 1).

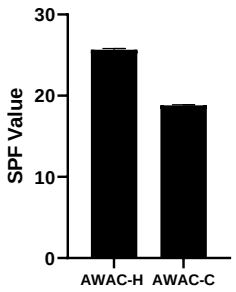


Figure 1. SPF values of the artichoke extracts
[a] AWAC-H: Artichoke hot acetone extracts, AWAC-C: Artichoke cold acetone extracts

At a concentration of 10 mL, the SPF values were determined as 23.96 in cream formulations containing AWAC-H extract (CE) and 24.99 in cream formulations containing AWAC-H + Probiotic (CEP), respectively. The SPF values were determined as 6.96 in cream formulations containing AWAC-C extract (CE) and 19.39 in cream formulations containing AWAC-H + Probiotic (CEP). SPF values were found to be quite low in the control cream group (C) (0.36-0.81-4.7) but showed a limited increase in the probiotic-containing cream formulations (CP) (0.69-1.36-7.34) (Figure 2).
Higher SPF values were obtained in cream formulations where both extract and probiotic were used together. Specifically, the formulation containing AWAC-H extract and probiotics was found to achieve an SPF value of 24.99. These results indicate that the addition of artichoke extracts to the cream base enhances the photoprotective activities of the formulation. Statistical analyses revealed significant differences in SPF values among the cream formulations (****$p < 0.0001$). Furthermore, the formulations containing extracts showed significantly higher SPF values compared to the control group (****$p < 0.0001$).

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

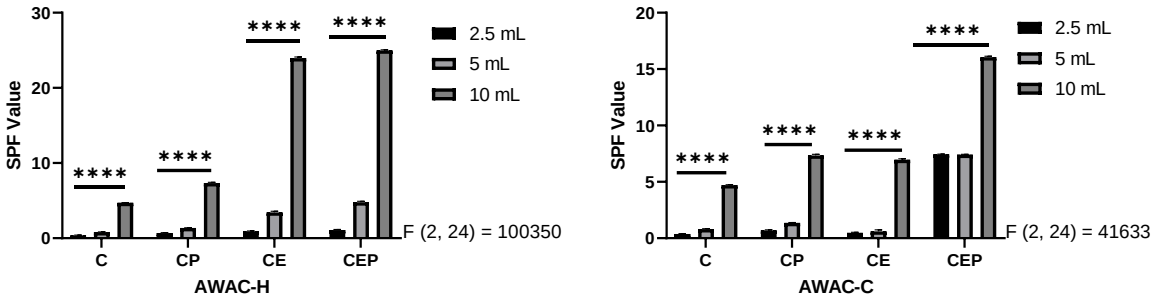


Figure 2. SPF values of cream formulations containing artichoke acetone extracts and probiotic bacteria at different volumes (2.5, 5 and 10 mL).
[a] C: control cream, CP: cream + probiotic, CE: cream + extract, CEP: cream + extract + probiotic.

Antimicrobial activity of the developed cream formulations

The antimicrobial activities of the developed cream prepared using the artichoke acetone extracts and the probiotic bacterium *L. fermentum* were investigated on test microorganisms. The cream group (C), which did not contain extract or probiotics, showed no inhibition on *E. coli*, but exhibited low inhibition zones compared to other test groups. The cream containing only probiotic bacteria (CP) showed low antimicrobial activity on *E.coli* and MRSA. The cream formulations containing artichoke acetone extract (CE) produced higher inhibition zones compared to the control and probiotic groups. However, the cream formulations containing both artichoke extract and probiotic bacteria (CEP) showed higher antibacterial effect against all tested bacteria. In the cream containing hot acetone extract (AWAC-H), the highest two inhibition zones were determined to be 22.53 mm on *S. aureus* and 21.37 mm on *E. coli*. In the cream containing cold acetone extract (AWAC-C), the highest inhibition zone from CEP group was measured as 24.38 mm on *S. aureus* (Tables 3). Overall, the cream formulations containing both extract and probiotic showed a broader spectrum of antimicrobial activity.

Microorganisms	AWAC Inhibition Zone Diameter (mm±SD)					
	C	CP	CE		CEP	
			AWAC-H	AWAC-C	AWAC-H	AWAC-C
E.coli O157:H7	0^{a1}	8.54 ± 1.52^{a2}	10.12 ± 0.82^{a2}	$11.68\pm0,95^{a3}$	21.37 ± 1.26^{a3}	17.72 ± 0.94^{a4}
P.aeraginosa ATCC 27853	5.10 ± 1.0^{b1}	11.64 ± 1.21^{b2}	15.19 ± 1.09^{b3}	$15.28\pm0,77^{b3}$	18.22 ± 1.83^{b4}	19.11 ± 1.70^{ab4}
S. aureus ATCC 25923	7.32 ± 1.03^{bc1}	16.10 ± 1.62^{c2}	14.44 ± 0.78^{c2}	11.62 ± 1.23^{ac3}	22.53 ± 2.08^{ac3}	24.38 ± 1.09^{c4}
MRSA ATCC 43300	3.58 ± 0.42^{bd1}	5.5 ± 0.52^{d12}	12.85 ± 2.33^{ad2}	11.82 ± 1.04^{ac3}	20.35 ± 0.20^{bcd3}	20.89 ± 0.32^{bd4}

[a] Column factor values are lettered and row factor values are numbered to express statistical significance ($p < 0.0001$, Three-Way ANOVA). For cream formulations containing artichoke extracts, AWAC-H, $F(3.16)= 12.70$, for AWAC-C, $F(13.16)= 6.673$

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

[b] AWAC-H: Artichoke hot acetone extract and AWAC-C: Artichoke cold acetone extract.

[c] C: control cream, CP: cream + probiotic, CE: cream + extract, CEP: cream + extract + probiotic.

Discussion

In this study, the antimicrobial activity of artichoke waste extracts was determined on test microorganisms as a first step. The hot acetone extract (AWAC-H) generally produced larger inhibition zone diameters compared to the cold acetone extract (AWAC-C). This suggests that extraction conditions may affect the biological activity of the extracts (Table 1). Zhu et al., [28] reported that the artichoke leaf extracts formed good inhibition zones against *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*. Their study emphasized that the observed antimicrobial activity was related to the phenolic compound content of the extracts.

Artichokes and their waste products have been reported in previous studies to be rich in flavonoids, phenolic compounds, and these compounds may contribute to antimicrobial activity [20,21]. Phenolic substances present antimicrobial effects against microorganisms using some mechanisms such as altering cell membrane permeability, suppressing enzymatic activities, and influencing cellular metabolic processes [10]. Therefore, it is thought that the antimicrobial activity observed in AWAC-H and AWAC-C extracts may be related to the phenolic compounds found in artichoke by-products. Results obtained using the microdilution method showed that the acetone extracts from artichoke waste showed various MIC and MBC values on the tested microorganisms (Table 2). The lower MIC values indicate that the extracts can suppress microorganism growth at lower concentrations. A study determined that *Ramalina fastigiata* has an MIC value of 312 μg/mL against the *S. epidermidis* strain and 156 μg/mL against the *E. coli* strain [29]. It is thought that the MIC and MBC values determined in AWAC-H and AWAC-C extracts in this study may be related to the biological activity of phenolic compounds found in artichoke waste.

Findings obtained from disc diffusion and microdilution methods indicated that the artichoke acetone extracts have an inhibitory effect on both Gram + and Gram − bacteria. Based on the results, AWAC-H and AWAC-C extracts have potential in terms of naturally derived antimicrobial compounds and can be evaluated in cosmetic and pharmaceutical applications.

It is known that prolonged exposure to sunlight can lead to various dermatological problems such as skin aging, photodermatosis, and skin cancer [16]. Therefore, plant extracts containing natural compounds that can absorb UV rays have become an important research area in the development of sun protection products [19]. The photoprotective effects of plant extracts are generally associated with the UV absorption properties of some compounds such as flavonoids, phenolic acids, and polyphenols [30]. Artichoke plants are reported to be rich in chlorogenic acid, dicaffeoylquinic acid

derivatives, and flavonoids [31,32]. Therefore, it is thought that the UV absorption capacity of artichoke extracts may have an effect on the obtained SPF values.

In terms of UV-B protection, an SPF of 15 provides approximately 93.3% protection, while an SPF of 30 provides approximately 96.7% protection [33]. These results show that the extraction method may affect the photoprotective properties of the extracts. There is a direct relationship between SPF value and UV-B protection, and increasing the SPF value also increases the level of protection against UV-B rays [34]. In this context, the SPF value determined in the AWAC-C extract in particular suggests that the acetone extracts obtained from artichoke waste could be an alternative to synthetic UV filters and provide sun protection.

The findings indicate that the acetone artichoke extracts can contribute to the UV-B absorption capacity of cream formulations. A significant increase in SPF values was obtained when the extracts were added to the cream base, and this effect was further enhanced in some formulations when used in combination with probiotic bacteria. The higher SPF values obtained, particularly in the cream groups containing both extract and probiotic, suggest that these components may contribute to the photoprotective properties of the formulation. These results indicate that the cream formulations using extracts from artichoke waste and probiotic bacteria together may be evaluated for the development of natural sun protection products.

Several studies have reported that artichoke plants are rich in phenolic compounds, and that these compounds can contribute to antimicrobial activity [20,21]. It is known that plant-derived extracts can exert inhibitory effects on microorganisms through mechanisms such as disrupting cell membrane integrity, affecting enzymatic activities, and suppressing metabolic processes [10]. Therefore, the use of plant extracts in different formulation systems has become a noteworthy research topic in recent years in the pharmaceutical and cosmetic areas.

The use of plant extracts in various carrier systems or formulations is important both for increasing antimicrobial efficacy and improving the functional properties of the products. The results obtained in this study show that the acetone extracts and probiotic bacteria obtained from artichoke waste can exert inhibitory effects on the tested pathogenic microorganisms when used in cream formulations. This suggests that artichoke waste may be a valuable resource in terms of naturally occurring antimicrobial compounds.

Conclusions

The AWAC-H and AWAC-C extracts exhibited good antimicrobial activity against *E. coli, P. aeruginosa, S. aureus*, and MRSA. The fact that the AWAC-C extract showed a higher SPF value than the AWAC-H extract suggests that the difference in extraction method may affect the bioactive

compounds. This suggests that the extracts obtained from artichoke waste may be a natural source contributing to the absorption of UV-B rays. Also, higher inhibition zones were obtained in the cream groups containing the extract and the probiotic strain. This indicates that the combined use of plant extract and probiotic bacteria can enhance the antimicrobial effect. In conclusion, AWAC-H and AWAC-C extracts obtained from artichoke waste were found to possess antimicrobial and photoprotective properties. Furthermore, the use of these extracts in the cream formulations containing probiotic strain shows that they may be potential candidates for the development of natural pharmaceutical and cosmetic products. This study demonstrates that the artichoke waste may be use as a source of biologically valuable substances in pharmaceutical and cosmetic, as well as offering a solution to environmental problems caused by waste accumulation.

Supplementary Materials: The following are available online at www.revistabionatura.com/xxx/s1, Figure S1: title, Table S1: title, Video S1: title.

Author Contributions:

Concept – A.O.M.; Design – A.O.M., A.S.; Supervision – A.O.M.; Resources – A.O.M..; Materials – A.O.M.; Data Collection and/or Processing – A.O.M., A.S., M.A., M.C.; Analysis and/or Interpretation – A.O.M., A.S.; Literature Search – A.O.M., A.S., M.A., M.C.; Writing – A.O.M., A.S., M.A., M.C.; Critical Reviews – A.O.M., A.S.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References [Vancouver]

1. Quiroz D. *Cynara cardunculus* (Cardoon). CABI Compendium. 2022. doi:10.1079/cabicompendium.17584
2. Food and Agriculture Organization. FAOSTAT: Crops and livestock products. 2020. Available from: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL (accessed 7 Feb 2024).
3. Alves-Silva JM, Zuzarte M, Salgueiro L, Cocco E, Ghiani V, Falconieri D, et al. Agroprospecting of biowastes: Globe artichoke (*Cynara scolymus* L. *Cultivar tema*, Asteraceae) as potential source of bioactive compounds. Molecules. 2024;29(16):3960. doi:10.3390/molecules29163960
4. Zabed H, Sahu JN, Boyce AN, Faruq G. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: an overview on feedstocks and technological approaches. Renew Sustain Energy Rev. 2016;66:751-774. doi:10.1016/j.rser.2016.08.038

5. Gonçalves MLM, Maximo GJ. Circular economy in the food chain: production, processing and waste management. Circ Econ Sustain. 2023;3(3):1405-1423. doi:10.1007/s43615-022-00243-0

6. Saady NMC, Hernández AV, Flores Servin KL, Rodriguez JZ, Haque MA, Owusu MK, et al. Valorization of agro-food plant wastes: Bioactive compound profiles and biotechnological potential of twenty crops. Recycling. 2026;11(1):7. doi:10.3390/recycling11010007

7. Fernandes F, Delerue-Matos C, Grosso C. Unveiling the potential of agrifood by-products: A comprehensive review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications. Waste Biomass Valorization. 2025;16(6):2715-2748. doi:10.1007/s12649-024-02622-0

8. Sagar NA, Pareek S, Sharma S, Yahia EM, Lobo MG. Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2018;17(3):512-531. doi:10.1111/1541-4337.12330

9. Koul B, Yakoob M, Shah MP. Agricultural waste management strategies for environmental sustainability. Environ Res. 2022;206:112285. doi:10.1016/j.envres.2021.112285

10. Deshmukh RK, Gaikwad KK. Natural antimicrobial and antioxidant compounds for active food packaging applications. Biomass Convers Biorefin. 2024;14(4):4419-4440. doi:10.1007/s13399-022-02623-w

11. Chakrapani G, Zare M, Ramakrishna S. Biomaterials from the value-added food wastes. Bioresour Technol Rep. 2022;19:101181. doi:10.1016/j.biteb.2022.101181

12. Tortosa-Diaz L, Saura-Martinez J, Taboada-Rodriguez A, Martinez-Hernandez GB, Lopez-Gomez A, Marin-Iniesta F. Influence of industrial processing of artichoke and by-products on the bioactive and nutritional compounds. Food Eng Rev. 2025;17(2):384-407. doi:10.1007/s12393-024-09391-5

13. Mishra AK, Mishra A, Chattopadhyay P. Assessment of sun protection factor of some plant oils used in cosmetics. Pharmacogn Res. 2011;3(1):22-25. doi:10.4103/0974-8490.79192

14. Serpone N, Salinaro A, Emeline AV. In vitro testing of sunscreening agents: an update for the new millennium. Photochem Photobiol. 2007;83(3):450-471. doi:10.1562/2006-06-16-IR-935

15. Lan CCE, Hung YT, Fang AH, Ching-Shuang W. Effects of irradiance on UVA-induced skin aging. J Dermatol Sci. 2019;94(1):220-228. doi:10.1016/j.jdermsci.2019.03.005

16. Gromkowska-Kępka KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging—review of in vitro studies. J Cosmet Dermatol. 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033

17. Hart PH, Norval M. More than effects in skin: ultraviolet radiation-induced changes in immune cells in human blood. Front Immunol. 2021;12:694086.

18. Perugini P, Bonetti M, Cozzi AC, Colombo GL. Topical sunscreen application preventing skin cancer: systematic review. Cosmetics. 2019;6(3):42. doi:10.3390/cosmetics6030042

19. Kaur CD, Saraf S. In vitro sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. Pharmacogn Res. 2010;2(1):22-25. doi:10.4103/0974-8490.60586

20. Rotondo R, Cruz PS, Masin M, Bürgi M, Girardini J, García SM, et al. Artichoke extracts with potential application in chemoprevention and inflammatory processes. Braz J Pharm Sci. 2022;58:e19238. doi:10.1590/s2175-97902022e19238

21. Shallan MA, Ali MA, Meshrf WA, Marrez DA. In vitro antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of globe artichoke extracts. Biocatal Agric Biotechnol. 2020;29:101774. doi:10.1016/j.bcab.2020.101774

22. Hassabou NF, Farag AF. Anticancer effects induced by artichoke extract in oral squamous carcinoma cell lines. J Egypt Natl Canc Inst. 2020;32(1):17. doi:10.1186/s43046-020-00026-4

23. Salekzamani S, Ebrahimi-Mameghani M, Rezazadeh K. The antioxidant activity of artichoke: a systematic review and meta-analysis. Phytother Res. 2019;33(1):55-71. doi:10.1002/ptr.6213

24. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. Nat Rev Microbiol. 2018;16(3):143-155. doi:10.1038/nrmicro.2017.157

25. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections. Clin Microbiol Rev. 2015;28(3):603-661. doi:10.1128/cmr.00134-14

26. De Pessemier B, Grine L, Debaere M, Maes A, Paetzold B, Callewaert C. Gut–skin axis. Microorganisms. 2021;9(2):353. doi:10.3390/microorganisms9020353

27. Godlewska U, Brzoza P, Kwiecień K, Kwitniewski M, Cichy J. Metagenomic studies in inflammatory skin diseases. Curr Microbiol. 2020;77(11):3201-3212. doi:10.1007/s00284-020-02163-4

28. Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from artichoke leaf extract and antimicrobial activity. J Agric Food Chem. 2004;52(24):7272-7278. doi:10.1021/jf0490192

29. Erkan T, Şenkardeşler A, Taşkın T, et al. Antioxidant, antiproliferative and antimicrobial activities of lichens. J Res Pharm. 2026;30(2):576-582. doi:10.12991/jrespharm.1719240

30. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions. Int J Med Microbiol. 2010;300(1):57-62. doi:10.1016/j.ijmm.2009.08.005

31. Schütz K, Kammerer D, Carle R, Schieber A. Identification of flavonoids in artichoke. *J Agric Food Chem*. 2004;52(13):4090-4096. doi:10.1021/jf049625x

32. Slobodníková L, Fialová S, Rendeková K, Kováč J, Mučaji P. Antibiofilm activity of plant polyphenols. Molecules. 2016;21(12):1717. doi:10.3390/molecules21121717

33. Wilson BD. Ultraviolet radiation and sunscreens. Int J Dermatol. 2012;41(Suppl 1):8-14.

34. Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, Azulay RD. Determination of SPF by spectrophotometry. *An Bras Dermatol*. 1986;61:121-124.

35. Wulanjati MP, Indrianingsih AW, Darsih C, Apriyana W. Antioxidant and antibacterial activity of Ulva sp. extract. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2020;462:012028. doi:10.1088/1755-1315/462/1/012028

36. Miletić M, Ivanov M, Topalović A, Gavrilović M, Gašić U, Janaćković P. Phenolic constituents and antimicrobial activity. Bot Serb. 2023;47:93-101. doi:10.2298/BOTSERB2301093M

37. Sutar MP, Chaudhari SR. Screening of SPF of medicinal plant extracts. J Appl Biol Biotechnol. 2020. doi:10.7324/JABB.2020.80608

38. Sayre RM, Agin PP, LeVee GJ, Marlowe E. In vivo and in vitro sunscreen testing. Photochem Photobiol. 1979;29:559-566. doi:10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x

39. Handali S, Hosseini H, Ameri A, Moghimipour E. Antibacterial cream formulation. Jundishapur J Microbiol. 2011;4(4):255-260

40. Chen MX, Alexander KS, Baki G. Antibacterial creams with metal ions. J Pharm. 2016;2016:5754349. doi:10.1155/2016/5754349

41. Saglam A, Asan-Ozusaglam M. Development of a natural cream additive. Hung J Ind Chem. 2025;53(1):17-25. doi:10.33927/hjic-2025-03

42. Asan-Ozusaglam M, C. Irem. White pitahaya as a cosmetic additive. Foods Raw Mater. 2023;11(1):57-63. doi:10.21603/2308-4057-2023-1-522

43. Ofori-Kwakye K, Kwapong AA, Adu F. Antimicrobial activity of topical plant products. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2009;6(2):168. doi:10.4314/ajtcam.v6i2.57089

| *Received: [30 julio 2026]* | *Accepted: [25 septiembre 2026]* | *Published: [15 noviembre 2026]* |

Citation: Asan-Ozusaglam, M; Saglam, A; Alan, M; Cobanoglu, M. The potential of cream formulation containing artichoke waste extract and probiotic as antimicrobial and photoprotective agents. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

REISHI
(Ganoderma lucidum)
Full Spectrum Extract

- **Relajación y recarga**
- Sistema inmunológico
- Salud cardiovascular.
- Apoya la energía y la resistencia.
- Antiestrés.

CONTACTO: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD.
info.biodiversity@gmail.com
Cel. +593 99 7589267, Ibarra-Ecuador

SCIENTIFIC PARTNER: https://cebaecuador.org/
inf.ceba@gmail.com, Cel + 593 99 579 7813. Ibarra-Ecuador.
21/11/2025





Bionatura

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Research Article

Interaction Mechanisms of Bioactive Compounds with α-Synuclein: A Docking and Molecular Dynamics Study

Yasmir Quiroz[1,], Ariana Delgado[2], Marylu Mora[3], Alejandro Vivas[4], Aníbal Méndez[5], Bravo Yanauri[6], Ysaías Alvarado[7], Lenin González-Paz[8]*

[1]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0009-0005-4300-697*

[2]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0000-0003-2426-779X*

[3]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0000-0002-7826-2815*

[4]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0000-3 0001-6750-8712*

[5]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0000-0003-2162-400X*

[6]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0009-0000-3147-7539*

[7]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0000-0002-2709-409X*

[8]*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Maracaibo. Venezuela. https://orcid.org/0000-0003-0023-7342*

Correspondence: yasmir.quiroz@gmail.com.

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.2)

Abstract

Alpha-synuclein (αSN) is an intrinsically disordered protein whose aggregation is closely linked to Parkinson's disease. Its inherent structural plasticity, however, hinders the identification of ligand-binding regions capable of modulating pro-aggregating conformations. In this study, we conducted a comparative computational analysis to examine the interaction patterns of 38 bioactive compounds from six chemical classes with micelle-bound αSN. Blind docking revealed scaffold-dependent binding patterns across the protein sequence. Specifically, polyphenols and flavonoids interacted predominantly with the C-terminal regulatory region, whereas terpenes and polyunsaturated fatty acids favored the N-terminal membrane-binding segment and the region adjacent to the non-amyloid component (NAC). Representative complexes were further evaluated through explicit-solvent molecular dynamics simulations. Notably, ligand-driven modulation of protein flexibility proved compound-specific, with several molecules inducing localized reductions in fluctuations within key aggregation-prone regions. This work establishes a comparative structural framework for the interaction of diverse bioactive molecules with αSN, providing distinct interaction signatures to guide the rational design of future therapeutic modulators.

Keywords

Parkinson's disease; Protein aggregation; Bioactive compounds; Intrinsically disordered proteins (IDPs).

Introduction

α-Synuclein (αSN) is a 140–amino acid presynaptic protein enriched in the central nervous system, where it regulates synaptic vesicle trafficking, neurotransmitter release, and synaptic plasticity.[1,2] Under pathological conditions, αSN misfolds and self-associates into toxic oligomers and amyloid fibrils that accumulate in Lewy bodies, the neuropathological hallmark of Parkinson's disease (PD) and related synucleinopathies.[2,3] Mutations or overexpression of the αSN gene accelerate aggregation and are causally linked to familial PD, supporting αSN dysfunction as an early molecular event in both inherited and sporadic disease.[4–6]

Beyond dopaminergic neuron vulnerability, αSN pathology contributes to mitochondrial dysfunction, oxidative stress, impaired proteostasis, lysosomal deficits, and neuroinflammation, exacerbating neuronal degeneration.[7,8] Uptake of misfolded αSN by glial cells can further amplify inflammatory responses, promoting a feed-forward cycle of neuronal injury and disease progression.[9,10] Structurally, αSN belongs to the intrinsically disordered proteins (IDPs) and exists as a highly dynamic conformational ensemble lacking a dominant folded state; while this intrinsic disorder enables functional plasticity, it also underlies the protein's propensity for pathological misfolding and aggregation.[11]

Upon interaction with lipid membranes or membrane-mimetic environments, αSN undergoes partial folding into α-helical conformations that precede pathological aggregation. The NMR-resolved micelle-bound structure (PDB ID: 1XQ8) reveals two antiparallel helices spanning the N-terminal and Non-amyloid Component (NAC) regions connected by a flexible linker, with the C-terminal domain remaining largely disordered.[12] Although micelle-bound structures do not fully reproduce physiological membrane conditions, this semi-folded state is widely used as a structural proxy for modeling early aggregation-prone conformations preceding pathogenic β-sheet–rich assemblies.

From a molecular recognition perspective, αSN is a challenging therapeutic target due to its intrinsic disorder, transient binding surfaces, and conformational heterogeneity. Conventional structure-based strategies developed for globular proteins are often insufficient for IDPs, where ligand binding occurs through dynamic, weakly populated interfaces rather than well-defined pockets, requiring ensemble-based and dynamic descriptors to evaluate ligand-induced modulation of aggregation-relevant states. In this context, computational approaches are valuable tools for probing αSN–ligand interactions at atomic resolution: molecular docking enables identification of preferential interaction regions,

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

whereas molecular dynamics (MD) simulations provide insight into temporal stability, conformational heterogeneity, and residue-level modulation.[13,14]

Accumulating evidence indicates that natural bioactive compounds can modulate protein misfolding and aggregation pathways, including those involving αSN. Epidemiological studies associate dietary patterns rich in polyphenols, terpenes, and polyunsaturated fatty acids—particularly the Mediterranean diet—with reduced risk or delayed onset of PD.[15–17] Experimental models further show that polyphenols, carotenoids, and omega-3 fatty acids can interfere with amyloidogenic processes and exert antioxidant, anti-inflammatory, and autophagy-promoting effects relevant to PD pathophysiology.[18–21] However, the structural and dynamic basis by which chemically diverse natural compounds interact with αSN and influence its aggregation landscape remains insufficiently characterized.

Here, we present a systematic in silico evaluation of natural and pharmacologically relevant compounds to explore structure–interaction relationships and identify molecular scaffolds capable of engaging aggregation-relevant regions of αSN. By integrating molecular docking with MD simulations, we characterize scaffold-dependent interaction fingerprints and evaluate whether selected compounds modulate αSN conformational dynamics by stabilizing non-aggregating ensembles or by interfering with early nucleation and oligomerization interfaces. These analyses provide a mechanistically grounded computational framework for prioritizing bioactive compounds for subsequent experimental validation

Materials and methods

Selection of Protein and Compounds of Interest

The three-dimensional structure of human αSN was obtained from the Protein Data Bank (PDB ID: 1XQ8), corresponding to an NMR-resolved micelle-bound conformation that represents an early, aggregation-relevant structural state of the protein.[12] This conformation captures the partially ordered α-helical arrangement adopted by αSN upon interaction with membrane-mimetic environments and has been widely used as a structural proxy for studying early misfolding events, ligand binding, and aggregation-prone conformations in intrinsically disordered proteins.

Prior to molecular docking, the protein structure was preprocessed by removing crystallographic water molecules, repairing incomplete residues, adding hydrogen atoms, and optimizing side-chain geometry. Structural refinement was performed using the GalaxyRefine server (https://galaxy.seoklab.org/index.html),[22] with default parameters for mild stereochemical relaxation, including side-chain optimization and removal of local steric clashes. Although GalaxyRefine was originally developed for globular proteins, it was applied here exclusively for local refinement

without imposing secondary structure restraints, in order to preserve the intrinsically disordered character of αSN. Structural quality and stereochemical consistency were evaluated using MolProbity (http://molprobity.biochem.duke.edu/),[23] confirming acceptable backbone geometry, side-chain conformations, and the absence of major steric conflicts.

A total of 38 natural and pharmacologically relevant compounds were selected based on published evidence of neuroprotective, anti-inflammatory, antioxidant, or anti-amyloidogenic activity. The selected molecules encompassed six chemical classes with documented relevance to neurodegenerative disorders: essential fatty acids, terpenes, triterpenic acids, phenols, flavonoids/isoflavonoids, and alkaloids/drug. Chemical structures were retrieved from the PubChem database[24] in three-dimensional formats suitable for molecular docking simulations.

List of compounds, PubChem CIDs, and abbreviations used in this study: Eicosapentaenoic acid (EPA) CID: 5282847; Docosahexaenoic acid (DHA) CID: 445580 ; Icosapent ethyl (IPE) CID:446284; Linoleic acid (LA) CID: 5280450; Linolenic acid (ALA) CID: 5280934; Carvacrol (CAR) CID: 10364; Thymol (Thm) CID: 6989; α-Terpinene (α-Tpn) CID: 7462; γ-Terpinene (γ-Tpn) CID: 7461; Myrcene (Myr) CID: 31253; ρ-Cymene (ρ-Cym) CID: 7463; α-Humulene (α-Hum) CID: 5281520; Limonene (Lim) CID: 440917; Uvaol (Uva) CID: 92802; Ursolic Acid (UA) CID: 64945; Maslinic acid (Mas) CID: 73659; Erythrodiol (Ery) CID: 101761; Oleanolic acid (OA) CID: 10494; Eugenol (Eug) CID: 3314; Rosmarinic acid (RA) CID: 5281792; Tyrosol (Tyr) CID: 10393; Hydroxytyrosol (HTyr) CID: 82755; Caffeic acid (CA) CID: 689043; Verbascoside (Verb) CID: 5281800; Curcumin (Cur) CID: 969516; Oleocanthal (Ole) CID: 11652416; Resveratrol (Resv) CID: 445154; Scutellarein (Scu) CID: 5281697; Morin (Mor) CID: 5281670; Genistein (Gen) CID: 5280961; Formononetin (For) CID: 5280378; Epicatechin (EC) CID: 72276; Astragalin (Ast) CID: 5282102; Quercetin (Quer) CID: 5280343; Pregabalin (Preg) CID: 5486971; Gabapentin (Gab) CID: 3446; Melatonin (Mel) CID: 896; Caffeine (Caf) CID: 2519.

Ligand structures were prepared and energy-minimized using Avogadro (https://avogadro.cc/) with default force field parameters to obtain low-energy conformers.[25] Structural inspection, visualization, and file preparation were performed using Molegro Molecular Viewer and BIOVIA Discovery Studio Visualizer to verify chemical integrity, protonation states, and conformational suitability for docking.[26-29]

Molecular Docking

Protein–ligand docking was carried out using CB-Dock2 (http://clab.labshare.cn/cb-dock/), an automated blind docking platform that integrates cavity detection, grid box generation, and binding pose prediction based on the AutoDock Vina scoring function.[30,31] Docking calculations were

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

performed using the server's default parameters, which are optimized for general protein–ligand screening and ensure consistency across ligands. For each compound, CB-Dock2 automatically identified putative binding cavities and generated ranked docking poses.

To reduce bias associated with reliance on a single scoring function and to improve robustness of relative ligand ranking, the top-ranked docking poses were further evaluated using multiple scoring functions implemented in Molegro Molecular Viewer, including MolDock Score, Rerank Score, and PLANTS Score. These scoring metrics were used exclusively for comparative and qualitative assessment of ligand–protein interaction propensities, rather than as absolute estimates of binding free energy. Given the conformational heterogeneity of intrinsically disordered proteins, docking was employed as an exploratory tool to identify preferential interaction regions and relative trends across a chemically diverse ligand set.

Molecular Dynamics Simulations

Following molecular docking and multi-score ranking, MD simulations were performed on a subset of αSN–ligand complexes selected according to a class-based strategy. For each chemical class evaluated, the ligand exhibiting the highest average docking score across all scoring functions was selected as a representative compound (Table S1). This strategy was designed to capture chemically driven interaction mechanisms while avoiding redundancy among structurally related ligands and enabling comparative analysis of ligand-induced effects across distinct bioactive scaffolds. An unbound αSN system was simulated in parallel as a reference.

All MD simulations were carried out using the OPMD module of the MyPresto 5 molecular simulation package[32,33] employing the AMBER ff14SB force field for the protein and the TIP3P water model for explicit solvation. Each system was placed in a periodic simulation box and solvated with explicit water molecules. Sodium (Na^+) and chloride (Cl^-) ions were added to neutralize the system and reproduce physiological ionic strength (0.15 M). The simulation protocol included energy minimization, equilibration under constant volume (NVT) and constant pressure (NPT) ensembles, followed by a 100 ns production run at 300 K and 1 bar. Temperature was regulated using the Nosé–Hoover thermostat. A time step of 2 fs was employed. All covalent bonds involving hydrogen atoms were constrained using the SHAKE algorithm. The Particle Mesh Ewald method was used to calculate the electrostatic contribution to non-bonded interactions with a cutoff of 14.0 Å and a time step of 1 fs. The simulation box extended at least 5 Å from the protein surface in all directions. Coordinates were saved every 10 ps.

Trajectory analysis was performed over the full 100 ns simulation window (10,000 frames). Root mean square deviation (RMSD) was used to monitor global conformational deviations, radius of

gyration (Rg) to assess ligand-dependent modulation of overall protein compactness, and root mean square fluctuation (RMSF) as the primary descriptor of residue-level dynamics, particularly within aggregation-prone regions such as the NAC domain and the C-terminal tail. Comparative analyses between ligand-bound complexes and the unbound αSN system were performed to evaluate ligand-dependent effects on conformational heterogeneity relevant to early aggregation processes.

The present computational framework is based on a single aggregation-relevant micelle-bound αSN structure, representing a semi-ordered intermediate between the fully disordered monomeric ensemble and β-sheet-rich aggregates. Although this model does not capture the full conformational heterogeneity of αSN in solution or membrane-bound states, it provides a structurally defined proxy for early aggregation-prone conformations. No ensemble docking, free-energy calculations, or replicate simulations were performed, and the results should therefore be interpreted in a comparative and mechanistic context rather than as quantitative affinity predictions.

Results

Molecular Docking Analysis

Molecular docking analysis revealed marked variability in the interaction propensities of the 38 evaluated compounds toward αSN, reflecting chemically driven and class-dependent binding patterns. Relative docking scores obtained from CB-Dock2, MolDock, Rerank, and PLANTS scoring functions were used exclusively for relative ranking and identification of preferential interaction trends rather than as absolute binding free energy estimates. Table 1 presents the top ten ligands ranked according to their average relative interaction scores across all compounds, highlighting global docking trends independent of chemical classification. The complete docking dataset, including class-specific rankings, is provided in Supplementary Table S1.

Table 1. Top-ranked ligands based on relative docking interaction scores (in kcal/mol).

Ligand	CB-Dock2	MolDock	Rerank	PLANTS	Average score	Key interacting residues
RA (Phenol)	−6.0	−100.66	−82.76	−63.83	−63.31	*HB:* Ser129, Glu126; *HP:* Ala124, Pro128, Gly132, Tyr133, Gln134, Pro138, Glu139, Tyr136, Tyr125
Cur (Phenol)	−5.8	−91.65	−74.02	−56.09	−56.89	*HB:* Ser129; *HP:* Pro128, Glu126, Tyr125, Gly132, Tyr136, Tyr133,

						Gln134, Pro138, Glu139
Mor (Flavonoid)	−5.8	−91.92	−73.75	−61.88	−58.34	HB: Gly132, Pro128; HP: GLN134, Glu131, Ser129, Glu126, Met127, Asp135, Glu130, Tyr133
Mas (Triterpenic acid)	−6.8	−83.75	−63.30	−59.90	−53.44	*HB:* Glu139, Tyr136**;** *HP:* Ala140, Pro138, Gln134, Tyr133, Asp135, Gly132, Glu131, Ser129, Tyr125
HTyr (Phenol)	−4.5	−60.56	−49.47	−53.63	−54.55	*HB:* Gly132, Glu139; *HP:* Pro138, Ala140, Tyr133, Gln134, Glu131
Scu (Flavonoid)	−6.0	−80.22	−62.76	−61.89	−52.72	*HB:* Asp135; *HP:* Ala140, Pro138, Tyr133, Gln134, Gly132, Ser129, Tyr125, Glu126
Ast(Flavonoid)	−6.3	−99.00	−63.71	−40.08	−52.27	*HB:* Asp135, Tyr136, Gly132, Tyr133; *HP:* Glu131, Ser129, Glu126, Tyr125, Glu139, Pro138, Gln134
DHA (Essential fatty acid)	−4.1	−94.25	−56.67	−50.63	−51.41	*HP:* Leu100, Val95, Gly93, Thr92, Lys102, Lys96, Lys97, Phe94
Resv (Phenol)	−5.6	−72.44	−61.38	−58.53	−49.49	*HB:* Tyr136, Asp135; *HP:* Tyr125, Glu126, Gln134, Pro138, Ala140, Gly132, Ser129
α-Hum (Terpene)	−4.8	−63.48	−46.93	−50.63	−41.46	*HP:* Lys45, Val48, Leu38, Lys43, Gly36, Val40, Tyr39

HB: hydrogen bonds; ***HP:*** hydrophobic interactions. Complete docking results for all 38 compounds are provided in **Supplementary Table S1.**

At a global level, phenolic compounds and flavonoids exhibited the most favorable interaction profiles, followed by triterpenic acids and essential fatty acids. RA, Mor, Cur, and Mas consistently ranked among the top-scoring ligands, with Resv, HTyr, and flavonoids such as Scu and Ast also

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

displaying favorable patterns. Within the terpene class, α-Hum was the highest-ranking compound, outperforming related monoterpenes such as CAR and Thm.

Ligand–protein interaction maps revealed a consistent preference for three aggregation-relevant regions of αSN. The C-terminal region (residues 125–140), frequently targeted by phenols, flavonoids, and triterpenic acids, regulates long-range intramolecular electrostatic interactions that modulate αSN conformation and aggregation propensity. Several ligands also engaged the N-terminal membrane-binding region (residues 32–48), implicated in membrane-associated conformational transitions during early misfolding, and formed hydrophobic contacts in segments adjacent to the NAC domain (residues 92–102), near the aggregation-prone NAC core (residues 61–95). Top-ranked ligands consistently engaged residues such as Ser129, Tyr125, Glu126, Gly132, Gln134, and Tyr136 through hydrogen bonding and hydrophobic interactions, suggesting that binding preferentially modulates regulatory regions rather than inducing global structural stabilization. Class-specific analysis (Supplementary Table S1) revealed scaffold-dependent interaction fingerprints: essential fatty acids displayed moderate propensities, with DHA and IPE the most favorable, binding through hydrophobic contacts with NAC-adjacent residues (92–102). Terpenes exhibited the lowest average scores owing to their small size and lipophilic character, although α-Hum outperformed related monoterpenes and interacted almost exclusively with the N-terminal region.

Triterpenic acids constituted one of the most potent classes, with Mas, Ery, and OA among the top ligands, exhibiting mixed profiles combining hydrogen bonding and extensive hydrophobic contacts across the N-terminal region and C-terminal tail. Phenolic compounds emerged as the most potent class overall: RA and Cur were the two highest-scoring ligands of the dataset, followed by HTyr and Resv, forming extensive hydrogen-bond networks with C-terminal residues including Ser129, Glu126, Gly132, Gln134, Tyr133, Tyr136, Pro138, and Glu139. Flavonoids and isoflavonoids showed similar profiles with slightly lower scores; Mor, Scu, Ast, and EC exhibited dense hydrogen-bond networks involving the C-terminal tail and NAC-adjacent regions. Alkaloids and clinically used drugs showed moderate propensities, with Mel the highest-ranking and displaying a mixed pattern centered on the C-terminal region.

Collectively, these results establish a scaffold-dependent hierarchy of αSN interaction mechanisms: lipophilic scaffolds such as terpenes and fatty acids preferentially target the N-terminal membrane-interacting region and NAC-adjacent hydrophobic interfaces, whereas polyphenols, flavonoids, and triterpenic acids engage the C-terminal regulatory tail through extensive hydrogen-bond networks. Based on class-specific ranking, the ligand with the highest average docking score within each class was selected as a representative compound for subsequent MD simulations, enabling mechanistic

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

comparison while avoiding redundancy among structurally related molecules. Predicted binding modes of representative ligands are shown in Figure 1.

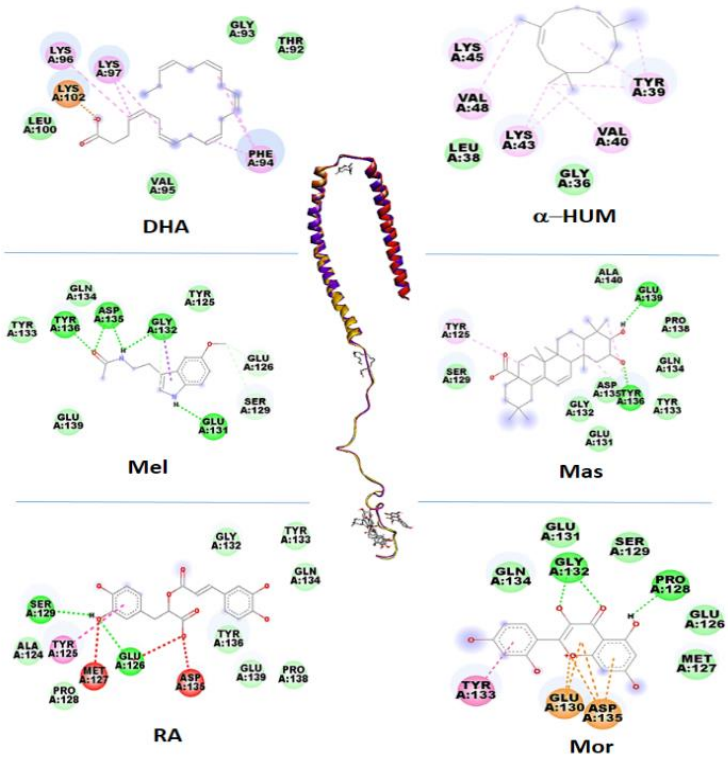


Figure 1. Predicted binding sites of representative ligands with the highest average docking score within each chemical class on α-synuclein. These ligands were selected for subsequent molecular dynamics simulations and illustrate class-specific interaction patterns targeting aggregation-relevant regions, including the C-terminal tail, N-terminal membrane-binding domain, and NAC-adjacent segments. DHA (Docosahexaenoic acid); Mas (Maslinic acid); RA (Rosmarinic acid); Mor (Morin); α-Hum (α-Humulene); Mel (Melatonin).

Molecular Dynamics Analysis: Stability and Flexibility of the Complexes

To assess the dynamic consequences of ligand association, trajectories were analyzed over the full 100 ns simulation window using RMSD, R_g, and RMSF as complementary descriptors of global and local conformational behavior (Figure 2).

The unbound αSN system exhibited an average RMSD of approximately 2.7 Å, consistent with the conformational heterogeneity expected for intrinsically disordered proteins. Among ligand-bound systems, Mas displayed the lowest RMSD (~2.4 Å), whereas DHA exhibited higher RMSD values (~3.4 Å), indicating enhanced global fluctuations. Mel and α-Hum showed RMSD values comparable to the unbound protein (~2.9 Å), while RA and Mor displayed higher RMSD values (3.2–3.3 Å) despite favorable docking scores. RMSD trajectories for all systems plateaued after approximately 90 ns, indicating convergence toward stable conformational ensembles. The unbound αSN ensemble

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

displayed an average R_g of approximately 2.8 nm, reflecting its predominantly extended conformational landscape.

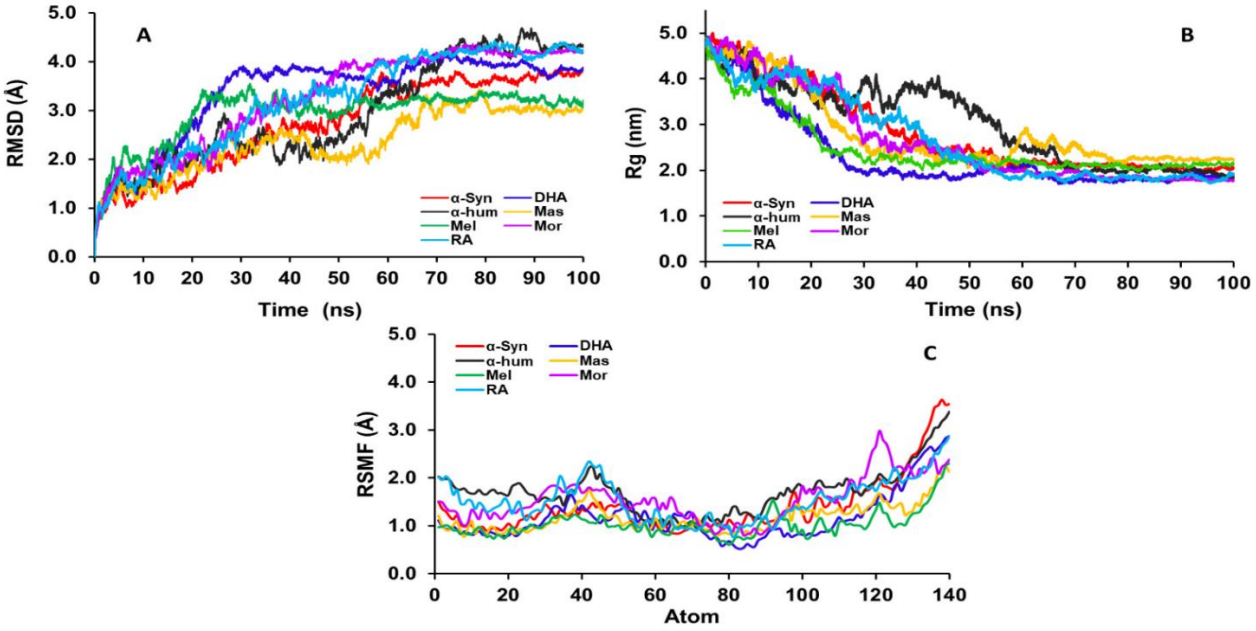


Figure 2. Conformational dynamics of αSN in the unbound state and in complex with selected ligands over a 100 ns molecular dynamics trajectory (10,000 frames). (A) Root mean square deviation (RMSD) illustrating global conformational deviations over time. (B) Radius of gyration (R_g) describing changes in overall protein compactness, which are not interpreted as direct indicators of conformational stability for this intrinsically disordered protein. (C) Root mean square fluctuation (RMSF) highlighting ligand-dependent modulation of residue-level flexibility across the αSN sequence, particularly in aggregation-relevant regions. DHA (Docosahexaenoic acid); Mas (Maslinic acid); RA (Rosmarinic acid); Mor (Morin); α-Hum (α-Humulene); Mel (Melatonin).

Ligand binding induced compound-specific effects on compactness. DHA promoted the most compact ensemble ($R_g \approx 2.3$ nm), Mel induced modest compaction ($R_g \approx 2.5$ nm), whereas α-Hum slightly increased the average R_g (~3.0 nm). RA and Mor produced minimal changes relative to the unbound state. R_g trajectories stabilized after approximately 70 ns.

Residue-level flexibility analysis revealed ligand-specific modulation of local dynamics along the αSN sequence. Mel and Mas induced the most pronounced reductions in RMSF, particularly within aggregation-prone regions including the NAC domain. DHA also reduced RMSF values despite higher global RMSD, indicating localized stabilization. In contrast, α-Hum, RA, and Mor produced only modest reductions in residue-level flexibility.

Together, these results demonstrate that ligand binding produces heterogeneous and scaffold-dependent effects on αSN conformational dynamics. RMSF emerged as the most informative descriptor for evaluating ligand-induced modulation of aggregation-relevant regions, whereas RMSD

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

and R_g primarily reflected ensemble-level behavior. The convergence of RMSD and R_g trajectories confirms that all systems reached stable conformational ensembles within the simulation timeframe, supporting the robustness of the comparative dynamic analyses.

Discussion

Ligand-Responsive Regions of α-Synuclein and Aggregation-Relevant Interfaces

The present study demonstrates that αSN contains multiple ligand-responsive regions that can be selectively engaged by chemically diverse bioactive compounds. Integration of docking-based interaction ranking with molecular dynamics analysis indicates that aggregation-relevant behavior is not governed by a single dominant binding hotspot, but rather by the coordinated modulation of multiple regulatory interfaces whose relative contribution depends on ligand scaffold, interaction mode, and dynamic context.

These findings are consistent with accumulating experimental and computational evidence showing that natural and synthetic compounds modulate αSN aggregation by binding to defined protein segments and reshaping its conformational ensemble.[4,34-36] Polyphenols, flavonoids, and isoflavonoids have been shown to reduce αSN fibrillation and cellular toxicity by stabilizing less aggregation-prone conformations.[37,38]

Although the micelle-bound αSN structure represents a simplified proxy that does not fully capture the heterogeneous conformational ensemble of αSN in solution, this semi-folded state has been extensively employed to model early aggregation-prone conformations and ligand-accessible regulatory surfaces.[39–42] It represents a structurally defined interm ediate between the fully disordered monomer and β-sheet-rich aggregates and captures early α-helical rearrangements that precede pathogenic misfolding.

Docking analysis identified several natural compounds—particularly RA, Mor, Cur, Mas, and α-Hum—as preferential binders to regions previously implicated in aggregation control. Across chemical classes, three recurrent interaction regions were consistently observed: the C-terminal tail (residues 124–140), the N-terminal membrane-interacting region, and a hydrophobic segment adjacent to the NAC domain. These regions overlap with surfaces known to regulate αSN conformational equilibria, membrane association, and fibrillation kinetics.[41–46]

This targeting pattern agrees with NMR studies showing that aggregation inhibitors bind defined αSN segments, particularly residues 3–18 and 38–51, and that aromatic scaffolds and polar functional groups favor these interactions.[47,48] In silico studies further demonstrate that ligands engage specific αSN interfaces and modulate conversion into amyloidogenic conformations.[49–51]

The C-terminal region, preferentially targeted by phenolic compounds and flavonoids, plays a critical autoinhibitory role by maintaining long-range electrostatic contacts with the NAC domain. Ligands such as RA and Mor formed extensive hydrogen-bond networks with residues including Ser129, Tyr125, Glu126, Gly132, Gln134, and Tyr136, consistent with reinforcement of this intrinsic regulatory function. This behavior agrees with experimental evidence showing that polyphenols and flavonoids inhibit nucleation and redirect fibril formation toward less toxic species.[37, 52–54]

In contrast, triterpenic acids and terpenes predominantly engaged hydrophobic residues within the N-terminal and NAC-adjacent regions. Binding in the N-terminal domain may modulate membrane-induced conformational rearrangements that precede pathological aggregation, while binding near NAC-adjacent surfaces may sterically interfere with nucleation-prone interfaces, potentially limiting early β-sheet formation or oligomer growth. Similar mechanisms have been proposed for small molecules targeting these αSN regions[55–57] and for plant-derived terpenoids and phenolic compounds stabilizing less aggregation-prone conformations.[58,59]

Integrating Docking and Molecular Dynamics: Dynamic Stability and Residue-Level Modulation

While molecular docking delineated preferential interaction patterns across aggregation-relevant regions of αSN, MD simulations provide essential context regarding the dynamic behavior of these complexes. All ligand–protein systems formed dynamically stable conformational ensembles over the 100 ns simulation timeframe, as evidenced by RMSD and Rg trajectories converging toward equilibrated states. Differences among ligands therefore reflect functional variation within stable ensembles rather than destabilization or dissociation.

These observations are consistent with previous MD studies showing that ligand binding modulates the αSN conformational landscape and influences transitions toward amyloidogenic states [60]. Moreover, interaction of αSN with lipids and membrane-mimetic environments induces substantial conformational rearrangements that affect aggregation and toxicity,[61, 62] supporting the relevance of dynamic descriptors for evaluating ligand-induced modulation.

Across all systems, RMSD plateaued after approximately 90 ns and Rg stabilized after approximately 70 ns, confirming equilibration. Within this framework, ligand-specific modulation of global and local dynamics was observed. Mel exhibited intermediate RMSD (~2.9 Å), moderate compaction (R_g ~2.5 nm), and the lowest RMSF (~1.0 Å), indicating pronounced residue-level stabilization. Mas showed lower RMSD (~2.4 Å) and reduced RMSF (~1.2 Å), consistent with combined global and local stabilization. DHA displayed higher RMSD (~3.4 Å) but reduced RMSF (~1.2 Å) and increased compactness (R_g ~2.3 nm), indicating selective stabilization of aggregation-relevant regions despite

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

enhanced global fluctuations, in agreement with studies implicating essential fatty acids in αSN homeostasis.[55, 60]

In contrast, RA and Mor—despite strong docking scores—exhibited higher RMSD values (3.2–3.3 Å), modest reductions in RMSF (1.5–1.6 Å), and minimal changes in Rg, underscoring that high static interaction propensity does not necessarily translate into dynamic stabilization in intrinsically disordered proteins. α-Hum showed limited global effects but selectively dampened flexibility in NAC-adjacent regions, highlighting localized modulation of nucleation-prone interfaces.

Collectively, these results indicate that RMSF constitutes the most informative descriptor of functional modulation in αSN, whereas RMSD and Rg primarily reflect ensemble equilibration and global conformational behavior. This pattern is consistent with experimental observations that phytochemicals influence amyloidogenic pathways primarily through local conformational effects rather than global folding.[63–65]

Mechanistic Implications and Hierarchical Modulation of Aggregation-Relevant Conformational States

By integrating class-specific docking trends with molecular dynamics–derived conformational descriptors, the present study supports a hierarchical and multimodal computational framework for modulation of αSN aggregation-relevant conformational states. This framework reflects the multifactorial nature of synucleinopathies, in which oxidative stress, neuroinflammation, mitochondrial dysfunction, and proteostasis collapse converge to promote pathological conformational transitions, NAC domain exposure, oligomer nucleation, and amyloid propagation.[1, 2, 7, 9, 66, 67]

Rather than acting as classical inhibitors, most bioactive compounds identified here are better interpreted as conformational modulators that reshape the αSN ensemble toward less aggregation-prone states. This interpretation is consistent with experimental data showing that natural and synthetic compounds inhibit primary nucleation, stabilize non-toxic oligomers, or redirect fibril formation toward less cytotoxic species.[52–54]

Within this context, two complementary and non-mutually exclusive mechanistic models emerge. The first involves stabilization of non-aggregating conformational ensembles through local reduction of residue-level flexibility in aggregation-relevant regions, particularly within the NAC domain and the membrane-interacting N-terminal segment. This mechanism is supported by reduced RMSF values observed for ligands such as Mel, Mas, and DHA and is consistent with reports that multifunctional compounds inhibit αSN aggregation and protect against αSN-induced neurotoxicity in cellular and animal models.[68–71]

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

The second model entails steric and surface-level interference with early aggregation events. In this scenario, ligands occupying NAC-adjacent segments or hydrophobic interfaces hinder monomer addition and oligomer growth by masking nucleation-prone surfaces rather than stabilizing a compact monomeric fold. This behavior is particularly evident for hydrophobic scaffolds such as terpenes and triterpenic acids and is consistent with studies reporting high-affinity binding of plant-derived terpenoids and phenols to αSN and stabilization of conformations less prone to aggregation.[58, 72–74]

The structural diversity of the evaluated compounds and their scaffold-dependent interaction patterns support a stratified modulation model in which chemically distinct ligands converge on complementary stages of the αSN aggregation cascade.[75,76] Essential fatty acids primarily modulate membrane-associated conformations and global compactness, polyphenols and flavonoids preferentially engage C-terminal regulatory segments and NAC-flanking regions, triterpenic acids combine cytoprotective signaling with direct engagement of regulatory surfaces, whereas terpenes primarily target hydrophobic N-terminal interfaces. Alkaloids and clinically used drugs exhibit mixed hydrogen-bonding and peripheral hydrophobic interactions.

Figure 3 integrates these class-specific docking interaction patterns with MD-based functional interpretation, illustrating how chemically diverse ligands converge on complementary modulation points along the αSN aggregation cascade. This scheme is intended as a conceptual synthesis rather than a definitive mechanistic map.

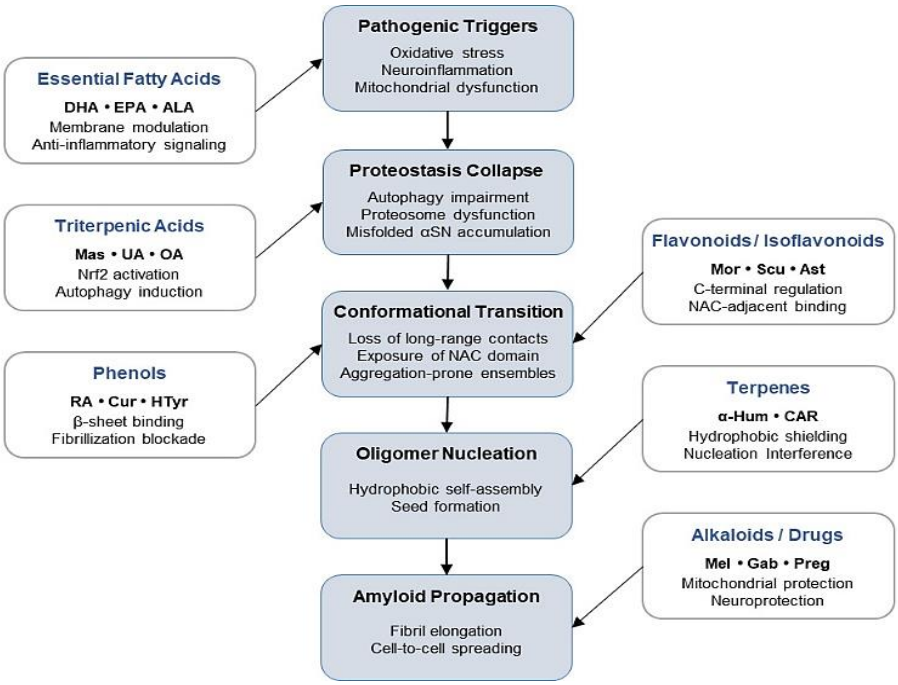


Figure 3. Multimodal strategy targeting α-synuclein aggregation. Conceptual framework integrating class-specific docking patterns (Supplementary Table S1) with molecular dynamics–derived functional insights. Diverse ligands converge on complementary points along the α-

synuclein pathological cascade, including modulation of membrane-associated conformations, redox/inflammatory environment, conformational dynamics, early hydrophobic self-assembly, and β-sheet fibrillization. The scheme illustrates a hierarchical, multimodal computational approach to modulate α-synuclein aggregation. DHA (Docosahexaenoic acid); EPA (Eicosapentaenoic acid); ALA (Linolenic acid); Mas (Maslinic acid); UA (Ursolic Acid); OA (Oleanolic acid); RA (Rosmarinic acid); Cur (Curcumin); Htyr (Hydroxytyrosol); Mor (Morin); Scu (Scutellarein); Ast (Astragalin); α-Hum (α-Humulene); CAR (Carvacrol); (Mel (Melatonin); Gab (Gabapentin); Preg (Pregabalin).

Collectively, these findings indicate that effective computational modulation of αSN aggregation cannot be inferred from docking scores alone. While RMSD and Rg convergence confirm dynamic stability of ligand-bound ensembles, RMSF provides critical insight into functional modulation at aggregation-relevant regions. This integrative framework supports the prioritization of structurally diverse bioactive scaffolds, and potentially rational combinations thereof, for experimental validation and further exploration of aggregation-modulating conformational mechanisms.

Conclusions

This study establishes an integrative computer-aided drug design framework for characterizing scaffold-dependent interaction patterns and conformational modulation mechanisms of αSN, an intrinsically disordered protein whose aggregation-prone conformational transitions underlie the early stages of Parkinson's disease and related synucleinopathies. By combining comprehensive blind molecular docking with class-based molecular dynamics simulations, the results demonstrate that αSN aggregation-relevant behavior is governed by coordinated engagement of multiple regulatory interfaces rather than a single dominant binding site.

Docking analyses revealed that chemically diverse ligands preferentially interact with key aggregation-relevant regions of αSN, including NAC-adjacent segments, the N-terminal membrane-interacting domain, and the C-terminal regulatory tail. Representative ligands selected by class-specific docking performance were subjected to molecular dynamics simulations, which showed that all ligand–protein systems form dynamically stable conformational ensembles, with RMSD and radius of gyration trajectories converging after approximately 70–90 ns, confirming equilibration of the sampled conformational space.

Within this equilibrated framework, ligand-dependent modulation of residue-level flexibility revealed distinct functional signatures. Mel, DHA, and Mas were associated with reduced RMSF values in aggregation-prone regions, consistent with localized stabilization of non-aggregating ensembles. Hydrophobic compounds such as α-humulene selectively dampened flexibility at nucleation-prone interfaces without inducing global compaction, whereas polyphenols such as RA and Mor primarily engaged C-terminal regulatory regions with more limited effects on overall flexibility. These findings reinforce that static docking affinity alone is insufficient to predict functional modulation in intrinsically disordered proteins, and that residue-level dynamic descriptors provide a more informative basis for evaluating aggregation-relevant conformational behavior.

Collectively, the results support a multifaceted computational model in which polyphenols, flavonoids, terpenes, triterpenic acids, and unsaturated fatty acids modulate αSN aggregation through complementary mechanisms, including stabilization of non-amyloidogenic ensembles, steric interference at nucleation interfaces, and modulation of membrane-associated conformational transitions—consistent with epidemiological evidence linking polyphenol- and terpene-rich dietary patterns to reduced PD risk. Overall, these insights provide a mechanistically grounded basis for prioritizing natural compounds and chemical scaffolds—individually or in rational combinations—for subsequent experimental validation and further exploration of aggregation-modulating conformational mechanisms.

Supplementary Material: The following are available online at www.revistabionatura.com/xxx/s1, Table S1. Relative binding energies (in kcal/mol) obtained from molecular docking.

Author Contributions: YQ: Investigation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review and editing, Conceptualization. AD: Investigation, Writing – review and editing, MM: Investigation, AV: Methodology, AM: Methodology, YB: Investigation, LGP: Conceptualization, YJA.: Writing – review and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Calabresi P, Di Lazzaro G, Marino G, Campanelli F, Ghiglieri V. Advances in Understanding the Function of Alpha-Synuclein: Implications for Parkinson's Disease. Brain. 2023;46(9):3587–3597. https://doi.org/10.1093/brain/awad150
2. Morris HR, Spillantini MG, Sue CM, Williams-Gray CH. The Pathogenesis of Parkinson's Disease. Lancet. 2024;403(10423):293–304. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01478-2
3. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. α-Synuclein in Lewy Bodies. Nature. 1997;388(6645):839–840. https://doi.org/10.1038/42166
4. da Silva IJS, da Silva MF, de Assis Dutra TS, de Souza SO, de Araújo-Júnior JX, Leite ACR, da Silva Rodrigues EE, da Silva-Júnior EF. Alpha-Synuclein Aggregation in Parkinson's Disease. Adv Protein Chem Struct Biol. 2025;146:35–75. https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2024.11.002
5. Paulėkas E, Vanagas T, Lagunavičius S, Pajėdienė E, Petrikonis K, Rastenytė D. Navigating the Neurobiology of Parkinson's: The Impact and Potential of α-Synuclein. Biomedicines. 2024;12(9):2121. https://doi.org/10.3390/biomedicines12092121
6. Flagmeier P, Meisl G, Vendruscolo M, Knowles T, Dobson C, Buell A, Galvagnion C. Mutations Associated with Familial Parkinson's Disease Alter the Initiation and Amplification Steps of α-Synuclein Aggregation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113(37):10328–10333. https://doi.org/10.1073/pnas.1604645113
7. Forloni G. Alpha Synuclein: Neurodegeneration and Inflammation. Int J Mol Sci. 2023;24(6):5914. https://doi.org/10.3390/ijms24065914
8. Henriques A, Rouvière L, Giorla E, Farrugia C, El Waly B, Poindron P, Callizot N. Alpha-Synuclein: The Spark That Flames Dopaminergic Neurons, in Vitro and in Vivo Evidence. Int J Mol Sci. 2022;23(17):9864. https://doi.org/10.3390/ijms23179864

9. Cardinale A, Calabrese V, De Iure A, Picconi B. Alpha-Synuclein as a Prominent Actor in the Inflammatory Synaptopathy of Parkinson's Disease. Int J Mol Sci. 2021;22(12):6517. https://doi.org/10.3390/ijms22126517
10. Saramowicz K, Siwecka N, Galita G, Kucharska-Lusina A, Rozpędek-Kamińska W, Majsterek I. Alpha-Synuclein Contribution to Neuronal and Glial Damage in Parkinson's Disease. Int J Mol Sci. 2024;25(1):360. https://doi.org/10.3390/ijms25010360
11. Longhena F, Faustini G, Spillantini M, Bellucci A. Living in Promiscuity: The Multiple Partners of Alpha-Synuclein at the Synapse in Physiology and Pathology. Int J Mol Sci. 2019;20(1):141. https://doi.org/10.3390/ijms20010141
12. Ulmer T, Bax A, Cole N, Nussbaum R. Structure and Dynamics of Micelle-Bound Human α-Synuclein. J Biol Chem. 2005;280(10):9595–9603. https://doi.org/10.1074/jbc.M411805200
13. Salmaso V, Moro S. Bridging Molecular Docking to Molecular Dynamics in Exploring Ligand-Protein Recognition Process: An Overview. Front Pharmacol. 2018;9:923. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00923
14. Yu J, Lyubchenko Y. Early Stages for Parkinson's Development: α-Synuclein Misfolding and Aggregation. J Neuroimmune Pharmacol. 2009;4(1):10–16. https://doi.org/10.1007/s11481-008-9115-5
15. Bisaglia M. Mediterranean Diet and Parkinson's Disease. Int J Mol Sci. 2023;24(1):42. https://doi.org/10.3390/ijms24010042
16. Metcalfe-Roach A, Yu AC, Golz E, Cirstea M, Sundvick K, Kliger D, Foulger LH, Mackenzie M, Finlay BB, Appel-Cresswell S. MIND and Mediterranean Diets Associated with Later Onset of Parkinson's Disease. Mov Disord. 2021;36(4):977–984. https://doi.org/10.1002/mds.28464
17. Molsberry S, Bjornevik K, Hughes K, Healy B, Schwarzschild M, Ascherio A. Diet Pattern and Prodromal Features of Parkinson Disease. Neurology. 2020;95(15):e2095–e2108. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010523
18. Hussain G, Zhang L, Rasul A, Anwar H, Sohail MU, Razzaq A, Aziz N, Shabbir A, Ali M, Sun T. Role of Plant-Derived Flavonoids and Their Mechanism in Attenuation of Alzheimer's and Parkinson's Diseases: An Update of Recent Data. Molecules. 2018;23(4):814. https://doi.org/10.3390/molecules23040814
19. Shah S, Duda J. Dietary Modifications in Parkinson's Disease: A Neuroprotective Intervention? Med Hypotheses. 2015;85(6):1002–1005. https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.08.018
20. Merghany RM, El-Sawi SA, Naser AFA, Ezzat SM, Moustafa SFA, Meselhy MR. A Comprehensive Review of Natural Compounds and Their Structure–Activity Relationship in

Parkinson's Disease: Exploring Potential Mechanisms. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2025;398(3):2229–2258. https://doi.org/10.1007/s00210-024-03462-4

21. Puri V, Kanojia N, Sharma A, Huanbutta K, Dheer D, Sangnim T. Natural Product-Based Pharmacological Studies for Neurological Disorders. Front Pharmacol. 2022;13:1011740. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1011740
22. Ko J, Park H, Heo L, Seok C. GalaxyWEB Server for Protein Structure Prediction and Refinement. Nucleic Acids Res. 2012;40(W1):W294–W297. https://doi.org/10.1093/nar/gks493
23. Williams CJ, Headd JJ, Moriarty NW, Prisant MG, Videau LL, Deis LN, Verma V, Keedy DA, Hintze BJ, Chen VB, Jain S, Lewis SM, Arendall WB 3rd, Snoeyink J, Adams PD, Lovell SC, Richardson JS, Richardson DC. MolProbity: More and Better Reference Data for Improved All-Atom Structure Validation. Protein Sci. 2018;27(1):293–315. https://doi.org/10.1002/pro.3330
24. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, Yu B, Zaslavsky L, Zhang J, Bolton EE. PubChem 2023 Update. Nucleic Acids Res. 2023;51(D1):D1373–D1380. https://doi.org/10.1093/nar/gkac956
25. Hanwell M, Curtis D, Lonie D, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison G. Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform. J Cheminform. 2012;4(1):17. https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17
26. Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo W. Molegro Virtual Docker for Docking. In: Docking Screens for Drug Discovery. New York: Springer; 2019. p. 149–167. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10
27. Korb O, Stützle T, Exner T. Empirical Scoring Functions for Advanced Protein–Ligand Docking with PLANTS. J Chem Inf Model. 2009;49(1):84–96. https://doi.org/10.1021/ci800298z
28. Thomsen R, Christensen M. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. J Med Chem. 2006;49(11):3315–3321. https://doi.org/10.1021/jm051197e
29. Baroroh S, Muscifa Z, Destiarani W, Rohmatullah F, Yusuf M. Molecular Interaction Analysis and Visualization of Protein-Ligand Docking Using Biovia Discovery Studio Visualizer. Int J Curr Biotechnol. 2023;2(1):22–29. https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.46322
30. Liu Y, Yang X, Gan J, Chen S, Xiao Z, Cao Y. CB-Dock2: Improved Protein–Ligand Blind Docking by Integrating Cavity Detection, Docking and Homologous Template Fitting. Nucleic Acids Res. 2022;50(W1):W159–W164. https://doi.org/10.1093/nar/gkac394
31. Yang X, Liu Y, Gan J, Xiao ZX, Cao Y. FitDock: Protein–Ligand Docking by Template Fitting. Brief Bioinform. 2022;23(3):bbac087. https://doi.org/10.1093/bib/bbac087
32. Kasahara K, Terazawa H, Itaya H, Goto S, Nakamura H, Takahashi T, Higo J. myPresto/omegagene 2020: A Molecular Dynamics Simulation Engine for Virtual-System

Coupled Sampling. Biophys Physicobiol. 2020;17:140–146. https://doi.org/10.2142/biophysico.BSJ-2020013

33. Alvarado Y, Olivarez Y, Lossada C, Vera-Villalobos J, Paz J, Vera E, Loroño M, Vivas A, Torres F, Jeffreys L, Hurtado-León M, González-Paz L. Interaction of the New Inhibitor Paxlovid (PF-07321332) and Ivermectin with the Monomer of the Main Protease SARS-CoV-2: A Volumetric Study Based on Molecular Dynamics, Elastic Networks, Classical Thermodynamics and SPT. Comput Biol Chem. 2022;99:107692. https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2022.107692
34. Mohammad-Beigi H, Aliakbari F, Sahin C, Lomax C, Tawfike A, Schafer NP, Amiri-Nowdijeh A, Eskandari H, Møller IM, Hosseini-Mazinani M, Christiansen G, Ward JL, Morshedi D, Otzen DE. Oleuropein Derivatives from Olive Fruit Extracts Reduce α-Synuclein Fibrillation and Oligomer Toxicity. J Biol Chem. 2019;294(11):4215–4232. https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005723
35. Farzadfard A, König A, Petersen S, Nielsen J, Vasili E, Dominguez-Meijide A, Buell A, Outeiro T, Otzen D. Glycation Modulates Alpha-Synuclein Fibrillization Kinetics: A Sweet Spot for Inhibition. J Biol Chem. 2022;298(5):101848. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101848
36. Andersen C, Grønnemose A, Pedersen J, Nowak J, Christiansen G, Nielsen J, Mulder F, Otzen D, Jørgensen T. Lipid Peroxidation Products HNE and ONE Promote and Stabilize Alpha-Synuclein Oligomers by Chemical Modifications. Biochemistry. 2021;60(48):3643–3658. https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00478
37. Braun AR, Liao EE, Horvath M, Kalra P, Acosta K, Young MC, Kochen NN, Lo CH, Brown R, Evans MD, Pomerantz WCK, Rhoades E, Luk K, Cornea RL, Thomas DD, Sachs JN. Potent Inhibitors of Toxic Alpha-Synuclein Identified via Cellular Time-Resolved FRET Biosensors. NPJ Parkinsons Dis. 2021;7(1):52. https://doi.org/10.1038/s41531-021-00195-6
38. Andersen C, Yoshimura Y, Nielsen J, Otzen D, Mulder F. How Epigallocatechin Gallate Binds and Assembles Oligomeric Forms of Human Alpha-Synuclein. J Biol Chem. 2021;296:100788. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100788
39. Gul G. In Silico Screening of Peptide Inhibitors Targeting α-Synuclein for Parkinson's Disease. J Mol Graph Model. 2025;134:109079. https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2025.109079
40. Chakraborty G, Patra N. Elucidating the Molecular Basis of 14-3-3 Interaction with α-Synuclein: Insights from Molecular Dynamics Simulations and the Design of a Novel Protein–Protein Interaction Inhibitor. J Phys Chem B. 2024;128(29):7068–7085. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.4c01743

41. Rezaei M, Jahanbin J, Rastkar A. The Interaction of Curcumin and Rosmarinic Acid with Non-Amyloid-Component Domain of Alpha-Synuclein: A Molecular Dynamics Study. ChemistrySelect. 2020;5(11):3312–3320. https://doi.org/10.1002/slct.201904799
42. Davidson W, Jonas A, Clayton D, George J. Stabilization of α-Synuclein Secondary Structure upon Binding to Synthetic Membranes. J Biol Chem. 1998;273(16):9443–9449. https://doi.org/10.1074/jbc.273.16.9443
43. Bussell R, Eliezer D. A Structural and Functional Role for 11-Mer Repeats in α-Synuclein and Other Exchangeable Lipid Binding Proteins. J Mol Biol. 2003;329(4):763–778. https://doi.org/10.1016/S0022-2836(03)00520-5
44. Michell A, Luheshi L, Barker R. Skin and Platelet α-Synuclein as Peripheral Biomarkers of Parkinson's Disease. Neurosci Lett. 2005;381(3):294–298. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.02.030
45. Dedmon M, Lindorff-Larsen K, Christodoulou J, Vendruscolo M, Dobson C. Mapping Long-Range Interactions in α-Synuclein Using Spin-Label NMR and Ensemble Molecular Dynamics Simulations. J Am Chem Soc. 2005;127(2):476–477. https://doi.org/10.1021/ja044834j
46. Bertoncini C, Jung Y, Fernandez C, Hoyer W, Griesinger C, Jovin T, Zweckstetter M. Release of Long-Range Tertiary Interactions Potentiates Aggregation of Natively Unstructured α-Synuclein. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(5):1430–1435. https://doi.org/10.1073/pnas.0407146102
47. Buratti FA, Boeffinger N, Garro HA, Flores JS, Hita FJ, Gonçalves PDC, Copello FDR, Lizarraga L, Rossetti G, Carloni P, Zweckstetter M, Outeiro TF, Eimer S, Griesinger C, Fernández CO. Aromaticity at Position 39 in α-Synuclein: A Modulator of Amyloid Fibril Assembly and Membrane-Bound Conformations. Protein Sci. 2022;31(7):e4360. https://doi.org/10.1002/pro.4360
48. Rao J, Dua V, Ulmer T. Characterization of α-Synuclein Interactions with Selected Aggregation-Inhibiting Small Molecules. Biochemistry. 2008;47(16):4651–4656. https://doi.org/10.1021/bi8002378
49. Sahihi M, Gaci F, Navizet I. Identification of New Alpha-Synuclein Fibrillogenesis Inhibitor Using in Silico Structure-Based Virtual Screening. J Mol Graph Model. 2021;108:108010. https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2021.108010
50. Saffari B, Amininasab M. Crocin Inhibits the Fibrillation of Human α-Synuclein and Disassembles Mature Fibrils: Experimental Findings and Mechanistic Insights from Molecular Dynamics Simulation. ACS Chem Neurosci. 2021;12(20):3913–3927. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.1c00379

51. Sangwan S, Sahay S, Murray K, Morgan S, Guenther E, Jiang L, Williams C, Vinters H, Goedert M, Eisenberg D. Inhibition of Synucleinopathic Seeding by Rationally Designed Inhibitors. eLife. 2020;9:e46775. https://doi.org/10.7554/eLife.46775
52. Basellini MJ, Granadino-Roldán JM, Torres-Ortega PV, Simmini G, Rubio-Martinez J, Marin S, Cappelletti G, Cascante M, Cañuelo A. Oleuropein Aglycone, an Olive Polyphenol, Influences Alpha-Synuclein Aggregation and Exerts Neuroprotective Effects in Different Parkinson's Disease Models. Mol Neurobiol. 2025;62(12):15741–15758. https://doi.org/10.1007/s12035-025-05208-6
53. Naitė I, Mikalauskaitė K, Paulauskaitė M, Sniečkutė R, Smirnovas V, Brukštus A, Žiaunys M, Žutautė I. Imidazo[2,1-b][1,3]thiazine Derivatives as Potential Modulators of Alpha-Synuclein Amyloid Aggregation. ACS Chem Neurosci. 2024;15(24):4418–4430. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.4c00451
54. Ahanger I, Dar T. Small Molecule Modulators of Alpha-Synuclein Aggregation and Toxicity: Pioneering an Emerging Arsenal against Parkinson's Disease. Ageing Res Rev. 2024;101:102538. https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102538
55. El-Agnaf O, Jakes R, Curran M, Middleton D, Ingenito R, Bianchi E, Pessi A, Neill D, Wallace A. Aggregates from Mutant and Wild-Type α-Synuclein Proteins and NAC Peptide Induce Apoptotic Cell Death in Human Neuroblastoma Cells by Formation of β-Sheet and Amyloid-Like Filaments. FEBS Lett. 1998;440(1-2):71–75. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01418-5
56. Giasson B, Murray I, Trojanowski J, Lee V. A Hydrophobic Stretch of 12 Amino Acid Residues in the Middle of α-Synuclein Is Essential for Filament Assembly. J Biol Chem. 2001;276(4):2380–2386. https://doi.org/10.1074/jbc.M008919200
57. Das V, Modarres Mousavi SM, Annadurai N, Sukur S, Mehrnejad F, Moradi S, Malina L, Kolaříková M, Ranc V, Frydrych I, Kouřil R, Hosseinkhani S, Hajdúch M, Nikkhah M. Hydrophobic Residues in the α-Synuclein NAC Domain Drive Seed-Competent Fibril Formation and Are Targeted by Peptide Inhibitors. FEBS J. 2026;293(1):134–155. https://doi.org/10.1111/febs.70222
58. Bhattacharya S, Gupta N, Dutta A, Khanra PK, Dutta R, Žiarovská J, Tzvetkov NT, Severová L, Kopecká L, Milella L, Fernández-Cusimamani E. Repurposing Major Metabolites of Lamiaceae Family as Potential Inhibitors of α-Synuclein Aggregation to Alleviate Neurodegenerative Diseases: An in Silico Approach. Front Pharmacol. 2025;16:1519145. https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1519145
59. Kondratyev M, Rudnev V, Nikolsky K, Petrovsky D, Kulikova L, Malsagova K, Stepanov A, Kopylov A, Kaysheva A. In Silico Study of the Interactions of Anle138b Isomer, an Inhibitor of

Amyloid Aggregation with Partner Proteins. Int J Mol Sci. 2022;23(24):16096. https://doi.org/10.3390/ijms232416096

60. Semenyuk P. REMD Simulations of Full-Length Alpha-Synuclein together with Ligands Reveal Binding Region and Effect on Amyloid Conversion. Int J Mol Sci. 2022;23(19):11545. https://doi.org/10.3390/ijms231911545
61. Killinger B, Melki R, Brundin P, Kordower J. Endogenous Alpha-Synuclein Monomers, Oligomers and Resulting Pathology: Let's Talk About the Lipids in the Room. NPJ Parkinsons Dis. 2019;5:23. https://doi.org/10.1038/s41531-019-0095-3
62. Tira R, De Cecco E, Rigamonti V, Santambrogio C, Barracchia C, Munari F, Romeo A, Legname G, Prosperi D, Grandori R, Assfalg M. Dynamic Molecular Exchange and Conformational Transitions of Alpha-Synuclein at the Nano-Bio Interface. Int J Biol Macromol. 2020;165(Pt A):562–571. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.118
63. Bhullar K, Rupasinghe H. Polyphenols: Multipotent Therapeutic Agents in Neurodegenerative Diseases. Oxid Med Cell Longev. 2013;2013:891748. https://doi.org/10.1155/2013/891748
64. de Lima E, Laurindo L, Catharin V, Direito R, Tanaka M, German I, Lamas C, Guiguer E, Araújo A, Fiorini A, Barbalho S. Polyphenols, Alkaloids, and Terpenoids against Neurodegeneration: Evaluating the Neuroprotective Effects of Phytocompounds through a Comprehensive Review of the Current Evidence. Metabolites. 2025;15(2):124. https://doi.org/10.3390/metabo15020124
65. Henríquez G, Gomez A, Guerrero E, Narayan M. The Potential Role of Natural Polyphenols against Protein Aggregation Toxicity: In Vitro, In Vivo and Clinical Studies. ACS Chem Neurosci. 2020;11(19):2919–2934. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00381
66. Rocha E, De Miranda B, Sanders L. Alpha-Synuclein: Pathology, Mitochondrial Dysfunction and Neuroinflammation in Parkinson's Disease. Neurobiol Dis. 2018;109(Pt B):249–257. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.04.004
67. Sohrabi T, Mirzaei-Behbahani B, Zadali R, Pirhaghi M, Morozova-Roche L, Meratan A. Common Mechanisms Underlying α-Synuclein-Induced Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. J Mol Biol. 2023;435(12):167992. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.167992
68. Yedlapudi D, Joshi G, Luo D, Todi S, Dutta A. Inhibition of Alpha-Synuclein Aggregation by Multifunctional Dopamine Agonists Assessed by a Novel in Vitro Assay and an in Vivo Drosophila Synucleinopathy Model. Sci Rep. 2016;6:38510. https://doi.org/10.1038/srep38510
69. Yedlapudi D, Xu L, Luo D, Marsh G, Todi S, Dutta A. Targeting Alpha Synuclein and Amyloid Beta by a Multifunctional, Brain-Penetrant Dopamine D2/D3 Agonist D-520: Potential

Therapeutic Application in Parkinson's Disease with Dementia. Sci Rep. 2019;9(1):19744. https://doi.org/10.1038/s41598-019-55830-3

70. Dinda B, Das B, Biswas S, Sharma H, Armstrong C, Yedlapudi D, Antonio T, Reith M, Dutta A. Bivalent Dopamine Agonists with Co-Operative Binding and Functional Activities at Dopamine D2 Receptors, Modulate Aggregation and Toxicity of Alpha Synuclein Protein. Bioorg Med Chem. 2022;78:117131. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2022.117131
71. Luo D, Sharma H, Yedlapudi D, Antonio T, Reith M, Dutta A. Novel Multifunctional Dopamine D2/D3 Receptors Agonists with Potential Neuroprotection and Anti-Alpha Synuclein Protein Aggregation Properties. Bioorg Med Chem. 2016;24(21):5088–5102. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.08.021
72. Omoboyowa D, Balogun T, Omomule O, Saibu O. Identification of Terpenoids from Abrus Precatorius Against Parkinson's Disease Proteins Using In Silico Approach. Bioinform Biol Insights. 2021;15:11779322211050757. https://doi.org/10.1177/11779322211050757
73. Ono K, Tsuji M, Yamasaki T, Pasinetti G. Anti-Aggregation Effects of Phenolic Compounds on α-Synuclein. Molecules. 2020;25(10):2444. https://doi.org/10.3390/molecules25102444
74. Yu L, Li X, Shi T, Li N, Zhang D, Liu X, Xiao Y, Liu X, Petersen RB, Xue W, Yu YV, Hu DS, Xu L, Chen H, Zheng L, Huang K, Peng A. Identification of Novel Phenolic Inhibitors from Traditional Chinese Medicine against Toxic α-Synuclein Aggregation via Regulating Phase Separation. Int J Biol Macromol. 2025;297:139875. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.139875
75. Chakroun T, Evsyukov V, Nykänen NP, Höllerhage M, Schmidt A, Kamp F, Ruf VC, Wurst W, Rösler TW, Höglinger GU. Alpha-Synuclein Fragments Trigger Distinct Aggregation Pathways. Cell Death Dis. 2020;11(2):84. https://doi.org/10.1038/s41419-020-2285-7
76. Vidović M, Rikalovic M. Alpha-Synuclein Aggregation Pathway in Parkinson's Disease: Current Status and Novel Therapeutic Approaches. Cells. 2022;11(11):1732. https://doi.org/10.3390/cells11111732

| *Received: 22 julio 2026]* | *Accepted: [1 septiembre 2026]* | *Published: [15 noviembre 2026]* |

Citation: *Quiroz*, Y; *Delgado, A; Mora, M; Vivas, A; Bravo*, Y; *Alvarado, Y; González-Paz, L* Interaction Mechanisms of Bioactive Compounds with α-Synuclein: A Docking and Molecular Dynamics Study. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)





Investigación

Severidad de los trastornos temporomandibulares en adultos mayores

Temporomandibular disorders severity in older adults

Leydiana Hernández Naranjo[1], Mildred Gutiérrez Segura[2], Bárbara Lucía Pellitero Reyes [3], Yirina Paez González [4] , Yaima Leyva Aguilar [5]*

1- Policlínico "Jorge Luis Estevanel Díaz", Holguín. Cuba. años *princes0930@nauta.cu; https://orcid.org/0000-0002-3955-3572*

2- Clínica Estomatológica "Artemio Mastrapa Rodríguez", Holguín. Cuba. mildredgs@infomed.sld.cu; https://orcid.org/0000-0002-3703-4867

3- Clínica Estomatológica Manuel Angulo Farrán, Holguín. Cuba. barbarapellitero@gmail.com ; https://orcid.org/0000-0002-5738-7539

4- Policlínico Universitario Alcides Pino Bermúdez, Holguín. Cuba. yirinapaezgonzalez@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5251-9547

5- Hospital Docente Fermín Valdés Domínguez, Holguín. Cuba. yaol@nauta.cu; https://orcid.org/0009-0007-6557-7889

*Autor para la correspondencia: princes0930@nauta.cu

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.3)

Resumen

Introducción: Los adultos mayores constituyen un segmento de la población con rápido incremento, en el que se producen cambios en las articulaciones temporomandibulares que pueden afectar al aparato masticatorio.

Objetivo: Determinar la frecuencia y severidad de trastornos temporomandibulares en pacientes adultos mayores.

Método: Se realizó un estudio transversal en adultos mayores, de los consultorios 30 y 31 pertenecientes a la Clínica Estomatológica "Manuel Angulo Farrán" de Holguín, desde junio de 2022 a marzo de 2023. El universo fue de 209 pacientes y la muestra no probabilística de 112 pacientes diagnosticados con trastornos temporomandibulares mediante índice de Helkimo modificado por Maglione. Se estudiaron las variables: edad, sexo y grado de severidad.

Resultados: Se determinó una frecuencia de los trastornos temporomandibulares de 53, 59 %, 57, 14 % de los pacientes enfermos fueron mujeres, 73,21 % tenían entre 60 a 69 años y en 53,57 % el grado de severidad diagnosticado fue el leve.

Conclusiones: Los trastornos temporomandibulares se identificaron en más de la mitad de la población examinada lo que evidencia su elevada frecuencia en este grupo poblacional, con predominio del sexo femenino, el rango de edad de 60 a 69 años y el grado de severidad leve.

Palabras clave: Trastornos temporomandibulares; aparato masticatorio; envejecimiento; adultos mayores

Abstract

Introduction: Older adults constitute a rapidly growing segment of the population, who can suffer changes in their temporomandibular joints and affect stomatognathic system.

Objective: To determine temporomandibular disorders and their severity in older adult patients.

Methods: A cross-sectional study was carried out in older adults, of clinics 30 and 31 belonging to the Dental Clinic "Manuel Angulo Farran", in Holguin, from June 2022 to March 2023. The universe consisted of 209 patients and the non-probabilistic sample was constituted by 112 patients diagnosed with temporomandibular disorders using Helkimo index modified by Maglione. The following variables were studied: age, sex and degree of severity.

Results: The frequency of temporomandibular disorders in the study population was 53.59 %, 57.14 % of the patients were women, 73.21 % had between 60 to 69 years and the low degree of severity was 53.57 %.

Conclusions: Around the middle of the universe showed temporomandibular disorders, that confirm a great prevalence in older adults. The greatest number of affected patients was females, in the age range of 60 to 69 years and with mild degree of severity.

Key words: Temporomandibular disorders; stomatognathic system; aging; older adults.

Introducción

El envejecimiento poblacional es uno de los grandes problemas sociales del siglo XXI y de la historia y constituye un gran desafío. [1] Uno de los países más envejecidos de América Latina y el Caribe es Cuba. Los adultos mayores ameritan recibir una atención especializada, que integre el abordaje de aspectos biológicos, psicológicos y sociales.

El sistema estomatognático como parte del organismo humano también envejece. Las articulaciones temporomandibulares (ATM) sufren cambios fisiológicos y patológicos con el avance de la vida. Las alteraciones del sistema craneomandibular alcanzan cerca de un 93 % y constituyen las patologías más frecuentes de la cavidad oral.[2]

Los trastornos temporomandibulares (TTM) representan un grupo de condiciones de origen multifactorial que afectan la función del aparato masticatorio e inciden en los músculos de la masticación, las ATM y otras estructuras anatómicas relacionadas.[2-4] Estos trastornos se consideran una causa importante de dolor orofacial [5], en particular de origen no dentario, provocando degeneración o inflamación de la articulación temporomandibular. [2]

Los TTM son comunes a nivel mundial. La prevalencia varía en dependencia de la edad. En adultos se reporta 31 %, mientras que en niños y adolescentes la prevalencia varía entre 20 % y 60 %. [6]

Cifras más elevadas refieren Grau y col. [7] con 80 % de la población mundial. En general las estadísticas muestran que las féminas son más afectadas que los hombres. [5-9] Las causas de ese comportamiento no se conoce bien, según plantean Maini y Dua [10] en su investigación. En la provincia de Holguín, Velázquez [11] obtiene una prevalencia de la enfermedad en 63,2 % de la población en estudio, y Cobos y col. [12] que incluyen en su estudio pacientes de 60 años y más, determinan una prevalencia de 10 %.

La triada más común de síntomas de los trastornos temporomandibulares la constituyen el dolor articular, la limitación de movimientos y los ruidos articulares. [10] Los TTM se pueden presentar con distintos grados de severidad, de ahí, la existencia de diferentes índices epidemiológicos para su diagnóstico y evaluación. Las investigaciones en este campo ofrecen una base científica sólida para planificar conductas encaminadas a mejorar el bienestar y la calidad de vida de los pacientes.

La experiencia de las autoras en el orden asistencial, les permite declarar que existe un aumento de la frecuencia de pacientes aquejados con esta patología. A diario en la práctica estomatológica acuden pacientes en busca de ayuda profesional por presentar síntomas clínicos en el área anatómica correspondiente a la articulación temporomandibular, lo que limita su desenvolvimiento social con afectación en la calidad de vida, por lo que se precisa la caracterización de este padecimiento.

Existen numerosas investigaciones relacionadas con los trastornos temporomandibulares asociados al estudio de los factores de riesgo, hábitos como el bruxismo y a grupos poblacionales como adolescentes, mujeres en edad fértil y pacientes ortodóncicos. Sin embargo, el abordaje de los trastornos en los adultos mayores, se ha diferenciado muy poco respecto a otros grupos, por lo que la necesidad de profundizar en el comportamiento de los TTM en los adultos mayores llevó plantear como objetivo determinar la frecuencia y severidad de los trastornos temporomandibulares en pacientes adultos mayores según grupos de edad y sexo.

Material y métodos

Se realizó un estudio transversal en pacientes adultos mayores pertenecientes a los consultorios 30 y 31 atendidos por la Clínica Estomatológica: “Manuel Angulo Farrán” en el municipio de Holguín, en el período de junio 2022 a marzo 2023. El universo de estudio estuvo constituido por 209 pacientes de 60 años y más que pertenecían a los CMF 30 y 31 del área de salud. La muestra se seleccionó de forma no probabilística intencional, integrada por 112 los pacientes que cumplían los criterios preestablecidos para el estudio a quienes se les diagnosticó un trastorno temporomandibular. Se incluyeron los que dieron su consentimiento informado y tenían algún síntoma de TTM y se excluyeron los pacientes con discapacidad física o mental o cualquier trastorno que impidiera la recolección de la información.

En la investigación científica se utilizaron los métodos teóricos revisión documental, analítico-sintético e inductivo-deductivo, los que permitieron la revisión de la literatura actualizada del tema, su análisis y síntesis, aportando los criterios de los autores. Se contrastaron los resultados con otros estudios, sobre la base de un análisis inductivo-deductivo que permitió dar salida a los objetivos propuestos, emitir conclusiones y formular las recomendaciones.

El método clínico (método empírico) fue la aplicación del método científico al estudio del proceso salud- enfermedad en el individuo; comprendió una serie de pasos ordenados que se aplicaron en la búsqueda del diagnóstico y para la determinación de la severidad del trastorno. Esto se realizó mediante la aplicación del índice de Helkimo modificado por Maglione a los pacientes, que clasifica a los TTM en leve, moderado o severo. Este índice incluye la limitación de los movimientos mandibulares, las alteraciones de la función articular, el dolor en movimiento, el dolor muscular y el dolor en la ATM.

La observación directa, la palpación y manipulación funcional de los músculos y articulaciones temporomandibulares permitieron identificar los signos y síntomas presentes y darle la respectiva puntuación según el índice citado. Se confeccionó un formulario de recolección de datos y para lograr mayor confiabilidad estos se recogieron por los examinadores, los autores de la investigación.

Para el procesamiento de la información se utilizó una computadora DELL con Sistema Operativo Windows 10 y se creó una base de datos con el programa Microsoft Office Excel 2013. El método estadístico que se aplicó fue el cálculo porcentual. La información se presentó en tablas de distribución de frecuencia simple y valores absolutos, se utilizó el porcentaje como medida de resumen para su discusión.

La investigación se efectuó según las normas éticas internacionales para la investigación biomédica. Se cumplieron los aspectos bioéticos adoptados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la 18ª Asamblea Médica Mundial en Helsinkiy de Tokio, se solicitó el consentimiento escrito e informado a los participantes. El proceso de investigación se desarrolló con previo conocimiento y aprobación por parte del Comité Científico y la Comisión de Ética de la Clínica Estomatológica: "Manuel Angulo Farrán" en el municipio Holguín.

Resultados

Tabla 1. Frecuencia de trastornos temporomandibulares en adultos mayores diagnosticados con Índice de Helkimo modificado por Maglione. Clínica Estomatológica Docente "Manuel Angulo". Municipio Holguín, 2023.

Valoración diagnóstica	Pacientes	
	No.	%
Con TTM	112	53, 59

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Sin TTM	97	46,41
Total	209	100

Al aplicar el índice de Helkimo modificado por Maglione como método de diagnóstico se determinó una frecuencia de los trastornos en la población en estudio de 53, 59 %.

Tabla 2. Grado de severidad de los trastornos temporomandibulares y grupos de edad de los pacientes diagnosticados.

Grado de Severidad	Edad (grupos)						Total	
	60-69		70-79		80 y más			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Leve	50	44,64	8	7,14	2	1,79	60	53,57
Moderado	28	25,00	15	13,39	5	4,46	48	42,86
Severo	4	3,57	0	0	0	0	4	3,57
Total	82	73,21	23	20,54	7	6,25	112	100

Al analizar la tabla se aprecian trastornos con grado de severidad leve en 53, 57 % de los pacientes, y en el rango de edad de 60- 69 años el 73, 21 %; el grupo de 80 y más años solo con 6, 25 %.

Tabla 3. Trastornos temporomandibulares en adultos mayores según severidad de la enfermedad y sexo de los pacientes.

Grado de Severidad	Sexo				Total	
	Femenino		Masculino			
	No.	%	No.	%	No.	%
Leve	22	19,64	38	33,93	60	53,57
Moderado	38	33,93	10	8,93	48	42,86
Severo	4	3,57	0	0	4	3,57
Total	64	57,14	48	42,86	112	100

Se observa 57,14 % de los adultos mayores del sexo femenino afectados y el grado de severidad leve en 33, 93 % de los hombres y con igual valor el moderado en las féminas.

Discusión

Al analizar los resultados de la tabla 1 en relación a los adultos mayores diagnosticados con TTM mediante el índice de Helkimo modificado por Maglione, se determinó una alta frecuencia de los trastornos en la población en estudio, con alrededor de la mitad de la población examinada afectada.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

En la investigación de Velázquez [11], se encontró un resultado similar, al determinar una frecuencia de la enfermedad en 63,2 % de los pacientes geriátricos examinados.

Lee y col. [9] en su estudio incluyen adultos mayores distribuidos en tres grupos: 65 años a 74 años, 75 años a 84 años y 85 años y más, de los cuales 16,8 % padecen TTM. Este resultado es inferior al de la presente investigación, lo que puede estar en relación con que el cálculo del valor porcentual se obtuvo respecto a la totalidad de la muestra y no respecto a los adultos mayores examinados. Este autor considera la necesidad de investigar más en pacientes mayores de 65 años, por el comportamiento clínico diferente al resto de la población.

Las autoras reafirman la necesidad de ampliar las investigaciones en adultos mayores, máximo si se tiene en cuenta el incremento de este grupo poblacional con el aumento de la esperanza de vida, los cambios propios que genera el envejecimiento que pueden determinar un comportamiento con características singulares y las afecciones concurrentes que limiten la obtención de datos objetivos.

Es criterio de las autoras que son muchos los factores que pueden asociarse a la alta frecuencia de la enfermedad en los adultos mayores. No obstante, en particular en este estudio el factor envejecimiento tiene especial connotación debido a los cambios degenerativos que se van produciendo con el avance de la edad en la articulación temporomandibular. Estos cambios muchas veces no se manifiestan clínicamente, y cuando llegan a hacerlo se asocian a fases agudas de dolor o disfunción.

Las necesidades de atención estomatológica por parte de los adultos mayores son altas**. Sin embargo,** la demanda de servicios es menor a las necesidades reales a criterio de las autoras, debido a que los pacientes no tienen el conocimiento suficiente acerca del cuidado de la salud bucal y su repercusión en la salud general, subestiman la importancia de estos tratamientos, dependen muchas veces de familiares y cuidadores, o presentan problemas de movilidad, factores que dificulta el acceso a los servicios estomatológicos para un diagnóstico y tratamiento oportuno.

En los resultados mostrados en la tabla 2, destacan los pacientes con trastornos con grado de severidad leve y en el rango de edad de 60- 69 años. Al revisar las investigaciones precedentes, se determinan coincidencias, pero existen diferencias con los rangos de edad establecidos por los autores, lo que limita la posibilidad de establecer comparaciones. Como es el caso del estudio de Hernández y col.[1], en Camagüey donde existió un predominio de la enfermedad en los adultos mayores en el grupo de edad de 65-69 años para 38,8 %.

Lee y col. [9] muestran resultados diferentes al declarar la disminución de la prevalencia de los TTM a medida que avanza la edad. Estos autores argumentan que los síntomas en los adultos mayores pueden estar en relación con el envejecimiento y condiciones preexistentes. Asociado a esto, el declive cognitivo, las alteraciones en la percepción del dolor y la pérdida de memoria pueden afectar

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

la comunicación de los síntomas. Por otra parte, plantean que el profesional de la salud puede que priorice otras condiciones que a su juicio ameritan mayor atención por su urgencia.

Las autoras consideran que, el envejecimiento también se manifiesta a nivel articular, puesto que pueden producirse discrepancias del complejo disco-cóndilo. La articulación temporomandibular se vuelve más susceptible y pueden ocurrir cambios como el aplanamiento de la superficie articular que se acompaña de una reducción del tamaño del cóndilo mandibular, con la producción de mayor laxitud en los movimientos articulares. El disco articular tiende a perforarse con la edad, lo que condiciona la aparición de un trastorno por el desgaste natural.

Al analizar los resultados alcanzados en la investigación relacionados con la severidad del trastorno temporomandibular, se encontraron semejanzas con Cobos y col. [12] donde el grado de disfunción que predominó fue el leve, en el rango de edad de 60 o más años, aunque solo en 10 %; este valor inferior puede estar en relación a que su estudio incluye a este grupo, pero no es exclusivo de este y el valor calculado fue respecto al total de la muestra. También se encontraron coincidencias con Velázquez [11], quien describe la severidad leve de los trastornos como la más frecuente en 86,3 %. Similar resultado respecto al predominio de la disfunción leve obtuvieron Cabezas, Rodríguez y Miranda [8] en su investigación, con un grado de disfunción leve en 48 % y una disfunción moderada en 40 % de la muestra en estudio de los adultos.

Las investigadoras consideran que el predominio de la disfunción leve evidencia la capacidad de adaptación del sistema masticatorio en la mayoría de los pacientes. Hay muchos factores que influyen en estos resultados, como son: la tolerancia fisiológica, la resistencia de las distintas estructuras que forman parte de este sistema ante un factor etiológico determinado y su persistencia, así como la intensidad de las fuerzas oclusales que se generan debido algún patrón parafuncional.

Otro elemento a resaltar que podría tener relación con el diagnóstico en estadios leves de la enfermedad, es que en Cuba los adultos mayores reciben una atención dispensarizada. Este constituye un grupo priorizado en el programa de atención estomatológica integral del sistema nacional de salud, lo que permite que se puedan detectar síntomas que se manifiesten en momentos incipientes de la patología.

En la tabla 3 se registran valores que demuestran que en el estudio se observó una superioridad de los trastornos en los adultos mayores del sexo femenino, con predominio del grado leve en los hombres, y el moderado en las féminas.

Los hallazgos expuestos en relación con el sexo coinciden con lo reportado por Hernández y col.[1] el cual hace referencia a un predominio de los adultos mayores del sexo femenino en 61,2 %; así como, Lee y col. [9] donde las pacientes femeninas con TTM predominaron en todos los grupos de edad.

También se muestra correspondencia con los resultados encontrados por Cabezas, Rodríguez y Miranda [8] , con 55 % de mujeres.

Autores como Casanova y Valdés [13] y Samón y col. [14] realizan investigaciones de trastornos temporomandibulares en mujeres. Este último argumenta que las mujeres en etapa de climaterio, reciben la influencia de factores hormonales, psicológicos y sociales que actúan como potenciadores de la incidencia y severidad de los TTM. Citan el estrés, la ansiedad y las alteraciones hormonales como factores predisponentes de los TTM, aumentando el riesgo de disfunción articular y muscular. Con estos criterios coinciden las investigadoras.

Las autoras exponen que, por la experiencia clínica, por lo general las mujeres son las que refieren mayor sintomatología en la ATM, lo cual hace evidente el diagnóstico de un trastorno, porque ellas son más propensas a buscar ayuda estomatológica, están más sujetas a las afectaciones por factores sociales, como su estatus, los problemas de divorcio y los estados de minusvalía fisiológica, tales como la fatiga física y psíquica. Además, se considera que los cambios de la tolerancia en la mujer y la sensibilidad aumentada al estímulo doloroso podrían estar en relación con cambios hormonales.

En relación a la severidad del trastorno respecto al sexo de los pacientes, las autoras argumentan que los trastornos de la ATM por lo general siguen una serie de etapas de forma cronológica predecible, pero no significa que siempre sea progresiva, la mayoría permanecen en una misma fase, es por ello que se hace más frecuente en general que la enfermedad se manifieste en un grado de severidad leve.

La limitación del estudio está en que se desarrolló en una etapa en la que la pandemia COVID 19 incidió en que no se pudiese profundizar en otras variables clínicas por el riesgo para el profesional durante la obtención de los datos y la imposibilidad en muchos casos de acudir a los servicios estomatológicos por las restricciones establecidas en ese tiempo para proteger la salud de la población en general.

Conclusiones

Los trastornos temporomandibulares se identificaron en más de la mitad de la población examinada lo que evidencia su elevada frecuencia en este grupo poblacional, con predominio del sexo femenino, el rango de edad de 60 a 69 años y el grado de severidad leve.

Contribución de autoría

Conceptualización, L.H.N., M.G.S. y B.L.P.R.; metodología, L.H.N., M.G.S. y B.L.P.R.; Sofftware, L.H.N. y Y.L.A.; validación, L.H.N., M.G.S. y B.L.P.R.; análisis formal, L.H.N., M.G.S., B.L.P.R. y Y.P.G.; investigación, L.H.N., M.G.S., B.L.P.R., Y.P.G. y Y.P.G.; recursos, L.H.N.; curación de datos, L.H.N. y Y.L.A.; preparación del artículo original, L.H.N. y M.G.S.; redacción, revisión y edición: L.H.N. y M.G.S.; supervisión, L.H.N. y B.L.P.R.; administración de proyecto: L.H.N.

Todos los autores han leído y están de acuerdo con la versión a publicar del manuscrito del artículo

Fuente de financiamiento

La presente investigación transcurrió con el financiamiento de los autores.

Disponibilidad de datos y materiales

La investigación es inédita.

Agradecimientos

A los pacientes y personal de la clínica estomatológica Manuel Angulo por su colaboración durante el desarrollo de la investigación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Referencias bibliográficas

1. Hernández Reyes, B.; Lazo Nodarse, R.; Bravo Cano, O.; Quiroz Aliuja, Y.; Domenech La Rosa, L.; Rodríguez Ramos S. Trastornos temporomandibulares en el sistema estomatognático del paciente adulto mayor. Arch Méd Camagüey 2020; 24(4):[aprox. 11 p.]. Disponible en: http://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/7426
2. Cifuentes Marín, J. B.; Aguila Soto, C. A. Revisión bibliográfica sobre los trastornos de la articulación temporomandibular y la postura corporal. Rev Cub de Ortopedia y Traumatología 2025; 39. Disponible en: https://revortopedia.sld.cu/index.php/revortopedia/article/view/881
3. Loyola Castillo, M. B. Tratamiento de los trastornos de la articulación temporomandibular: Revisión sistemática. Cuaderno de odontología. Rev científica 2025; 3(1): 8-13. https://doi.org/10.62574/pbvxvc81
4. Herrero Solano, Y. La oclusión como factor de riesgo asociado a trastornos temporomandibulares. Clínica MEDITEX. Angola. Rev Cient en Ciencias de la Salud humana 2023; 2(2): 1-15. Disponible en: https://ojs.uagrm.edu.bo/rccsh/article/download/230/347/1124
5. Klasser, G. D.; Greene, C. S.; Lavigne, G. J. Oral appliances and the management of sleep bruxism in adults: a century of clinical applications and search for mechanisms. Int J Prosthodont 2021; 23(5):453-462. Disponible en: http://www.quintpub.com/journals/ijp/abstract.ph
6. Mauro, G.; Alessio Verdecchia, A.; Suárez Fernández, C.; Nocini, R.; Mauro, E.; Zerman, N. Temporomandibular Disorders Management—What's New? A Scoping Review. Dent. J. 2024; 12, 157. https://doi.org/10.3390/dj12060157
7. Grau León, I.; Fernández Lima, K.; González, G.; Osorio Núñez, M. Some considerations on the temporomandibular disorders. Rev Cubana Estomatol 2020; 42(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072005000300005&lng=es

8. Cabezas González, J.; Rodríguez Linares, M. L.; Miranda Gómez, O. Caracterización clínica de los trastornos temporomandibulares. Rev. Cub. Otorrinolaringología y Cirugía de cabeza y cuello 2025; 9:e.464. Disponible en: https://revotorrino.sld.cu/index.php/otl/article/download/464/578/6042
9. Lee Y. H., Jeon S., Kim T S., Kim H S, Auh Q, Noh Y. K. Clinical features and subgroup patterns in elderly and super-elderly TMD patients. Sci Pep 2026; 16,371. https://doi.org/10.1038/s41598-025-29749-x
10. Maini, K. M.; Dua, A. Temporomandibular Syndrome. In: Stat Pearls 2023 Disponible en: https//pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31869076/
11. Velázquez Chance, M. Signos y síntomas de trastornos temporomandibulares en pacientes geriátricos de policlínico Pedro del Toro. Holguín [Tesis de postgrado]. Universidad de Ciencias Médicas Holguín; 2020.
12. Cobos Castro, I.; Gutiérrez Segura, M.; Montero Sera, E.; Zamora Guevara, N. Trastornos temporomandibulares en pacientes bruxópatas, trabajadores de estomatología de Mayarí. CCM 2018; 21(3): 734-747. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000300011&lng=es
13. Casanova Díaz, C.; Valdés Masó, D. Relación de la edad con trastornos temporomandibulares en mujeres: Hospital Miguel Enríquez, 2020-2022. Rev. Cub. de Reumatol 2024; 26: e1308. Disponible en: https://revreumatologia.sld.cu/index.php/reumatologia/article/view/1308
14. Samón Mayán, Y.; Rodríguez Yanes, A.; Fernández Queija, Y.; Hernández Cuétara, L. Caracterización de trastornos temporomandibulares en mujeres climatéricas. Odontología (Montevideo). Odontología (Montevideo) 2025; 3:200. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/9954269.pdf

| *Received: [30 julio 2026]* | *Accepted: [25 septiembre 2026]* | *Published: [15 noviembre 2026]* |

Citación: Hernández Naranjo, L.; Gutiérrez Segura, M.; Pellitero Reyes, B.L.; Paz González, Y.; Leyva Aguilar. Y. Temporomandibular disorders severity in older adults. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

QUINA (*Cinchona officinalis*)

Full Spectrum Extract

Principio activo: Quinina, quinidina, cinconina y cinconidina.
Antipalúdico: Contra la malaria (paludismo), contra el parásito Plasmodium.
Antipirético y analgésico: Para reducir la fiebre y aliviar el dolor.
Tónico y digestivo: Estimula el apetito y la digestión.
Antibacteriano y antifúngico: Contra bacterias y hongos.
Calambres musculares: Alivia calambres, especialmente en las piernas y para tratar la babesiosis (enfermedad transmitida por garrapatas).
Bebidas: Preparar el cóctel **Gin Tonic** y el agua tónica.
Uso externo: En infusiones para lavar heridas y úlceras.
NOT. SAN. 26001-ALN-0620.

CONTACTO: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
info.biodiversity@gmail.com, Cel. +593 99 758 9267. Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: https://cebaecuador.org/
inf.ceba@gmail.com, Cel + 593 99 579 7813, Ibarra-Ecuador



Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

Café (*Coffea spp.*)

Full Spectrum Extract

1. Mejora la concentración y la energía
2. Aporta una alta cantidad de antioxidantes
3. Reduce el riesgo de enfermedades crónicas

NS:

CONTACTO: info.biodiversity@gmail.com
Cel. +593 99 758 9267, Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
https://cebaecuador.org/, inf.ceba@gmail.com
Cel + 593 99 579 7813, Ibarra-Ecuador

29/10/2026



Bionatura

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Artículo de revisión

Glucósidos de esteviol de *Stevia rebaudiana*: composición química, receptores gustativos y factores que determinan el perfil sensorial

Steviol glycosides from Stevia rebaudiana: chemical composition, taste receptors and factors that determine the sensory profile

*Yilianne Díaz Herrera[1], Dairon Iglesias Guevara[2,] *, José Ariel Arencibia Sácnhez[3], Joe Doyharzabal Jiménez [4].*

[1,2,3,4] Instituto de Farmacia y Alimentos (Universidad de La Habana / Habana / Cuba;
[1]yiliannediazherrera@gmail.com . https://orcid.org/0009-0009-6287-468X

[2]daironig1993@gmail.com . https://orcid.org/ 0000-0002-0044-6083

[3] jose.arencibia1995@gmail.com . https://orcid.org/0000-0003-4408-3162

[4] doyharzabal@ifal.uh.cu . https://orcid.org/0009-0004-3461-1640

***** *Correspondence: daironig1993@gmail.com; Tel.: +53 55752040*

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.4)

Abstract

The steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni represent a natural alternative to artificial sweeteners, although their technological application is limited by the residual bitterness of the major compounds. The objective of this review was to systematize knowledge regarding the chemical composition of the main steviol glycosides, their interaction with taste receptors, and the structural factors that influence their sensory performance. The literature was selected by prioritizing studies on molecular modeling, dynamic sensory analysis, and functional assays published in indexed journals. A critical analysis of the literature demonstrates that the number and position ofglycosidic residues on the steviol diterpenoid core determine the sweet-bitter profile of each compound: greater glycosylation at the C-13 intensifies sweetness, while lower substitution at C-19 prolongs bitterness. Sweetness is mediated by a heterodimeric receptor with multiple binding sites allosterically regulated by G protein, whereas bitterness involves specific receptors of the bitter taste receptor family. The next-generation glycosides, rebaudioside D and rebaudioside M, exhibit the most favorable sensory profiles. Enzymatic modification aimed at increasing glycosylation emerges as the most viable strategy for reducing bitterness. It is concluded that future research should integrate structural and functional approaches to elucidate the molecular mechanisms that differentiate between compounds and to evaluate their behavior in real food matrices.

Keywords

natural sweeteners; steviol glycosides; sensory profile; taste receptors; structure-flavor relationship; *Stevia rebaudiana*.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Introduction

High sugar intake is associated with obesity, type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, and cardiovascular disease[1,2]. Given the rapid increase in their prevalence, scientific evidence has identified excessive sugar consumption as a contributing dietary factor[3], driving the search for natural sweeteners that overcome the drawbacks of artificial additives[4]. Intensive sweeteners offer a sweetness far superior to that of sucrose with minimal caloric content[5,6].

Notable among these is the steviol glycosides (SG) from *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae), a species native to southeastern Paraguay that has been traditionally used by Guaraní communities as a sweetener and medicinal plant[7]. Its leaves contain more than 60 SGs derived from a diterpenoid aglycone, with glycosidic residues at different positions; stevioside and rebaudioside A (Reb A) are the major compounds[8].

Despite their sweetening power—200 to 450 times that of sucrose—and zero caloric content, their main limitation is residual bitterness and a metallic aftertaste, attributed to the activation of the hTAS2R4 and hTAS2R14 taste receptors[9]. The new-generation rebaudiosides D and M have cleaner profiles, although the structural mechanisms explaining these sensory differences remain controversial[10].

It is hypothesized that the number and position of the glycosidic residues in the steviol core determine the sweet-bitter profile of each SG, and that concentration, pH, and food matrix modulate their perception. This article reviews the chemical composition of the main SGs from S. rebaudiana, their interaction with taste receptors, and the factors that influence their sensory performance, with the aim of systematizing available knowledge and guiding formulation strategies that maximize their acceptability[11].

Chemical composition of steviol glycosides:

Stevia rebaudiana is the primary plant source of steviol glycosides, a group of diterpene compounds responsible for this plant's characteristic sweetening power. These metabolites have been studied for decades, both for their potential as natural sweeteners and for their importance in the food industry[12]. The first studies on the chemical characterization of the sweet components of its leaves date back to 1908. The preliminary structure of one of these glycosides, called stevioside, was first published in 1955 and was followed by a series of complementary structural studies, as well as its organic synthesis from steviol in 1980[13].

Steviol glycosides are structurally derived from steviol, a tetracyclic diterpenoid aglycone of the ent-kaurene type (figure 1). Various glucose, rhamnose, or xylose units are attached to this basic structure via an ester bond at positions C-13 and C-19 of the terpene aglycones of the central kaurene skeleton at positions 1,2-, 1,3-, 1,4-, and 1,6 (with α or β bonds)[12,14,15]. To date, more than 60 steviol glycosides

have been identified in S. rebaudiana,[12,16] including the steviol skeleton, stevioside, rebaudiosides A, B, C, D, F, G, I, M, and Q, rubusoside, dulcoside A, and steviolbioside (Figure 1). The two most abundant SGs, stevioside and rebaudioside A, together account for between 7% and 15% of the dry weight of the leaves, a proportion that varies depending on the genotype and the plant's growing and harvesting conditions. Additionally, S. rebaudiana contains trace amounts of rebaudiosides B, C, D, E, F, and M, as well as steviolbioside[12,14].

The structural diversity of SG results in noticeable differences in their properties, such as sweetness, bitterness, and solubility.[15] Among their shared characteristics are a white or slightly yellowish color, a flavor profile similar to that of sucrose, the absence of odor, high sweetening power, and virtually zero calories.[12]



Figure 1. Steviol backbone and steviol glycoside (SG) structures. Groups highlighted in red indicate glycosylation sites. Glc: glucose; Xyl: xylose; Rha: rhamnose.[12]

Stevioside:

Stevioside is one of the most abundant steviol glycosides in the leaves of *Stevia rebaudiana* and one of the first compounds in this group to be structurally characterized. It was identified as a tetracyclic diterpene glycoside (ent-kaurene) with the molecular formula $C_{38}H_{60}O_{18}$, consisting of steviol, ent-13-hydroxykaur-16-en-19-oic acid as the aglycone, esterified at the C-19 carboxylic acid function (R1) with a β-D-glucopyranosyl unit and substituted at the C-13 tertiary hydroxyl (R2) with a β-sophorosyl disaccharide. Its full chemical name corresponds to the β-D-glucopyranosyl ester of 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]ent-kaur-16-en-19-oic acid13 (Table 1).

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Its content in stevia leaves ranges from 5 % to 10 %, making it the primary component of the plant's natural sweeteners. Its sweetening power is estimated to be approximately 300 times that of sucrose; however, despite this high sweetness, it has a characteristic bitterness accompanied by an unpleasant metallic aftertaste. As for its solubility, it is soluble in water, ethanol, and methanol, and insoluble in organic solvents such as benzene, ether, and chloroform[12].

Rebaudioside A:

Rebaudioside A is a natural sweetener extracted from the leaves of S. rebaudiana Bertoni. Among the glycosides present in the plant, Reb A is typically found in concentrations ranging from 1.5 % to 5.0 %. Structurally, it is a tetracyclic diterpenoid glycoside with the molecular formula $C_{44}H_{70}O_{23}$ and 20 carbon atoms, consisting of a steviol aglycone that incorporates a glucosyl group at the C-19 position and three glucosyl groups at the C-13 position. Variations in the number of glucosyl and rhamnosyl groups at the C-13 position determine differences in the compound's sweetness and flavor profile[15,17]. The sophorose group at C-13 acts as the primary determinant of sweetness, while the ester group at C-19 of the aglycone functions as a sensory modulator. The incorporation of multiple glucosyl groups at the C-13 position is essential for achieving high sweetening intensity[15] (table 1). Furthermore, Reb A can be enzymatically converted into other glycosides, positioning it as a key substrate for the microbial synthesis of SG and as the compound of greatest commercial relevance within the biosynthetic pathway of these compounds[12,18].

Its sweetness is estimated to be 450 times greater than that of sucrose. In terms of its sensory profile, it is described as relatively clean, with no off-flavors or grassy notes, although it has a slight initial bitterness and a lingering bittersweet aftertaste[19]. It has low water solubility, ranging from 2 % to 5 %, and is soluble in methanol[12].

Rebaudioside D:

Rebaudioside D (Reb D) is a minor glycoside found in very low concentrations (< 0.2 %) in the leaves of S. rebaudiana[12]. Its chemical structure, with the molecular formula $C_{50}H_{80}O_{28}$, was first described in 1977 and is formed by the linkage of two and three glucosyl groups at the C-19 and C-13 positions of steviol, respectively[15] (Table 1).

Despite its scarce natural occurrence, this compound exhibits a sweetening power between 200 and 350 times that of sucrose, with a rapid onset of sweetness and a prolonged sweet aftertaste. Its sensory profile is characterized as clean, without bitterness and without strange or herbaceous flavors[19]. Its solubility in water is low[12].

Rebaudioside M:

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Rebaudioside M (Reb M) belongs to the so-called new generation of steviol glycosides and has attracted growing interest due to the characteristics of its sensory profile. Its chemical structure, with the molecular formula $C_{56}H_{90}O_{33}$, was first reported in 2014. Reb M is structurally derived from Reb D through the incorporation of an additional glucosyl group at the C-19 position, linked via β-1,3[15,18] glycosidic bonds (table 1). Its natural abundance in the plant is very low, with a mass fraction of less than 0.1 %. It has a sweetening power between 200 and 350 times that of sucrose, with a rapid onset of sweetness and a prolonged sweet aftertaste, an absence of bitterness and of strange or herbaceous flavors[19], and slight solubility in water[12].

Table 1. Molecular formula and composition of the R1/R2 groups of steviol glycosides.

Compound	Molecular formula	R1	R2
Stevioside	$C_{38}H_{60}O_{18}$	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc
Rebaudioside A	$C_{44}H_{70}O_{23}$	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)	β-Glc
Rebaudioside D	$C_{50}H_{80}O_{28}$	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)	β-Glc-β-Glc(2→1)
Rebaudioside M	$C_{56}H_{90}O_{33}$	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)

Sensory profiles of steviol glycosides:

Rebaudioside A has been considered the sweetest steviol glycoside compared to stevioside13, although its sensory profile includes a persistent bitter aftertaste19. Stevioside, which lacks only the glycosylation at the carboxyl group (C-19 position), exhibits lower sweetness and a more pronounced bitterness. Rebaudioside D, on the other hand, exhibits increased sweetness and weaker bitterness compared to other steviol glycosides. As for rebaudioside M, it has been described as the most potent in the group, with greater sweetening intensity and a licorice aftertaste or very slight bitterness compared to the other steviol glycosides[13]. Similarly, it has been observed that Reb D and Reb M exhibit a faster onset of sweetness and a shorter aftertaste, with little residual flavor, compared to the glycosides in sweet tea, conventional stevia, Reb A, and Reb C[11,15].

The human taste system is a sophisticated chemical signaling network that enables the detection of five basic tastes: sweet, bitter, sour, salty, and umami. This sensory capability is mediated by G

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

protein-coupled receptors (GPCRs), which also include metabotropic glutamate receptors (mGluRs), the calcium sensor receptor (CaSR), and the γ-aminobutyric acid receptor (GABAR)[10], expressed by taste receptor cells (TRCs) that assemble into specialized structures called taste buds. Each taste bud contains approximately 100 receptor cells, organized such that each cell expresses receptors specific to a single sensory quality[9,20–23].

Sweet and bitter tasting receptors:

Sweet taste receptor:

The perception of sweetness in humans is mediated exclusively by a heterodimeric receptor belonging to the TAS1R family, composed of the hTAS1R2 and hTAS1R3 proteins[9,23,24]. The T1R subunits are characterized by a large Venus flytrap (VFD) extracellular domain, coupled to a short cysteine-rich domain (CRD) that connects the VFD to a seven-helix transmembrane domain (TMD)[10].

The heterodimeric receptor proteins hTAS1R2 and hTAS1R3 mediate the sweetness of a broad spectrum of chemical compounds, including monosaccharides, disaccharides, sweet proteins, steviol glycosides, and non-nutritive synthetic sweeteners[9,15].

Bitter taste receptor:

In contrast to the detection of sweetness, which depends on a single receptor, the transduction of bitter taste in humans is mediated by a family of approximately 25 receptors encoded by the hTAS2R9, 20–22 genes. Taste receptor cells (TRCs) specialized in detecting bitterness express multiple TAS2R genes in a heterogeneous manner, although not all of them simultaneously within a single cell[9,25]. Among these receptors, hTAS2R4 and hTAS2R14 have been identified as the primary mediators of the bitter aftertaste associated with stevioside, as demonstrated in in vitro studies using HEK2939 cell lines[9,26–29]. Furthermore, cell-based assays, human sensory analysis, and molecular docking studies demonstrated that Reb A also activates the hTAS2R4 and hTAS2R14 receptors[9,30–32].

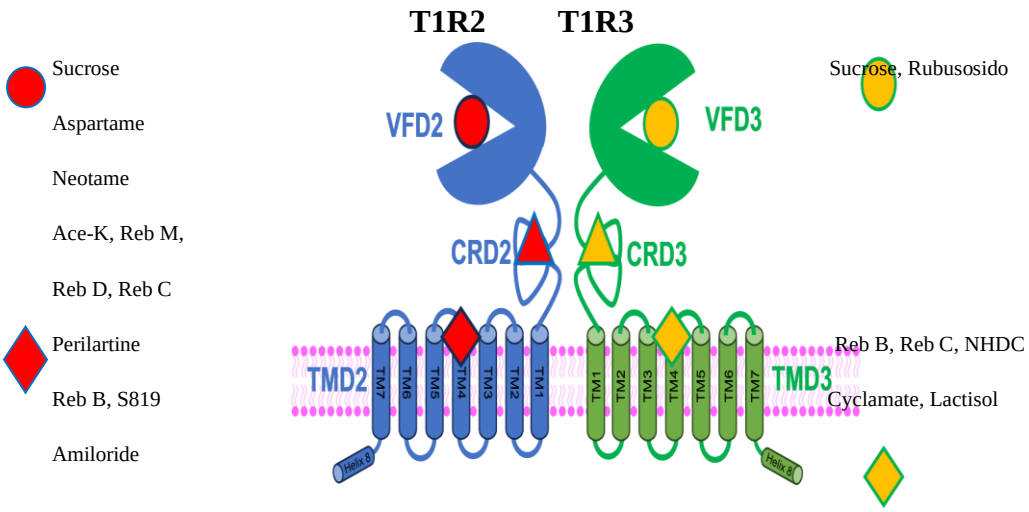


Figure 2. Schemantic of the human heterodimeric receptor for sweet taste. The receptor has multiple binding sites for sweet ligands[10].

Receptor binding kinetics:

The sweet taste receptor hTAS1R2/hTAS1R3 possesses multiple binding sites for sweet ligands, allowing it to be activated by agonists with a wide range of structures and potencies.[10] The extracellular region of the VFD contains two lobes that provide distinct binding pockets in the closed VFD2 and VFD3 domains, facilitating interactions with these ligands; Figure 2 illustrates these binding sites[10,33]. Agonist binding induces a conformational change in the VFD2 and VFD3 subdomains, shifting from an open-open conformation to a closed-open conformation. It is postulated that this closed-open conformation contributes to the active state of the hTAS1R2/hTAS1R3 heterodimer[10].

Activation of the sweet receptor hTAS1R2/hTAS1R3 triggers the activation of a heterotrimeric G protein (Gp) complex composed of a Gα subunit and a Gβγ dimer. This process promotes the exchange of guanosine diphosphate (GDP) for guanosine triphosphate (GTP) in the Gα subunit, leading to its dissociation. G protein activation stimulates signaling via the sweet taste pathway, resulting in the activation of intracellular second messengers such as cyclic adenosine monophosphate (cAMP), inositol trisphosphate (IP3), and calcium ions[10,34], which ultimately generate neural impulses toward the central sensory centers.

Artificial sweeteners bind to the VFD2 domain of the hTAS1R2 subunit, while the VFD3 domain preferentially binds natural sugars such as fructose and sucrose. The transmembrane domains TMD2 and TMD3, in turn, interact with allosteric modulators: TMD2 interacts with allosteric agonists such as perillartine and positive allosteric modulators such as S819[10,35], while TMD3 interacts with negative modulators such as lactisol and gymnemic acid[10,33,36,37], as well as with artificial sweeteners such as NHDC and cyclamate[10,33] (figure 2).

Using a combination of experimental and computational approaches, Hao et al.[10] characterized the binding of steviol glycosides to the sweet receptor and classified Reb M and Reb D as ligands with high sweetening potency, with Reb M exhibiting slightly greater sweetness than Reb D.

One of the most significant findings of this study concerns the role of G protein in receptor binding affinity. G protein coupling, specifically the last 20 amino acid residues at the carboxyl terminus of Gα (GNAT3), referred to as C20, can occur at both TMD2 and TMD3 and has differential effects on ligand binding affinity. For Reb M, C20 coupling to TMD2 enhanced binding to VFD2, whereas coupling to TMD3 increased the affinity for VFD3 and TMD3. These results support the hypothesis that the activation process of the sweet heterodimer is modulated by G protein coupling. In the

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

absence of this, sweet ligand binding might not sufficiently stabilize the heterodimer's conformation, which would lead to the opening of a greater number of binding pockets available for steviol rebaudiosides[10].

The interaction of steviol glycosides with bitter taste receptors occurs via noncovalent bonds; however, a smaller number of substituents in the molecule can facilitate a tighter binding to the receptor, prolonging and intensifying the sensation of bitterness. Consequently, both the total chain length of the compound and the number of substituents are determining factors in the perception of bitterness[11].

Structure–taste relationship of steviol glycosides:

The relationship between molecular structure and sweetness intensity indicates that the glucosyl residues at positions C-19 (R1) and C-13 (R2) of the steviol core are essential for the expression of this sensory property[13]. In a dynamic sensory modeling study of the time-intensity profiles of sweetness and bitterness for six steviol glycosides, it was found that the presence and number of glucosyl groups significantly influence the temporal perception profiles[11], [15]. The most relevant results of this study indicate that:

- The fewer the number of glucosyl groups at the C-19 position, the shorter the duration of sweetness stimulation and the longer the perception of bitterness.

- The greater the number of glucosyl groups at C-13, the more intense and rapid the onset of sweetness.

- Compounds with fewer sugar groups exhibit a lower desorption rate at taste receptors, resulting in a persistent bitter aftertaste. This phenomenon is explained by the fact that, as the substituents at the C-19 position of the steviol glycoside become more numerous and bulky, they increase the desorption rate and, thereby, accelerate the decline in sweetness.

The bitter taste of steviol glycosides appears to be influenced by structural characteristics that simultaneously impair the perception of sweetness; in fact, differences in the total number of β-glucosyl units result in marked distinctions in the bitter profile of each compound. Although it has not been precisely clarified which regions of steviol glycoside molecules are decisive for sweetness, it is evident that the organoleptic properties are determined by both the regioselectivity and the bond specificity of the glucosyl residues[13].

Factors that intensify bitterness:

In steviol glycosides, the intensification of bitterness is due to a multifactorial effect. Increasing the concentration raises the likelihood of perceiving bitter, metallic, and astringent notes, especially when

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

the sweetener almost completely replaces sucrose. However, perception does not depend solely on the dose, but also on the food matrix, which can mask or amplify the sensory defect depending on its content of proteins, lipids, pectins, and soluble solids. Likewise, pH modulates the balance between acidity and sweetness, influencing the final expression of the sensory profile within the food. Table 2 summarizes the representative studies for each of these factors.

Table 2. Representative studies of the factors that intensify bitterness.

Factors	Studies conducted	Findings	Bitterness mitigation strategies	References
Concentration	Sensory profiles of Reb A, Reb D, and Reb M (0.1% w/v) compared to 14% w/v sucrose were evaluated using a consumer panel.	Reb A was perceived as bitter, chemical, and artificial; Reb D and Reb M did not differ significantly from sucrose, though they showed greater residual sweetness.	Not specified	19
	Acceptability of ice cream sweetened with Reb A, D, and M (0.09% w/v) compared to 14% w/v sucrose (n = 92) was determined.	Ice cream with Reb A showed the highest bitterness and lowest acceptability; only Reb M matched the sweetness intensity of sucrose.	Not specified	38
	Six binary and ternary blends of Reb A, Reb D, and Reb M were evaluated using a trained panel (n = 6), an electronic tongue, and a consumer panel in ice cream (n = 83).	Blend 6 (16.7% Reb A, 66.7% Reb D, and 16.6% Reb M) showed the lowest bitterness and highest acceptability compared to Reb A alone.	Formulation of ternary blends with Reb D predominance (≥66%), which reduces affinity for hTAS2R receptors without diminishing sweetening potency.	39
	Sucrose substitution with	Without additives, only up to 10%	Addition of amidated pectin and	40

	SG in apple preserves with different additives was evaluated. Without additives, only up to 10% substitution maintained a high sensory balance.	substitution maintained a high sensory balance.	citric acid adjusts pH to 3.20–3.29, masking bitter and metallic aftertaste.	
	Two stevia concentrations (0.07% and 0.14%) in apricot nectar were evaluated.	Nectar with 0.07% stevia matched the acceptability of nectar with 10% sucrose.	Not specified	41
pH	Sucrose substitution with SG in apple preserves under different pH conditions and with additives was evaluated.	Increased acidity amplified the negative sensory attributes of SG.	pH controlled at 3.20–3.29 with amidated pectin and citric acid: attenuates bitterness and enhances the perception of fruit sweetness.	40
Food matrix	Muffins were prepared with 25%, 50%, 75%, and 100% sucrose substitution.	Only 25% substitution maintained acceptable sensory and quality parameters.	Not specified	42
	Cookies were made with different proportions of sucrose and ground stevia leaves.	The 50% sucrose / 50% stevia formulation achieved the highest acceptability.	Not specified	43
	Ice cream for people with diabetes sweetened with	The product achieved good sensory	Not specified	44

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

	stevia was developed.	acceptability with 11% stevioside.		
	An oat beverage with stevia powder as a sweetener was developed.	The combination of 60% stevia and 40% sucrose was the most accepted formulation.	Not specified	45
	Brown rice cookies supplemented with *Moringa oleifera* and *Stevia rebaudiana* were prepared.	The supplemented cookies reached the "like very much" category in sensory acceptance tests.	Not specified	46
	Frozen chocolate desserts sweetened with stevia extract (97% Reb A) were formulated.	The desserts were characterized by greater bitterness, sweet aftertaste, and bitter aftertaste.	Not specified	47
	Stevia, thaumatin, and their blend (1:1) were evaluated in the sensory profile of skyr yogurt with mango pulp.	Yogurt with stevia showed greater bitterness and metallic taste; the stevia/thaumatin blend proved to be a viable alternative for sucrose substitution.	Stevia/thaumatin blend (1:1) masks the bitterness of SG without significant caloric increase.	48
	The acceptability of natural sweeteners in protein beverages was evaluated.	Blends with reduced sugar showed lower bitterness and metallic taste than beverages sweetened with stevia alone.	Partial substitution of sucrose reduces the effective concentration of SG and their interaction with bitter taste receptors.	49

SG were encapsulated by spray drying, freeze drying, and vacuum oven drying, with maltodextrin and inulin in different proportions.	Spray drying with maltodextrin:inulin 80:20 reduced the bitter aftertaste to the lowest value and achieved the highest overall acceptability.	Microencapsulation by spray drying with maltodextrin:inulin 80:20 at 2.5% SG releases the sweetener in a controlled manner and reduces contact with bitter taste receptors.	50

Conclusions

The sensory profile of the steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni depends primarily on the degree and position of glycosylation on the steviol skeleton. Greater substitution at C-13 intensifies sweetness, while lesser substitution at C-19 prolongs bitterness. Rebaudioside D and rebaudioside M exhibit the most favorable profiles for this reason. Sweetness is mediated by hTAS1R2/hTAS1R3 and bitterness by hTAS2R4 and hTAS2R14; the coactivation of both pathways limits the acceptability of these compounds, and their selectivity mechanisms are not fully understood. Enzymatic modification to increase glycosylation is the most widely supported strategy for reducing bitterness. Partial sucrose replacement, ternary mixtures with a predominance of Reb D, and spray-drying microencapsulation are equally effective at the formulation level.

References

1. Pereira MA, Odegaard AO. Artificially sweetened beverages — do they influence cardiometabolic risk? Curr Atheroscler Rep. 2013;15(12):375. doi:10.1007/s11883-013-0375-z.
2. Manzur-Jattin F, Morales Núñez MD, Ordosgoitia-Morales J, Quiroz-Mendoza R, Ramos-Villegas Y, Corrales-Santander H. Impacto del uso de edulcorantes no calóricos en la salud cardiometabólica. Rev Colomb Cardiol. 2020;27(2):103–108.
3. Swithers SE. Artificial sweeteners are not the answer to childhood obesity. Appetite. 2015;93:85–90. doi:10.1016/j.appet.2015.03.027.
4. Saraiva A, Carrascosa C, Raheem D, Ramos F, Raposo A. Natural sweeteners: the relevance of food naturalness for consumers, food security aspects, sustainability and health impacts. Foods. 2020;9(9):1320. doi:10.3390/foods9091320.

5. Carocho M, Morales P, Ferreira ICFR. Sweeteners as food additives in the XXI century: a review of what is known, and what is to come. Food Chem Toxicol. 2017;107:302–317. doi:10.1016/j.fct.2017.06.046.
6. Shah R, de Jager LS. Recent analytical methods for the analysis of sweeteners in food: a regulatory perspective. Food Drug Adm Pap. 2017;5:13–32.
7. Landázuri P, Tigrero JO. *Stevia rebaudiana* Bertoni, una planta medicinal. Sangolquí: ESPE; 2009.
8. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Ah-Hen K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. Food Chem. 2012;132(3):1121–1132. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.140.
9. Hellfritsch C, Brockhoff A, Stähler F, Meyerhof W, Hofmann T. Human psychometric and taste receptor responses to steviol glycosides. J Agric Food Chem. 2012;60(27):6782–6793. doi:10.1021/jf301297n.
10. Hao S, Guthrie B, Kim SK, et al. Steviol rebaudiosides bind to four different sites of the human sweet taste receptor (T1R2/T1R3) complex explaining confusing experiments. Commun Chem. 2024;7:236. doi:10.1038/s42004-024-01324-x.
11. Tian X, Zhong F, Xia Y. Dynamic characteristics of sweetness and bitterness and their correlation with chemical structures for six steviol glycosides. Food Res Int. 2022;151:110848. doi:10.1016/j.foodres.2021.110848.
12. Jiang L, Zhao X, Li W, Tang G, Yuan Y, Cheng J, et al. A comprehensive review on steviol glycosides: sources, properties, bioactivities, sensory-functional enhancement and bioproduction strategies. Plants. 2026;15(2):324. doi:10.3390/plants15020324.
13. Gerwig GJ, Te Poele EM, Dijkhuizen L, Kamerling JP. Stevia glycosides: chemical and enzymatic modifications of their carbohydrate moieties to improve the sweet-tasting quality. Adv Carbohydr Chem Biochem. 2016;73:1–72. doi:10.1016/bs.accb.2016.05.001.
14. Ceunen S, Geuns JMC. Steviol glycosides: chemical diversity, metabolism, and function. J Nat Prod. 2013;76(6):1201–1228. doi:10.1021/np400203b.
15. Wang A, Hu H, Yuan Y, Mei S, Zhu G, Yue Q, et al. Structure, properties, and biomedical activity of natural sweeteners steviosides: an update. Food Sci Nutr. 2025;13(2):e70002. doi:10.1002/fsn3.70002.
16. Zhou X, Gong M, Lv X, Liu Y, Li J, Du G, et al. Metabolic engineering for the synthesis of steviol glycosides: current status and future prospects. Appl Microbiol Biotechnol. 2021;105:5367–5381. doi:10.1007/s00253-021-11419-3.

17. Jung J, Kim S, Park S, Hong JH. Sweetness profiles of glycosylated rebaudioside A and its binary mixtures with allulose and maltitol. Food Sci Biotechnol. 2021;30(3):423–432. doi:10.1007/s10068-020-00873-w.
18. Prakash I, Markosyan A, Bunders C. Development of next generation stevia sweetener: rebaudioside M. Foods. 2014;3(1):162–175. doi:10.3390/foods3010162.
19. Tao R, Cho S. Consumer-based sensory characterization of steviol glycosides (rebaudioside A, D, and M). Foods. 2020;9(8):1026. doi:10.3390/foods9081026.
20. Adler E, Hoon MA, Mueller KL, Chandrashekar J, Ryba NJ, Zuker CS. A novel family of mammalian taste receptors. Cell. 2000;100:693–702.
21. Chandrashekar J, Mueller KL, Hoon MA, Adler E, Feng L, Guo W, et al. T2Rs function as bitter taste receptors. Cell. 2000;100:703–711.
22. Matsunami H, Montmayeur JP, Buck LB. A family of candidate taste receptors in human and mouse. Nature. 2000;404:601–604.
23. Li X, Staszewski L, Xu H, Durick K, Zoller M, Adler E. Human receptors for sweet and umami taste. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(7):4692–4696. doi:10.1073/pnas.072090199.
24. Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJ, Zuker CS. Mammalian sweet taste receptors. Cell. 2001;106:381–390.
25. Behrens M, Foerster S, Staehler F, Raguse JD, Meyerhof W. Gustatory expression pattern of the human TAS2R bitter receptor gene family reveals a heterogeneous population of bitter responsive taste receptor cells. J Neurosci. 2007;27:12630–12640.
26. Maehashi K, Matano M, Wang H, Vo LA, Yamamoto Y, Huang L. Bitter peptides activate hTAS2Rs, the human bitter receptors. Biochem Biophys Res Commun. 2008;365:851–855. doi:10.1016/j.bbrc.2007.11.070.
27. Sainz E, Cavenagh MM, Gutierrez J, Battey JF, Northup JK, Sullivan SL. Functional characterization of human bitter taste receptors. Biochem J. 2007;403:537–543. doi:10.1042/bj20061744.
28. Shankar P, Ahuja S, Sriram K. Non-nutritive sweeteners: review and update. Nutrition. 2013;29:1293–1299. doi:10.1016/j.nut.2013.03.024.
29. Bhardwaj V, Singh R, Singh P, Purohit R, Kumar S. Elimination of bitter off-taste of stevioside through structure modification and computational interventions. J Theor Biol. 2020;486:110094. doi:10.1016/j.jtbi.2019.110094.

30. Acevedo W, González-Nilo F, Agosin E. Docking and molecular dynamics of steviol glycoside–human bitter receptor interactions. J Agric Food Chem. 2016;64(40):7585–7596. doi:10.1021/acs.jafc.6b02840.
31. Singla R, Jaitak V. Synthesis of rebaudioside A from stevioside and their interaction model with hTAS2R4 bitter taste receptor. Phytochemistry. 2016;125:106–111. doi:10.1016/j.phytochem.2016.03.004.
32. Belloir C, Jeannin M, Karolkowski A, Scott C, Briand L. A receptor-based assay to study the sweet and bitter tastes of sweeteners and binary sweet blends: the SWEET project. Chem Senses. 2024;49:bjae041. doi:10.1093/chemse/bjae041.
33. Fujiwara S, Imada T, Nakahara K, et al. Sweeteners interacting with the transmembrane domain of the human sweet-taste receptor induce sweet-taste synergisms in binary mixtures. Food Chem. 2012;130:561–568.
34. Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane receptors. Nat Rev Mol Cell Biol. 2002;3:639–650.
35. Kim SK, Chen Y, Abrol R, Goddard WA, Guthrie B. Activation mechanism of the G protein-coupled sweet receptor heterodimer with sweeteners and allosteric agonists. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114:2568–2573.
36. Xu H, Staszewski L, Tang H, Adler E, Zoller M, Li X. Different functional roles of T1R subunits in the heteromeric taste receptors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:14258–14263.
37. Nakagita T, Ishida A, Matsuya T, Kobayashi T, Narukawa M, Hirokawa T, et al. Structural insights into the differences among lactisole derivatives in inhibitory mechanisms against the human sweet taste receptor. PLoS One. 2019;14(3):e0213552. doi:10.1371/journal.pone.0213552.
38. Muenprasitivej N, Tao R, Nardone SJ, Cho S. The effect of steviol glycosides on sensory properties and acceptability of ice cream. Foods. 2022;11(12):1745. doi:10.3390/foods11121745.
39. Moazzem MS, Williams R, Hayden M, D'Souza N, Cho S. Taste profiles of steviol glycoside blends and their application in ice cream. Int J Gastron Food Sci. 2025;40:101143. doi:10.1016/j.ijgfs.2025.101143.
40. Pielak M, Czarniecka-Skubina E, Głuchowski A. Effect of sugar substitution with steviol glycosides on sensory quality and physicochemical composition of low-sugar apple preserves. Foods. 2020;9(3):293. doi:10.3390/foods9030293.

41. Reale A, Di Renzo T, Russo A, Niro S, Ottombrino A, Pellicano MP. Production of low-calorie apricot nectar sweetened with stevia: impact on qualitative, sensory, and nutritional profiles. Food Sci Nutr. 2020;8(4):1837–1847. doi:10.1002/fsn3.1464.
42. Karp S, Wyrwisz J, Kurek M, Wierzbicka A. Physical properties of muffins sweetened with steviol glycosides as the sucrose replacement. Food Sci Biotechnol. 2016;25(6):1591–1596. doi:10.1007/s10068-016-0245-x.
43. Guerrero GA, Vázquez MB, Maraulo GE, Beaufort CE, Wallinger ML. Evaluación y caracterización sensorial, emocional y de consumo de galletas endulzadas con hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni de cultivo agroecológico. Cienc Tecnol Aliment. 2025;35(3):25–32.
44. Rodríguez D, Camejo J, Rodríguez T, M'Boumba A, Seivane A, de Hombre-Morgado R. Utilización del edulcorante estevia en helado para diabéticos. Cienc Tecnol Aliment. 2016;26(3):34–38.
45. Ruiz Güiza JP, Heredia Avella M. Evaluación del efecto sobre la vida útil del uso de *Stevia rebaudiana* Bertoni como edulcorante en una bebida a base de avena [tesis de grado]. Bogotá: Universidad de La Salle; 2017.
46. Almora-Hernández E, Monteagudo-Borges R, Lago-Abascal V, León-Sánchez G, Rodríguez-Jiménez E. Evaluación fisicoquímica y sensorial de galletas de arroz integral suplementadas con Moringa oleifera y *Stevia rebaudiana*. Tecnol Quim. 2023;43(1):81–100.
47. De Medeiros AC, Filho ERT, Bolini HMA. Impact of natural and artificial sweeteners compounds in the sensory profile and preference drivers applied to traditional, lactose-free, and vegan frozen desserts of chocolate flavor. J Food Sci. 2019;84(10):2973–2982. doi:10.1111/1750-3841.14806.
48. Pereira CTM, Pereira DM, Bolini HMA. Influence of a prebiotic and natural sweeteners on the sensory profile of skyr yogurt with mango pulp. J Food Sci. 2021;86(6):2626–2639. doi:10.1111/1750-3841.15760.
49. Parker MN, Lopetcharat K, Drake MA. Consumer acceptance of natural sweeteners in protein beverages. J Dairy Sci. 2018;101(10):8875–8889. doi:10.3168/jds.2018-14707.
50. Chranioti C, Chanioti S, Tzia C. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant): evaluation of the final products. Food Chem. 2016;190:1151-1158. doi:10.1016/j.foodchem.2015.06.083.

| ***Received:*** *[10 agosto 2026]* | ***Accepted:*** *20 octubre 2026* | ***Published:*** *15 noviembre 2026* |

Citation: Díaz, Y; Iglesias, D; Arencibia, J; Doyharzabal, J. Steviol glycosides from Stevia rebaudiana: chemical composition, taste receptors and factors that determine the sensory profile. Bionatura. 2026; Volume 11. No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/
All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

M4. FERTILIZANTE MEZCLA ESPECIAL

M4. es un fertilizante mezcla especial de origen orgánico que estimula y vigoriza las plantas desde la germinación hasta la fructificación.
COMPOSICIÓN aminoácidos microbianos libres, betaglucanos y quitosanos biológicamente activos.
CULTIVOS: para todo tipo de cultivos.
DOSIS : 1-4 litros/ha
APLICACIÓN: germinación, plántula, desarrollo, prefloración, floración, cuajado del fruto. Agitar antes de usar.

AGROCALIDAD REGISTRO: 181-RO-FABRICANTE-AGR

CONTACTO: Dr. Julio Pineda Insuasti , PhD.
info.biodiversity@gmail.com , Cel. +593 99 758 9267, Ibarra -Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: https://cebaecuador.org/ , inf.ceba@gmail.com ,
Cel + 593 99 579 7813, Ibarra-Ecuador
26/7/2026 info.biodiversity@gmail.com



Bionatura

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Research Article

Neutrophil-to-lymphocyte ratio and difficult laparoscopic cholecystectomy in acute calculous cholecystitis: a two-centre cohort

Leonardo Javier Mancheno Benalcázar[1], Fernando Xavier Moreno Genoves[1], Maité González Saborit[2]*

[1] Postgraduate Program in General and Laparoscopic Surgery, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

[2] Hospital Básico San Luis de Otavalo, Otavalo, Ecuador.

Leonardo Javier Mancheno Benalcázar — Postgraduate physician in General and Laparoscopic Surgery; Email: leonardojaviermanchenob@hotmail.com; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3513-0369.

Fernando Xavier Moreno Genoves — Postgraduate physician in General and Laparoscopic Surgery; Email: fernando.med.ec@gmail.com; ORCID: https://orcid.org/0009-0007-7815-0796.

Maité González Saborit — Specialist in General Surgery; Email: gonzalezsaboritm@gmail.com; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1301-591X.

* Correspondence: Maité González Saborit, Hospital Básico San Luis de Otavalo, Sucre s/n y Estados Unidos, Otavalo 100201, Ecuador; Email: gonzalezsaboritm@gmail.com; Telephone: +593 96 230 1150.

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.5)

Abstract

The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) is readily available before surgery, but its ability to predict difficult laparoscopic cholecystectomy remains uncertain. This two-centre retrospective cohort study developed and internally validated a multivariable prediction model in 360 adults with acute calculous cholecystitis who underwent laparoscopic cholecystectomy at two Ecuadorian public hospitals from January 2022 to January 2025. Difficult cholecystectomy was defined by operative time ≥180 min, intraoperative bleeding ≥300 mL, or conversion to open surgery for technical difficulty. NLR was log2-transformed. Logistic regression adjusted for age, sex, ASA class, comorbidity, symptom duration, and hospital. Discrimination, calibration, and bootstrap internal validation were assessed. Difficult cholecystectomy occurred in 111 patients (30.83%); 99 (89.19%) met the definition solely because of bleeding. Median NLR was 2.87 (IQR 2.00-6.62) in difficult procedures and 2.07 (IQR 1.34-3.16) in other procedures ($p<0.001$). Each NLR doubling was associated with higher adjusted odds (OR 1.704, 95% CI 1.359-2.138). NLR alone had an AUC of 0.665 (95% CI 0.604-0.725). The exploratory 2.16 cut-off yielded 72.97% sensitivity and 53.82% specificity. The adjusted model had

an apparent AUC of 0.747 and an optimism-corrected AUC of 0.725; the Brier score was 0.178. Higher preoperative NLR was independently associated with difficult cholecystectomy, but discrimination by NLR alone was modest. The cut-off and model require external validation before clinical use.

Keywords: neutrophil-to-lymphocyte ratio; acute cholecystitis; laparoscopic cholecystectomy; surgical difficulty; risk prediction

Introduction

Acute calculous cholecystitis is a frequent indication for emergency surgery and creates a sustained workload for general surgical services [1, 2]. Laparoscopic cholecystectomy is the treatment of choice, but inflammation may obscure the hepatocystic triangle, prolong surgery, increase bleeding, and lead to conversion to an open procedure [3-5]. Preoperative identification of technically complex cases could improve operative planning, resource allocation, and team composition [6].

Gallstone disease is a major cause of hospital morbidity in Ecuador. National records list gallbladder stones as the leading cause of hospital discharge in 2024, with 51,781 cases [7]. Approximately 860 cholecystectomies are performed annually at Hospital General San Vicente de Paúl in Ibarra [8], supporting the potential value of an objective preoperative assessment tool.

Clinical, ultrasonographic, and combined scores have been proposed, together with models that include inflammatory markers [9-12]. Their use depends on consistent availability of the component variables. In the participating hospitals, some findings required by published scores, including gallbladder wall thickness and previous cholecystitis episodes, were not recorded consistently enough for direct application or external evaluation.

The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), calculated from a complete blood count, is an inexpensive and routinely available marker of systemic inflammation [13, 14]. Previous studies have linked it to acute cholecystitis severity, conversion, and prolonged postoperative recovery [15-18]. Its discrimination and incremental contribution to an adjusted clinical model, however, require evaluation in specific care settings and had not been examined in an Ecuadorian cohort undergoing surgery for acute calculous cholecystitis.

We therefore evaluated whether preoperative NLR predicted difficult laparoscopic cholecystectomy in adults treated at two hospitals in Imbabura Province from January 2022 to January 2025. We examined NLR alone and within a model adjusted for routinely available clinical variables.

Materials And Methods

Study design and setting

This multicentre retrospective cohort study used medical records from two public secondary-care hospitals in Imbabura, Ecuador. Hospital General San Vicente de Paúl is the provincial referral centre and has seven general surgeons and 12-hour daily operating-room availability. Hospital San Luis de Otavalo serves Otavalo canton and its surrounding area, has five general surgeons, and has provided 12-hour daily operating-room availability since 2023. Reporting was assessed against TRIPOD+AI and STROBE recommendations [19].

Participants

Eligible patients were aged 18-85 years, met the Tokyo Guidelines 2018 diagnostic criteria for acute calculous cholecystitis [2], and underwent laparoscopic cholecystectomy between January 2022 and January 2025. We included records containing a preoperative complete blood count and hepatobiliary ultrasonography plus complete documentation of intraoperative variables. We excluded records lacking information needed to calculate NLR or assess surgical difficulty; diagnoses other than acute cholecystitis; primary open surgery; conversion unrelated to technical difficulty; haematological, immunological, or infectious conditions that altered leukocyte counts; corticosteroid or immunosuppressive treatment; another concurrent infection; and pregnancy.

Sampling and sample size

The sampling frame contained 2,228 cholecystectomies for gallstone disease. Records were selected by random sampling stratified by hospital, with non-proportional quotas of 242 from Ibarra and 118 from Otavalo to represent the provincial referral setting. Within each stratum, records were placed in random order and reviewed until the quota was reached. The original calculation used 95% confidence, 5% precision, and an expected proportion of 50%, giving 384 participants; the final sample of 360 was 93.7% of this target and exceeded the finite-population estimate of approximately 328. This calculation was designed to estimate a population proportion rather than specifically for prediction-model development. The analysed sample contained 111 outcome events for nine fitted regression parameters; this information is reported to permit assessment of model stability, while the non-model-specific sample-size design remains a limitation.

Outcome and predictors

The primary outcome was difficult cholecystectomy, defined according to Inoue et al. 20 as at least one of: operative time ≥180 min, intraoperative bleeding ≥300 mL, or conversion to open surgery for technical difficulty. Operative time came from the surgical report. In both hospitals, intraoperative blood loss was estimated visually, primarily from the number of laparoscopic gauze swabs used; a completely saturated gauze swab was estimated to contain approximately 5 mL of blood. The

estimated volume was documented by the anaesthesia service in the transanaesthetic record and checked against the surgical report. Conversion and its indication came from the operative description. Technical conversion comprised inability to identify structures in the hepatocystic triangle, uncontrolled bleeding, or injury to adjacent structures. Intraoperative inflammation was classified with the Parkland grading scale 21, 22. NLR was the absolute neutrophil count divided by the absolute lymphocyte count in the admission complete blood count obtained before surgery; thus, all candidate predictors were recorded before the operative outcome occurred. We also recorded age, sex, ASA class, any comorbidity, symptom duration, hospital, intraoperative events, and hospital length of stay.

Statistical analysis

Analyses used Stata 17 (StataCorp LLC, College Station, TX, USA). Continuous variables were summarized as mean ± standard deviation or median and interquartile range (IQR), according to the Shapiro-Wilk test; categorical variables were summarized as counts and percentages. NLR was log2-transformed because of marked skewness, so coefficients represent each doubling. We used the Wilcoxon-Mann-Whitney test for between-group NLR comparisons, Kruskal-Wallis and Spearman tests for Parkland grade, logistic regression for difficult cholecystectomy, and Poisson regression for length of stay after excluding overdispersion against a negative binomial model. Age, sex, ASA class, comorbidity, symptom duration, and hospital were prespecified and retained regardless of statistical significance; no data-driven selection was used. Discrimination was measured by AUC with 95% CI. Calibration was assessed with the Hosmer-Lemeshow test and Brier score. A calibration plot, calibration slope, and calibration intercept were not calculated and are acknowledged as unavailable. An exploratory threshold was selected with the Youden index, with sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios. Internal validation used 1,000 bootstrap resamples to estimate optimism. There was no external validation. Two-sided $p<0.05$ indicated statistical significance.

Ethics

The study was approved on 5 June 2026 by the Human Research Ethics Committee of Hospital Básico San Luis de Otavalo (CEISH-HBSLO; approval letter CEISH-HBSLO-AP-004-2026; protocol reference IE-EX004-2026-CEISH-HBSLO), with validity through 5 June 2027, and was classified as minimal risk. Together with the institutional letters of interest issued by Hospital General San Vicente de Paúl and Hospital Básico San Luis de Otavalo, this approval authorised the process of collecting anonymised or pseudonymised data from the hospitals' clinical records. Data collection began on 15 June 2026, 10 days after ethics approval. The approved protocol specified retrospective review of previously recorded clinical data, no direct participant contact, and use of anonymised institutional databases. CEISH-HBSLO waived the requirement for individual informed consent because the study

used retrospective, anonymised secondary data without participant contact. Procedures followed the Declaration of Helsinki and applicable Ecuadorian requirements for research and personal-data protection.

Results

Of 2,228 cholecystectomies in the sampling frame, 376 records were reviewed and 16 (4.3%) were excluded: 12 for insufficient information, three for age <18 years, and one for age above the eligible range. The analysis included 360 patients: 242 from Hospital General San Vicente de Paúl and 118 from Hospital San Luis de Otavalo. No analysed variable had missing data, and no imputation was performed.

Median age was 39 years (IQR 28-52), and 268 patients (74.44%) were women. ASA I and II accounted for 56.11% and 35.83%, respectively; 8.33% had at least one comorbidity. Symptom duration was ≥72 hours in 89.44%. Median NLR was 2.26 (IQR 1.57-4.08), and Parkland grade II was most frequent (51.39%) (Table 1).

Difficult cholecystectomy occurred in 111 patients (30.83%). Bleeding dominated the composite: 99 cases (89.19% of difficult procedures) met only the ≥300-mL bleeding criterion. One criterion was met by 105 cases (94.59%), and two criteria by six (5.41%). No bile duct injury occurred (Table 2).

Median NLR was higher in difficult procedures (2.87, IQR 2.00-6.62) than in other procedures (2.07, IQR 1.34-3.16; $p<0.001$). Each doubling of NLR increased the odds of the primary outcome in crude (OR 1.660, 95% CI 1.351-2.039) and adjusted analyses (OR 1.704, 95% CI 1.359-2.138; $p<0.001$). Median NLR increased from 1.73 in Parkland grade I to 6.62 in grade V (Kruskal-Wallis $p<0.001$), but correlation was weak (rho=0.239) with substantial overlap. NLR was associated with length of stay (adjusted IRR 1.059, 95% CI 1.011-1.110; $p=0.016$) and at least one intraoperative event (adjusted OR 1.487, 95% CI 1.213-1.823; $p<0.001$) (Table 3).

NLR alone had an AUC of 0.665 (95% CI 0.604-0.725). The exploratory 2.16 threshold favoured sensitivity (72.97%) over specificity (53.82%); negative and positive predictive values were 81.71% and 41.33%. In the multivariable model, ASA III was associated with higher odds than ASA I (OR 3.838; $p=0.006$), and Hospital San Luis de Otavalo with lower odds than Hospital General San Vicente de Paúl (OR 0.256; $p<0.001$). The apparent model AUC was 0.747 (95% CI 0.696-0.799), greater than for NLR alone ($p=0.0033$). Mean bootstrap optimism was 0.022 and optimism-corrected AUC was 0.725. The Brier score was 0.178; the Hosmer-Lemeshow test gave $p=0.471$ (Table 4). The complete model was $\eta = -0.7744 + 0.5331\times\log2(\text{NLR}) - 0.0099\times\text{age} - 0.0627\times\text{female sex} - 0.0336\times\text{ASA II} + 1.3450\times\text{ASA III} + 0.3251\times\text{comorbidity} - 0.2099\times\text{symptom duration} \geq 72\text{ h} - 1.3629\times\text{Hospital San Luis de Otavalo}$, with $P(\text{difficult cholecystectomy}) = \exp(\eta)/[1 + \exp(\eta)]$.

Binary variables were coded 1 when present and 0 when absent. Reference categories were male sex, ASA I, no comorbidity, symptom duration <72 h, and Hospital General San Vicente de Paúl.

Note Data are n (%) unless otherwise stated. Percentages are within columns. Difficult cholecystectomy was defined as operative time ≥180 min, bleeding ≥300 mL, or conversion for technical difficulty. Hospital comparisons are descriptive.

Note Percentages use 111 difficult procedures as the denominator. Individual components may coexist. No bile duct injury occurred.

Note Estimates per doubling use log2(NLR). Adjusted models included age, sex, ASA class, comorbidity, symptom duration, and hospital. Poisson regression was used for length of stay; negative-binomial alpha was approximately 0 (p=0.500).

Note The 2.16 threshold was derived and evaluated in the same cohort. Wilson intervals were used for sensitivity, specificity, and predictive values. Reference categories: male sex, ASA I, no comorbidity, symptoms <72 h, and Hospital General San Vicente de Paúl. No patient was ASA IV. Apparent AUC 0.747; optimism-corrected AUC 0.725; Brier score 0.178; Hosmer-Lemeshow p=0.471.

Table 1. Clinical and operative characteristics overall and by hospital (n=360)

Variable	Category or measure	San Vicente de Paúl (n = 242)	San Luis de Otavalo (n = 118)	Total (n = 360)
Demographic characteristics				
Age, years	Mean ± SD	41.79 ± 16.26	39.36 ± 15.32	40.99 ± 15.98
	Median (IQR)	39.5 (28-52)	36.5 (29-49)	39 (28-52)
Age categories	18-30 years	79 (32.64)	37 (31.36)	116 (32.22)
	31-64 years	137 (56.61)	73 (61.86)	210 (58.33)
	65-85 years	26 (10.74)	8 (6.78)	34 (9.44)
Sex	Male	64 (26.45)	28 (23.73)	92 (25.56)
	Female	178 (73.55)	90 (76.27)	268 (74.44)
Preoperative clinical profile				
ASA class	I	104 (42.98)	98 (83.05)	202 (56.11)
	II	109 (45.04)	20 (16.95)	129 (35.83)
	III	29 (11.98)	0 (0.00)	29 (8.06)
Comorbidity	Present	19 (7.85)	11 (9.32)	30 (8.33)

Symptom duration	<72 h	28 (11.57)	10 (8.47)	38 (10.56)
	≥72 h	214 (88.43)	108 (91.53)	322 (89.44)
NLR	Median (IQR)	2.46 (1.77-4.37)	1.88 (1.24-3.10)	2.26 (1.57-4.08)
NLR categories	<3	150 (61.98)	85 (72.03)	235 (65.28)
	3-5	36 (14.88)	18 (15.25)	54 (15.00)
	>5	56 (23.14)	15 (12.71)	71 (19.72)
Intraoperative findings and course				
Parkland grade	I	28 (11.57)	10 (8.47)	38 (10.56)
	II	136 (56.20)	49 (41.53)	185 (51.39)
	III	47 (19.42)	37 (31.36)	84 (23.33)
	IV	27 (11.16)	13 (11.02)	40 (11.11)
	V	4 (1.65)	9 (7.63)	13 (3.61)
Operative time	Median (IQR), min	70 (60-90)	90 (65-115)	75 (60-100)
	≥180 min	0 (0.00)	10 (8.47)	10 (2.78)
Bleeding ≥300 mL	Yes	97 (40.08)	2 (1.69)	99 (27.50)
Severe adhesions	Yes	48 (19.83)	54 (45.76)	102 (28.33)
Impacted stone	Yes	22 (9.09)	17 (14.41)	39 (10.83)
Conversion to open surgery	Yes	0 (0.00)	8 (6.78)	8 (2.22)
Bile duct injury	Yes	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
Intraoperative events	≥1 event	117 (48.35)	55 (46.61)	172 (47.78)
Difficult cholecystectomy	Yes	97 (40.08)	14 (11.86)	111 (30.83)
Length of stay	Median (IQR), days	3 (3-4)	2 (2-3)	3 (3-4)
Length-of-stay categories	<2 days	0 (0.00)	10 (8.47)	10 (2.78)
	2-5 days	198 (81.82)	102 (86.44)	300 (83.33)

>5 days	44 (18.18)	6 (5.08)	50 (13.89)

Table 2. Composition of the difficult-cholecystectomy outcome (n=111)

Outcome component or pattern	n	% of difficult cases
Individual components		
Bleeding ≥300 mL	99	89.19
Operative time ≥180 min	10	9.01
Conversion to open surgery	8	7.21
Mutually exclusive patterns		
Bleeding ≥300 mL only	99	89.19
Operative time ≥180 min only	4	3.60
Conversion only	2	1.80
Time ≥180 min + conversion	6	5.41
Number of criteria met		
One criterion	105	94.59
Two criteria	6	5.41
Total difficult cholecystectomies	111	100.00

Table 3. Association of NLR with outcomes (n=360)

Outcome	Analysis	Estimate	95% CI	p
Difficult cholecystectomy				
	NLR, median (IQR), not difficult (n=249)	2.07 (1.34-3.16)	–	<0.001[a]
	NLR, median (IQR), difficult (n=111)	2.87 (2.00-6.62)	–	
	Crude OR per NLR doubling	1.660	1.351-2.039	<0.001
	Adjusted OR per NLR doubling	1.704	1.359-2.138	<0.001

	Crude OR per one-unit increase	1.106	1.045-1.170	<0.001
Parkland inflammation grade				
	NLR, median (IQR), grade I (n = 38)	1.73 (1.12-2.54)	–	<0.001[b]
	NLR, median (IQR), grade II (n = 185)	2.16 (1.67-2.95)	–	
	NLR, median (IQR), grade III (n = 84)	2.92 (1.64-6.05)	–	
	NLR, median (IQR), grade IV (n = 40)	3.47 (1.46-5.68)	–	
	NLR, median (IQR), grade V (n = 13)	6.62 (1.93-14.29)	–	
	Spearman correlation (rho)	0.239	0.132-0.345	<0.001
Length of stay				
	Spearman correlation (rho)	0.274	–	<0.001
	Crude IRR per NLR doubling	1.082	1.034-1.132	0.001
	Adjusted IRR per NLR doubling	1.059	1.011-1.110	0.016
Intraoperative events				
	NLR, median (IQR), no event	2.12 (1.43-3.06)	–	0.0002[a]

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

NLR, median (IQR), event	2.67 (1.73-5.59)	–	
Crude OR per NLR doubling	1.445	1.192-1.751	<0.001
Adjusted OR per NLR doubling	1.487	1.213-1.823	<0.001

Table 4. Predictive performance of NLR and the multivariable model (n=360; 111 events)

Indicator or variable	Estimate	95% CI	p
Panel A. Discrimination of NLR alone			
Area under the ROC curve (AUC)	0.665	0.604-0.725	
Exploratory threshold (Youden index)	2.16	–	
Sensitivity	72.97 %	64.05-80.36 %	
Specificity	53.82 %	47.61-59.90 %	
Positive predictive value	41.33 %	34.66-48.32 %	
Negative predictive value	81.71 %	75.09-86.88 %	
Positive likelihood ratio (LR+)	1.58	1.33-1.88	
Negative likelihood ratio (LR−)	0.50	0.36-0.70	
Youden index	0.268	–	
Correct classification	59.72 %	–	
Panel B. Multivariable model (adjusted odds ratios)			
NLR, per doubling	1.704	1.359-2.138	<0.001
Age, per year	0.990	0.974-1.007	0.247
Female sex	0.939	0.527-1.674	0.832

ASA II	0.967	0.542-1.725	0.910
ASA III	3.838	1.474-9.996	0.006
Any comorbidity	1.384	0.522-3.672	0.514
Symptom duration ≥72 h	0.811	0.375-1.754	0.594
Hospital San Luis de Otavalo	0.256	0.130-0.504	<0.001

Discussion

Higher preoperative NLR was consistently associated with difficult cholecystectomy after adjustment for age, sex, ASA class, comorbidity, symptom duration, and hospital. Serban et al. [15] similarly associated NLR with advanced inflammation and conversion, reporting a threshold of 4.19 and AUC of 0.824. Their outcome included empyema, gangrene, perforation, abscess, and difficulty obtaining the critical view of safety, whereas our definition used operative time, bleeding, and conversion. Utsumi et al. [11] identified NLR ≥6.75 as an independent component of a nomogram (AUC 0.806). Differences in thresholds and outcomes show that estimated NLR performance depends on how difficulty is defined; both studies also indicate that clinical variables add information beyond NLR alone.

NLR increased across Parkland grades, consistent with the association reported by Kahraman et al. [12] in 1,054 patients (AUC 0.766). Our weak correlation shows that the measures are not interchangeable: Parkland directly grades intraoperative anatomy, whereas NLR reflects systemic inflammation before surgery. This distinction is consistent with the Latin American validation by Pinto et al. [23], in which higher Parkland grades were associated with postoperative care, prolonged stay, and intensive care admission.

Associations with intraoperative events and length of stay agree in direction with previous reports [17, 18], although effect sizes and thresholds differ. The association with stay was statistically significant but small and cannot support individual prediction of hospitalization, which is influenced by clinical and institutional practice.

The modest discrimination of NLR alone warrants caution. The AUC of 0.665 and threshold of 2.16 were lower than those reported by Serban [15] and Kahraman [12], and differed from the >5 threshold used elsewhere [18]. No universal NLR threshold is supported because populations, definitions, and outcomes vary. An Ecuadorian study proposed NLR ≥3 for severe cholecystitis [24], but disease severity and surgical difficulty are different outcomes; numerical proximity does not externally validate our threshold.

The adjusted model AUC of 0.747 approached that of published clinical and ultrasonographic scores 9, 25 but remained below the independently evaluated nomogram by Utsumi et al. 11. The improved AUC supports added information from clinical variables, but does not establish performance outside this cohort 19. We report the complete equation, intercept, coefficients, coding, and reference categories to permit calculation of individual estimates; external validation and recalibration remain necessary before clinical implementation.

The composite outcome was driven by bleeding: 89.19% of difficult procedures met only the ≥300-mL criterion. Both hospitals used the same visual gauze-based estimation approach and documented the estimate in the transanaesthetic record. Nevertheless, the large between-hospital difference in recorded bleeding (40.08% vs 1.69%) may reflect differences in case mix, documentation, or interobserver visual estimation. Hospital General San Vicente de Paúl is the higher-level provincial referral centre and receives a larger volume of complex referred cases, which may contribute to the hospital effect (OR 0.256). Because hospital was fitted as a fixed effect, the equation is not directly transportable; external use would require validation and recalibration.

Risk of bias and equity considerations

Potential sources of bias include retrospective record selection, exclusion of incomplete records, visual blood-loss estimation, interobserver documentation differences, lack of blinded duplicate data extraction, and the strong contribution of the bleeding component to the composite outcome. Random stratified record selection and prespecified covariates reduced, but did not eliminate, selection and modelling bias. Ethnicity and socioeconomic variables were not recorded; therefore, subgroup performance and model fairness across these groups could not be evaluated. This absence is reported as a limitation and no claim of equitable performance is made.

Strengths include prespecified covariates, absence of data-driven variable selection, comparison of NLR alone with a combined model, internal validation, and inclusion of two hospitals. Limitations include retrospective data quality; visual estimation of blood loss; data extraction without independent duplicate review or blinding to NLR; few conversions; and no bile duct injuries. The interval between blood sampling and surgery and treatment during that interval were unavailable. This matters because 89.44% had symptoms for ≥72 hours and antibiotics may alter inflammation. Ethnicity and socioeconomic variables were not recorded, preventing assessment of model fairness across population groups in a province with documented disparities in access [26]. The original sample-size calculation was designed to estimate a proportion rather than specifically to develop a prediction model; despite 111 outcome events for the fitted parameters, this limits the strength of the model-development claim.

Conclusions

Higher preoperative NLR was independently associated with difficult cholecystectomy, greater gallbladder inflammation, and longer hospital stay in this Ecuadorian cohort. NLR alone had modest discrimination, and the data-derived 2.16 threshold is exploratory. The adjusted model showed moderate discrimination after optimism correction, but calibration assessment was limited and external validation was not performed. NLR may complement clinical and imaging assessment; it should not independently determine operative strategy. Prospective external validation, standardised blood-loss measurement, complete model reporting, and assessment of clinical utility are required before implementation.

Declarations and other information

Author contributions (CRediT)

Conceptualization: Leonardo Javier Mancheno Benalcázar and Fernando Xavier Moreno Genoves. Investigation: Leonardo Javier Mancheno Benalcázar and Fernando Xavier Moreno Genoves. Data curation: Leonardo Javier Mancheno Benalcázar and Fernando Xavier Moreno Genoves. Formal analysis: Maité González Saborit. Writing—original draft: Leonardo Javier Mancheno Benalcázar and Fernando Xavier Moreno Genoves. Writing—review and editing: Maité González Saborit. Supervision: Maité González Saborit. Project administration: Leonardo Javier Mancheno Benalcázar. All authors approved the submitted version.

Funding

This research received no external funding. The institutional letters state that the participating hospitals provided no financial support.

Institutional Review Board / Ethics statement

The study was approved on 5 June 2026 by CEISH-HBSLO (approval letter CEISH-HBSLO-AP-004-2026; protocol reference IE-EX004-2026-CEISH-HBSLO), valid through 5 June 2027. In conjunction with the institutional letters of interest from both participating hospitals, the resolution authorised the process of collecting anonymised or pseudonymised data from their clinical records. Data collection began on 15 June 2026, 10 days after ethics approval.

Informed consent statement

CEISH-HBSLO waived the requirement for individual informed consent because the study used retrospective, anonymised secondary data without direct participant contact.

Data availability statement

The data are not publicly available because they derive from protected clinical records and are subject to institutional and ethics restrictions. Any request for access to de-identified data must be directed to the corresponding author and would require prior approval from the participating institutions and CEISH-HBSLO. The study protocol and statistical code are not deposited in a public repository; enquiries about access may be directed to the corresponding author and remain subject to applicable institutional and ethics restrictions.

Previous presentation

Part of this work was presented in the thesis submitted in fulfilment of the requirements for the Specialist degree in General and Laparoscopic Surgery. The thesis has not been published or deposited in an institutional or public repository.

Acknowledgments

Not applicable.

Generative AI and AI-assisted technologies declaration

During preparation of this work, the authors used OpenAI Codex (GPT-5) to support English translation, language editing, and manuscript formatting. After using this service, the authors reviewed, edited, and verified the content as needed and take full responsibility for the publication.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Gallaher JR, Charles A. Acute cholecystitis: a review. JAMA. 2022;327(10):965-75. https://doi.org/10.1001/jama.2022.2350
2. Yokoe M, Hata J, Takada T, Strasberg SM, Asbun HJ, Wakabayashi G, et al. Tokyo Guidelines 2018: diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis. J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2018;25(1):41-54. https://doi.org/10.1002/jhbp.515
3. Okamoto K, Suzuki K, Takada T, Strasberg SM, Asbun HJ, Endo I, et al. Tokyo Guidelines 2018: flowchart for the management of acute cholecystitis. J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2018;25(1):55-72. https://doi.org/10.1002/jhbp.516
4. Abdallah HS, Sedky MH, Sedky ZH. The difficult laparoscopic cholecystectomy: a narrative review. BMC Surg. 2025;25:167. https://doi.org/10.1186/s12893-025-02847-3
5. Seshadri A, Peitzman AB. The difficult cholecystectomy: what you need to know. J Trauma Acute Care Surg. 2024;97(3):325-36. https://doi.org/10.1097/TA.0000000000004337
6. Brunt LM, Deziel DJ, Telem DA, Strasberg SM, Aggarwal R, Asbun H, et al. Safe cholecystectomy multi-society practice guideline and state-of-the-art consensus conference on prevention of bile duct injury during cholecystectomy. Surg Endosc. 2020;34(7):2827-55. https://doi.org/10.1007/s00464-020-07568-7
7. Instituto Nacional de Estadística y Censos. Registro estadístico de camas y egresos hospitalarios 2024. Quito: INEC; 2025.
8. López-Pérez SJ, Paspuezan-Pérez LM, Rodríguez-Cayamcela CP, Murillo-Valenzuela FO. Tasa de prevalencia de colecistitis aguda litiásica en el servicio de cirugía del Hospital San Vicente de Paúl. Gac Med Estud. 2025;6:3-4.
9. Ramírez-Giraldo C, Isaza-Restrepo A, Conde Monroy D, Castillo-Barbosa AC, Rubio-Avilez JJ, Van-Londoño I. What is the best score for predicting difficult laparoscopic cholecystectomy? A diagnostic trial study. Int J Surg. 2023;109(7):1871-9. https://doi.org/10.1097/JS9.0000000000000354
10. Ramírez-Giraldo C, Alvarado-Valenzuela K, Isaza-Restrepo A, Navarro-Alean J. Predicting the difficult laparoscopic cholecystectomy based on a preoperative scale. Updates Surg. 2022;74(3):969-77. https://doi.org/10.1007/s13304-021-01216-y
11. Utsumi M, Inagaki M, Taniguchi R, Ohara H, Kitada K, Hamano R, et al. Validation of a nomogram with inflammation-based markers developed to predict difficult laparoscopic cholecystectomy in patients with acute cholecystitis. Surg Today. 2026. https://doi.org/10.1007/s00595-026-03387-w
12. Kahraman YS, Soylu VG, Taşkın Ö, Ufuk D. Evaluation of inflammation indices according to the Parkland grading scale in laparoscopic cholecystectomy: can inflammation indices predict operative difficulty? BMC Surg. 2026;26:41. https://doi.org/10.1186/s12893-026-03934-9
13. Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, Malatino L. Neutrophil to lymphocyte ratio: an emerging marker of the relationships between the immune system and diseases. Int J Mol Sci. 2022;23(7):3636. https://doi.org/10.3390/ijms23073636

14. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Van Pel MC, De Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? BMC Res Notes. 2017;10(1):12. https://doi.org/10.1186/s13104-016-2335-5
15. Serban D, Stoica PL, Dascalu AM, Bratu DG, Cristea BM, Alius C, et al. The significance of preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and systemic inflammatory index (SII) in predicting severity and adverse outcomes in acute calculous cholecystitis. J Clin Med. 2023;12(21):6946. https://doi.org/10.3390/jcm12216946
16. Xia Z, Liu Y, Sun S, Shan E, Liu Y. The value of preoperative neutrophil/lymphocyte ratio in predicting the severity of cholecystolithiasis with cholecystitis in elderly patients. BMC Surg. 2023;23(1):360. https://doi.org/10.1186/s12893-023-02267-1
17. Molasy B, Frydrych M, Kubala-Kukuś A, Głuszek S. The use of neutrophil-to-lymphocyte ratio, monocyte-to-lymphocyte ratio and platelets-to-lymphocyte ratio in the assessment of the risk of conversion and complications after cholecystectomy performed due to symptomatic cholelithiasis. Ther Clin Risk Manag. 2024;20:363-71. https://doi.org/10.2147/TCRM.S462846
18. Pośpiech J, Kowalczyk KA, Stefura T, Robak R, Wysocki WM. Prognostic significance of NLR in acute cholecystitis treated with laparoscopic cholecystectomy. Folia Med Cracov. 2024;64(4):71-6. https://doi.org/10.24425/fmc.2024.153274
19. Collins GS, Moons KGM, Dhiman P, Riley RD, Beam AL, Van Calster B, et al. TRIPOD+AI statement: updated guidance for reporting clinical prediction models that use regression or machine learning methods. BMJ. 2024;385:e078378. https://doi.org/10.1136/bmj-2023-078378
20. Inoue K, Ueno T, Douchi D, Shima K, Goto S, Takahashi M, et al. Risk factors for difficulty of laparoscopic cholecystectomy in grade II acute cholecystitis according to the Tokyo Guidelines 2013. BMC Surg. 2017;17(1):114. https://doi.org/10.1186/s12893-017-0319-6
21. Madni TD, Leshikar DE, Minshall CT, Nakonezny PA, Cornelius CC, Imran JB, et al. The Parkland grading scale for cholecystitis. Am J Surg. 2018;215(4):625-30. https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2017.05.017
22. Madni TD, Nakonezny PA, Barrios E, Imran JB, Clark AT, Taveras L, et al. Prospective validation of the Parkland grading scale for cholecystitis. Am J Surg. 2019;217(1):90-7. https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2018.08.005
23. Pinto P, Pedraza JD, Camacho D. Retrospective validation of the Parkland grading scale in a Latin-American high-volume center. Surg Endosc. 2023;37(7):5190-5. https://doi.org/10.1007/s00464-023-09946-3
24. Cruz Guerrero MA, Gutiérrez Félix AE. Determinación del índice neutrófilo/linfocito como marcador de severidad en colecistitis aguda en el Hospital San Francisco de Quito-IESS [tesis de especialización]. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2018.
25. Villarroel Cárdenas EP. Comparación entre las escalas predictoras clínica y ecográfica de dificultad en colecistectomía laparoscópica, Hospital Dr. Enrique Garcés [tesis de especialización]. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2021.

26. Garza M, Abascal Miguel L. Health disparities among indigenous populations in Latin America: a scoping review. Int J Equity Health. 2025;24(1):119. https://doi.org/10.1186/s12939-025-02495-2

| *Received: [20 agosto 2026]* | *Accepted: [1 octubre 2026]* | *Published: [15 noviembre 2026]* |

Citation: Mancheno, L; Moreno, F; González, M. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and difficult laparoscopic cholecystectomy in acute calculous cholecystitis: a two-centre cohort. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



Artículo de investigación

Perfil epidemiológico y clínico de pacientes críticos: delimitación de fenotipos mediante clúster bietápico

Epidemiological and clinical profile of critically ill patients: phenotype delineation using two-step clustering

Julio César González Aguilera[1], Larisa Zamora Matamoros [2], Alexis Álvarez Aliaga [3], Jorge Omar Cabrera Lavernia [4], Armando Arias Ortiz [5], Yoleinis Esperanza Vázquez Belizón [6]*

[1] Hospital Provincial General Carlos Manuel de Céspedes. Bayamo, Granma, Cuba; email: juliogrm19682024@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3914-2631

[2] Larisa Zamora Matamoros. Facultad de Ciencias Matemáticas. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba; email: larisa@uo.edu.cu. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2210-0806

[3] Alexis Álvarez Aliaga. Hospital Provincial General Carlos Manuel de Céspedes. Bayamo, Granma, Cuba; email:alvarezaliagaalex72@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8608-2120

[4] Jorge Omar Cabrera Lavernia. Hospital Provincial General Carlos Manuel de Céspedes, Bayamo, Granma, Cuba; email: jomabel2017@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8560-1651

[5] Armando Arias Ortiz. Hospital Provincial General Carlos Manuel de Céspedes. Bayamo, Granma, Cuba; email: aariasortiz62@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4592-1789

[6] Yoleinis Esperanza Vázquez Belizón. Hospital Provincial General Carlos Manuel de Céspedes, Bayamo, Granma Cuba; email: yoleinis@infomed.sld.cu. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6500-6049

** Autor para la correspondencia: Céspedes 223 entre Lora y Masó. Bayamo. Granma. Cuba. CP 85100. Teléfono: +5352401975.*

Correo electrónico: juliogrm19682024@gmail.com

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.6)

Resumen

La heterogeneidad de los pacientes críticos limita el pronóstico preciso. El trabajo tiene como objetivo identificar el perfil epidemiológico y clínico de pacientes ingresados en cuidados intensivos para delimitar grupos homogéneos. Se realizó un estudio de cohorte en 497 pacientes en la unidad de cuidados intensivos del hospital Carlos Manuel de Céspedes, de Bayamo, Granma, Cuba. Se aplicó

análisis de clúster bietápico con criterio bayesiano de Schwarz. El clúster 1 (55,1 %) incluyó pacientes con cirugía urgente (77,7 %), procedentes del quirófano (88,7 %), con APACHE II promedio de 8,83, SOFA promedio de 0,45, baja necesidad de ventilación mecánica artificial (4,4 %) y mortalidad de 2,2 %. El clúster 2 (44,9 %) agrupó pacientes con afecciones clínicas (87,0 %), procedentes de sala de hospitalización (40,4 %) o emergencia (40,4 %) con APACHE II promedio de 12,42, SOFA promedio de 2,00, alta necesidad de ventilación mecánica artificial (32,7 %), mayor incidencia de sepsis (14,3 %) y mortalidad de 20,2 %. Las variables discriminantes fueron la enfermedad de base (importancia=1), origen (0,83) y condición quirúrgica (0,45). Se concluye que el análisis identificó dos perfiles diferenciados por tipo de ingreso: quirúrgico urgente con mejor pronóstico y clínico con mayor gravedad y mortalidad.

Palabras clave: cuidados intensivos; análisis de clúster; perfiles clínicos.

Abstract

The heterogeneity of critically ill patients limits accurate prognostication. This study aimed to identify the epidemiological and clinical profiles of patients admitted to intensive care in order to define homogeneous groups. A cohort study was was carried out in 497 patients in the intensive care unit of the Carlos Manuel de Céspedes hospital in Bayamo, Granma, Cuba. A two-step cluster analysis using the Schwarz Bayesian criterion was applied. Cluster 1 (55.1%) comprised patients undergoing emergency surgery (77.7 %) who were admitted from the operating room (88.7 %); this group had a mean APACHE II score of 8.83, a mean SOFA score of 0.45, a low need for mechanical ventilation (4.4 %), and a mortality rate of 2.2 %. Cluster 2 (44.9%) grouped patients with medical conditions (87.0%) admitted from general wards (40.4%) or the emergency department (40.4%); this group had a mean APACHE II score of 12.42, a mean SOFA score of 2.00, a high need for mechanical ventilation (32.7%), a higher incidence of sepsis (14.3%), and a mortality rate of 20.2%. The discriminating variables were underlying disease (importance = 1), origin (0.83), and surgical status (0.45). The study concludes that the analysis identified two profiles differentiated by admission type: emergency surgical patients with a better prognosis, and medical patients with greater severity and mortality.

Keywords: intensive care; cluster analysis; clinical profiles.

Introducción

La unidad de cuidados intensivos (UCI) constituye un entorno clínico de elevada heterogeneidad, donde los pacientes presentan condiciones de base, gravedad, respuestas al tratamiento y desenlaces muy diversos[1]. Esta variabilidad, particularmente evidente en la sepsis o la insuficiencia respiratoria, representa uno de los principales desafíos para la práctica de la medicina intensiva, al limitar la

capacidad de establecer pronósticos precisos y de implementar estrategias terapéuticas personalizadas. [2,3]

La falta de herramientas para estratificar adecuadamente a esta población heterogénea limita el desarrollo de nuevos tratamientos. Los ensayos clínicos tradicionales, al tratar a los pacientes como un grupo homogéneo, no logran demostrar beneficios significativos que podrían ser evidentes en subgrupos específicos [4].

En respuesta a esta limitación, la investigación en cuidados intensivos se centra en la identificación de perfiles epidemiológicos y clínicos para definir subfenotipos o grupos clínicamente homogéneos. Para ello se emplea el análisis de clúster, el cual permite agrupar a los pacientes según similitudes en sus características clínicas, biológicas o de su evolución temporal [5,6].

Estudios previos demuestran el valor de esta aproximación. En pacientes con sepsis, se han identificado subfenotipos con diferentes respuestas a tratamientos como la resucitación hídrica o la inmunomodulación [7,8,9]. De manera similar, en pacientes con neumonía adquirida en el hospital y con COVID-19 grave, el análisis de clúster delimita subgrupos con perfiles de gravedad, disfunción inmunológica y riesgo de mortalidad notablemente distintos [10,11].

La combinación de puntuaciones pronósticas como el *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA) y el índice de comorbilidad de Charlson mediante técnicas de clúster mejora la predicción de la mortalidad en comparación con los modelos tradicionales [12].

A pesar de estos avances, gran parte de la investigación se centra en síndromes específicos o en poblaciones con enfermedades muy definidas. Existe una brecha en el conocimiento sobre cómo estratificar a la población general de una UCI, que incluye un espectro mucho más amplio de entidades médicas y quirúrgicas. Los pacientes postquirúrgicos, con enfermedades médicas agudas y trauma, entre otros, coexisten en estas unidades, y a menudo se analizan de forma agregada, lo que podría diluir diferencias clínicamente relevantes.

La caracterización de grupos en función de variables disponibles al ingreso proporciona una herramienta para la estratificación pronóstica precoz y sienta las bases para futuras investigaciones encaminadas a evaluar respuestas a tratamientos específicos en cada subgrupo. La identificación de estos perfiles contribuye a optimizar la asignación de recursos y aplicar un modelo de atención personalizado en la UCI [13].

El presente estudio se propuso como objetivo identificar el perfil epidemiológico y clínico de pacientes críticos ingresados en cuidados intensivos para delimitar grupos homogéneos mediante clúster bietápico.

Materiales y Métodos

Diseño y contexto del estudio

Se realizó un estudio observacional, analítico, de cohorte prospectiva en pacientes ingresados en la UCI del hospital provincial general "Carlos Manuel de Céspedes", de Bayamo, Granma, Cuba, en el periodo comprendido desde el 1 de septiembre de 2021 hasta el 31 de diciembre de 2022.

Criterios de inclusión

Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años con estadía mínima de 24 horas en la UCI y que ingresaron por cualquier causa.

Muestra

La muestra quedó conformada por 497 pacientes, lo cual supera los criterios recomendados para análisis de clúster (al menos 10 casos por variable predictora) [14].

Variables

Para el estudio se obtuvieron 24 variables. Entre las variables continuas se consideraron la edad (años), la puntuación *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II* (APACHE II) al ingreso, [15] el riesgo de muerte estimado por APACHE II (RM, %), la puntuación *Sequential Organ Failure Assessment* al ingreso [16] y la estadía en UCI (días).

Como variables categóricas se tomaron: sexo, estado al alta (vivo/fallecido), enfermedad de base (paciente con afecciones clínicas, cirugía programada, cirugía urgente y trauma), infección comunitaria al ingreso, origen del paciente (sala del hospital, quirófano, emergencia, otra UCI, otro hospital), hospitalización previa en los 30 días, cirugía previa, paciente quirúrgico, uso de antibiótico al ingreso, desarrollo de sepsis/shock séptico durante la estancia, uso previo de antibiótico, inmunosupresión, neutropenia, número de comorbilidades; necesidad de ventilación mecánica artificial (VMA) invasiva, depuración extrarrenal, nutrición parenteral (NPT) y presencia de Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS).

Se aplicaron los criterios de sepsis y shock séptico del *Third International Consensus Definition for Sepsis and Septic Shock* (Sepsis-3) [17]. El uso previo de antibiótico se consideró cuando se recibió 90 días antes. La necesidad de depuración extrarrenal se refirió al empleo de hemodiálisis convencional, hemodiálisis con ultrafiltración o plasmaféresis.

El diagnóstico de la infección comunitaria al ingreso se basó en los criterios de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)[18]. La inmunosupresión se consideró en los pacientes con quimioterapia, radiaciones, corticoesteroides a altas dosis y por periodos prolongados; enfermedades neoplásicas avanzadas, VIH e inmunodeficiencia congénita o adquirida. Un conteo absoluto de neutrófilos < 500 células/mm^3 definió la neutropenia.

El antecedente de enfermedades como la diabetes mellitus tipo 1 y 2, la enfermedad renal crónica (ERC), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), insuficiencia cardiaca congestiva (ICC), cardiopatía isquémica, hipertensión arterial (HTA) y cirrosis hepática se consideró como comorbilidad. El SRIS se identificó mediante los criterios de *ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine* [19].

Análisis estadístico

Identificación de grupos clínicamente homogéneos

Para identificar grupos clínicamente homogéneos en la cohorte de pacientes ingresados en UCI se realizó un análisis de clúster bietápico (*two-step cluster*). Este método es apropiado cuando se dispone de una combinación de variables categóricas y continuas, ya que utiliza una medida de distancia basada en la verosimilitud logarítmica (*Log-likelihood*).

El número óptimo de clústeres se determinó mediante el criterio bayesiano de Schwarz (BIC), la razón de cambio del BIC y la razón de medidas de distancia (RMD) entre los clústeres. Valores > 1,5 de la RMD indican una buena separación. También se estimó el coeficiente de silueta promedio como medida de cohesión interna.

Comparación entre clústeres

Se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad o no de las variables continuas. En caso de normalidad, se aplicó la prueba t-student para la comparación entre los clústeres y, en caso contrario, la prueba U de Mann-Whitney.

El tamaño del efecto se calculó mediante la d de Cohen en caso de normalidad. En caso de no normalidad se estimó mediante la correlación biserial por rangos (r), usando la fórmula $r = |Z|/\sqrt{N}$, donde $|Z|$ es el valor absoluto del estadístico Z (aproximación a la normal de la U de Mann-Whitney) y N es el tamaño total de la muestra.

Las variables categóricas se compararon con la prueba de *Ji* cuadrado de asociación. Cuando más del 20 % de las celdas en una tabla de contingencia presentaban frecuencias < 5 (condición que viola el supuesto de la prueba de *Ji* cuadrado), se aplicó simulación de Monte Carlo con 10 000 muestras para obtener un p-valor válido (pMC). Un p-valor simulado de 0,000 indica que ningún *Ji* cuadrado de las tablas simuladas superó el observado. El tamaño del efecto se estimó con la V de Cramer, con la misma clasificación de magnitudes de la r de correlación biserial por rangos.

Adicionalmente, se calculó la diferencia absoluta en puntos porcentuales (pp) para variables categóricas, medida de la magnitud clínica de la diferencia entre los clústeres. Se definieron los siguientes umbrales: irrelevante (0 - 9 pp), débil (10 - 19 pp), moderada (20 - 29 pp), fuerte (30 - 39 pp) y muy fuerte (≥ 40). Estos umbrales se establecieron antes del análisis para facilitar la interpretación de los perfiles de clústeres.

Contribución de las variables a la separación de clústeres

Para cuantificar la contribución de cada variable a la separación de los clústeres, se utilizó el figura de importancia del predictor proporcionado por el algoritmo bietápico del SPSS. Este indicador se expresa en una escala de 0 - 1, donde valores cercanos a 0 indican que la variable no contribuye a la separación de los clústeres y cercanos a 1 que es fundamental para definir los grupos. Se definió *a priori* un umbral de importancia > 0,20 para considerar que una variable contribuye de manera clínicamente relevante a la discriminación entre clústeres. Este umbral se estableció antes del análisis para evitar sobreinterpretación de variables con baja capacidad discriminante.

Todos los análisis se realizaron con un nivel de significación $\alpha = 0,05$ (bilateral). Un p-valor inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo. El procesamiento y análisis de los datos se realizó utilizando el paquete estadístico *IBM SPSS Statistics* versión 25 (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.).

Consideraciones éticas

El estudio se ajustó a los principios de la Declaración de Helsinki. Se aprobó por el Comité de Ética de las investigaciones (acuerdo 26-acta 4/2026) y el Consejo Científico institucional (acuerdo 93-acta 5/2026). Los datos se obtuvieron de la práctica asistencial y se trataron de forma confidencial antes de su análisis. No se ensayaron nuevas medidas terapéuticas durante la investigación. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos participantes en el estudio.

Resultados

Identificación de grupos clínicamente homogéneos

El análisis de clúster bietápico identificó una solución de dos clústeres como la óptima. El clúster 1 estuvo compuesto por 274 pacientes (55,1 %) y el clúster 2 por 223 pacientes (44,9 %). La razón de medidas de distancia fue de 1,755 y el coeficiente de silueta promedio fue de 0,1.

Comparación entre clústeres

La prueba de Kolmogorov-Smirnov mostró que ninguna de las variables continuas seguía una distribución normal ($p < 0,001$).

En la tabla 1 se observa que las diferencias entre ambos clústeres en cuanto a edad (clúster 1: 40,77 años; clúster 2: 42,31, p=0,369) y estadía (clúster 1: 6,55 días; clúster 2: 5,98 días, p=0,441) no fueron estadísticamente significativas, por lo que con un nivel de significación del 5 % puede plantearse que los datos no muestran suficiente evidencia para aceptar que la edad y la estadía contribuyen a clasificar a los pacientes en esos grupos. Sin embargo, el resto de las variables continuas sí aportan a esta clasificación.

Se corroboraron los resultados con la prueba U de Mann Whitney, la cual mostró p valores iguales a 0,369 y 0,441 para la edad y la estadía, respectivamente, y menores que 0,05 para el resto de las

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

variables. El APACHE II y el RM muestran efectos pequeños (r = 0,222 y 0,217, respectivamente), mientras que el SOFA al ingreso tiene un efecto mediano (r = 0,308).

Tabla 1. Comparación de valores promedios de las variables continuas entre clústeres

Variable	Clúster 1 (%)	Clúster 2 (%)	p-valor	Tamaño del efecto r
Edad (años)	40,77	42,31	0,369	0,040
APACHE II *	8,83	12,42	0,000	0,222
RM (%) †	11,32	21,58	0,000	0,217
SOFA al ingreso ‡	0,45	2,00	0,000	0,308
Estadía en días	6,55	5,98	0,441	0,035

* APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II † RM: riesgo de muerte según APACHE II ‡ SOFA: Escala Secuencial Organ Failure Assessment.

La tabla 2 muestra la comparación de variables categóricas como el sexo, el estado al alta, la infección comunitaria al ingreso, el origen, la hospitalización previa, la cirugía previa, el paciente quirúrgico y el uso de antibiótico previo entre los clústeres. No se observaron diferencias significativas entre los dos clústeres para las variables sexo e infección comunitaria al ingreso. Para ellas el tamaño del efecto resultó insignificante (< 0,10).

Sin embargo, se observaron diferencias estadísticamente significativas para el estado al alta (pMC < 0,001), con 18 pp de diferencia entre los clústeres, en el clúster 1 a favor de los vivos y en el clúster 2 de los fallecidos, por lo que esta variable permite la caracterización diferencial de los grupos. En relación con la enfermedad de base se corroboraron diferencias significativas en su distribución entre ambos clústeres (pMC < 0,001), siendo las más notables en las categorías “pacientes con afecciones clínicas” (83,7 pp más en el clúster 2) y “cirugía urgente” (72,3 pp más en el clúster 1). (Tabla 2)

El origen del paciente también contribuye a la caracterización diferencial de los clústeres, al comprobarse diferencias estadísticamente significativas en su distribución (pMC < 0,001). Las diferencias más importantes se aprecian en la procedencia del quirófano (77,9 % pp más para el clúster 1), “sala del hospital” y “emergencia” (40,4 pp más en ambas categorías para el clúster 2). (Tabla 2)

Se observaron diferencias estadísticamente significativas (pMC = 0,014) en la distribución por hospitalización previa entre ambos clústeres (10,7 pp más para el clúster 2 en la categoría “Sí”); por lo que esta variable también contribuye a la caracterización diferencial de los grupos. (Tabla 2)

Al analizar la variable cirugía previa se comprobaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los pacientes entre ambos clústeres (pMC < 0,001), siendo las diferencias más notables en las categorías “no cirugía” (27 pp más en el clúster 2) y “cirugía abdominal” (16,9 pp más en el clúster 1). (Tabla 2)

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Se aprecian, además, diferencias estadísticamente significativas entre los clústeres respecto al paciente quirúrgico y al uso previo de antibiótico (pMC < 0,001), con 56,2 pp y 16,7 pp, respectivamente, a favor del clúster 1 en la categoría "Si" para ambas variables. (Tabla 2)

Tabla 2. Comparación de variables categóricas entre clústeres

Variable/Categoría	Clúster 1 (%)	Clúster 2 (%)	Diferencia absoluta (pp) *	pMC†	V de Cramer
Sexo				0,840	0,013
Femenino	54,7	56,1	1,4		
Masculino	45,3	43,9	1,4		
Estado al alta				< 0,001	0,295
Vivo	97,8	79,8	18,0		
Fallecido	2,2	20,2	18,0		
Enfermedad de base				< 0,001	0,869
Afecciones clínicas	3,3	87,0	83,7		
Cirugía programada	13,1	1,3	11,8		
Cirugía urgente	77,7	5,4	72,3		
Trauma	5,8	6,3	0,5		
Infección al ingreso				0,338	0,047
Sí	44,2	48,9	4,7		
No	55,8	51,1	4,7		
Origen				< 0,001	0,802
Sala del hospital	8,0	40,4	32,4		
Quirófano	88,7	9,0	79,7		
Emergencia	1,5	40,4	38,9		
Otra UCI	0,7	7,2	6,5		
Otro hospital	1,1	3,1	2,0		
Hospitalización previa					
Sí	27,4	38,1	10,7	0,014	0,114
No	72,6	61,9	10,7		
Cirugía previa					
No	63,9	91,0	27,1	< 0,001	0,347
Aparato genital	14,6	5,8	8,8		
Neurocirugía	2,2	0,4	1,8		
Torácica	0,7	0,4	0,3		
Abdominal	18,2	1,3	16,9		
Cabeza/cuello	0,4	0,4	0,4		
Otra cirugía	0,0	0,4	0,4		
Paciente quirúrgico				< 0,001	0,565
Sí	67,9	11,7	56,2		
No	32,1	88,3	56,2		
Antibiótico previo				< 0,001	0,169
Sí	48,5	31,8	16,7		
No	51,5	68,2	16,7		

*pp: puntos porcentuales † pMC: p-valor de Monte Carlo.

Otras variables categóricas como no desarrollar sepsis/shock séptico (12,1 pp más en el clúster 1; pMC < 0,001), recibir antibiótico al ingreso (21,2 pp más en el clúster 1; pMC < 0,001) y la necesidad de VMA invasiva (28,3 pp más en el clúster 2; pMC < 0,001) también permiten diferenciar ambos grupos. (Tabla 3)

Entre todas las variables, la enfermedad de base, el origen y la cirugía urgente (V de Cramer = 0,869; 0,802 y 0,565; respectivamente) tuvieron un efecto grande. La VMA y la cirugía previa (V de Cramer = 0,375 y 0,347; respectivamente) presentaron un efecto mediano; y el estado al alta (V de Cramer = 0,295), la hospitalización previa (V de Cramer = 0,114), el uso previo de antibiótico (V de Cramer = 0,169), la depuración extrarrenal (V de Cramer = 0,120), el antibiótico al ingreso (V de Cramer = 0,289) y la sepsis/shock séptico (V de Cramer = 0,235), uno pequeño. El efecto del resto de las variables fue insignificante. (Tablas 2 y 3).

Estos resultados corroboran los obtenidos mediante la diferencia en puntos porcentuales, excepto para la variable depuración extrarrenal. Según la diferencia en puntos porcentuales (3,2 pp más para el clúster 2 para la categoría “Sí”), esta variable no aporta a la clasificación, sin embargo, la prueba de hipótesis (pMC = 0,019) sí lo hace, con un efecto pequeño.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Tabla 3. Comparación de variables categóricas entre clústeres

Variable/Categoría	Clúster 1 (%)	Clúster 2 (%)	Diferencia absoluta (pp) *	pMC†	V de Cramer
Inmunosupresión				0,470	0,040
Sí	8,4	6,3	2,1		
No	91,6	93,7	2,1		
Neutropenia				0,477	0,055
Sí	0,4	1,3	0,9		
No	99,6	98,7	0,9		
Comorbilidad				0,851	0,013
Una	33,9	32,7	1,2		
Dos o más	66,1	67,3	1,2		
Infección intrahospitalaria				0,231	0,058
Sí	40,9	46,6	5,7		
No	59,1	53,4	5,7		
SRIS				0,802	0,015
Sí	38,0	39,5	1,5		
No	62,0	60,5	1,5		
Sepsis/shock séptico				< 0,001	0,235
No	97,8	85,7	12,1		
Sepsis	2,2	9,0	6,8		
Shock séptico	0,0	5,4	5,4		
Antibiótico al ingreso				< 0,001	0,289
Sí	93,8	72,6	21,2		
No	6,2	27,4	21,2		
VMA‡				< 0,001	0,375
Sí	4,4	32,7	28,3		
No	95,6	67,3	28,3		
Depuración extrarrenal				0,019	0,120
Sí	0,4	3,6	3,2		
No	99,6	96,4	3,2		
Nutrición parenteral				0,331	0,056
Sí	3,6	1,8	1,8		
No	96,4	98,2	1,8		

*pp: puntos porcentuales; †pMC: p-valor de Monte Carlo; ‡VAM : ventilación mecánica artificial.

Contribución de las variables a la separación de clústeres

Como se muestra en la figura 1 las variables que más contribuyen a la formación de los clústeres son la enfermedad de base, el origen y el paciente quirúrgico; con una importancia de 1,00; 0,83 y 0,45; respectivamente.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

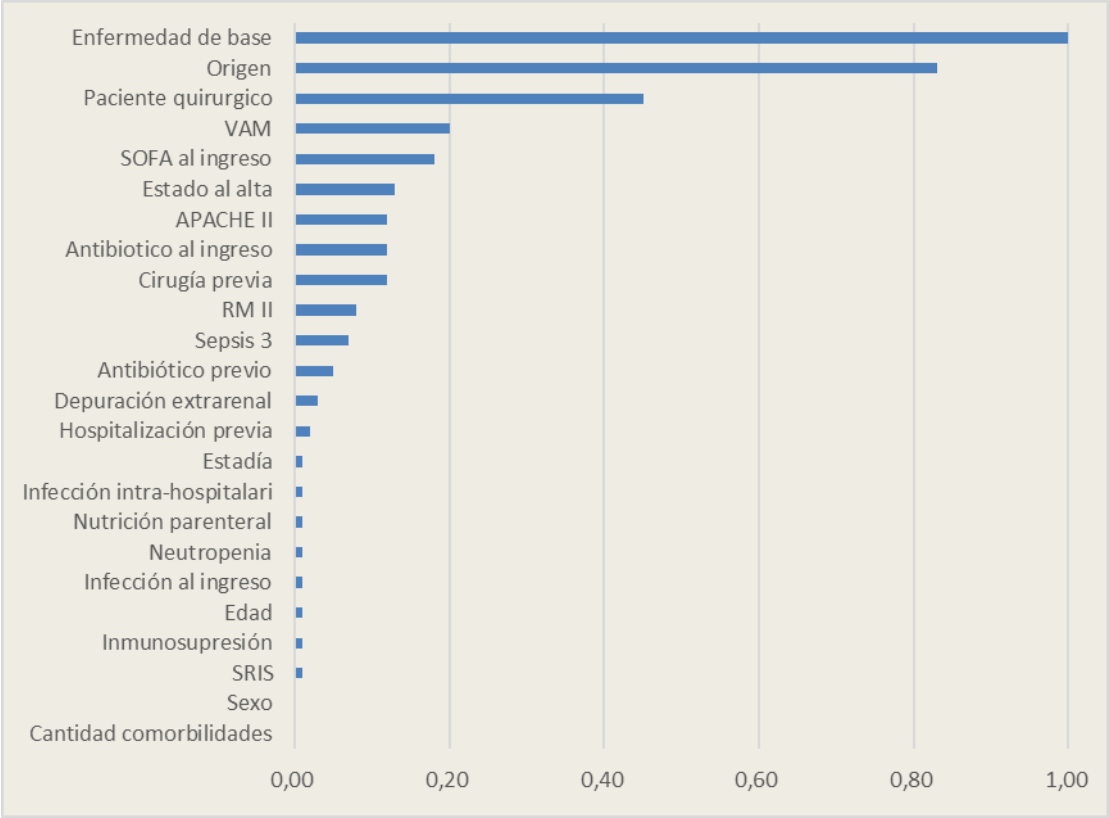


Figura 1. Importancia de los predictores

En la tabla 4 se describe la importancia de los predictores y las categorías más frecuentes que permiten la caracterización clínica e identificación pronóstica de los clústeres. Como se observa el clúster 1 se caracteriza por pacientes con cirugía urgente (77,7 %), con origen del quirófano (88,5 %) y pacientes quirúrgicos (67,9 %). El clúster 2 se distingue por pacientes con afecciones clínicas (87,0), procedentes de salas del hospital (40,4 %) y pacientes no quirúrgicos (88,3 %). Estas variables tuvieron un umbral de importancia > 0,20.

La VMA mostró mayor frecuencia en el clúster 1 (clúster 1: 95,6 % vs. 67,3 % en clúster 2), con una importancia límite según el umbral considerado (0,20).

Para el caso de las variables continuas, todas mostraron un valor de importancia menor que 0,20 y un tamaño de efecto menor de 0,5, por lo que tienen una distribución similar en ambos clúster y no se consideran discriminantes. Las variables categóricas con importancia < 0,20 tuvieron distribución similar en ambos clústeres y no se consideraron discriminantes.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Tabla 4. Importancia de predictores y categorías más frecuentes en los clústeres

Variable	Importancia	Categorías más frecuentes (%)	
		Clúster 1 (n=274)	Clúster 2 (n=223)
Enfermedad de base	1,00	Cirugía urgente (77,7 %)	Afecciones clínicas (87,0 %)
Origen	0,83	Quirófano (88,5 %)	Sala del hospital (40,4 %)
Paciente quirúrgico	0,45	Sí (67,9 %)	No (88,3 %)
VAM*	0,20	No (95,6 %)	No (67,3 %)
SOFA (promedio)†	0,18	0,45	2,00
Estado al alta	0,13	Vivo (97,8 %)	Vivo (79,8 %)
APACHE II (promedio) ‡	0,12	8,83	12,42
Antibiótico al ingreso	0,12	Sí (93,8 %)	Sí (72,6 %)
Cirugía previa	0,12	No (63,9 %)	No (91,0 %)
RM II§	0,08	11,32	21,58
Sepsis/choque séptico	0,07	No (97,8 %)	No (85,7 %)
Antibiótico previo	0,05	No (51,5 %)	No (68,2 %)
Depuración extrarenal	0,03	No (99,6 %)	No (96,4 %)
Hospitalización previa	0,02	No (72,6 %)	No (61,9 %)
Estadía promedio (días)	0,01	6,55	5,98
Infección intrahospitalaria	0,01	No (59,1 %)	No (53,4 %)
Nutrición parenteral	0,01	No (96,4 %)	No (98,2 %)
Neutropenia	0,01	No (99,6 %)	No (98,7 %)
Infección al ingreso	0,01	No (55,8 %)	No (51,1 %)
Edad promedio (años)	0,01	40,77	42,31
Inmunosupresión	0,01	No (91,6 %)	No (93,7 %)
SRIS¶	0,01	No (62,0 %)	No (60,5 %)
Sexo	0,00	Femenino (54,7 %)	Femenino (56,1 %)
Número de comorbilidades	0,00	No (66,1 %)	No (67,3 %)

*VAM: ventilación mecánica artificia; †SOFA: Escala *Secuencial Organ Failure Assessment;* ‡APACHE II: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; §RM: riesgo de muerte según APACHE II; ¶SRIS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.*

Discusión

La identificación de perfiles epidemiológicos y clínicos mediante análisis de clúster contribuye a delimitar subfenotipos de pacientes graves dentro de una población general en la UCI, los cuales pueden orientar decisiones terapéuticas y organizativas, sentar bases para futuras investigaciones y avanzar hacia una medicina personalizada.

La falta de diferencias entre los clústeres según la edad refleja la lógica interna del análisis de clúster. En estudios previos en UCI, la edad no siempre logra diferenciar los grupos. Este resultado ocurre, por lo general, cuando otras características clínicas son más determinantes para la clasificación que la edad misma.

Un estudio que utilizó el análisis de clúster para clasificar a pacientes con infección en la UCI encontró que la edad no presentaba diferencias significativas entre los cinco grupos identificados y que otras variables como el tipo de infección o microorganismo aislado definieron los grupos [7].

Una cohorte sobre movilización en UCI identificó un clúster denominado “trauma joven” donde la edad fue relevante, pero su clúster más numeroso fue el de pacientes de mediana edad, cuya edad promedio fue similar a la de toda la cohorte. En este caso, la edad no fue un rasgo definitorio para este grupo [20]. Asimismo, un análisis similar en pacientes mayores de 80 años encontró fenotipos basados en fragilidad y gravedad, pero la edad al ser un criterio de inclusión, no fue discriminante [21]. Sin embargo, una investigación en pacientes con sepsis con un amplio rango de edades sí pudo identificar un clúster de pacientes jóvenes y otro de pacientes de edad avanzada. Este hallazgo demuestra, que en una población con variabilidad etaria marcada y en la cual otras variables no son dominantes, la edad puede ser un factor de agrupación principal [22].

La estadía hospitalaria se incluyó en el análisis del presente estudio, sin embargo, es fundamentalmente una variable de resultado o un evento posterior. A diferencia de otras características basales del paciente, la estadía se asocia con factores como la gravedad, evolución clínica, complicaciones, prácticas institucionales y disponibilidad de camas y recursos. Por lo general las variables basales al ingreso definen con mayor precisión los clústeres.

Aunque para pacientes incluidos en el clúster 2 (afecciones médicas) la gravedad y la mortalidad fueron ligeramente mayores, los más graves fallecieron precozmente; lo que contribuyó a la reducción de la estadía promedio en este grupo. Estudios precedentes en UCI sobre sepsis, gravedad, mortalidad y evaluación de biomarcadores han demostrado que la estadía no constituye un factor discriminante [7,8,9] .

El hecho del SOFA de mostrar mayor tamaño del efecto, refleja que la disfunción múltiple de órganos (DMO) es un fenómeno central en la patogenia de los estados críticos. En los pacientes con afecciones clínicas apunta a una DMO establecida desde el ingreso, mientras que en los quirúrgicos es consecuencia de una causa local sin deterioro sistémico previo.

La literatura previa respalda la superioridad del SOFA en el análisis de clúster. Seymour [9] y colaboradores demostraron que el SOFA contribuyó a la separación de cuatro fenotipos de sepsis, y que los fenotipos con puntajes promedios más altos presentaron mayor mortalidad. En el estudio de Sakornsakolpat P y colaboradores [7], el SOFA fue uno de los principales discriminadores. Bos y colaboradores [23] demostraron que la DMO discriminó entre fenotipo hiperinflamatario y el no inflamatorio en pacientes con Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo.

Esta evidencia sugiere que, para estratificación fenotípica en poblaciones de pacientes críticos, las escalas de disfunción orgánica son más útiles que las escalas pronósticas generales.

Los hallazgos del presente estudio indican que el principal determinante de la estratificación en la población general de UCI es el tipo de ingreso, diferenciando fundamentalmente a los pacientes quirúrgicos urgentes de aquellos con afecciones clínicas. Desde un análisis fisiopatológico, los

pacientes quirúrgicos ingresan por un evento focal y controlable; los que presentan afecciones clínicas desarrollan procesos sistémicos que afectan múltiples órganos desde el inicio. Sakornsakolpat P y colaboradores [7], encontraron en pacientes con sepsis un mayor grado de DMO y peor pronóstico en pacientes con enfermedades de base.

La importancia de la VMA en la caracterización de los clústeres, aunque menor, refleja la gravedad de la insuficiencia respiratoria en los pacientes con afecciones clínicas, y la mortalidad en este grupo confirma su peor pronóstico. Autores como García y colaboradores [11] y Delucci y colaboradores [24] apoyan este hallazgo con sus resultados.

El uso de antibiótico al ingreso en pacientes quirúrgicos puede estar en relación con la profilaxis y empleo terapéutico precoz para tratar la infección, mientras que el desarrollo de sepsis y shock séptico en los no quirúrgicos sugiere el mayor riesgo de complicaciones infecciosas.

El hallazgo de dos fenotipos claramente diferenciados (quirúrgico urgente y clínico) en la población del estudio refleja la naturaleza de los procesos patológicos que motivan el ingreso en la UCI y sus profundas implicaciones terapéuticas y pronósticas.

El perfil quirúrgico urgente corresponde a pacientes con una agresión focal y controlable quirúrgicamente, que mantiene su reserva funcional y responde más favorablemente al tratamiento; el clínico agrupa a pacientes con enfermedades sistémicas que afectan a múltiples órganos desde el inicio, y que tienen menos reserva funcional y peor pronóstico.

La identificación de estos fenotipos se asemeja con los hallazgos de investigaciones previas en la UCI, como los de Castela Forte y colaboradores [6] en grupos homogéneos, los de Yokokawa Y y colaboradores en pacientes con sepsis [25] y los de Ururahy RDR y colaboradores [26] en los diagnosticados con COVID-19.

A pesar de las similitudes, la principal contribución del estudio radica en la aplicación del análisis de clúster a una población general de la UCI, no limitada a síndromes específicos. La inclusión de variables disponibles al ingreso en la identificación de los fenotipos, proporciona una herramienta simple y fácilmente implementable para la asignación de recursos y la planificación terapéutica. Además, se demuestra que en una población gravedad moderada, es posible identificar diferencias clínicamente relevantes en mortalidad y necesidades de soporte vital, lo que tiene implicaciones en la gestión de recursos humanos y materiales.

El coeficiente de silueta promedio bajo pudiera limitar los resultados del estudio. Sin embargo, este valor está influido por la naturaleza mayoritariamente categórica de las variables (19 de 24) y no invalida la calidad de la solución, confirmada por el criterio principal del algoritmo y el equilibrio de los tamaños de clúster. Por otro parte, la inclusión de biomarcadores inflamatorios hubiera permitido

una estratificación más refinada de los grupos; sin embargo la falta de disponibilidad en la práctica habitual limitó su empleo.

Futuras investigaciones en poblaciones homogéneas deberán incorporar biomarcadores y datos evolutivos, y validar los hallazgos en cohortes externas.

Conclusiones

El análisis de clúster identificó dos fenotipos bien diferenciados: un fenotipo quirúrgico urgente con menor gravedad, bajo requerimiento de soporte ventilatorio y mejor pronóstico, y un fenotipo médico caracterizado por mayor disfunción orgánica, elevada necesidad de ventilación mecánica y mayor mortalidad.

Contribución de los autores

Conceptualización: Julio César González Aguilera, Larisa Zamora Matamoros. Metodología: Julio César González Aguilera, Larisa Zamora Matamoros. Software: Larisa Zamora Matamoros.

Validación: Jorge Omar Cabrera Lavernia, Armando Arias Ortiz.Análisis formal: Julio César González Aguilera, Alexis Álvarez Aliaga. Investigación: Julio César González Aguilera, Larisa Zamora Matamoros, Yoleinis Esperanza Vázquez Belizón. Curación de datos: Julio César González Aguilera, Larisa Zamora Matamoros, Yoleinis Esperanza Vázquez Belizón, Armando Arias Ortiz. Escritura – preparación del borrador original: Julio César González Aguilera, Larisa Zamora Matamoros, Jorge Omar Cabrera Lavernia. Escritura—revisión y edición: Julio César González Aguilera, Alexis Álvarez Aliaga. Supervisión: Larisa Zamora Matamoros.

Todos los autores han leído y aprobado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación no recibió financiación externa.

Declaración del Comité de Revisión Institucional: El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética de las investigaciones (acuerdo 26-acta 4/2026) y el Consejo Científico institucional (acuerdo 93-acta 5/2026).

Declaración de consentimiento informado: Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos participantes en el estudio.

Declaración de disponibilidad de datos: Los datos del estudio forman parte de las bases de la Unidad de Cuidados Intensivos del hospital provincial general “Carlos Manuel de Céspedes”, de Bayamo, Granma, Cuba.

Conflictos de interés: Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias

1. Cuadrado D, Riaño D, Gómez J, Rodríguez A, Bodí M. Methods and measures to quantify ICU patient heterogeneity. J Biomed Inform. 2021; 117: 103768. doi: 10.1016/j.jbi.2021.103768.

2. Shen J, Fang K, Xie J, Sun D, Li L. Analysis of the heterogeneous treatment effect of vasoactive drug dosage and time on hospital mortality across different sepsis phenotypes: a retrospective cohort study. Eur J Med Res. 2025; 30(1):410. doi: 10.1186/s40001-025-02660-x.

3. Anesi GL, Dress E, Chowdhury M, Wang W, Small DS, Delgado MK, et al. Among-Hospital Variation in Intensive Care Unit Admission Practices and Associated Outcomes for Patients with Acute Respiratory Failure. Ann Am Thorac Soc. 2023; 20(3):406-413. doi: 10.1513/AnnalsATS.202205-429OC.

4. Iwashyna TJ, Burke JF, Sussman JB, Prescott HC, Hayward RA, Angus DC. Implications of Heterogeneity of Treatment Effect for Reporting and Analysis of Randomized Trials in Critical Care. Am J Respir Crit Care Med. 2015; 192(9):1045-51. doi: 10.1164/rccm.201411-2125CP.

5. Loftus TJ, Shickel B, Balch JA, Tighe PJ, Abbott KL, Fazzone B, et al. Phenotype clustering in health care: A narrative review for clinicians. Front. Artif. Intell. 2022; 5:842306. doi: 10.3389/frai.2022.842306.

6. Castela Forte J, Perner A, van der Horst ICC. The use of clustering algorithms in critical care research to unravel patient heterogeneity. Intensive Care Med. 2019; 45 (7):1025–1028. doi: 10.1007/s00134-019-05631-z.

7. Sakornsakolpat P, Tongyoo S, Permpikul C. Characteristics and Cluster Analysis of 18,030 Sepsis Patients Who Were Admitted to Thailand's Largest National Tertiary Referral Center during 2014-2020 to Identify Distinct Subtypes of Sepsis in Thai Population. Crit Care Res Pract. 2024; 2024:6699274. doi: 10.1155/2024/6699274.

8. Misset B, Philippart F, Fitting C, Bedos JP, Diehl JL, Hamzaoui O, et al. Clustering ICU patients with sepsis based on the patterns of their circulating biomarkers: A secondary analysis of the CAPTAIN prospective multicenter cohort study. PLoS One. 2022; 17(10):e0267517. doi: 10.1371/journal.pone.0267517.

9. Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, Chang CH, Elliott CF, Xu Z, Berry S, et al. Derivation, Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. JAMA. 2019; 321(20):2003-2017. doi: 10.1001/jama.2019.5791.10.

10. Pregnar J, Priyanka Mellacheruvu S, Balhara Taank C, Campoli F, Emilia Lazar R, Chilingarashvili G, et al. Phenotypic clustering reveals distinct ICU pneumonia subgroups with varying severity and outcomes. Critical Care Medicine. 2026; 54 (3S). doi: 10.1097/01.ccm.0001183440.67537.1f

11. García-García F, Lee DJ, Nieves-Ermecheo M, Bronte O, España PP, Quintana JM, et al. Obtaining patient phenotypes in SARS-CoV-2 pneumonia, and their association with clinical severity and mortality. Pneumonia (Nathan). 2024; 16(1):12. doi: 10.1186/s41479-024-00132-0.

12. Romanelli A, Palmese S, De Vita S, Calicchio A, Gammaldi R. Stratifying Mortality Risk in Intensive Care: A Comprehensive Analysis Using Cluster Analysis and Classification and Regression Tree Algorithms. Intensive Care Res. 2024; 4: 116–128. doi:10.1007/s44231-024-00064-9.

13. Sikora, A, Jeong H, Yu M, Chen X, Murray B, Kameleswaran R. Cluster analysis driven by unsupervised latent feature learning of medications to identify novel pharmacophenotypes of critically ill patients. Sci Rep. 2023; 13: 15562. doi:10.1038/s41598-023-42657-2.

14. Hair, JF, Black WC, Babin BJ, Anderson RE. Multivariate data analysis. 8th ed. United Kingdom: Cengage Learning, EME; 2019.

15. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med. 1985; 13(10): 818-29.

16. Vincent JL, Ferreira F, Moreno R. Scoring systems for assessing organ dysfunction and survival. Crit Care Clin. 2000; 16(2):353-66. doi: 10.1016/s0749-0704(05)70114-7.

17. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016; 315(8):801-10. doi: 10.1001/jama.2016.0287.

18. CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections. En: National Healthcare Safety Network (NHSN) Patient Safety Component Manual. 2021. [acceso 20/3/2026]. Disponible en: https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/17pscnosinfdef_current.pdf

19. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101(6):1644-55. doi: 10.1378/chest.101.6.1644.

20. Fuest KE, Ulm B, Daum N, Lindholz M, Lorenz M, Blobner K, et al. Clustering of critically ill patients using an individualized learning approach enables dose optimization of mobilization in the ICU. Crit Care. 2023; 27(1):1. doi: 10.1186/s13054-022-04291-8.

21. Mousai O, Tafoureau L, Yovell T, Flaatten H, Guidet B, Jung C, et al. Clustering analysis of geriatric and acute characteristics in a cohort of very old patients on admission to ICU. Intensive Care Med. 2022; 48(12):1726-1735. doi: 10.1007/s00134-022-06868-x.

22. Baek MS, Kim JH, Kwon YS. Cluster analysis integrating age and body temperature for mortality in patients with sepsis: a multicenter retrospective study. Sci Rep. 2022; 12(1):1090. doi: 10.1038/s41598-022-05088-z.

23. Bos LD, Schouten LR, van Vught LA, Wiewel MA, Ong DSY, Cremer O, et al. Identification and validation of distinct biological phenotypes in patients with acute respiratory distress

syndrome by cluster analysis. Thorax. 2017 Oct;72(10):876-883. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209719.

24, Liu X, Jiang Y, Jia X, Ma X, Han C, Guo N, et al. Identification of distinct clinical phenotypes of acute respiratory distress syndrome with differential responses to treatment. Crit Care. 2021 Aug 30;25(1):320. doi: 10.1186/s13054-021-03734-y.

25. Yokokawa Y, Sakurai R, Kudo D, Tamiya G, Kushimoto S. Clinical subphenotypes of sepsis based on mixed continuous and categorical data and differences in treatment effects: a cluster analysis of multicenter observational studies. Crit Care. 2026 ;30(1):28. doi: 10.1186/s13054-025-05819-4.

26. Ururahy RDR, Gallo CA, Besen BAMP, Carvalho MT, Ribeiro JM, Zigaib R, et al. Bedside clinical data subphenotypes of critically ill COVID-19 patients: a cohort study. Rev Bras Ter Intensiva. 2021;33(2):196-205. doi: 10.5935/0103-507X.20210027.

| *Received: [6 agosto 2026]* | *Accepted: [15 octubre 2026]* | *Published: [15 noviembre 2026]* |

Citation: Mancheno, González, J; Zamora, L; Álvarez, A; Cabrera, J; Arias, A; Vázquez, Y. Perfil epidemiológico y clínico de pacientes críticos: delimitación de fenotipos mediante clúster bietápico *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Bionatura

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Investigación

Evaluación de la obtención de un extracto acuoso rico en polifenoles a partir de *Salicornia bigelovii* mediante optimización de parámetros de extracción

Evaluation of obtaining an aqueous extract rich in polyphenols from Salicornia bigelovii by optimizing extraction parameters

*Lisandra Silveira Brioso [1], Yolexis Roberta Cardona Soberao [2], Dairon Iglesias Guevara [3], Adriana Bárbara Martín Navas [4], Yaleane Martén Ojeda [5], Amaury Pérez Sánchez [6, *]*
[1]Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz", Camagüey, Cuba
lisandra.silveira@reduc.edu.cu. https://orcid.org/0009-0002-0234-6374
[2]Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz", Camagüey, Cuba yolexis.cardona@reduc.edu.cu, https://orcid.org/0000-0002-0042-5805
[3] Instituto de Farmacia y Alimentos, La Habana, Cuba, daironig1993@gmail.com,https://orcid.org/0000-0002-0044-6083
[4] Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz", Camagüey, Cuba adrianabmartin98@gmail.com, https://orcid.org/0009-0006-3404-7757
[5] Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz", Camagüey, Cuba yaleane.marten@reduc.edu.cu, https://orcid.org/0009-0004-6926-7704
[6] Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz", Camagüey, Cuba amaury.perez84@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0819-6760

***Correspondence: amaury.perez84@gmail.com; Tel.: +53 52952591*

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.7)

Resumen

El aprovechamiento de la halófita *Salicornia bigelovii* en Cuba es aún incipiente, por lo que esta investigación tuvo como objetivo determinar las condiciones óptimas de obtención del extracto acuoso rico en polifenoles de *S. bigelovii*, considerando método de obtención, relación masa/disolvente y tiempo de extracción. La metodología empleada consistió en una caracterización del material vegetal que confirmó su validez para la preparación de extractos por maceración e infusión-maceración, combinados con la Metodología de Superficie de Respuesta para optimizar las variables relación masa/disolvente, tiempo y temperatura. También se realizaron análisis físico-químicos, sensoriales y pruebas de toxicidad aguda oral en ratones. El análisis estadístico reveló que la combinación infusión-maceración, con relación 0,19 g/mL y 23 horas de extracción, maximiza el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, los cuales mostraron valores de 695,3 mg/L y 59,85 %, respectivamente. En la caracterización físico-química, el extracto mostró parámetros adecuados de pH, densidad y sólidos totales, en sintonía con estudios previos. Sensorialmente, el extracto obtuvo buena aceptación en cuanto a color, olor y sabor. Los ensayos toxicológicos no mostraron efectos adversos, confirmando su inocuidad y seguridad. Finalmente, se concluye que los hallazgos de este estudio respaldan su potencial incorporación en la industria alimentaria y farmacéutica como ingrediente natural antioxidante, abriendo nuevas posibilidades para el desarrollo de productos saludables a partir de recursos vegetales no convencionales.

Palabras clave: *Salicornia bigelovii*; plantas medicinales; compuestos químicos; toxicología; análisis químico.

Abstract

The use of halophyte *Salicornia bigelovii* in Cuba is still in its early stages, so this research aimed to determine the optimal conditions for obtaining a polyphenol-rich aqueous extract of *S. bigelovii*,

considering the extraction method, mass/solvent ratio, and extraction time. The methodology employed consisted of characterizing the plant material, which confirmed its suitability for preparing extracts by maceration and infusion-maceration. This was combined with Response Surface Methodology to optimize the mass/solvent ratio, time, and temperature variables. Physicochemical and sensory analyses were also performed, along with acute oral toxicity tests in mice. Statistical analysis revealed that the infusion-maceration combination, with a concentration of 0.19 g/mL and a 23-hour extraction time, maximizes polyphenol content and antioxidant capacity, which showed values of 695.3 mg/L and 59.85%, respectively. In the physicochemical characterization, the extract showed adequate parameters for pH, density, and total solids, consistent with previous studies. Sensory analysis of the extract yielded good acceptance in terms of color, aroma, and flavor. Toxicological tests showed no adverse effects, confirming its safety and efficacy. Finally, it is concluded that the findings of this study support its potential incorporation into the food and pharmaceutical industries as a natural antioxidant ingredient, opening new possibilities for the development of healthy products from unconventional plant resources.

Keywords
Salicornia bigelovii; medicinal plants; chemical compounds; toxicology, chemical analysis.

Introducción

Las halófitas son las plantas con el mayor nivel de tolerancia salina resultante de varios atributos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, tales como ajuste osmótico, compartimentación iónica y homeostasis, desintoxicación de especies de oxígeno reactivo, secreción salina y otros mecanismos que aún no están comprendidos en su totalidad. Las halófitas pueden sobrevivir en suelos muy salinos y explotar los recursos acuáticos de salinidad moderada a alta. En general, se consideran plantas altamente versátiles y, en adición a su papel esencial en la preservación de áreas costeras y como modelo científico para la investigación de mecanismos de toleración salina, su explotación como cultivos alimenticios y no alimenticios pudiera ser una estrategia ganadora en un mundo salino [(1)].

La tecnología en su estado actual ha acelerado la dirección hacia nuevas indagaciones que han sido fundamentales para identificar y analizar metabolitos de origen vegetal utilizados en la creación de nuevos medicamentos y productos alimenticios derivados de plantas[(2)]. En consecuencia, varios vegetales halófitos como *S. bigelovii*, se han utilizado tradicionalmente con fines médicos, nutricionales y alimentarios. Las halófitas son plantas adaptadas a vivir en ambientes salinos, como estuarios, costas y suelos salinos, donde la concentración de sal es significativamente mayor que en los ecosistemas terrestres convencionales.

S. bigelovii es una especie halófita que se encuentra en ambientes costeros y salinos, donde ha desarrollado adaptaciones únicas que le permiten prosperar en condiciones de alta salinidad. Criterios de [(3)]sostienen que esta halófita se encuentra en marismas inundables a lo largo de la costa norte del Pacífico Mexicano, en llanuras y planicies costeras alcalinas de la península de Baja California y en las islas Tiburón y Ángel de la Guarda.
De acuerdo con [(4)], la planta halófita *S. bigelovii* presenta diversas oportunidades de uso, que abarcan su utilización como forraje, como alimento para seres humanos, como componentes en cosméticos, como materia prima para biocombustibles y para la creación de pastillas a partir de su biomasa seca. En los últimos años esta especie ha ganado popularidad en la gastronomía contemporánea debido a su sabor salado y textura crujiente, siendo escogida para ensaladas, guarniciones y platos gourmet. Además, es bien sabido que *S. bigelovii*es utilizada como alternativa a la sal dietética convencional (sal verde), para mejorar la textura de productos culinarios y para dieta de personas hipertensas [(5)].

Estas aplicaciones se sostienen debido a que esta suculenta exhibe una composición química rica en proteínas, fibra, vitaminas, minerales, ácidos grasos, carbohidratos y compuestos bioactivos[(6)]. Según refiere [(7)], en el caso de *S. bigelovii* se han encontrado valores de ácido ascórbico que alcanzan 6 mg/100/g^{-1} de producto fresco, el cual es muy semejante a vegetales tales como las espinacas (7 mg

100 g^{-1}) y lechuga (< 2 mg 100 g^{-1}). Igualmente, su contenido de β-caroteno alcanza valores elevados (159,0 mg/100g^{-1} de peso fresco). Por otro lado, contiene una gran variedad de minerales entre los que se encuentran sodio, potasio, magnesio, calcio, fósforo y hierro, al igual que zinc y cobre en menor cantidad, mientras que también contiene aminoácidos como histidina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, valina, metionina y cisteína.

Su elevado contenido de polifenoles es muy importante, ya que estudios recientes han mostrado que una alimentación que incluya una gran cantidad de polifenoles de origen vegetal puede beneficiar la salud y reducir el riesgo de enfermedades crónicas, cardiovasculares, cáncer, entre otras[8].
Los polifenoles son sustancias con una composición molecular que se distingue por contar con uno o más anillos de tipo fenólico. Se generan primordialmente en las plantas, donde su metabolismo secundario los produce en abundancia [9]. Algunas investigaciones sugieren que *S. bigelovii* contiene varios compuestos polifenólicos, incluidos flavonoides como la quercetina y el hiperósido, que tienen propiedades antioxidantes, además de componentes lignocelulósicos como glucano, xilano, lignina y ácidos fenólicos [10]. En [11] se señala la presencia notable de polisacáridos y ácido ferúlico en su composición fitoquímica.

Se piensa que el papel antioxidante de los polifenoles se debe a su variedad de acciones biológicas, que incluyen la captura de radicales libres, la quelación de metales y su habilidad para regular enzimas[12]. En [13] se propone desarrollar nuevos medicamentes nutracéuticos y farmacéuticos antivirales derivados de formulaciones ricas en fenoles encontradas en *Salicornia* spp. Los autores de este estudio sugieren que estas formulaciones pueden ser empleadas como estrategias innovadoras para combatir pandemias virales causadas por la cepa de influenza A (H1N1), Hepatitis B y C, y el virus de inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1), indicando además que la isoquercitrina, miricetina y miricitrina obtenidas de *Salicornia* Spp. tienen el potencial de exhibir una elevada eficiencia para inhibir infecciones virales, y eventualmente mejorar la salud pública.

Es por ello que se han desarrollado distintas técnicas para la cuantificación de polifenoles con capacidad antioxidante. Las más conocidas son los métodos DPPH, ABTS y ORAC para la determinación de la actividad antioxidante, así como el Ensayo de Folin-Ciocalteau y el Método de Price y Butler, para cuantificar los polifenoles totales [14,15]. De igual modo, existen técnicas instrumentales para separar e identificar los compuestos fenólicos, los cuales se basan principalmente en métodos cromatográficos.

Sin embargo, los análisis cualitativos y cuantitativos de estos compuestos bioactivos dependen fundamentalmente de la adecuada selección del método de extracción. La extracción representa el primer y crucial paso en el estudio de plantas medicinales, ya que influye decisivamente en los resultados obtenidos. Consiste en extraer principios activos de matrices vegetales utilizando, generalmente, agua como disolvente, al mismo tiempo de que posibilita extraer fitoconstituyentes hidrosolubles, como los polifenoles[16].

La extracción de compuestos bioactivos puede realizarse mediante diferentes procedimientos. En las últimas cinco décadas, se han desarrollado métodos no convencionales como la extracción asistida por ultrasonido, campos eléctricos pulsados, digestión enzimática, calentamiento por microondas, calentamiento óhmico, fluidos supercríticos y extracción con disolventes acelerados. Sin embargo, los métodos convencionales como la extracción Soxhlet, maceración, infusión e hidrodestilación siguen siendo puntos de referencia para evaluar la eficacia de las técnicas modernas[17]. La maceración y la infusión representan metodologías sencillas, prácticas y de bajo costo, especialmente adecuadas para extracciones a pequeña escala, como las realizadas en laboratorios[18].

Entre los aspectos que tienen mayor impacto en el proceso de extracción se incluyen las características de la materia vegetal, el tipo de solvente, la temperatura, la proporción entre masa y solvente, la presión y el tiempo de extracción. En la actualidad, la simulación de métodos de extracción de compuestos activos que se encuentran en materias vegetales ha ganado relevancia como un recurso

para el cálculo y la mejora de diversos procedimientos de extracción, tanto en el ámbito comercial como en el de la investigación[19].

Aunque previamente no ha sido un tema investigado, la obtención de un extracto acuoso rico en polifenoles de *S. bigelovii* tiene un significado importante desde el punto de vista bioquímico y farmacológico. Su investigación es relevante porque optimiza la extracción de polifenoles de *S. bigelovii* puede aportar nuevos ingredientes funcionales a la industria alimentaria y biotecnológica, promoviendo el aprovechamiento de recursos vegetales poco explorados y contribuyendo al desarrollo de productos más saludables y el desarrollo de terapias naturales. Es por ello que la validación científica de extractos acuosos de esta halófita se convierte en una necesidad para su introducción en la alimentación humana, que avale tanto sus saludables beneficios como su seguridad o inocuidad alimentaria.
Existe una ruta crítica establecida para la evaluación y el desarrollo de productos que está conformada por una serie de fases de cumplimiento obligatorio, entre los cuales se incluyen evaluaciones toxicológicas y sensoriales. Los estudios de toxicidad permiten brindar seguridad en los tratamientos y son imprescindibles antes de llevar un producto a fase clínica o antes de ser considerado apto para consumo [20].

En este contexto, la ciencia que estudia los alimentos, al ser un campo que abarca diversas disciplinas, utiliza directamente la toxicología alimentaria como un recurso complementario para analizar y entender los diversos impactos que esos compuestos químicos pueden tener en la salud[21].La evaluación sensorial, por otro lado, es una técnica científica que se usa para provocar, cuantificar, examinar e interpretar las reacciones a los productos según cómo se los percibe a través de los sentidos de la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído. Como ciencia cuantitativa, permite recopilar datos numéricos para determinar las relaciones específicas entre las características del producto y la percepción humana[22].

A nivel mundial, esta tendencia de comprobar la calidad, inocuidad, así como los potenciales usos medicinales y alimentarios en las especies halófitas como *S. bigelovii* se han incrementado en años recientes
En Cuba, se observa una inclinación similar hacia el aprovechamiento de las Salicornias, dado que es un país en desarrollo que requiere asegurar una nutrición sostenible para sus habitantes, lo que lleva a considerar esta opción como una posibilidad reciente en la alimentación saludable[23]. No obstante, su uso y explotación como recurso alimentario y nutracéutico en el país es limitado.

A pesar de esto, en la provincia de Camagüey se dan los primeros pasos para el aprovechamiento sostenible de esta planta e incluirla en los planes de desarrollo local. En consecuencia, en la Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz se implementan dos proyectos de investigación que responden a esta temática, en los que se encuentran insertados profesores y estudiantes de la carrera de Licenciatura en Ciencias Alimentarias de la Universidad de Camagüey, en colaboración con el Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) de la Universidad de La Habana. Los proyectos en cuestión son: (1) Producción sostenible y comercialización de plantas halófitas en la UEB Salinera “El Real”, playa Santa Lucía en Camagüey, y (2) Producción sostenible y comercialización de plantas halófitas en la UEB Salinera “Las Tunas”, Puerto Padre. Estos proyectos fueron elaborados e implementados por el Centro de Estudios de Gestión Ambiental perteneciente a la Facultad de Ciencias Aplicadas de la Universidad de Camagüey.

A partir de estas consideraciones, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar las condiciones óptimas de obtención del extracto acuoso rico en polifenoles a partir de *S. bigelovii* considerando método de obtención, relación masa/disolvente y tiempo de extracción, el cual se enmarca en el campo del desarrollo de métodos de extracción sostenibles enfocados en la tecnología de los alimentos.

Para dar cumplimiento al objetivo general de este trabajo, se llevaron a cabo las siguientes tareas de investigación: 1) Caracterización del material vegetal obtenido a partir de las muestras de *S. bigelovii*.

2) Determinación de las mejores condiciones de obtención del extracto acuoso de *S. bigelovii*. 3) Caracterización fisicoquímica y sensorial del extracto acuoso obtenido, y 4) Determinación de la toxicidad aguda oral del material vegetal y del extracto acuoso de *S. bigelovii*.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo la obtención de un extracto acuoso rico en polifenoles a partir de *S. bigelovii* mediante optimización de parámetros de extracción, en el Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) de La Habana. Se utilizaron, del nivel teórico del conocimiento, los métodos analítico-sintético e inductivo-deductivo, para valorar datos empíricos provenientes del análisis documental y determinar sus categorías esenciales.

Se efectuó un estudio de las mejores condiciones de extracción y obtención de un extracto acuoso rico en polifenoles a muestras de la halófita *S. bigelovii*, recolectadas en la salina "El Real", los cuales fueron desarrollados en el IFAL, con excepción de la toma, secado y molido de la muestra, los cuales se efectuaron en el "Laboratorio de Análisis Químico de la Facultad de Ciencias Aplicadas de la Universidad de Camagüey".

Recolección y selección de la muestra

Los ejemplares adultos (verdes y rojos) de *S. bigelovii* fueron recolectados de forma manual el 25 de febrero de 2025 de la plantación localizada en la playa Santa Lucía de la provincia de Camagüey, en la salina "El Real", a 10 metros sobre el nivel del mar. Fueron seleccionados aquellos con características de estado vegetativo, tamaño y color similar y ausencia de daños mecánicos o biológicos. Fueron convenientemente lavados para eliminar materias extrañas, se escogieron los brotes más tiernos, descartando los más leñosos y las raíces, y se dejó secar a temperatura ambiente.

Preparación de la muestra

Las muestras frescas se secaron a 60 °C en estufa (Boxum, Shanghai) con circulación forzada durante 72 horas. Posteriormente se trituraron en molino de cuchillas de alta velocidad (200 min^{-1}) y se tamizaron a través de una malla de 1 mm de diámetro, obteniéndose un polvo fino. La muestra triturada y tamizada fue pesada en pesa analítica (Sartorius BS 124 S, Alemania) y envasada en bolsas de nailon a temperatura ambiente hasta la realización de los experimentos.
Se determinaron los pesos fresco y seco de las muestras. En el primer caso las muestras fueron pesadas en pesa analítica (Sartorius BS 124 S, Alemania) una vez lavadas y antes de ser sometidas al secado. Una vez terminada esta operación, se determinó el peso seco por diferencia entre el peso de las bandejas con las muestras y el peso de las bandejas vacías. Para conocer el peso total de las muestras se sumaron los pesos secos obtenidos anteriormente.
Los instrumentos y materiales que se utilizaron en la toma de la muestra estaban secos y perfectamente limpios con el fin de evitar contaminaciones con agentes extraños como tierra y otros materiales. Cada muestra fue cuidadosamente identificada con todos los datos correspondientes (fecha, hora, número de muestras, temperatura, peso fresco y peso seco).

Caracterización del material vegetal obtenido a partir de las muestras de *S. bigelovii*

Para la caracterización completa de la muestra se realizaron las determinaciones de humedad, materia seca, cenizas totales, grasas totales y cloruro de sodio (NaCl).
La humedad del material vegetal se determinó gravimétricamente mediante secado directo a 105 °C en estufa (Boxum, Shanghai) hasta peso constante, calculando la pérdida de masa. La materia seca resultante fue usada para la determinación de cenizas por vía gravimétrica, en un horno mufla a temperatura de 550 ºC[24].

Para la determinación de grasa total en el material vegetal de *S. bigelovii* se empleó el método de Soxhlet, técnica gravimétrica basada en extracción continua con disolvente orgánico. Se pesaron exactamente 5 de muestra seca g en pesa analítica (Sartorius BS 124 S, Alemania), en un cartucho de celulosa libre de grasas, el cual se colocó en el extractor Soxhlet junto con 200 mL de éter de petróleo

grado analítico. La extracción se realizó durante 6 horas con ciclos de 15 por hora, manteniendo la temperatura de ebullición del disolvente. Posteriormente, el disolvente se evaporó en estufa (Boxum, Shanghái) a 60 ºC hasta obtener el extracto lipídico puro, que se pesó para determinar el porcentaje de grasa mediante la relación entre la masa de grasa extraída y la masa inicial de muestra seca. Para garantizar la exactitud del método, se incluyó un blanco de disolvente y se verificó la ausencia de humedad residual en la muestra antes de la extracción.

La cuantificación de cloruros en muestras de *S. bigelovii* se realizó mediante el método de Mohr, siguiendo los protocolos establecidos en la norma cubana [25] para productos vegetales. Este método volumétrico se fundamenta en una reacción de precipitación donde los iones cloruro (Cl) reaccionan cuantitativamente con el nitrato de plata ($AgNO_3$) en medio neutro o ligeramente alcalino, utilizando cromato de potasio (K_2CrO_4) como indicador del punto final. Para la preparación de la muestra, se procedió a la extracción acuosa de cloruros a partir de 10 g de material vegetal. La muestra se maceró en plancha calefactora (IKA RET Basic, Alemania) con 100 mL de agua destilada precalentada a 80 ºC, manteniendo esta temperatura durante 30 minutos bajo agitación constante para garantizar una extracción eficiente. Posteriormente, el extracto se filtró a través de papel Whatman No. 1 y se llevó a un volumen final de 250 mL con agua destilada, obteniendo así una solución madre para los análisis posteriores.

Determinación de las mejores condiciones de obtención del extracto acuoso de *S. bigelovii*

Se utilizó el software Design-Expert 13.0.5.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.) para el diseño experimental y el procesamiento de datos. Se empleó un diseño de superficie de respuesta I-óptimo para la optimización numérica. Los factores evaluados fueron: (A) relación masa/ disolvente, (B) tiempo de extracción en horas y (C) aplicación o no de temperatura mediante el método de infusión. Se realizaron 16 experimentos, incluyendo tres réplicas. La Tabla 1 muestra las condiciones experimentales ensayadas.

Tabla 1 Condiciones experimentales ensayadas

Factor	Nomenclatura	Unidad	Tipo de variable	Mínimo	Máximo
Masa/disolvente	A	g/mL	Numérica	0,05	0,20
Tiempo	B	h	Numérica	8	24
Temperatura*	C	-	Nominal	1	2

*: La aplicación de temperatura mediante el método de infusión, (1) no se hierve el agua y (2) si se hierve el agua.

Se propuso una ecuación cuadrática generalizada de segundo orden (Ecuación 1) como modelo superior para expresar las respuestas en función de las variables independientes, donde Y representa las variables dependientes en estudio, X representa las variables independientes codificadas (A, B o C en este caso) y β es el valor de la respuesta ajustada en el punto central del diseño. Los otros valores β observados son los coeficientes de regresión lineal, cuadrática y de productos cruzados, respectivamente. Se realizó una prueba de significancia estadística sobre el criterio de error total con un nivel de confianza del 95%. Para cada optimización de respuesta, así como el análisis de varianza (ANOVA), se llevaron a cabo la determinación de los coeficientes de regresión, la falta de ajuste y la eficiencia del modelo (analizada mediante el valor R^2).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{n} \beta_i X_i \sum_{i=1}^{n} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{=1}^{n} \sum_{j=i+1}^{n} \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Procedimiento para la preparación de los extractos

Los extractos se prepararon según las relaciones droga/disolvente especificadas en la Tabla 2. En todos los casos se empleó el método de maceración, el cual se realizó a temperatura ambiente del laboratorio (25-27 ºC) bajo agitación constante en mini-zaranda (Retomed, MIZARD-2001) a 250

rpm durante los tiempos establecidos para cada corrida experimental. Para aquellas corridas que adicionalmente requirieron aplicación de calor (método de infusión-maceración), se procedió primero a hervir el agua en una plancha calefactora (IKA RET Basic, Alemania), retirarla del fuego y luego añadir el material vegetal correspondiente antes de iniciar el proceso de maceración. En todos los casos, las mezclas resultantes se filtraron para separar y descartar el residuo sólido, conservándose los extractos líquidos a una temperatura de -32 ºC en cámara de refrigeración (Desmon Scientific, Italia), hasta su posterior análisis.

Tabla 2. Matriz del Diseño Experimental elaborado en este estudio

Corridas	Puntos de diseño	Concentración (mg/mL)	Tiempo (h)	Temperatura
1	Réplica	0,05	16	Si
2	Modelo	0,20	16	Si
3	Falta de ajuste	0,20	16	No
4	Modelo	0,05	24	No
5	Modelo	0,05	8	No
6	Réplica	0,13	24	Si
7	Modelo	0,20	24	Si
8	Réplica	0,13	16	No
9	Modelo	0,13	8	Si
10	Modelo	0,05	16	Si
11	Falta de ajuste	0,13	8	No
12	Modelo	0,20	8	No
13	Modelo	0,13	16	No
14	Falta de ajuste	0,05	16	No
15	Falta de ajuste	0,20	8	Si
16	Modelo	0,13	24	Si

Determinación del contenido total de polifenoles

La cuantificación del contenido de polifenoles totales (CPT) estuvo basada en una reacción colorimétrica de oxidación-reducción. El ensayo consistió en añadir a 50 µL del extracto (diluido 1:10); 2,5 mL de la disolución diluida del reactivo FolinCiocalteu (1+ 9 H_2O). Después de 5 min, se adicionaron 2 mL de Na_2CO_3 al 7,5 % (m/v) y se conservó 2 h en oscuridad. Transcurrido ese tiempo, se determinó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, Beijing). Para la curva de calibración se utilizó como patrón el ácido gálico a concentraciones de 0,100,200, 300, 400 y 500 mg/L. También se realizó un ensayo en blanco preparado con 50 µL de agua destilada bajo las mismas condiciones de la muestra para calibrar el equipo y eliminar las interferencias de las absorbancias producidas por los disolventes y reactivos. Los resultados fueron expresados como ácido gálico en mg/L de extracto.

Determinación de la capacidad antioxidante mediante Ensayo del DPPH

Esto implica la evaluación a 517 nm de la disminución del radical libre estable 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH). La absorbancia típica de este radical, que tiene un color morado profundo, se reduce en la presencia de un antioxidante (que pueda atrapar un electrón libre) o algún otro radical. Por lo tanto, se puede medir la habilidad de ciertos compuestos para captar radicales libres a través de la cuantificación del nivel de decoloración que causan en una solución de DPPH en etanol. El

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

procedimiento se llevó a cabo según [26,27]. La absorbancia se leyó a 517 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, Beijing) de 96 pocillos y se determinó la captación de radicales de DPPH* como porcentaje decoloración de la solución por la ecuación (2):

$$Capacidad\ antioxidante\ (\%) = 100 - \left[\frac{(Abs_m - Abs_B)}{Abs_{DPPH}} * 100\right] \quad (2)$$

Donde:

- Abs_m - Absorbancia de la muestra,
- Abs_B - Absorbancia del blanco, y
- Abs_{DPPH} - Absorbancia de la solución de DPPH.

Caracterización físico-química y sensorial del extracto acuoso obtenido

En la caracterización físico-química del extracto acuoso óptimo de *S. bigelovii* se determinaron, además del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante óptimos, los parámetros de pH, densidad y sólidos totales. Para la determinación del pH, se empleó un pH-metro BASIC 20+ previamente calibrado con soluciones buffer a pH 4,0 y 7,0, realizando mediciones directas en los extractos acuosos a temperatura ambiente (25 ± 1ºC), según la metodología descrita por Miranda y Cuéllar[28]. Paralelamente, la densidad a 25°C se determinó utilizando un picnómetro de vidrio de 25 mL, siguiendo el mismo protocolo de referencia. Ambos parámetros se midieron por triplicado. Los sólidos totales del extracto acuoso se cuantificaron de forma gravimétrica, por evaporación de una alícuota de 10 mL en estufa (Boxum, Shanghái) a 105 ºC hasta peso constante, expresando los resultados como porcentaje de residuo seco.

En la evaluación del producto participaron 5 catadores experimentados. Se realizó una prueba descriptiva cuantitativa, llevada a cabo en el laboratorio de Evaluación Sensorial de la Dirección de Ciencias del Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA), que cumple la norma[29]. El extracto óptimo se evaluó utilizando una escala lineal de 10 cm, estructurada cada 2 cm con categorías de intensidad del atributo, de forma creciente (Figura 1), de acuerdo a lo establecido por [30]. Los atributos medidos fueron herbal, salado, característico, amargo y verde-amarillo, para las características de olor, sabor y color. La creación de los descriptores se llevó a cabo de manera individual utilizando el método de asociación controlada. Los descriptores obtenidos fueron analizados en una sesión, como se sugiere en[31].

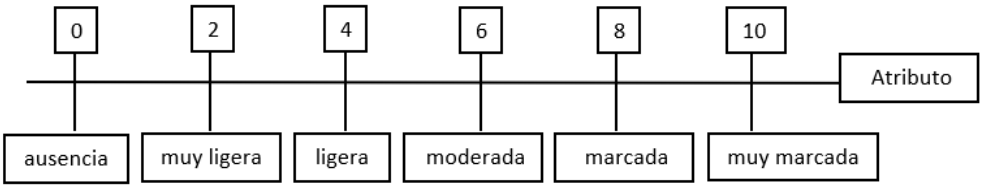


Figura 1. Escala lineal por atributos aplicada para la evaluación sensorial del extracto acuoso óptimo de *S. bigelovii*.

Determinación de la toxicidad aguda oral del material vegetal y del extracto acuoso de *S. bigelovii*

Animales y condiciones experimentales: Se utilizaron 9 ratas Sprague-Dawley (SD rat) hembras con pesos corporales entre 181-203 g. El tamaño muestral fue determinado según los lineamientos de la Guía OECD [32]. Previo al inicio experimental, los animales fueron sometidos a un período de aclimatación de 5 días bajo condiciones ambientales controladas (temperatura mantenida a 20 ± 2 ºC, humedad relativa de 75 ± 5%, ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, con acceso ad libitum a agua y dieta estándar). Luego los animales fueron divididos en tres grupos principales:

- Grupo I: Tratado con material vegetal de *S. bigelovii* (MVS).
- Grupo II: Tratado con extracto acuoso de *S. bigelovii* (EAS), previamente concentrado en un rotoevaporador (BÜCHI R-114, Suiza) a 40 ºC y 100 rpm hasta alcanzar una concentración de 15% sólidos totales.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

- Grupo Control: sin tratamiento.

La asignación de los animales fue aleatoria, y estos se marcaron con ácido pícrico para identificación y dosificación precisa según su peso.

Administración y seguimiento: Los productos de prueba fueron administrados mediante cánula intragástrica en dosis única de 2000 mg/kg de peso corporal, de acuerdo con el protocolo [32]. Previo a la administración, los animales fueron sometidos a un período de ayuno de 16 horas. Posterior a la dosificación (3 horas post-administración), se restableció el acceso a agua y alimento. Durante el período experimental de 14 días, se realizaron observaciones clínicas exhaustivas, con evaluaciones múltiples durante el primer día y monitoreo diario hasta el final del estudio. Adicionalmente, se registraron los pesos corporales en los días 1, 7 y 14 posteriores a la administración.

Eutanasia y análisis postmortem: Al concluir el período de observación, los animales fueron sacrificados siguiendo estrictos protocolos éticos utilizando una sobredosis de pentobarbital (60 mg/kg). Se procedió a realizar una necropsia completa que incluyó la evaluación macroscópica de órganos y tejidos para identificar posibles alteraciones morfológicas y signos de toxicidad, conforme a los criterios establecidos por [32]. Cuando se detectaron hallazgos relevantes, se recolectaron muestras de tejido para su posterior análisis histopatológico, con el fin de complementar la evaluación toxicológica.

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis estadístico de varianza (ANOVA) para identificar factores críticos significativos y con el objetivo de construir modelos predictivos y superficies de respuesta, así como para la optimización multivariada mediante función de conveniencia.

Resultados y discusión

Determinación del peso de la planta *S. bigelovii* fresca y seca

La ejecución del pesaje de las muestras frescas y secas de la halófita *S. bigelovii* (Tabla 3) constituye un parámetro biofísico de gran relevancia ya que ofrece información sobre la composición y el estado fisiológico del tejido vegetal de la planta, además de ser un indicador indirecto de la calidad y conservación de la muestra. Esto cumple con la función metrológica para la precisión y reproducibilidad de los estudios científicos y aporta datos cuantitativos críticos como base fundamental para la contextualización y el análisis interpretativo, enriqueciendo así el significado intrínseco y resultados confiables para los análisis posteriores. La Tabla 3 muestra los resultados del pesaje de las muestras frescas y secas de *S. bigelovii*.

Tabla 3. Pesaje de las muestras frescas y secas de *S. bigelovii.*

Muestras	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
1 y 2	1 132	168,7
3 y 4	1 100	175,7
5 y 6	1 164	180,5
7 y 8	1 141	159,1
Peso total de muestra obtenida		684 g

El pesaje de los individuos de *S. bigelovii* en su estado fresco representa un procedimiento fundamental dentro del protocolo experimental de su estudio, dada su importancia para establecer una línea base cuantitativa indispensable para la evaluación posterior de las variables. El peso fresco refleja el contenido acuoso intrínseco del tejido vegetal de *S. bigelovii*, el cual es crucial para inferir el estado hídrico y la turgencia celular en el momento de la recolección, aspectos que inciden directamente en la viabilidad y funcionalidad metabólica de la muestra.

La determinación del peso de la muestra una vez secada proporciona una métrica esencial para la cuantificación precisa de la biomasa orgánica desprovista de agua, datos de extrema importancia para la normalización de los resultados experimentales y la comparación entre las diferentes muestras o

tratamientos, eliminando la variabilidad introducida por el contenido de agua que puede fluctuar significativamente según las condiciones ambientales y morfológicas. Como puede observarse en la Tabla 3, del secado se obtuvieron 684 g de muestra seca, los cuales fueron utilizados para los posteriores análisis.

Caracterización del material vegetal

La Tabla 4 muestra la caracterización del material vegetal utilizado en este estudio.

Tabla 4. Caracterización del material vegetal.

Parámetros	Media	Desviaciónestándar
Humedad (%)	5,33	0,18
Materiaseca (%)	94,67	0,18
Cenizastotales (%) *	38,13	1,12
Grasastotales (%) *	1,03	0,12
NaCl (%) *	35,21	0,48

*: Base seca

Como se evidencia en la Tabla 4, se obtuvo un 5,33% de humedad, valor que sugiere que el proceso de desecación aplicado tuvo éxito en cuanto a la eliminación del contenido de agua, que es esencial para una mayor conservación y vida útil de la planta, así como para el aseguramiento de la calidad, disminución del deterioro y estabilidad, teniendo en cuenta que son menos probables los procesos de degradación hidrolítica de los componentes, el desarrollo de microorganismos y la actividad enzimática [33].

El resultado alcanzado en este estudio es similar al reportado por [34] de *S. bigelovii* en México (± 5%) y menor al informado por [35] de *Salicornia brachiata* en Sri Lanka (7%). Tales diferencias podrían atribuirse a múltiples factores ambientales y fisiológicos que modulan la homeostasis hídrica de las halófitas, como la fluctuación en la disponibilidad hídrica del medio, la intensidad lumínica, la temperatura y la salinidad del sustrato, que pueden haber sido diferentes entre las muestras, considerando que se recolectaron en áreas geográficas distintas.

La materia seca representa el componente mayoritario en la caracterización del material vegetal. Valores considerablemente menores se han reportado de esta especie en México (18,15%) por [36] y en otras halófitas como *Salicornia ramosissima* y *Sarcocorniaperennisalpini*, especies que presentaron valores de 11,26-15,34% y 39,46-40,41%, respectivamente [37]. Esta variabilidad de valores indica que el contenido de materia seca alcanzado en este análisis es muy superior a los demás citados en cuanto a la disponibilidad de nutrientes como carbohidratos, lípidos, minerales y compuestos secundarios en la fracción sólida vegetal de *S. bigelovii*, claves para evaluar su valor nutritivo y funcional. Las causas de dicha variación podrían explicarse por factores genéticos, condiciones edafoclimáticas, por el estrés salino o debido a la etapa fenológica de la planta y las prácticas agronómicas aplicadas o, por el contrario, debido a técnicas de determinación o periodos de secado distintos.

Las halófitas tienen un nivel de cenizas más alto que otras plantas comestibles, lo que puede explicarse por el ambiente salino en el que crecen y su capacidad para retener minerales [38]. El contenido de cenizas totales arrojado en este análisis (38,13%) es muy superior en comparación con el nivel registrado previamente por [36] y [39], quienes reportaron valores de 6,25% para el género *Salicornia* y 25,75% en *S. bigelovii*, respectivamente. Las especies halófitas pueden tener divergencias en el contenido de cenizas debido a diferencias en la acumulación de minerales, condiciones edáficas y mecanismos de exclusión o acumulación de sales. No obstante, estudios preliminares en esta especie indican que la composición de cenizas totales varía entre 30-45% [40,41,42], rango en el que se ubica el resultado alcanzado en esta investigación, lo que confirma la validez de la cifra alcanzada en este estudio.

De igual modo, [43] informaron un valor similar de cenizas en *Sarcocornia fruticosa* (37,3%), sin embargo, [44] reportaron valores inferiores de esta variable en *Sarcocornianeii*(35,7-35,8%), lo que

puede estar relacionado con la composición mineral de los suelos de los que se recolectaron las plantas [45].

De acuerdo con los resultados obtenidos, se destaca el bajo contenido de grasa del material vegetal. Este resultado en base seca es muy próximo a los documentados para *Sarcocornianeii* en Chile (1,07-1,08%) y *Sarcocornia perenne* en Portugal (1,20%), informados por [44] y [46], respectivamente. La investigación realizada muestra que *S. bigelovii* tiene poco contenido de grasas, por lo cual sería adecuada para el consumo humano como verdura de hoja verde [47] y confirma sus beneficios para la salud como los efectos antiglucémico e hipolipemiante, relacionados con el consumo de grasas [48].

En cuanto al porcentaje de NaCl obtenido (35,21%), se pueden observar datos aproximados en los encontrados en *Salicornia brachiata* (30% y 40% de NaCl en peso seco) según [49]; se ha documentado que *Salicornia herbacea* tiene la capacidad de recolectar más del 50% de NaCl en peso seco. Los valores anteriormente brindados se corresponden con lo planteado en estudios previos, donde se sostiene que, precisamente, el lado negativo de las halófitas es que generalmente contienen altos contenidos de sal, que van desde 15 a 50% de sales sobre la materia seca. Dicha particularidad se debe a que estas especies prosperan en aguas y terrenos con concentraciones de sal elevadas, inclusive, necesitan de suministros de sal para su óptimo desarrollo [50]; otra causa de su alto contenido de NaCl se debe a la acumulación de sales en sus tejidos como mecanismo de tolerancia frente al estrés salino [51]. Por su alto contenido de salinidad, *S. bigelovii* podría utilizarse como aditivo en algunos productos debido a su efecto protector sobre la disfunción vascular y la hipertensión [52]. El concepto de utilizar la *Salicornia* como sustituto natural de la sal (denominado biosal o sal verde), no solo aborda la necesidad dietética de reducir la ingesta de sodio, sino que también aprovecha alternativas sostenibles a la sal de mesa tradicional [35].

Determinación de las mejores condiciones de obtención del extracto acuoso de *S. bigelovii*

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) es una estrategia experimental y analítica diseñada para determinar las condiciones óptimas de operación de un proceso, con el fin de obtener valores ideales en una o más características de interés. En este estudio, se aplicó la MSR para optimizar los niveles de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en el extracto final, evaluando las interacciones entre las variables clave del proceso. Los resultados de cada una de las corridas experimentales realizadas se presentan en la Tabla 5, donde se observa la influencia de los factores estudiados en las respuestas deseadas.

Tabla 5. Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante obtenidos para la matriz del diseño experimental.

Corridas	Concentración (mg/mL)	Tiempo (h)	Temperatura[1]	CPT (mg/L)[2]	Antioxidante (%)[3]
1	0,05	16	Si	352,74 (10,91) bcd	34,24 (4,12) abc
2	0,20	16	Si	609,60 (12,85) i	55,94 (5,42) de
3	0,20	16	No	574,31(5,18) hi	56,34 (4,15) de
4	0,05	24	No	342,94 (10,18) abc	36,14 (3,74) bc
5	0,05	8	No	407,64 (12,24) e	27,24 (3,64) a
6	0,13	24	Si	524,62 (2,17) g	50,44 (4,85) d
7	0,20	24	Si	597,84 (13,72) i	60,14 (4,31) e
8	0,13	16	No	478,23 (12,24) f	49,54 (5,21) d
9	0,13	8	Si	346,86 (7,07) abcd	35,44 (3,85) bc
10	0,05	16	Si	311,56 (8,54) a	29,64 (4,45) ab

11	0,13	8	No	370,39 (6,871) cde	33,54 (5,03) abc
12	0,20	8	No	384,12 (10,19) de	51,94 (4,78) d
13	0,13	16	No	546,86 (9,28) gh	49,64 (3,95) d
14	0,05	16	No	329,21 (7,07) ab	40,14 (4,74) c
15	0,20	8	Si	448,82 (14,80) f	55,94 (5,57) de
16	0,13	24	Si	584,12 (12,24) hi	55,64 (4,11) de

[1]: Se refiere a la combinación o no del método de infusión-maceración.
[2:] Expresado como ácido gálico equivalente (AGE), n=3
[3]: % decoloración del radical DPPH* en presencia del extracto (n= 3).
Media (Desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Los resultados revelaron que las corridas 2 y 7 presentaron el mayor contenido de polifenoles totales ($p \leq 0,05$), lo que podría atribuirse a que estas combinaciones experimentales emplearon las mayores relaciones masa/disolvente (0,20 g/mL) y tiempos de extracción prolongados (superiores a 15 horas). Por el contrario, las corridas con relaciones masa/disolvente de 0,05 g/mL mostraron los valores más bajos ($p \leq 0,05$) de polifenoles totales. Esta misma tendencia se observó en la capacidad antioxidante, donde la máxima actividad de decoloración del radical DPPH* se registró con una concentración de material vegetal de 0,20 g/mL, destacando particularmente la corrida 7 que combinó el mayor tiempo de extracción (24 h) con la metodología de infusión-maceración.
El análisis estadístico demostró una fuerte correlación positiva (figura 2) entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, hallazgo que concuerda con lo reportado en la literatura científica [53,54,55]. Estos resultados confirman que, si bien el material vegetal contiene otros compuestos con actividad antioxidante, los polifenoles constituyen los principales responsables de esta propiedad biológica en los extractos evaluados.

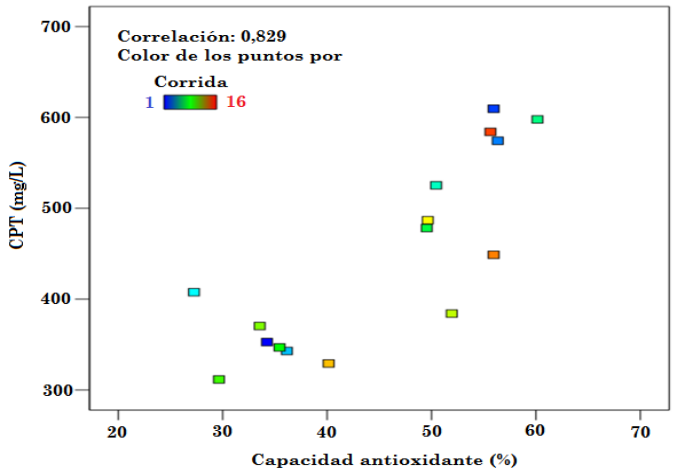


Figura 2. Correlación entre las variables contenido de polifenoles totales (mg AGE/L) y capacidad antioxidante (%) medida como % de decoloración del radical DPPH*.

Análisis de la influencia de la relación masa/disolvente, tiempo de extracción y temperatura sobre el contenido de polifenoles totales
El coeficiente de determinación (R^2) mide la variación proporcional en la respuesta atribuida al modelo más que al error aleatorio y se plantea que para un buen modelo ajustado, donde se proyecta que R^2 no debe ser menor al 80%. Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la regresión (tabla 6) demuestran que el modelo lineal con interacciones es estadísticamente significativo ($p < 0,05$) con un nivel de confianza del 95 %, confirmando que la relación masa/disolvente (A), el tiempo de extracción (B) tienen un efecto significativo sobre el contenido de polifenoles totales (CPT).

Tabla 6. Análisis de varianza para la variable CPT y coeficientes de regresión

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Modelo	1,527E+05	6	25450,62	16,94	0,0002
A-Masa/disolvente	1,083E+05	1	1,083E+05	72,07	< 0,0001
B-Tiempo	41674,91	1	41674,91	27,73	0,0005
C-Temperatura	1169,32	1	1169,32	0,7781	0,4007
AB	20169,69	1	20169,69	13,42	0,0052
AC	8154,14	1	8154,14	5,43	0,0448
BC	5523,05	1	5523,05	3,68	0,0875
Residual	13525,27	9	1502,81		
Falta de ajuste	10910,20	6	1818,37	2,09	0,2916
R^2			0,9186		
$R^2_{ajustado}$			0,8644		

El modelo presenta un alto poder explicativo, con un R^2 del 91,86%, lo que indica que explica la mayor parte de la variabilidad observada en los extractos. Sin embargo, dado que el R^2 convencional tiende a sobrestimar la calidad del modelo al aumentar el número de variables, es crucial considerar el R^2 ajustado (86,44 %). Este último penaliza la inclusión de predictores no significativos, proporcionando una medida más realista de la capacidad predictiva del modelo. Un R^2 ajustado cercano al R^2 sugiere que las variables incluidas son relevantes y que el modelo no está sobre ajustado, lo que garantiza su aplicabilidad en diferentes condiciones experimentales.

Entre los factores evaluados, la relación masa/disolvente (A) ejerce la mayor influencia sobre el CPT, seguida del tiempo de extracción (B) y las interacciones AB (masa/disolvente × tiempo) y AC (masa/disolvente × temperatura). Los coeficientes positivos de la ecuación ajustada (Ecuación 3) en términos codificados indican que un incremento en estos parámetros conduce a un aumento en la concentración de polifenoles. Este comportamiento puede atribuirse a una mayor transferencia de masa y una mejora en la solubilidad de los compuestos fenólicos al optimizar dichas variables.

$$CPT\left(\frac{mg}{L}\right) = 455{,}02 + 109{,}44\,A + 70{,}73\,B + 8{,}74\,C + 67{,}27\,AB + 30{,}03\,AC + 25{,}75\,BC \quad (3)$$

La figura 3 presenta los gráficos de superficies de respuesta que comparan el CPT de (A) sin temperatura y (B) con aplicación de temperatura (tipo infusión), demostrando que el calentamiento incrementa significativamente el rendimiento, particularmente a altas concentraciones de material vegetal. Este efecto se atribuye a que la temperatura favorece la lixiviación al debilitar las interacciones polifenol-matriz vegetal y aumentar la solubilidad de los compuestos. Se evidencia una interacción clave entre temperatura, relación masa/disolvente y tiempo de extracción, donde el calor compensa la saturación del sistema en condiciones concentradas. Los resultados indican que para sistemas concentrados se requieren temperaturas con relaciones óptimas de disolvente, mientras que en sistemas diluidos el efecto térmico es menos determinante.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

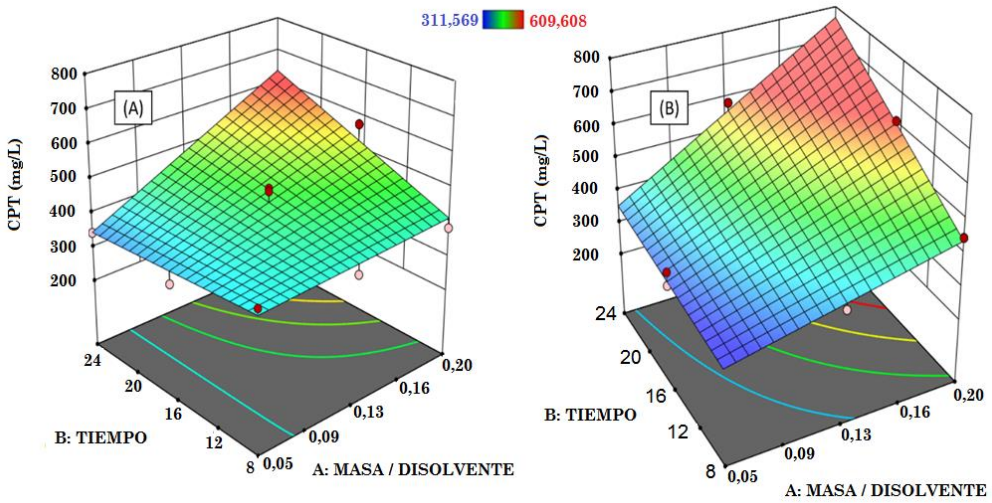


Figura 3. Gráficos de superficies de respuestas estimados para la variable CPT expresados en mg de ácido gálico equivalente. La figura (A) represente la superficie estimada cuando no se aplica temperatura y (B) cuando se aplica temperatura.

Estos hallazgos permiten optimizar el proceso de extracción, destacando que la relación masa/disolvente y el tiempo de extracción son los factores más críticos, mientras que las interacciones entre variables también contribuyen significativamente al rendimiento de polifenoles. La alta capacidad predictiva del modelo, respaldada por el R^2 ajustado, asegura que los resultados sean confiables y aplicables en el diseño de procesos de extracción eficientes.

Análisis de la influencia de la relación masa/disolvente, tiempo de extracción y temperatura sobre la capacidad antioxidante

Los resultados del ANOVA (tabla 7) revelan que el modelo lineal es estadísticamente significativo ($p < 0,05$) con un 95% de confianza, demostrando que la relación masa/disolvente (A) y el tiempo de extracción (B) afectan significativamente la capacidad antioxidante. El modelo exhibe un alto poder predictivo (R^2 = 88,54%; R^2 ajustado = 85,68%), confirmando su robustez al mostrar una mínima diferencia (< 3%) que descarta sobreajuste. Un mayor R^2 ajustado indica que los términos no significativos no se han incluido en el modelo. Particularmente, la relación masa/disolvente presentó el mayor impacto, seguida del tiempo de extracción, lo que sugiere que estos parámetros controlan principalmente la liberación de compuestos antioxidantes. Estos hallazgos proporcionan una base cuantitativa confiable para optimizar procesos de extracción dirigidos a maximizar la actividad antioxidante en aplicaciones nutracéuticas y de alimentos funcionales, donde el R^2 ajustado garantiza la aplicabilidad del modelo en diversas condiciones experimentales.

Tabla 7. Análisis de varianza para la variable CA y coeficientes de regresión.

Fuente	Suma de cuadrado	GL	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Modelo	1613,27	3	537,76	30,91	< 0,0001
A-Masa/disolvente	1402,58	1	1402,58	80,62	< 0,0001
B-Tiempo	338,11	1	338,11	19,44	0,0009
C-Temperatura	0,4153	1	0,4153	0,0239	0,8798
Residual	208,76	12	17,40		
Falta de ajuste	184,65	9	20,52	2,55	0,2379
Error puro	24,11	3	8,04		
R^2			0,8854		
$R^2_{ajustado}$			0,8568		

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Los coeficientes positivos de la ecuación ajustada (ecuación 4) indican que el aumento de la relación masa/disolvente y tiempo de extracción incrementa significativamente la capacidad antioxidante (CA), debido a una mayor transferencia de masa y mejor solubilidad de estos compuestos. Aunque la temperatura mostró un ligero efecto negativo no significativo en la capacidad antioxidante medida por DPPH*, esto sugiere que podría inducir modificaciones estructurales en polifenoles complejos (flavonoides, taninos). El ensayo DPPH* evalúa específicamente la capacidad antioxidante mediante la transferencia de un electrón al radical DPPH*, reduciéndolo a su forma estable DPPH-H. Este mecanismo de transferencia electrónica es altamente sensible a la estructura molecular de los compuestos fenólicos, donde factores como la conjugación del sistema π y la presencia de grupos hidroxilos en posiciones específicas determinan su eficiencia antioxidante. Estos resultados sugieren que no es recomendable tiempos largos de exposición a altas temperaturas.

$$Capacidad\ antioxidante\ (\%) = 45{,}50 + 11{,}91\ A + 6{,}20\ B - 0{,}16\ 28\ C \qquad (4)$$

La figura 5 representa los gráficos de superficies de respuesta estimados para la Capacidad antioxidante (CA) que comparan la CA de (A) sin temperatura y (B) con aplicación de temperatura (tipo infusión). Mostrando que no existió un efecto significativo de la temperatura según el método empleado (maceración e infusión/maceración).

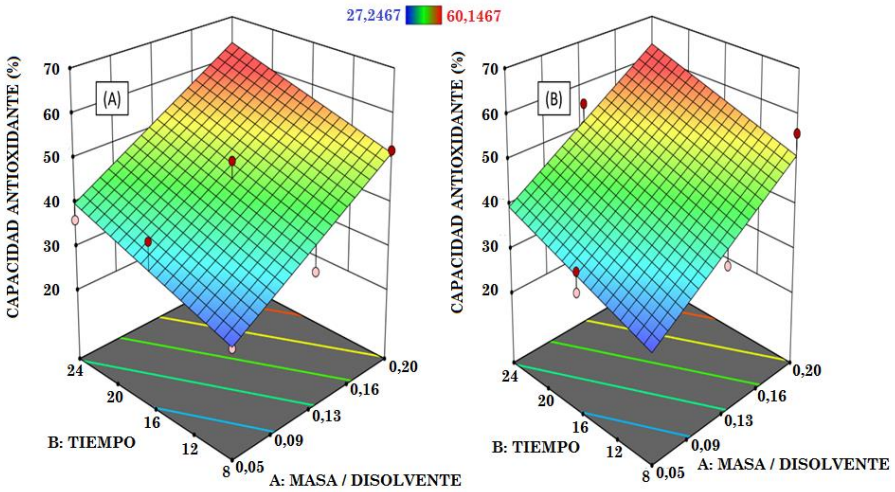


Figura 4. Gráficos de superficies de respuestas estimados para la variable CA expresados en mg de ácido gálico equivalente. La figura (A) represente la superficie estimada cuando no se aplica temperatura y (B) cuando se aplica temperatura.

Validación de los modelos ajustados y obtención del óptimo

La figura 6 presenta los gráficos diagnósticos de residuos que demuestran el adecuado ajuste de los modelos. En las gráficas de probabilidad normal (figuras 6A y 6B) se observa que los puntos siguen aproximadamente una línea recta, confirmando que los residuos cumplen con el supuesto de normalidad para ambas variables de estudio. Por otro lado, las gráficas de residuos versus valores predichos (figuras 6C y 6D) muestran una distribución aleatoria y homogénea de los puntos, sin presentar patrones sistemáticos como forma de embudo o corneta, lo que valida el cumplimiento del supuesto de homocedasticidad (varianza constante).

La ausencia de tendencias claras en estos gráficos indica que no existen factores no considerados que afecten significativamente los modelos, confirmando que se han incluido todas las variables relevantes [56].

Estos resultados demuestran que los modelos cumplen satisfactoriamente con los supuestos estadísticos fundamentales, lo que garantiza la confiabilidad de las estimaciones y predicciones realizadas, y valida los procedimientos analíticos empleados en el estudio.

La distribución aleatoria de los residuos evidencia que los modelos capturan adecuadamente la variabilidad de los datos, proporcionando así una base sólida para la interpretación de los resultados.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Tras validar el buen ajuste de los modelos, se optimizaron simultáneamente el contenido de polifenoles totales (CPT) y la capacidad antioxidante (CA) mediante un enfoque multivariado. El análisis de superficies de respuesta (Figura 7) reveló que la combinación óptima para obtener un extracto acuoso con alto contenido de polifenoles corresponde a una relación masa/disolvente de 0,19 g/mL y un tiempo de extracción de 23 horas, utilizando el método combinado de infusión/maceración. Esta condición fue seleccionada mediante la función de conveniencia, que permitió maximizar ambas respuestas manteniendo los factores independientes dentro de los rangos experimentales establecidos y fijando el método que combina la infusión/maceración.

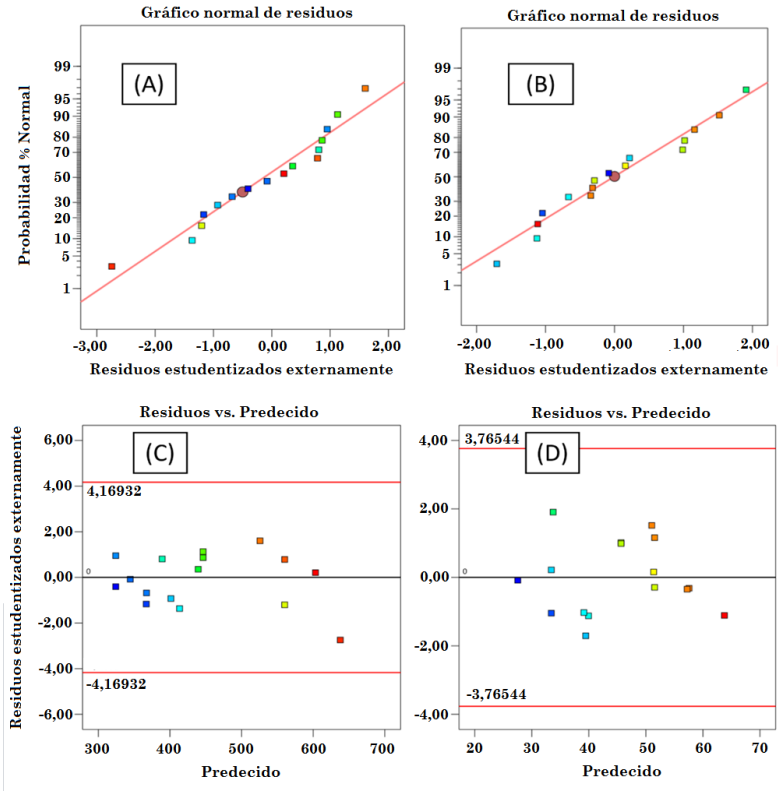


Figura 5. Gráficos de normalidad para los residuos del CPT (A) y CA (B). Gráficos de residuos vs predicho para el CPT (C) y CA (D).

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

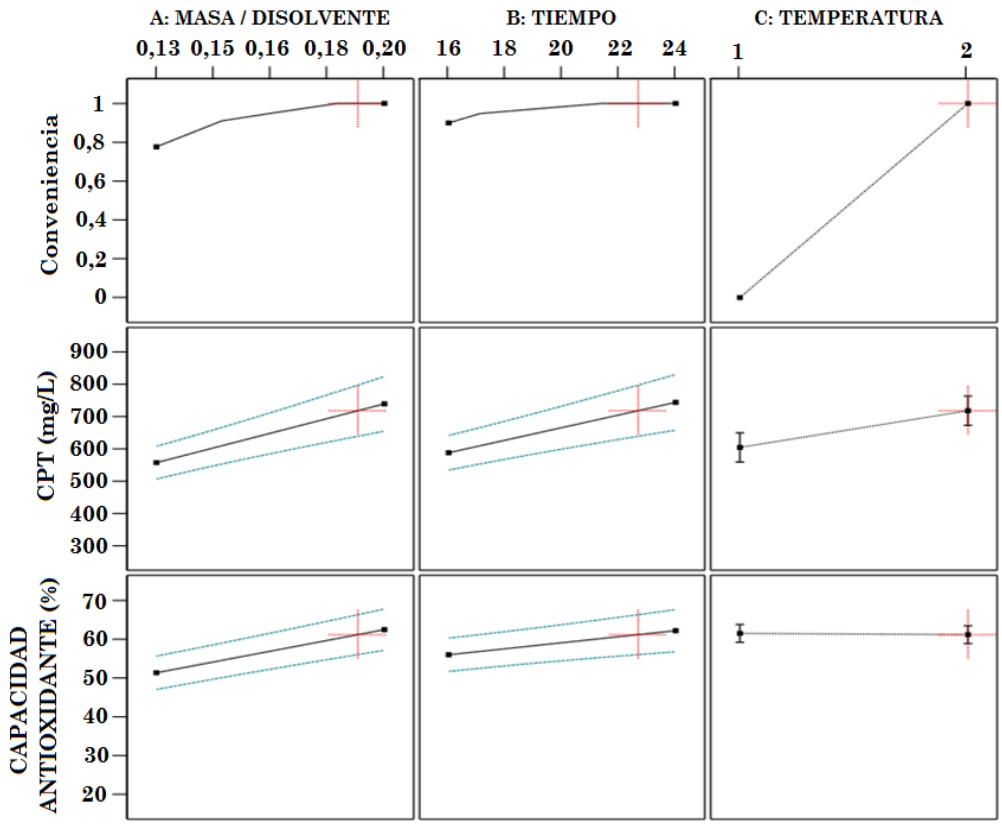


Figura 6. Obtención de la mejor combinación en función de la conveniencia estadística.

Caracterización físico-química y sensorial del extracto acuoso obtenido

Caracterización físico-química

Los resultados experimentales obtenidos bajo las condiciones óptimas predichas por el modelo (Tabla 8) demostraron una excelente concordancia con los valores teóricos, validando la robustez del mismo. El análisis estadístico mediante prueba t para una muestra reveló que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores experimentales y predichos para ninguna de las variables de respuesta evaluadas: contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

Tabla 8. Caracterización del extracto obtenido.

Parámetros	Valor observado		Valor predicho	
	Media	DE	Media	DE
Polifenoles totales (mg/L)	695,3	12,949	718, 56	38,766
Capacidadantioxidante (%)	59,85	2,241	61,121	4,171
pH	6,271	0,155	-	-
Densidad (g/mL)	1,016	0,003	-	-
Sólidostotales (%)	3,016	0,035	-	-

DE - Desviación Estándar.

Como la *Salicornia* todavía es un producto poco investigado, se necesitan más estudios para evaluar eficazmente su contenido fenólico y capacidad antioxidante [34]. No obstante, se ha dedicado mayor atención últimamente al contenido de fenólicos en este género, que varía de 1,2 a 2 mg GAE/g FW [52,57,58,59], debido a los beneficios para la salud y la bioactividad relacionados. Aquellos que se encuentran en los extractos de *Salicornia* en diferentes niveles de concentración son principalmente ácidos fenólicos, flavonoides y ligninas. Estos están involucrados en varias vías que contribuyen a

las actividades antioxidantes y antiradicales al solicitar a *Salicornia* para el desarrollo de nutracéuticos y suplementos alimenticios [52].

Como pudo apreciarse, en este estudio fue posible obtener 695,3 mg/L de polifenoles totales. Evaluando los datos presentes en la literatura para extractos acuosos de halófitas, se han reportado valores que oscilan de 33,68 a 511,10 mg/mL, según[60]. Los mayores resultados emitidos por estos autores son 511,10 GA/mL para *Limonium vulgare*, 416,69 GA/mL para *Camelia sinensis* y 363,08 GA/mL para *Polygonumma ritimum*, cifras muy cercanas a la alcanzada en esta investigación. Además, un estudio comparativo indicó que el contenido fenólico total (TPC) variaba significativamente entre las especies, y *Cynomorium coccineum* mostró el TPC más alto, con 411,5 mg de GAE g DW. La diferenciación de fenoles en estas especies está asociada con varias estructuras fisiológicas, filogenéticas y morfológicas que emergen como respuesta a la influencia de los factores ambientales [61], aumentando bajo el incremento de las concentraciones de sal y la sequía [62].

La tolerancia de los halófitos al estrés por salinidad proviene, entre otros, de la modulación de los atributos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la toxicidad iónica y el estrés oxidativo, mientras que el nivel de metabolitos está directamente relacionado con las condiciones salinas y la salinidad del sustrato. El aumento de la salinidad a menudo se correlaciona con una mayor acumulación de polifenoles, como se observó en *Cakilemaritima*, *Spergularia marina* y *Glaux marítima*, que mostraron niveles fenólicos elevados en condiciones de estrés [59,63].
El contenido de polifenoles es un buen indicativo de la actividad antioxidante de un producto, ya que un mayor contenido de dichos compuestos implica una mayor concentración de antioxidantes [64]. El estudio del contenido total de fenoles evidenció su relación con la actividad antioxidante. En [65] se afirma que a medida que aumenta el contenido de estos metabolitos, se incrementa el porcentaje de inhibición de los radicales libres de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), y concluyeron que incide significativamente en la actividad antioxidante de los extractos.

Gracias a que los halófitos contienen sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos eficaces que les ayudan a hacer frente al estrés oxidativo en el duro entorno en el que prosperan, como resultado, sus extractos exhiben propiedades antioxidantes y bioactivas que han sido identificadas [52]. En [60]analizaron varias especies y documentaron dicha variable, obteniendo valores de 1613,05 a 21,96 μg/mL. El mayor potencial antioxidante registrado bajo el análisis de estos autores estuvo presente en *L. vulgare* (21,96), *Polygonummaritimum* (24,59) y *E. peplus* (26,98), y la máxima capacidad de neutralizar los radicales libres se observó en *L. angustifolium* (42,12).

La alta actividad antioxidante encontrada en estas plantas halófitas podría estar relacionada con sus compuestos biológicamente activos. Un análisis comparativo realizado en los últimos años con respecto al contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los extractos de plantas de hábitats salinos confirma la conexión entre estos dos parámetros, ya que, en general, una mejor actividad antioxidante está relacionada con un alto contenido de compuestos fenólicos, como se mencionó anteriormente.

Las condiciones extremas afectan al sistema antioxidante de las plantas, lo que lleva a un aumento en la producción de formas reactivas de oxígeno. Debido a los efectos negativos de los factores abióticos, los halófitos sintetizan compuestos bioactivos que cumplen la función de protección para neutralizar las especies reactivas de oxígeno. En tales hábitats, las inundaciones, la sequía y la salinización del sustrato tienen un efecto sinérgico que multiplica el estrés en las plantas y aumenta significativamente la síntesis de compuestos con actividad antioxidante. Esto también juega un papel en la protección de las células y tejidos vegetales del calor y la radiación excesiva y la estimulación del sistema endógeno de enzimas antioxidantes. Este hecho es la razón por la que muchos halófitas se consideran plantas medicinales, mientras que otros son objeto de investigación como fuentes potenciales de valiosos compuestos bioactivos con aplicaciones medicinales [66].

Al realizar el análisis de los valores obtenidos durante esta prueba, se puede apreciar un pH de carácter ligeramente ácido a neutro (6,271). Esto podría estar relacionado con la presencia de constituyentes

químicos en el extracto de *S. bigelovii*, principalmente polifenoles, que manejan características de ácidos débiles [67]. Esta ligera acidez propicia una mejor solubilidad de principios activos presentes en la planta, y hace que compuestos ácidos como los polifenoles, presenten un comportamiento más estable en la preparación. En [68] se manifiesta que se ha demostrado que dichos compuestos, en medio alcalino, pueden sufrir una degradación oxidativa, siendo el pH por debajo 6,5 el de mejor estabilidad para plantas halófitas. Por lo antes expuesto, se puede inferir que el pH obtenido se relaciona con el contenido de compuestos fenólicos en cuanto a mayor estabilidad y calidad a los extractos [60]. Este rasgo, al mismo tiempo, corrobora la particularidad de las halófitas en cuanto a su hábitat de crecimiento; estas suelen prosperar en ambientes con alta salinidad, donde los niveles de pH pueden variar entre neutro y ligeramente alcalino [69],lo que muestra que el valor obtenido concuerda con los reportados en la literatura.

Un valor muy cercano al logrado en este estudio fue reportado por [70] para esta especie en Irán (pH = 6,11). La mínima oscilación entre ambos resultados puede indicar variación en la composición de los suelos en cuanto a salinidad y nutrientes, debido a que el pH influye en la absorción de iones, como se demostró en *Sarcocorniaperennis*[71]. Sumado a ello, investigaciones sobre la observación del crecimiento de *S. bigelovii* verifican que la aplicación de fertilizantes, especialmente durante la fase de crecimiento rápido, induce al crecimiento de esta halófita, evidenciado mediante la disminución del pH alcalino de 8 a 6 [72]. Además, en[73]señalan que *S. bigelovii* no solo disminuye el pH externo al secretar protones para que el Fe esté disponible, sino que también puede absorber Fe debido a que tiene actividad de la reductasa férrica (FR) tolerante a un pH alto.

Con respecto al contenido de densidad, cabe mencionar que son nulos los estudios acerca de la determinación de esta variable en plantas halófitas, no obstante, la investigación realizada muestra un valor de densidad próximo al informado por [74] en el aceite extraído de esta especie (entre 0,9036 y 0,9074 mg/mL) a 30 °C. Las fluctuaciones pueden variar en función de la estructura anatómica y la compactación celular, influenciada por condiciones de crecimiento y estrés abiótico. Por otro lado, las halófitas suelen encontrarse en hábitats salinos, donde su densidad puede oscilar según las condiciones ambientales, por ejemplo, especies como *Atriplexhalimus* y *Salicornia fruticosa* se han estudiado con diferentes niveles de salinidad, lo que muestra respuestas de crecimiento y métricas de densidad variables. Además, estas especies emplean mecanismos como la extrusión y compartimentación del Na^+ para evitar la acumulación de iones tóxicos, que pueden influir en los niveles de la densidad.

La composición estimada para sólidos totales, por su parte, se relaciona con la concentración de solutos disueltos y suspendidos en los extractos vegetales, la cual está condicionada por la absorción mineral, la síntesis metabólica y la translocación de compuestos orgánicos. Especies halófitas como *Salsolaaustralis* y *Suaeda marítima* han sido estudiadas en este sentido, por lo que ha sido posible descubrir niveles prometedores de sólidos totales, que respalda su potencial como cultivos en ambientes salinos, propiedades funcionales y su perfil nutricional.
Como se evidencia, en este estudio se obtuvo un 3,016% de sólidos totales, valor considerablemente menor en comparación con el contenido total de sólidos registrado en *Atriplex spp*., con valores de alrededor de 87,3 mg/g de peso seco para el total de aminoácidos, lo que indica una alta densidad nutricional. Estas divergencias demuestran que, como las halófitas prosperan en suelos salinos, su contenido total de sólidos puede variar como reflejo de las capacidades individuales de cada especie para acumular nutrientes y resistir el estrés.

Caracterización sensorial

La figura 8 muestra los resultados obtenidos para los descriptores sensoriales evaluados por el panel de catadores. El perfil del extracto se destaca, en primer lugar, por su nota salina intensa, atribuible a la alta concentración de sales minerales presentes en *S. bigelovii*, una halófita adaptada a ambientes costeros. Esta salinidad no solo domina el gusto, sino que también evoca aromas marinos que recuerdan al agua de mar.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Junto a estas características primarias, se percibe con intensidad moderada un perfil herbal, tanto en sabor como en olor, el cual puede asociarse a los metabolitos secundarios de la planta (como polifenoles o terpenos), que aportan reminiscencias a infusión vegetal. Este matiz refuerza la complejidad sensorial del extracto, equilibrando la dominancia salina.

En cuanto a las propiedades visuales, el extracto presenta una coloración verde con tonalidades amarillas claras, de intensidad media, resultado probablemente de la presencia de pigmentos naturales como clorofilas y xantofilas, solubilizados durante la extracción acuosa. Esta tonalidad refuerza su percepción como un producto de origen natural y fresco.

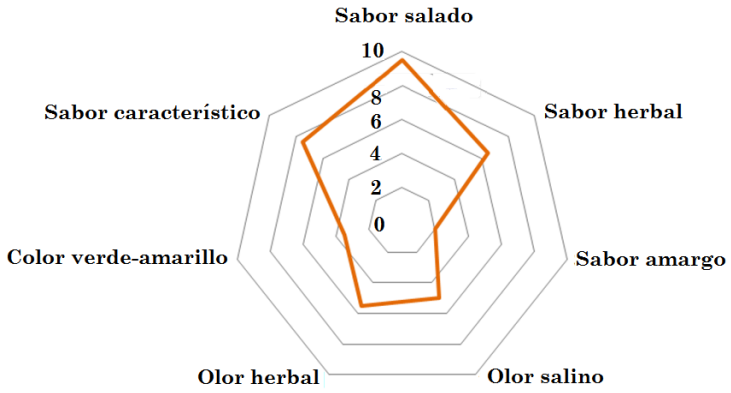


Figura 7. Caracterización sensorial del extracto acuoso obtenido.

Determinación de la toxicidad aguda oral

Los tres grupos experimentales mostraron un aumento progresivo de peso corporal durante el estudio de 14 días (figura 8).

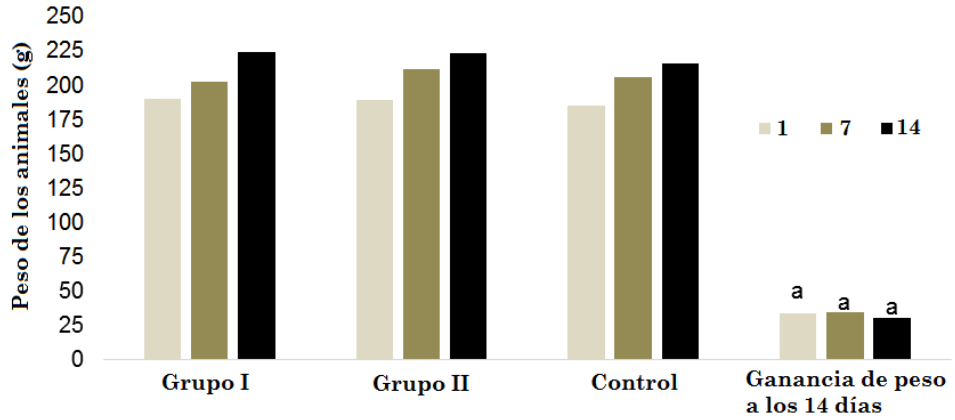


Figura 8. Incremento del peso de los animales y ganancia de peso a los 14 días. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

El grupo I registró incrementos de 13,2 g (días 1-7) y 21,3 g (días 7-14), mientras que el grupo II presentó ganancias de 23,2 g y 11,5 g en los mismos períodos. Estas variaciones fueron consistentes con los valores obtenidos en el grupo control (20,4 g y 10,3 g, respectivamente), sin diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en la ganancia de peso final entre los grupos (Figura 8). Estos hallazgos concuerdan con los reportados por [75] en su evaluación de toxicidad aguda oral con extractos de *CrotonwagneriMüll*. Los resultados demuestran que la administración oral de los productos evaluados en dosis de 2000 mg/kg no afectó el desarrollo fisiológico normal de los animales.

El análisis toxicológico integral reveló la ausencia de signos clínicos adversos, mortalidad o alteraciones comportamentales tras la administración tanto del material vegetal (MVS) como del extracto acuoso de *S. bigelovii* (EAS). La evaluación macroscópica de órganos diana (pulmones,

riñones, corazón, bazo y estómago) no detectó anomalías morfológicas, incluyendo cambios de coloración, procesos inflamatorios, hemorragias o áreas de necrosis. Existe concordancia de estos hallazgos con los obtenidos en estudios previos en la especie [76], donde tampoco se observaron efectos tóxicos a la dosis límite de 2000 mg/kg. De acuerdo con los criterios establecidos en la guía OECD TG 423 (2001), estos resultados permiten clasificar los productos evaluados en la Categoría 5 (LD_{50}> 2 000 mg/kg) o como "no clasificados", lo que sustenta su perfil de seguridad para potenciales aplicaciones en la industria alimentaria.

Conclusiones

Los resultados de este estudio permiten arribar a las siguientes conclusiones. El material vegetal se caracterizó por presentar un 5,33 % de humedad, 94,67 % de materia seca, un 38,13 % de cenizas totales, así como 1,03 % de grasas totales y 35,21 % de NaCl, resultados adecuados en correspondencia con datos documentados en estudios previos. La combinación óptima para obtener un extracto acuoso con alto contenido de polifenoles de *S. bigelovii* corresponde a una relación masa/disolvente de 0,19 g/mL y un tiempo de extracción de 23 horas, utilizando el método combinado de infusión/maceración. El extracto acuoso óptimo presentó 695,3 mg/L de polifenoles totales con un 59,85 % de capacidad antioxidante, además de un pH ligeramente ácido o neutro (6,271), 1,016 g/mL de densidad y 3,016 % de sólidos totales. Se percibió con intensidad moderada un perfil herbal, tanto en sabor como en olor, y una coloración verde con tonalidades amarillas claras, de intensidad media, en la evaluación sensorial del extracto acuoso obtenido. La administración oral en dosis de 2000 mg/kg, tanto del material vegetal como del extracto acuoso de *S. bigelovii*, no afectó el desarrollo fisiológico normal de los animales, lo que permitió clasificarlos en la Categoría 5 (LD_{50}> 2 000 mg/kg) o como "no clasificados".

Contribuciones de los autores: "Conceptualización, L.S.B. y Y.R.C.S.; Metodología, L.S.B., Y.R.C.S. y D.I,G.; software, L.S.B. y A.B.M.N.; Validación, L.S.B. y A.B.M.N.; Análisis Formal, Y.R.C.S. y Y.M.O.; Investigación, L.S.B., Y.R.C.S. y D.I,G.; Recursos, Y.M.O. y A.P.S.; Curación de Datos, L.S.B., Y.R.C.S., D.I,G. y A.P.S.; Escritura—Preparación del borrador original, A.B.M.N., Y.M.O. y A.P.S.; Escritura—Revisión y edición, L.S.B. y Y.R.C.S.; Visualización, A.B.M.N., Y.M.O. y A.P.S; Supervisión, L.S.B. y Y.R.C.S.; Administración del proyecto, Y.R.C.S. y D.I.G.; Adquisición de fondos, D.I.G., A.B.M.N. y Y.M.O. Todos los autores han leído y aprobado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación no recibió financiamiento externo.

Declaración del Comité de Ética Institucional: El estudio se realizó de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética (o Junta de Revisión Institucional) del Instituto de Farmacia y Alimentos (código de protocolo 026/25 y fecha de aprobación 3 de marzo de 2025).

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos:Los autores del manuscrito desean reconocer y agradecer a varios trabajadores del Instituto de Farmacia y Alimentos de La Habana por el apoyo y soporte brindando para la realización exitosa de este trabajo.

Referencias

1. Lombardi T, Bertacchi A, Pistelli L, Pardossi A, Pecchia S, Toffanin A, et al. Biological and Agronomic Traits of the Main Halophytes Widespread in the Mediterranean Region as Potential New Vegetable Crops. Horticulturae. 2022;8:195. https://doi.org/10.3390/horticulturae8030195
2. Dasgupta P, Chakraborty P, Bala NN. AverrhoaCarambola: An Updated Review. International Journal of Pharma Research & Review. 2013;2(7):54-63.
3. Garza-Torres R, Troyo-Diéguez E, Nieto-Garibay A, Lucero-Vega G, Magallón-Barajas FJ, García-Galindo E, et al. Environmental and Management Considerations for Adopting the

Halophyte SalicorniabigeloviiTorr. as a Sustainable Seawater-Irrigated Crop. Sustainability. 2020;12:707. https://doi.org/10.3390/su12020707

4. Naranjo-Moran J, Peñarreta-Tivillin JP, Jaime-Carvajal J, Muñoz-Ricaurte G, Ballesteros-Lara JL. Potencial biotecnológico de salicornias en Ecuador: una revisión al establecimiento agrícola y sus propiedades terapéuticas. Revista ESPAMCIENCIA. 2025;16(1):1-11.
5. Patel S. Salicornia: evaluating the halophytic extremophile as a food and a pharmaceutical candidate. 3 Biotech. 2016;6:104. https://doi.org/10.1007/s13205-016-0418-6
6. Joshi A, Kanthaliya B, Arora J. Halophytes of Thar Desert: Potential source of nutrition and feedstuff. International Journal of Bioassays. 2018;8:5674-83. http://dx.doi.org/10.14303/ijbio.2019.8.1.1
7. López-Corona BE, Tapia-Hernández JA, López-Ahumada GA, Dórame-Miranda RF, Hernández-Martinez D, Rueda-Puente EO, et al. Potencial nutricional de la planta Salicornia bigelovii (torr.) Como una alternativa sustentable en el noroeste de México. Revista Propuesta Ambiental. 2024;2(1):4-8.https://doi.org/10.5281/zenodo.14052226
8. Muñoz AM, Ramos F. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. Horizonte Médico. 2007;7(1):23-31. https://www.redalyc.org/pdf/3716/371637115003.pdf
9. Sejbuk M, Mironczuk-Chodakowska I, Karav S, MariaWitkowska A. Dietary Polyphenols, Food Processing and Gut Microbiome: Recent Findings on Bioavailability, Bioactivity, and Gut Microbiome Interplay. Antioxidants. 2024;13:1220. https://doi.org/10.3390/antiox13101220
10. Kim S, Lee E-Y, Hillman PF, Ko J, Yang I, Nam S-J. Chemical Structure and Biological Activities of Secondary Metabolites from Salicorniaeuropaea L. Molecules. 2021;26:2252. https://doi.org/10.3390/molecules26082252
11. Glenn EP, O'Leary JW, Watson MC, Thompson TL, Kuehl RE. SalicorniabigeloviiTorr.: An Oilseed Halophyte for Seawater Irrigation. Science. 1991;251(4997):1065-7. https://doi.org/10.1126/science.251.4997.1065
12. Rodrigo R, Miranda A, Vergara L. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. ClinicaChimica Acta. 2011;412:410-24. https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.11.034
13. Fredsgaard M, Kaniki SEK, Antonopoulou I, Chaturvedi T, Thomsen MH. Phenolic Compounds in Salicornia spp. and Their Potential Therapeutic Effects on H1N1, HBV, HCV, and HIV: A Review. Molecules. 2023;28:5312. https://doi.org/10.3390/molecules28145312
14. Leal ML. Polifenoles de la uva: Universidad Complutense de Madrid; 2016. https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/b92be5c3-e0f7-4589-98d6-1c28a1351458/content
15. Ricco RA, Agudelo IJ, Wagner ML. Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. Lilloa. 2015;52(2):161–74. https://www.lillo.org.ar/journals/index.php/lilloa/article/view/329
16. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering. 2013;117:426-36. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014
17. Wang L, Weller CL. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology. 2006;17:300-12. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004
18. Đurović S, Domínguez R, Pateiro M, Teslić N, Lorenzo JM, Pavlić B. Chapter 9 - Industrial hemp nutraceutical processing and technology. In: Pojić M, Tiwari BK, editors. Industrial Hemp - Food and Nutraceutical Applications2022. p. 191-218. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90910-5.00008-7
19. Flores-Martínez H, León-Campos C, Estarrón-Espinosa M, Orozco-Ávila I. Optimización del proceso de extracción de sustancias antioxidantes a partir del orégano mexicano (Lippiagraveolens HBK) utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR). Revista Mexicana de Ingeniería Química. 2016;15(3):773-85. https://www.redalyc.org/pdf/620/62048168009.pdf

20. Paixao A, Mancebo B, Regalado AI, Chong D, Sánchez LM. Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral del extracto etanólico de Tephrosiavogelii Hook (kalembe). Revista Salud Animal. 2017;39(2):1-8. http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v39n2/rsa02217.pdf
21. Yépez RG. Introducción a la toxicología de los alimentos: una perspectiva global. CATEDEA. 2018;2:37-55. https://revistas.uclave.org/index.php/catedea/article/view/903
22. Walsh C. 6 - Consumer responses to low-salt food products. In: Kilcast D, Angus F, editors. Reducing Salt in Foods - Practical Strategies: Woodhead Publishing; 2007. p. 124-33. https://doi.org/10.1533/9781845693046.1.124
23. Cardona-Soberao YR, Chávez-Vaca VA, García-González MC, Osoria-Suárez C. Programa de capacitación para la explotación sostenible de especies de salicornia en la salina "El Real". Revista Científica Multidisciplinaria Arbitrada YACHASUN. 2023;7(12):21-35. https://editorialibkn.com/index.php/Yachasun/article/view/335
24. Navas AM, González MCG, Soberao YRC. Caracterización preliminar bromatológica de la Salicornia bigelovii en las salinas "El Real" y "Las Tunas". Bionatura. 2024;9(4):1-15. https://revistabionatura.org/wp-content/uploads/2025/03/6.-Articulo-r1-1.pdf
25. NC. 660 - Productos vegetales –Método rápido para la determinación del contenido de cloruro por la técnica de Mohr. La Habana, Cuba: Oficina Nacional de Normalización; 2008.
26. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT - FoodScience and Technology. 1995;28(1):25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
27. Gutiérrez YI, Welch W, Scull R, García V, Delgado L. Propuesta de una formulación semisólida a partir de un extracto hidroalcohólico de TaliparitielatumSw. Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias. 2017;3(2):1-12. https://revistas.uh.cu/rcfa/article/view/4810
28. Miranda M, Cuéllar A. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela; 2000.
29. NC. ISO-8589 Análisis Sensorial — Directivas generales para el diseño de los locales de evaluación (ISO 8589: 2007, IDT). La Habana, Cuba: Oficina Nacional de Normalización; 2010.
30. NC. ISO-6658 Análisis sensorial. Metodología. Guía general (ISO 6658:1985, IDT). La Habana, Cuba: Oficina Nacional de Normalización; 2021.
31. NC. ISO-11035 Análisis Sensorial - Identificación y selección de descriptores para el establecimiento de un perfil sensorial mediante un enfoque multidimensional - (ISO 1035:1994, IDT). La Habana, Cuba: Oficina Nacional de Normalización; 2015.
32. OECD. OECD Guideline for Testing of Chemicals: Organization for Economic Cooperation and Development; 2001. 14 p. https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf
33. Zumbado HM. Análisis Químico de los Alimentos. 2da ed. Florida, EE.UU: Ciudad Educativa; 2022. https://www.researchgate.net/publication/360765824_Analisis_Quimico_de_los_Alimentos_2da_Edicion_2022
34. Acosta-Ruiz MdJ, Paniagua-Michel J, Olmos-Soto J, Paredes-Escalona E. Primer registro de la utilización de harinas de Salicornia bigelovii y Scomberjaponicus en dietas prácticas para el cultivo súper-intensivo de camarón Litopenaeusstylirostris. Latin American Journal of Aquatic Research. 2011;39(3):409-15. https://www.scielo.cl/pdf/lajar/v39n3/art02.pdf
35. Jayasundara Y, Herath N, Buddhipala A, Bandara MD, Jayasinghe L, Attanayake R, et al. Nutritional Composition and Bioactive Properties of Salicorniabrachiata: A Comparison of Drying Methods. Natural Product Communications. 2025;20(1):1-13. https://doi.org/10.1177/1934578X251315822
36. López-Robles MG, Rueda-Puente EO. Salicornia bigelovii: rica en compuestos activos antiinflamatorios que no son tóxicos en macrófagos de cerdo. 2015:1. https://www.amvec.com/memories/memorias/2016/2016_048.pdf

37. Lopes M, Silva AS, Séndon R, Barbosa-Pereira L, Cavaleiro C, Ramos F. Towards the Sustainable Exploitation of Salt-Tolerant Plants: Nutritional Characterisation, Phenolics Composition, and Potential Contaminants Analysis of Salicorniaramosissima and Sarcocorniaperennisalpini. Molecules. 2023;28:2726. https://doi.org/10.3390/molecules28062726
38. Díaz FJ, Benes SE, Grattana SR. Field performance of halophytic species under irrigation with saline drainage water in the San Joaquin Valley of California. Agricultural Water Management. 2013;118:59-69. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.11.017
39. Tavares A, Brás I, Silva ME. Valorização de produtos alimentares sazonais. Parte I - Caraterização físico-química de framboesa, mirtilo e salicórnia fresca cultivada em Portugal. Millenium,. 2020;2(7):143-9. https://doi.org/10.29352/mill0207e.16.00375
40. Burboa CEB, Arce ME, Oscar B, Ahumada GAL, Vargas JM, Hernández-Montiel LG, et al. Salicornia bigelovii (Torr.): un sistema modelo para incorporarse como cultivo agrícola en zonas árido-desérticos. Revista de Ciencias Biológicas y de la Sal. 2017;XIX(E3):46-50. https://doi.org/10.18633/biotecnia.v19i0.413
41. Puente EOR, Elías JL, López MAH. Las Halófitas en la Agricultura de Zonas Áridas. Saarbrücken, Alemania: Editorial Académica Española; 2012. https://dagus.unison.mx/publicaciones/libros/Libro%20Las%20Halofitas%20_Rueda%20Puente%202012.pdf
42. Ventura Y, Sagi M. Halophyte crop cultivation: The case for Salicornia and Sarcocornia. Environmental and Experimental Botany. 2013;92:144-53. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.07.010
43. Castañeda-Loaiza V, Oliveira M, Santos T, Schüler L, Lima AR, Gamad F, et al. Wild vs cultivated halophytes: Nutritional and functional differences. Food Chemistry. 2020;333:127536. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127536
44. Riquelme J, Olaeta JA, Gálvez L, Undurraga P, Fuentealba C, Osses A, et al. Nutritional and functional characterization of wild and cultivated Sarcocornianeei grown in Chile. Ciencia e Investigación Agraria. 2016;43(2):283-93. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202016000200011
45. Custódio L, Rodrigues MJ, Pereira CG, Castañeda-Loaiza V, Fernandes E, Standing D, et al. A Review on Sarcocornia Species: Ethnopharmacology, Nutritional Properties, Phytochemistry, Biological Activities and Propagation. Foods. 2021;10:2778. https://doi.org/10.3390/foods10112778
46. Barreira L, Resek E, Rodrigues MJ, Rocha MI, Pereira H, Bandarra N, et al. Halophytes: Gourmet food with nutritional health benefits? Journal of Food Composition and Analysis. 2017;59:35-42. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.02.003
47. Auris LY. Evaluación químico-bromatológica, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de dos tipos de brotes de Sarcocornia fruticosa (L.) A.J. Scott "sosa alacranera". Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2021. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS_33bcb9c861e3e9e643fc3635e3c64246/Details
48. Coc-Coj O, Cámara-Mota A, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. La salicornia: una planta halófila con propiedades funcionales. Revista Iberoamericana de Ciencias. 2020;7(1):26-38. https://www.reibci.org/publicados/2020/jul/3800103.pdf
49. Glenn EP, Brown JJ, Blumwald E. Salt Tolerance and Crop Potential of Halophytes. CriticalReviews in PlantSciences. 1999;18(2):227–55. https://doi.org/10.1080/07352689991309207
50. Kumari A, Das P, Parida AK, Agarwal PK. Proteomics, metabolomics, and ionomics perspectives of salinity tolerance in halophytes. FrontiersinPlantScience. 2015;6:1-20. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00537
51. Cuadra VP, Cambi V. Morphoanatomical functional traits in xerophytic species of a saline environment. Revista Internacional de Botánica Experimental. 2014;83:389-96. https://doi.org/10.32604/phyton.2014.83.389

52. Limongelli F, Crupi P, Clodoveo ML, Corbo F, Muraglia M. Overview of the Polyphenols in Salicornia: From Recovery to Health-Promoting Effect. Molecules. 2022;27:7954. https://doi.org/10.3390/molecules27227954
53. Lang Y, Gao N, Zang Z, Meng X, Lin Y, Yang S, et al. Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review. Journal of FutureFoods. 2024;4(3):193-204. https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002
54. Flores-Aguilar E, Flores-Rivera EdP. Capacidad antioxidante de extractos acuosos de hojas de moringa y elaboración de una bebida funcional. Tecnología Química. 2022;42(2):323-40. https://tecnologiaquimica.uo.edu.cu/index.php/tq/article/view/5259
55. Pereira C, Barros L, Alves MJ, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Artichoke and milk thistle pills and syrups as sources of phenolic compounds with antimicrobial activity. Food&Function. 2016;7:3083–90. https://doi.org/10.1039/c6fo00512h
56. Gutiérrez H, Vara Rdl. Análisis y diseño de experimentos. gda ed. México, D.F.: McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C.V.; 2008. https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w19537w/analisis_y_diseno_experimentos.pdf
57. Ventura Y, Wuddineh WA, Myrzabayeva M, Alikulov Z, Khozin-Goldberg I, Shpigel M, et al. Effect of seawater concentration on the productivity and nutritional value of annual Salicornia and perennial Sarcocornia halophytes as leafy vegetable crops. Scientia Horticulturae. 2011;128:189-96. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.02.001
58. García E. Respuesta fisiológica, bioquímica y morfológica de *Salicornia bigelovii* (Torr.), bajo tratamientos de aguas residuales de cultivos marinos y fertilización orgánica. Baja California Sur: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. ; 2023. https://dspace.cibnor.mx:8443/handle/123456789/3186
59. Agudelo A, Carvajal M, Martinez-BallestaMdC. Halophytes of the Mediterranean Basin—Underutilized Species with the Potential to Be Nutritious Crops in the Scenario of the Climate Change. Foods. 2021;10:119. https://doi.org/10.3390/foods10010119
60. Stankovic M, Stojanovic-Radic Z, Jakovljevic D, Zlatic N, Lukovic M, Dajic-Stevanovic Z. Coastal Halophytes: Potent Source of Bioactive Molecules from Saline Environment. Plants. 2023;12:1857. https://doi.org/10.3390/plants12091857
61. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. AngewChemInt Ed. 2011;50:586-621. https://doi.org/10.1002/anie.201000044
62. Kefu Z, Hai F, San Z, Jie S. Study on the salt and drought tolerance of Suaeda salsa and Kalanchoeclaigremontiana under iso-osmotic salt and water stress. PlantScience. 2003;165:837-44. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00282-6
63. Pungin A, Lartseva L, Loskutnikova V, Shakhov V, Popova E, Skrypnik L, et al. Effect of Salinity Stress on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Halophytes Spergularia marina (L.) Griseb. andGlauxmaritima L. Cultured In Vitro. Plants. 2023;12:1905. https://doi.org/10.3390/plants12091905
64. Colina J, Guerra M, Guilarte D, Alvarado C. Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de bebidas elaboradas con panela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 2012;62(3):303-10. https://ve.scielo.org/pdf/alan/v62n3/art14.pdf
65. Almenares-Rosales JE, Pérez-Quintero Y, Ramos-Frómeta C, Fung-Boix Y, Arias-Cedeño Q. Composición fitoquímica y actividad antioxidante de extractos de Plectranthusamboinicus cultivado con agua tratada magnéticamente. Revista Cubana de Química. 2024;36(2):1-9. https://cubanaquimica.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/5372
66. Stevanović ZD, Stanković MS, Stanković J, Janaćković P, Stanković M. Use of halophytes as medicinal plants: phytochemical diversity and biological activity. In: Hasanuzzaman M, Shabala S, Fujita M, editors. Halophytes and climate change: adaptive mechanisms and potential uses. Wallingford, Reino Unido: CABI; 2019. p. 343-58. https://doi.org/10.1079/9781786394330.0343

67. Camacho OI. Contribución a la estandarización del proceso de obtención de un extracto de hojas de Petiveriaalliacea L. (Anamú) a escala de laboratorio. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2014. https://bffrepositorio.unal.edu.co/server/api/core/bitstreams/9a670522-007e-4942-82b8-8c599fcdd3fa/content
68. Mendoza J, Bonilla R, Osorio P. El efecto del magnetismo en el pH: Una revision bibliográfica. Universidad - Ciencia & Sociedad. 2021;22(2):41-4. https://doi.org/10.61070/ucs.v22i2.71
69. Isca VMS, Seca AML, Pinto DCGA, Silva AMS. An Overview of Salicornia genus: The Phytochemical and Pharmacological Profile. In: Gupta VK, editor. Natural Products: Research Reviews. 2. New Delhi, India: DAYA Publishing House; 2014. http://hdl.handle.net/10400.3/2374
70. Tajeddin B, Behmadi H. Respiration Rate and Some Physicochemical Characteristics of Salicorniabigelovii as a Leafy Green Veget. Journal of Food Biosciences and Technology. 2019;9(2):21-8. https://sanad.iau.ir/fa/Journal/jfbt/Article/833133
71. Elena B, Rubio L, Sánchez MJG, Fernández JA. Incorporación de K+ en presencia de Na+ en la halófita Sarcocorniaperennis. SEFV 2011 - Programa de sesiones y resúmenes de conferencias plenarias e invitadas: Universitat Jaume I, Servei de Comunicació i Publicacions; 2011. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8558677
72. Alsaeedi AH. Di Pattern of Salicornia Vegetative Growth in Relation to Fertilization. Scientific Journal of King Faisal University. 2003;4(1):105-18. http://masder.kfnl.gov.sa/bitstream/123456789/2389/2/U02M02V04I01A05.pdf?locale=en
73. Baba T, Nakagawa T, Kaburagi E, Fujiyama H. Fe absorption strategy of dwarf glasswort (Salicorniabigelovii) at high pH. Sand Dune Research. 2021;67(2):79-85. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpssdr/67/2/67_79/_pdf
74. Anwar F, Bhanger MI, Nasir MKA, Ismail S. Analytical Characterization of Salicorniabigelovii Seed Oil Cultivated in Pakistan. Journal of Agricultural and FoodChemistry. 2002;50:4210-4. https://doi.org/10.1021/jf0114132
75. Terán EC, Cuéllar A, Salas E, Pardo GL. Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de CrotonwagneriMüll. Arg. (moshquera) y su efecto irritante sobre la mucosa bucal. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2019;24(2):e791. https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/791
76. Lee HS. Acute oral toxicity of Salicorniaherbacea L. extract in mice. BiomedicalScienceLetters. 2016;22(2):46-52. https://doi.org/10.15616/BSL.2016.22.2.46

| ***Received:*** *[29 agosto 2026]* |***Accepted:*** *[29 septiembre 2026]* | ***Published:*** *[15 noviembre 2026]* |

Citation: *Silveira, L; Cardona, Y; Iglesias, D; Martín, A; Martén, Y; Pérez, A.* Evaluación de la obtención de un extracto acuoso rico en polifenoles a partir de *Salicornia bigelovii* mediante optimización de parámetros de extracción. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/
All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida



Champiñón Ostra *Light*

Pleurotus ostreatus

Proteína: 21,4 % (BS)
Antiviral, Anti Bacterial,
Reductor de colesterol,
Regulador de la presión.
Pedidos: 099 758 9267
info.biodiversity@gmail.com
Ibarra-Ecuador

0 614143 011856

Conservar Refrigerado

50g PVP $ 1,0

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

LICOR DE UVA (*Vitis vinifera*)

- Protege el corazón
- Mejora la digestión
- Retrasa el envejecimiento
- Cuida la presión arterial
- Fortalece los huesos

NS: 24186-ALN-1119

CONTACTO: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
info.biodiversity@gmail.com, Cel. +593 99 758 9267. Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: https://cebaecuador.org/
inf.ceba@gmail.com, Cel + 593 99 579 7813. Ibarra-Ecuador



Productos de la colmena: una revisión de sus potencialidades para la seguridad alimentaria y la sostenibilidad agrícola

Beehive products: a review of their potential for food security and agricultural sustainability

Meilys Avilés Naranjo[1]*, Lic. Alvaro Hernández González[2], Dr. C. Lourdes M. Crespo Zafra[3], Dr. C. Leticia Espinosa Nieto[4]
[1]Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Facultad de Ciencias Aplicadas. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. naranjoavilesmeilys@gmail.com. https://orcid.org/0009-0006-8658-6779
[2]Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Facultad de Ciencias Aplicadas. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. https://orcid.org/0009-0001-4301-2787
[3]Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Facultad de Ciencias Aplicadas. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. https://orcid.org/0009-0000-0089-5367
[4]Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Facultad de Ciencias Aplicadas. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. https://orcid.org/0000-0002-4181-4276
*Correspondencia: naranjoavilesmeilys@gmail.com; Tel.: +53 55446293
Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.8)

Resumen

La seguridad alimentaria enfrenta desafíos crecientes que demandan la diversificación de fuentes nutricionales. Los productos de la colmena, miel, polen, propóleo, jalea real y cera, constituyen una alternativa natural con alto valor nutricional y propiedades bioactivas documentadas. Sin embargo, su integración en programas de seguridad alimentaria requiere considerar tanto sus beneficios como los riesgos sanitarios asociados. Esta revisión sintetiza la evidencia disponible sobre el potencial nutricional y terapéutico de los productos apícolas, así como los peligros emergentes relacionados con su inocuidad. Se realizó una revisión bibliográfica entre enero y marzo de 2026 en las bases de datos Google Scholar, Redalyc y SciELO, complementada con publicaciones de organismos internacionales. Se recuperaron 30 artículos, de los cuales 14 cumplieron los criterios de inclusión. Los hallazgos confirman que la miel, el polen, el propóleo y la jalea real poseen compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias. La apicultura contribuye a la seguridad alimentaria mediante la polinización de cultivos y la generación de ingresos en comunidades rurales. No obstante, se identificaron peligros sanitarios emergentes, incluyendo fitotoxinas, alérgenos, 5-hidroximetilfurfural, contaminantes orgánicos persistentes y microplásticos. Se concluye que la apicultura sostenible, respaldada por normativas adecuadas y buenas prácticas apícolas, puede contribuir significativamente a la seguridad alimentaria, especialmente en comunidades rurales vulnerables.

Palabras clave: seguridad alimentaria, productos de la colmena, apicultura, inocuidad, nutrición

Abstract

Food security faces growing challenges that demand the diversification of nutritional sources. Bee products—honey, pollen, propolis, royal jelly, and beeswax—constitute a natural alternative with

high nutritional value and documented bioactive properties. However, their integration into food security programs requires considering both their benefits and associated health risks. This review synthesizes the available evidence on the nutritional and therapeutic potential of bee products, as well as emerging hazards related to their safety. A literature review was conducted between January and March 2025 in the Google Scholar, Redalyc, and SciELO databases, supplemented with publications from international organizations. Thirty articles were retrieved, of which 14 met the inclusion criteria. The findings confirm that honey, pollen, propolis, and royal jelly possess bioactive compounds with antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. Beekeeping contributes to food security through crop pollination and income generation in rural communities. However, emerging health hazards were identified, including phytotoxins, allergens, 5-hydroxymethylfurfural, persistent organic pollutants, and microplastics. It is concluded that sustainable beekeeping, supported by appropriate regulations and good beekeeping practices, can contribute significantly to food security, especially in vulnerable rural communities.

Keywords: food security, hive products, beekeeping, safety, nutrition.

Introducción

La seguridad alimentaria es un concepto fundamental que garantiza el acceso físico, social y económico a alimentos suficientes, seguros y nutritivos para llevar una vida activa y saludable. En un mundo donde la población crece y los desafíos climáticos, económicos y sociales se intensifican, la seguridad alimentaria se convierte en una prioridad crítica para los gobiernos. El informe SOFI 2020 estimó que casi 690 millones de personas padecían hambre en 2019, cifra que aumentó, entre 720 y 811 millones en 2020, debido a la pandemia de COVID-19[1, 2, 3]. La FAO advierte que la prevalencia de inseguridad alimentaria moderada o grave sigue siendo alarmante, especialmente en regiones en desarrollo[3].

En este contexto, la diversificación de fuentes de producción se vuelve esencial. La transformación agrícola, entendida como el proceso de modernización y mejora de la eficiencia productiva, debe abordar simultáneamente la sostenibilidad ambiental y la seguridad alimentaria4. Los productos de la colmena, miel, polen, propóleo, jalea real, cera y veneno, representan una alternativa natural con alto valor nutricional y propiedades bioactivas documentadas. La miel contiene aproximadamente 38.5 % de fructosa, 31 % de glucosa y cantidades variables de vitaminas y minerales[5]. El polen apícola contiene entre 15 %n - 25 % de proteínas y es rico en minerales como calcio, magnesio, hierro y zinc .

La apicultura no solo contribuye a la seguridad alimentaria al proporcionar alimentos nutritivos, sino que también desempeña un papel en la sostenibilidad ambiental. Las abejas son responsables de la polinización de aproximadamente el 75 % de los cultivos de mayor impacto en la producción agrícola

y forestal, y el valor de los servicios ecológicos y económicos que prestan se estima en 577 mil millones de dólares[7]. En Cuba, la apicultura es un renglón estratégico que aporta a la soberanía alimentaria, con más de 1,900 productores primarios y una producción que se exporta a mercados europeos[8].

Sin embargo, la producción apícola enfrenta desafíos significativos relacionados con la inocuidad. Investigaciones recientes han identificado peligros emergentes en los productos de la colmena, incluyendo fitotoxinas, alérgenos, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), contaminantes orgánicos persistentes, radionúclidos y microplásticos1. Además, la contaminación por pesticidas y antibióticos veterinarios representa un problema de "contaminación silenciosa" que afecta la calidad e inocuidad de estos productos[9].

El objetivo de esta revisión es analizar las potencialidades de los productos de la colmena para la seguridad alimentaria, sintetizando la evidencia científica disponible sobre sus beneficios nutricionales y terapéuticos, así como los desafíos sanitarios que deben abordarse para garantizar su inocuidad.

Materiales y Métodos

Se realizó una revisión bibliográfica entre enero y marzo de 2026 con el objetivo de sintetizar la evidencia científica sobre las potencialidades de los productos de la colmena para la seguridad alimentaria. Se consultaron las bases de datos académicas Google Scholar, Redalyc y SciELO, complementadas con repositorios institucionales y publicaciones de organismos internacionales.

La estrategia de búsqueda utilizó combinaciones de términos en español e inglés: ("seguridad alimentaria" OR "foodsecurity") AND ("productos de la colmena" OR "hiveproducts" OR "miel" OR "honey" OR "polen" OR "pollen" OR "propóleo" OR "propolis" OR "jalea real" OR "royal jelly"). Se aplicaron filtros para artículos publicados entre 2004 y 2026, en español e inglés, con acceso abierto.

Los criterios de inclusión fueron: (1) artículos de revisión o investigación original que abordaran beneficios nutricionales, terapéuticos o riesgos sanitarios de los productos de la colmena; (2) publicaciones de organismos internacionales reconocidos (FAO, OMS, Banco Mundial); (3) estudios con datos verificables sobre composición, efectos en salud o inocuidad. Se excluyeron artículos de opinión, resúmenes de congresos, duplicados y publicaciones sin revisión por pares.

Se recuperaron 30 artículos inicialmente. Tras la evaluación de títulos y resúmenes, se descartaron 16 por no cumplir los criterios de inclusión, resultando en 14 artículos para el análisis final. Adicionalmente, se incorporaron datos de la Empresa Apícola Cubana (APICUBA) para contextualizar la producción apícola nacional.

Resultados

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

1. Composición y valor nutricional de los productos de la colmena

Los productos de la colmena presentan una composición diversa que los posiciona como fuentes relevantes de nutrientes esenciales (ver tabla 1). La miel es un fluido dulce y viscoso producido por abejas del género Apis a partir del néctar de las flores. Su composición incluye fructosa (aproximadamente 38.5 %), glucosa (31 %), agua (17 % - 18 %), y cantidades menores de sacarosa, maltosa, vitaminas del complejo B, vitamina C y minerales como potasio, calcio, hierro y fósforo[5].

El polen apícola es el resultado de la compactación del polen floral con néctar y sustancias salivales de las abejas obreras. Contiene entre 15 % - 25 % de proteínas, 45 % - 60 % de carbohidratos, y es rico en minerales (calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre), vitaminas (A, C, E, ácido fólico) y ácidos grasos Omega-3 y Omega-6[6]. Su composición varía según el origen botánico, lo que influye en su color y perfil nutricional.

El propóleo es elaborado por las abejas a partir de resinas de árboles mezcladas con cera, miel y enzimas. Contiene resinas (50 %), ceras (30 %), aceites esenciales (10 %), polen (5 %) y compuestos fenólicos como flavonoides y ácidos fenólicos10. La jalea real, producida por las glándulas hipofaríngeas de abejas obreras jóvenes, contiene aproximadamente 70 % de agua, 10% de proteínas, 10% de azúcares y 6% de extracto etéreo, incluyendo el ácido graso 10-hidroxi-2-decenoico[11]. La cera de abejas está compuesta por ésteres de alcoholes C24-C33 y ácidos grasos C18-C36, con puntos de fusión entre 61 °C – 65 °C[11].

Tabla 1. Composición nutricional comparativa de los productos de la colmena.

Producto	Componente principal	Valor nutricional destacado	Fuente
Miel	Fructosa (38.5%), glucosa (31%)	Vitaminas B, vitamina C, minerales (K, Ca, Fe, P)	5
Polen apícola	Carbohidratos (45-60%), proteínas (15-25%)	Minerales (Ca, Mg, Fe, Zn, Cu), vitaminas A, C, E, ácidofólico	6
Propóleo	Resinas (50%), ceras (30%)	Polifenoles, flavonoides, ácidosfenólicos	10
Jalea real	Agua (70%), proteínas (10%)	Vitaminas B, minerales (K, Na, Mg, Ca, Zn, Fe)	11
Cera de abejas	Ésteres de ácidosgrasos	Vitamina A (carotenos)	11

2. Beneficios para la salud humana

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

La miel ha demostrado propiedades antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias. Una revisión publicada en Open Life Sciences en 2025 concluyó que los compuestos bioactivos de la miel, incluyendo flavonoides (luteolina, quercetina, apigenina) y ácidos fenólicos (cafeico, ferúlico), regulan el estrés oxidativo y la inflamación, posicionándola como un remedio natural prometedor para diversas afecciones[5]. Estudios previos han reportado que la miel puede ayudar a dilatar las arterias coronarias, prevenir la formación de coágulos, proteger al corazón del estrés oxidativo y sanar quemaduras y lesiones cutáneas[5].

El propóleo contiene compuestos con propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antivirales y antimicrobianas. Una revisión de alcance publicada en Journal of Ethnopharmacology en 2022 evaluó los beneficios del propóleo en terapia periodontal, concluyendo que este producto natural demuestra resultados eficaces como agente antiinflamatorio y antibacteriano en odontología. La evidencia disponible sugiere que el propóleo podría ser un adyuvante prometedor en el tratamiento convencional de gingivitis y periodontitis[10].

El polen apícola es considerado un "tesoro nutricional" por su contenido de metabolitos activos, minerales, proteínas, carbohidratos, vitaminas, fibra y lípidos, incluyendo ácidos grasos Omega-3 y Omega-6[6]. Su importancia radica en su alto contenido de antioxidantes, sustancias capaces de bloquear el daño de los radicales libres, evitar el envejecimiento prematuro del organismo y prevenir enfermedades crónicas y degenerativas.

En el ámbito veterinario, una investigación publicada por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA) en 2024 concluyó que el propóleo ha demostrado eficacia y beneficios en diversos campos de la medicina veterinaria y la zootecnia. En la producción animal, este producto natural se destaca como un aditivo nutricional beneficioso que promueve el crecimiento, el metabolismo y la salud general de los animales[12].

3. La apicultura y la seguridad alimentaria

La apicultura contribuye a la seguridad alimentaria por múltiples vías. Primero, proporciona alimentos directamente: miel, polen, propóleo y jalea real que son fuentes de nutrientes esenciales y energía de fácil acceso. Segundo, las abejas desempeñan un papel crucial en la polinización de cultivos. La FAO estima que las abejas y otros polinizadores favorecen la producción agrícola que garantiza la seguridad alimentaria, y que más del 75 % de los cultivos alimentarios dependen en cierta medida de la polinización para mejorar su rendimiento y calidad[7]. Sin ellos, cultivos como el café, la manzana, la almendra, el tomate y el cacao verían reducidas drásticamente sus producciones[7].

La transformación agrícola, entendida como un proceso esencial que busca modernizar y hacer más eficiente la producción de alimentos, incorpora la apicultura como una actividad que no solo aumenta la productividad, sino que también aborda la sostenibilidad ambiental y la mejora de la calidad de

vida de los agricultores[5]. En este marco, los enfoques agroecológicos han sido respaldados internacionalmente como un marco para apoyar la investigación y el desarrollo en el diseño de vías diferenciadas para la transformación de los sistemas agrícolas y alimentarios[13].

En Cuba, la agroecología se ha promovido durante más de 30 años como parte de la lucha por mantener la seguridad alimentaria nacional. Un proyecto de la FAO ejecutado en 2022 en ocho municipios cubanos busca implementar un sistema de gestión integrado del conocimiento en el sector agrícola que, con el impulso de la innovación y la agroecología, permita incrementar de forma sostenible la producción de alimentos14. La agricultura cubana ha demostrado que es posible producir alimentos sin depender de insumos químicos importados, mediante el intercambio de conocimientos de campesino a campesino[15].

La producción apícola cubana se realiza sin uso de antibióticos ni químicos, y más de 1,200 toneladas de miel orgánica están certificadas por Ecocert[8]. Cuba cuenta con 14 Unidades Empresariales de Base, 3 plantas de beneficio, 1 planta de envasado de miel y 1 Unidad Empresarial de Base de Logística, y su producción se exporta a mercados como Alemania, España, Holanda y Suiza[8].

4. Desafíos sanitarios y de inocuidad

A pesar de los beneficios documentados, los productos de la colmena presentan riesgos sanitarios que deben ser abordados. Una revisión exhaustiva publicada en Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety en 2024 identificó peligros emergentes (ver tabla 2) en miel, pan de abeja, jalea real, propóleo y cera de abejas1. Entre ellos se incluyen:

Fitotoxinas: alcaloides pirrolizidínicos y grayanotoxinas, que pueden causar intoxicación.

Alérgenos: proteínas del polen y del veneno de abejas, con potencial de reacciones alérgicas graves.

5-Hidroximetilfurfural (5-HMF): compuesto que se forma por exposición a altas temperaturas o almacenamiento prolongado.

Contaminantes orgánicos persistentes (COP): como pesticidas organoclorados.

Radionúclidos: procedentes de accidentes nucleares o contaminación ambiental.

Microplásticos: partículas plásticas que pueden acumularse en los productos apícolas.

Adicionalmente, una revisión sistemática publicada en 2026 documentó el problema de la "contaminación silenciosa" por pesticidas y antibióticos veterinarios en productos apícolas[9].

Tabla 2. Peligros identificados en productos de la colmena

Tipo de peligro	Ejemplos	Productos afectados	Fuente
Fitotoxinas	Alcaloides pirrolizidínicos, grayanotoxinas	Miel, propóleo	1

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Alérgenos	Proteínas del polen, veneno	Miel, polen, jalea real	1
5-HMF	Formación por alta temperatura o almacenamiento prolongado	Miel	1
Contaminantes ambientales	COP, radionúclidos, microplásticos	Todos losproductos	1
Microorganismos	Bacterias, hongos, micotoxinas	Miel, polen, propóleo	1
Pesticidas/antibióticos	Residuos de agroquímicos	Miel, cera, propóleo, jalea real	9

La revisión de Végh et al. (2024) enfatiza la necesidad de aplicar buenas prácticas apícolas para proteger tanto a las abejas como a los consumidores de sus productos[1].

Discusión

Los hallazgos de esta revisión confirman que los productos de la colmena poseen un valor nutricional significativo y propiedades bioactivas documentadas que los posicionan como candidatos relevantes para su integración en programas de seguridad alimentaria. La miel, con su alto contenido de azúcares simples, vitaminas y minerales, constituye una fuente de energía de fácil acceso. El polen apícola, con 15 % – 25 % de proteínas y amplio perfil de micronutrientes, representa una alternativa proteica en contextos donde el acceso a fuentes animales es limitado.

La evidencia sobre los beneficios terapéuticos del propóleo es particularmente sólida. La revisión de alcance de Luque-Bracho et al. (2022) concluyó que el propóleo podría ser un adyuvante prometedor en el tratamiento de gingivitis y periodontitis, con propiedades antiinflamatorias y antibacterianas comparables o superiores a las del tratamiento convencional. Estos hallazgos coinciden con la investigación de Farieta Montenegro et al. (2024), quienes documentaron la eficacia del propóleo en medicina veterinaria y zootecnia, incluyendo su uso como aditivo nutricional que promueve el crecimiento y la salud animal.

Sin embargo, la integración efectiva de estos productos en estrategias de seguridad alimentaria requiere abordar los desafíos de inocuidad identificados. La presencia de fitotoxinas, alérgenos y contaminantes ambientales en productos de la colmena subraya la necesidad de implementar sistemas de control de calidad robustos. La revisión de Végh et al. (2024) identificó que los peligros menos estudiados incluyen la contaminación por microplásticos y radionúclidos, así como la formación de 5-HMF durante el procesamiento. La contaminación agrícola con estos compuestos representa un desafío creciente que requiere programas de monitoreo estandarizados y supervisión regulatoria efectiva[9].

La experiencia cubana demuestra que es posible producir miel de alta calidad sin uso de antibióticos ni químicos, respaldada por normativas armonizadas con estándares internacionales. Cuba cuenta con normas cubanas que regulan la calidad del producto (NRAG 18/2013 Miel de abejas. Materia prima. Requisitos[16] y NC 371: 2023 Miel de abejas- Especificaciones[17]), armonizadas con el Codex Alimentarius. Este modelo podría servir de referencia para otros países en desarrollo que buscan integrar la apicultura en sus estrategias de seguridad alimentaria.

La apicultura también contribuye indirectamente a la seguridad alimentaria a través de la polinización. Las abejas polinizan aproximadamente el 75% de los cultivos de mayor impacto agrícola, mejorando los rendimientos y la calidad de las cosechas[7]. Este servicio ecosistémico tiene implicaciones directas para la disponibilidad de alimentos a nivel local y regional. La FAO estima que el valor de los servicios ecológicos y económicos proporcionados por las abejas asciende a 577 mil millones de dólares.

Los principales desafíos identificados incluyen: (1) la falta de métodos oficiales para evaluar la composición y calidad de algunos productos como jalea real, cera y veneno; (2) la necesidad de programas de monitoreo de contaminantes; (3) la armonización de normativas a nivel internacional; y (4) la capacitación de apicultores en buenas prácticas de producción.

Conclusiones

Los productos de la colmena, miel, polen, propóleo, jalea real y cera, constituyen una fuente significativa de nutrientes esenciales y compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas documentadas. Su integración en programas de seguridad alimentaria puede contribuir a mejorar la nutrición y la salud de comunidades vulnerables, especialmente en contextos donde el acceso a otras fuentes nutricionales es limitado.

La apicultura ofrece beneficios adicionales que trascienden la producción directa de alimentos, incluyendo la polinización de cultivos y la generación de ingresos en comunidades rurales. La experiencia cubana demuestra que un sector apícola organizado, respaldado por normativas adecuadas y prácticas de producción sostenible, puede producir productos de alta calidad con potencial de exportación.

Sin embargo, la integración efectiva de estos productos requiere abordar los desafíos de inocuidad identificados. Es necesario implementar buenas prácticas apícolas, establecer sistemas de monitoreo de contaminantes, desarrollar métodos estandarizados de control de calidad y armonizar las normativas internacionales. Solo mediante un enfoque integral que considere tanto los beneficios como los riesgos será posible maximizar el potencial de los productos de la colmena para la seguridad alimentaria.

Referencias

1. Végh R, Csóka M, Marczika Andrásné Sörös C, Sipos L. (2024). Underexplored food safety hazards of beekeeping products: Key knowledge gaps and suggestions for future research. Compr Rev Food Sci Food Saf. 23(5). https://doi:10.1111/1541-4337.13404
2. FAO, FIDA, OMS, PMA, UNICEF (2020). El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2020: Transformación de los sistemas alimentarios para que promuevan dietas asequibles y saludables. Roma: FAO. Disponible en: https://www.fao.org/publications/sofi/2020/
3. FAO, FIDA, OMS, PMA, UNICEF (2021). El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2021: Transformación de los sistemas alimentarios en aras de la seguridad alimentaria, una nutrición mejorada y dietas saludables asequibles para todos. Roma: FAO. Disponible en: https://www.fao.org/publications/fao-flagship-publications/the-state-of-food-security-and-nutrition-in-the-world/en
4. Caron P. (2019). Agroecological and other innovative approaches for sustainable agriculture and food systems that enhance food security and nutrition. Roma: FAO, HLPE. Disponible en: https://www.fao.org/cfs/cfs-hlpe/publications/hlpe-10/es
5. Rahmani AH, Babiker AY. (2025). Review on role of honey in disease prevention and treatment through modulation of biological activities. Open Life Sci. https://doi:10.1515/biol-2025-1069
6. Vit P. Productos de la colmena recolectados y procesados por las abejas: miel, polen y propóleos. Rev Inst NacHig Rafael Rangel. 2004;35(2):32-39. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772004000200006
7. FAO. L'importance des abeilles dans la biodiversité et leur contribution à la sécurité alimentaire et nutritionnelle. Roma: FAO; 2018. Disponible en: https://www.fao.org
8. Cuba. Ministerio de Agricultura. Día Mundial de las Abejas y los avances apícolas de Cuba. La Habana: MINAG; 2026. Disponible en: https://www.cvi.icrt.cu
9. Ben Amor S, Abid A, Chikha M, Behmene IE, Boussebaa W, Elhouda-Mekhadmi N, et al. A systematic review on silent pollution: pesticides and antibiotics in bee products and their health implications. Ann Arid Zone. 2026; 65(1):17-30.
10. Luque-Bracho A, Rosales Y, Vergara-Buenaventura A. The benefits of propolis in periodontal therapy. A scoping review of preclinical and clinical studies. J Ethnopharmacol. 2022; 303:115926. http://doi:10.1016/j.jep.2022.115926
11. Vit P. Productos de la colmena secretados por las abejas: cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. Rev Inst Nac Hig Rafael Rangel. 2005;36(1):35-42. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772005000100006

12. Farieta Montenegro P, Parra Cortés RI, Tucuch Haas JI. Avances y perspectivas del uso de propóleo en animales domésticos. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA; 2024. Disponible en: https://repository.udca.edu.co
13. FAO. The 10 Elements of Agroecology: Enabling transitions to sustainable agriculture and food systems. Roma: FAO; 2022. Disponible en: https://www.fao.org/agroecology
14. FAO. Cuba inicia proyecto en apoyo a gestión del conocimiento y transferencia de tecnologías en agroecología. Roma: FAO; 2022. Disponible en: https://www.fao.org/cuba
15. FAO. Farmer to farmer extension services: rethinking knowledge to feed the hungry. Roma: FAO; 2022. Disponible en: https://www.fao.org
16. Ministerio de la Agricultura de Cuba. Comité Técnico de Normalización Ramal de Apicultura. Miel de abejas. Materia prima. Requisitos: NRAG 18:2013. 4.ª ed. La Habana: Ministerio de la Agricultura de Cuba; 2013.
17. Oficina Nacional de Normalización (Cuba). Miel de abejas – Especificaciones. NC 371:2023. La Habana: ONN; 2023.

| *Received: [30 julio 2026]* | *Accepted: [25 septiembre 2026]* | *Published: [15 noviembre 2026]* |

Citation: Avilés, M; Hernández, A; Crespo, L; Espinosa, L. Productos de la colmena: una revisión de sus potencialidades para la seguridad alimentaria y la sostenibilidad agrícola. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3-

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note:Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Bionatura

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Original article

In vivo assessment of acute toxicity in OF1 mice of five synthetic heterocyclic derivatives of biological interest

Evaluación in vivo de la toxicidad aguda en ratones OF1 de cinco derivados heterocíclicos sintéticos de interés biológico

Dairon Iglesias Guevara[1], Regla M. Casanova Orta[1], María de los A. Becquer Viart[1], Luis M. Rodríguez Gómez[1], Roberto J. Sosa Casamayor[1], Alicia Casariego Año[1]*

[1]Institute of Pharmacy and Food Sciences (University of Havana / Havana / Cuba);

dairon.iglesia@ifal.uh.cu. https://orcid.org/0000-0002-1825-0097

mcasanova@ifal.uh.cu. https://orcid.org/0009-0009-1159-2770

mariangel1963.06@gmail.com . https://orcid.org/0000-0001-9106-9000

luismichel0114@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-3909-2673

rsosacasamayor@gmail.com. https://orcid.org/0009-0001-8397-8252

alicial@ifal.uh.cu. https://orcid.org/0000-0002-7687-5984

***** *Correspondence: dairon.iglesia@ifal.uh.cu Tel.: +53 55752040*

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.9)

Abstract

Synthetic heterocyclic derivatives represent an important source of structures with potential biological activity, and their investigation requires characterization of the organism's response following administration. This study assessed the acute toxicity of five synthetic heterocyclic derivatives (PE-2N-NEt, MVM-16, LM6-6, LM6-9, and PM-2N) in male OF1 mice. Eighteen animals were allocated to six groups of three, comprising five treatment groups and one control group. The compounds were administered once by the intraperitoneal route at 100 mg/kg, and the animals were monitored for 15 days. Survival, clinical manifestations, body-weight progression, the kinetics of percentage body-weight gain, and water and feed consumption were evaluated; consumption was summarized using the area under the curve. No deaths or overt clinical signs were recorded. Body weight increased progressively in all groups, and the slopes of percentage weight gain ranged from 2.56 to 2.76%/day, with coefficients of determination greater than 0.98 and no significant differences versus the control ($p > 0.05$). Water and feed consumption patterns were consistent with body-weight progression. Under the conditions evaluated, all five compounds showed favorable responses in the clinical, body-weight, and consumption indicators examined.

Keywords: acute toxicity; heterocyclic derivatives; body weight; preclinical assessment.

Introduction

Heterocyclic compounds occupy a prominent position in medicinal chemistry because of their structural diversity and their presence in numerous pharmacologically active agents. Vitaku and colleagues documented the extensive representation of nitrogen-containing heterocycles among approved small-molecule drugs, illustrating the interest in these ring systems as platforms for developing new bioactive entities [1]. However, the pharmacological promise of a structure does not predict its toxicological behavior: relatively small changes in the molecular scaffold or its substituents may be associated with different biological responses. Experimental assessment of tolerability is therefore an important stage in the characterization of synthetic derivatives.

The assessment of toxicity following a single administration includes monitoring survival, clinical signs, and changes in general condition, including body-weight parameters. In an experimental study of imidazo-type heterocyclic derivatives, Kumar and colleagues reported different toxicological responses among compounds within the same family, including hepatic alterations at high doses for some derivatives [2]. This finding highlights the need to evaluate each derivative individually rather than automatically extrapolating results across structures. International recommendations also identify clinical observation as a central component of follow-up [3,4].

Body-weight progression provides a longitudinal measure of the animals' general response to treatment. Its interpretation is more informative when complemented by measurements of water and feed consumption, because these variables help contextualize weight changes. When analyzing repeated records, it is important to retain the animal as the experimental unit and to distinguish repeated measurements from independent biological replicates [5,6].

Combining clinical observations, body-weight changes, and consumption provides an integrated description of the response following administration. Although none of these indicators alone characterizes injury to a specific organ or identifies a mechanism of toxicity, their joint assessment can reveal relevant changes in general condition during follow-up.

The quality of experimental interpretation also depends on clearly describing administration conditions, follow-up, and statistical treatment. Reporting recommendations for animal research emphasize procedural transparency and complete presentation of results [7,8]. Against this background, it is appropriate to investigate the in vivo response to synthetic heterocyclic derivatives using complementary clinical and physiological indicators [9,10].

The aim of this study was to assess overt acute tolerability of five synthetic heterocyclic derivatives of biological interest in OF1 mice after a single intraperitoneal administration by monitoring survival, observable clinical signs, body-weight progression, and water and feed consumption over 15 days.

Materials and methods

Experimental design, animals, and treatments

An experimental assessment was conducted using five synthetic heterocyclic derivatives identified by the codes PE-2N-NEt, MVM-16, LM6-6, LM6-9, and PM-2N. Eighteen male OF1 mice were assigned to six experimental groups (n = 3): one control group and five groups receiving one derivative each. The animals were housed in individual cages, enabling water and feed consumption to be recorded for each experimental unit. Each derivative was administered once by the intraperitoneal route at 100 mg/kg in a volume of 0.2 mL, using an ethanol–distilled water mixture (50:50, v/v) as vehicle. Follow-up lasted 15 days. The compound codes were used consistently throughout the study to facilitate comparison of their biological responses.

Clinical observations and body-weight monitoring

Survival and observable clinical manifestations were recorded during follow-up. Body weight was measured on days 3, 6, 9, 12, and 15 and expressed in grams as mean ± standard deviation (SD). To compare trajectories among groups with different initial weights, percentage body-weight gain was calculated using Equation (1), with day 3 as the reference. In this expression, P_t denotes body weight on the day evaluated and P_3 denotes body weight recorded on day 3.

$$\Delta P(\%) = \frac{P_t - P_3}{P_3} \times 100 \qquad (1)$$

Kinetic analysis of body-weight gain

The kinetics of percentage body-weight gain were described by fitting a linear regression model as a function of time (Equation 2). The slope (b) represents the rate of weight gain, expressed as %/day, and the coefficient of determination (R^2) describes the goodness of fit of the model. Parameters were reported as mean ± SD for each group.

$$\Delta P(\%) = a + bt \qquad (2)$$

In Equation (2), t represents time (days), a is the intercept, and b is the slope (%/day).

Water and feed consumption

Water and feed consumption were recorded individually throughout follow-up. Cumulative consumption was summarized using the area under the curve (AUC), calculated by trapezoidal integration of successive measurements according to Equation (3).

$$ABC = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{C_i + C_{i+1}}{2} (t_{i+1} - t_i) \qquad (3)$$

In Equation (3), C_i and C_{i+1} represent two consecutive consumption records; t_i and t_{i+1} are their respective measurement times, and n is the number of observations.

Statistical analysis

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Results were expressed as mean ± standard deviation (SD). Differences among groups were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett post hoc comparisons against the control, with a significance level of $p < 0.05$. Normality and homogeneity of variances were assessed; data were organized and plotted using Microsoft Excel, and statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 25. Dunnett's test is appropriate for multiple comparisons against a common control [11]. Given the sample size of three animals per group, statistical power to detect modest effects is limited, and nonsignificance should not be interpreted as biological equivalence [5,12].

Results

Survival and clinical observations

Monitoring of the 18 OF1 mice for 15 days after administration enabled the joint assessment of survival, clinical manifestations, and body-weight progression in the five treated groups and the control. All animals completed the observation period, corresponding to 100% survival, and no overt clinical signs were recorded during follow-up. Body-weight progression and consumption indicators are presented below.

Body-weight progression

Body weight increased progressively from days 3 to 15 in all six groups (table 1). At the end of follow-up, group means ranged from 43.17 to 46.23 g among treated animals, whereas the control group reached 43.70 g. Because day-3 values differed among groups, percentage gain relative to that day allowed weight trajectories to be compared on a common basis (figure 1).

Table 1. Body-weight progression (g) in OF1 mice during follow-up (mean ± SD; n = 3). Groups I–V: PE-2N-NEt, MVM-16, LM6-6, LM6-9, and PM-2N, respectively.

Day	Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V	Control
3	34.03 ± 0.57	32.53 ± 0.37	30.70 ± 0.44	30.60 ± 0.44	30.57 ± 0.25	31.20 ± 0.26
6	36.73 ± 0.67	35.70 ± 0.53	33.77 ± 0.15	34.87 ± 0.57	33.10 ± 0.30	35.00 ± 0.20
9	40.00 ± 0.20	39.87 ± 0.61	37.23 ± 0.25	37.63 ± 0.38	37.07 ± 0.81	38.00 ± 0.20
12	42.77 ± 0.25	43.17 ± 0.35	40.00 ± 0.20	40.03 ± 0.21	40.03 ± 0.21	41.00 ± 0.20
15	46.23 ± 0.25	46.07 ± 0.25	43.23 ± 0.25	43.93 ± 0.15	43.17 ± 0.35	43.70 ± 0.20

The percentage body-weight gain curves showed an upward trend for all treatments, with no evidence of a sustained reduction in weight gain relative to the control (Figure 1).

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

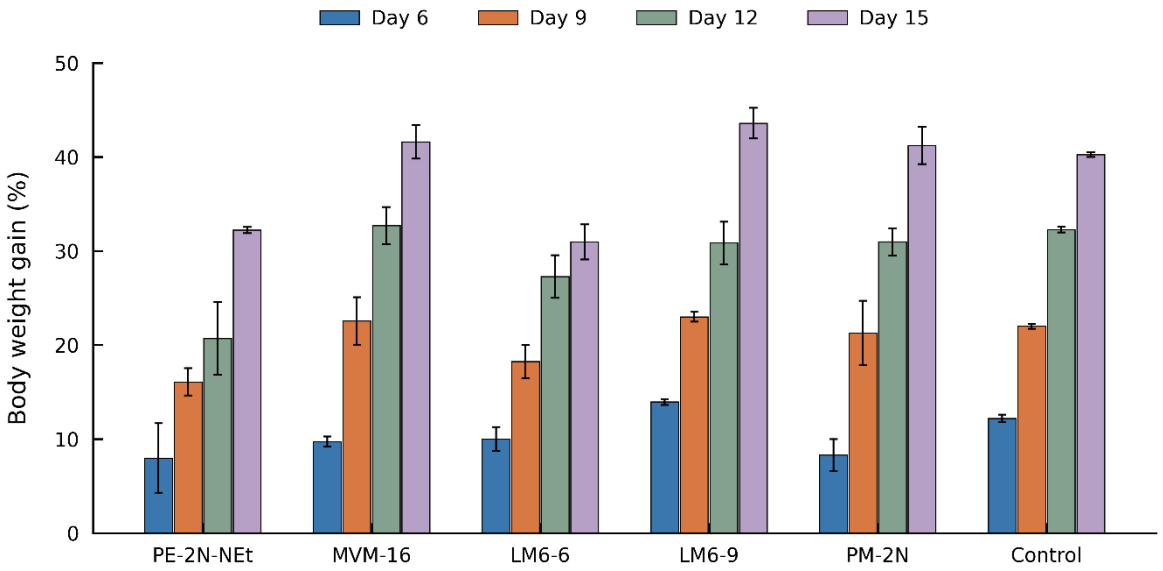


Figure 1. Percentage body-weight gain during the evaluation period.

Kinetics of percentage body-weight gain

Kinetic characterization of these trajectories by linear regression yielded slopes ranging from 2.59 ± 0.06 to 2.76 ± 0.08%/day for the five derivatives, compared with 2.56 ± 0.04%/day in the control group (Table 2). Coefficients of determination ranged from 0.985 to 0.991, indicating a good descriptive fit of the linear model over the interval evaluated. Statistical comparison of the slopes revealed no significant differences between treatments and the control ($p > 0.05$).

Table 2. Parameters of the linear fit of percentage body-weight gain (mean ± SD; n = 3). Groups I–V: PE-2N-NEt, MVM-16, LM6-6, LM6-9, and PM-2N, respectively. Identical letters indicate no significant differences ($p > 0.05$).

Group	Slope (%/día)	R^2
Group I	2.60 ± 0.02 a	0.985 ± 0.001
Group II	2.70 ± 0.23 a	0.988 ± 0.004
Group III	2.59 ± 0.06 a	0.986 ± 0.001
Group IV	2.73 ± 0.12 a	0.991 ± 0.002
Group V	2.76 ± 0.08 a	0.988 ± 0.002
Control	2.56 ± 0.04 a	0.985 ± 0.002

Water and feed consumption

Analysis of water and feed consumption, summarized as the area under the curve, enabled cumulative patterns to be compared across groups (Figure 2). The observed profiles did not show a consistent reduction in consumption among treated groups relative to the control.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

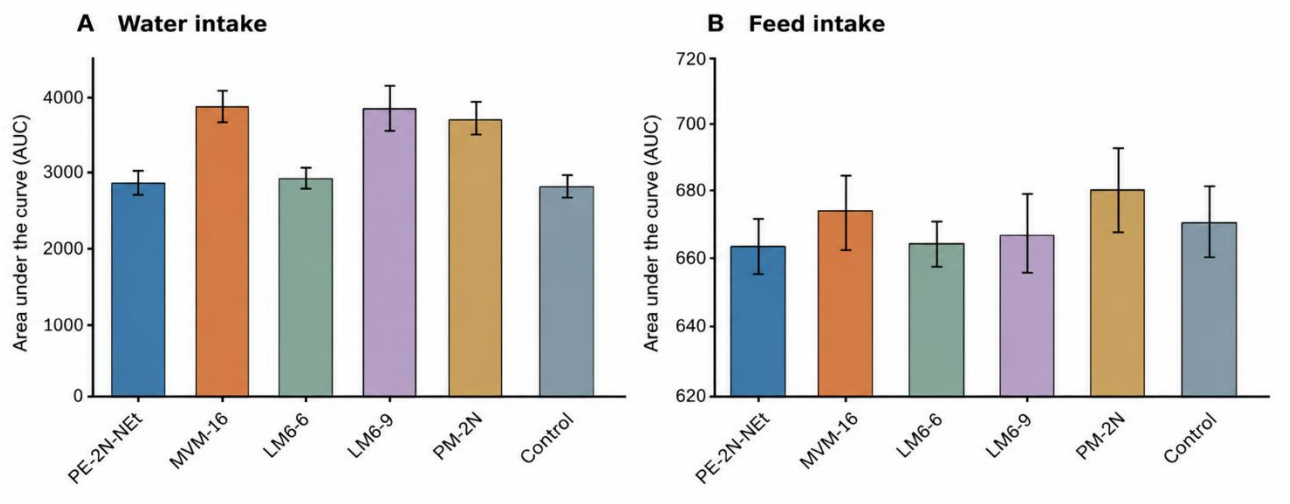


Figure 2. Water (A) and feed (B) intake represented as area under the curve (AUC).

Discussion

The absence of mortality and observable clinical manifestations after a single intraperitoneal dose of 100 mg/kg is the principal finding of this study. This observation is compatible with apparent tolerability during the period considered but does not demonstrate general safety. International acute-toxicity procedures distinguish between identifying clinical warning signs and formally classifying hazards, which requires specific designs and dose sequences [3]. Moreover, these guidelines address oral administration and cannot be presented as direct validation of the present intraperitoneal experiment.

Intraperitoneal administration delivers a defined dose, but toxicological responses can vary with the exposure route. Accordingly, the absence of mortality at 100 mg/kg by this route cannot be extrapolated directly to other routes or used to estimate a median lethal dose. A single-dose design provides initial tolerability information but cannot establish a dose–response relationship or toxicity thresholds. Other OECD acute oral toxicity approaches likewise use specific dose-sequencing strategies [13,14], which differ from the present experimental design.

Body-weight monitoring complements clinical observation because it may reveal changes in general condition even when overt acute signs are absent. In this study, all six groups gained weight steadily between days 3 and 15. This common pattern suggests that treatment did not produce an evident disturbance in body-weight progression during the observation interval. Methodological guidance emphasizes interpreting body weight and food intake together and in the context of husbandry conditions because they reflect integrated organism-level responses [15,16].

Baseline weights were not identical across groups. Percentage gain therefore complements absolute weight by expressing change relative to each animal's or group's reference value. Nevertheless, normalization neither eliminates biological variability nor automatically corrects baseline

imbalances. Festing and Altman [5] emphasize that study design and the choice of comparisons should reflect data structure and experimental objectives.

The slopes shown in Table 2 were close to one another. Their high coefficients of determination indicate that the linear approximation described the trend adequately over the assessed interval; however, a high R^2 does not itself demonstrate the absence of toxicity. Relevant treatment comparisons depend on slope magnitude and uncertainty, interpreted in the context of the experimental design and statistical procedure.

The lack of statistically significant differences versus the control ($p > 0.05$) warrants cautious interpretation. With three animals per group, the study has limited ability to detect small or heterogeneous effects. Charan and Kantharia [12] emphasize sample-size justification in animal studies, while Festing and Altman [5] recommend considering statistical power, variability, and biological relevance together. Therefore, these results do not establish equality between treatments.

Longitudinal analysis requires distinguishing individual animals from repeated observations. Measurements obtained on different days from the same animal are not independent biological replicates, and treating them as such would constitute pseudoreplication. Lazic [6] described how this problem can distort statistical interpretation in experimental research. Accordingly, interpretation of repeated measurements should distinguish longitudinal observations from independent biological replicates.

Water and feed intake provide complementary information for interpreting weight progression. Persistent reductions in intake could precede or accompany weight loss, whereas relatively stable patterns are compatible with maintenance of feeding and hydration. Intake measurements are not, however, specific markers of organ injury. Repeated-dose guidelines incorporate these variables together with hematology, clinical chemistry, necropsy, and histopathology because toxicity assessment cannot depend on a single endpoint [16,17].

The area under the curve is a useful summary of serial observations, but it compresses temporal information into a cumulative measure. Two groups with similar AUC values may have followed different trajectories, including brief periods of reduced or increased intake. AUC interpretation should therefore remain linked to the temporal pattern and the quality of the experimental record. Mathematical integration cannot substitute for missing clinical or biochemical measurements.

Reporting quality is a component of evidential strength. ARRIVE 2.0 calls for clear reporting of study design, sample size, inclusion criteria, allocation procedures, and analysis so that readers can assess reproducibility and possible bias [8]. Its accompanying explanation and elaboration document provides further guidance for applying these reporting principles [18]. Landis and colleagues [9] identified transparency regarding randomization, blinding, and sample-size estimation as important for

preclinical research, while Hooijmans and colleagues [10] developed a tool specifically for assessing risk of bias in animal studies.

From an animal-welfare perspective, the absence of overt clinical signs should be considered alongside systematic monitoring and defined humane endpoints. OECD guidance recommends using clinical indicators to recognize deterioration and avoid unnecessary suffering [4]. Appropriate care and housing are also essential for interpreting weight and intake without confusing treatment responses with environmental factors [15].

Overall, the data describe a favorable preliminary profile for the observed endpoints: complete survival, absence of overt clinical signs, sustained body-weight gain, and no statistically detected differences in growth slopes. Nevertheless, the small number of animals, exposure to a single dose, lack of dose–response assessment, and absence of organ-injury markers preclude concluding that the compounds lack systemic toxicity. Future studies should consider dose–response characterization and clinical, biochemical, and histopathological endpoints according to their safety objectives [16,17].

The results indicate a favorable response to the five derivatives for the indicators assessed at the tested dose. This information is relevant to the initial assessment of heterocyclic structures with biological potential, whose importance in medicinal chemistry is well documented [1]. Interpretation is restricted to the experimental conditions and variables examined.

Conclusions

The five synthetic heterocyclic derivatives evaluated showed a favorable response after a single intraperitoneal administration at 100 mg/kg in OF1 mice. No mortality or evident clinical manifestations were recorded over 15 days. Body weight increased progressively in all groups, and kinetic analysis showed percentage-gain slopes similar to those of the control, with no significant differences ($p > 0.05$). Water and feed consumption patterns were consistent with these findings. Joint evaluation of these indicators characterized the animals' response to the five compounds under the experimental conditions studied.

Author Contributions: Dairon Iglesias Guevara: Conceptualization, methodology, data interpretation, visualization, and investigation. Regla M. Casanova Orta: Investigation and methodology. María de los A. Bécquer Viart: Experimental procedures and data collection. Luis M. Rodríguez Gómez: Experimental investigation. Roberto J. Sosa Casamayor: Experimental investigation. Alicia Casariego Año: Experimental investigation, methodological review, writing—review and editing, and final manuscript approval.

Funding: This research was funded by the Ministry of Science, Technology and Environment of Cuba (CITMA) through the National Basic Research Project PN223LH010-051, entitled "Contribution of Mitochondria to the Mechanisms of Cell Death by Ferroptosis", conducted at the

Center for Biological Research and Evaluation (CEIEB), Institute of Pharmacy and Food, University of Havana, Cuba.

Institutional Review Board Statement: The experimental procedures involving OF1 mice were conducted in accordance with institutional guidelines for the care and use of laboratory animals and applicable animal welfare regulations. The experimental protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Center for Biological Research and Evaluation (CEIEB), Institute of Pharmacy and Food (IFAL), University of Havana, Cuba.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Vitaku E, Smith DT, Njardarson JT. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. J Med Chem. 2014;57(24):10257-10274. doi:10.1021/jm501100b.
2. Kumar S, Singhal A, Kumar P, Jain M, Kaur M, Gupta I, et al. Toxicological evaluation of imidazo-based heterocyclic derivatives: in-vitro and in-vivo acute toxicity studies. Toxicol Rep. 2025; 14:101872. doi:10.1016/j.toxrep.2024.101872.
3. OECD. Test No. 420: Acute Oral Toxicity—Fixed Dose Procedure. Paris: OECD Publishing; 2002. doi:10.1787/9789264070943-en.
4. OECD. Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Series on Testing and Assessment No. 19. Paris: OECD; 2000.
5. Festing MFW, Altman DG. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. ILAR J. 2002;43(4):244–258. doi:10.1093/ilar.43.4.244.
6. Lazic SE. The problem of pseudoreplication in neuroscientific studies: is it affecting your analysis? BMC Neurosci. 2010; 11:5. doi:10.1186/1471-2202-11-5.
7. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. PLoS Biol. 2010;8(6): e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412.
8. Percie du Sert N, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. PLoS Biol. 2020;18(7): e3000410. doi:10.1371/journal.pbio.3000410.
9. Landis SC, et al. A call for transparent reporting to optimize the predictive value of preclinical research. Nature. 2012; 490:187–191. doi:10.1038/nature11556.
10. Hooijmans CR, et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol. 2014; 14:43. doi:10.1186/1471-2288-14-43.

11. Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc. 1955;50(272):1096–1121. doi:10.1080/01621459.1955.10501294.
12. Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies? J Pharmacol Pharmacother. 2013;4(4):303–306. doi:10.4103/0976-500X.119726.
13. OECD. Test No. 423: Acute Oral Toxicity—Acute Toxic Class Method. Paris: OECD Publishing; 2002. doi:10.1787/9789264071001-en.
14. OECD. Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. Paris: OECD Publishing; 2022. doi:10.1787/9789264071049-en.
15. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press; 2011. doi:10.17226/12910.
16. OECD. Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. Paris: OECD Publishing; 2008. doi:10.1787/9789264070684-en.
17. OECD. Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents. Paris: OECD Publishing; 2018. doi:10.1787/9789264070707-en.
18. Percie du Sert N, et al. Reporting animal research: explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. PLoS Biol. 2020;18(7): e3000411. doi:10.1371/journal.pbio.3000411.

| Received: [30 julio 2026] | Accepted: [12 septiembre 2026] | Published: [15 noviembre 2026] |

Citation: Iglesias, D; Casanova, R; Becquer, M; Rodríguez, L; Sosa, R; Casariego, A. In vivo assessment of acute toxicity in OF1 mice of five synthetic heterocyclic derivatives of biological interest. *Bionatura*. 2026. Volumen 11, No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Investigación

Profesionalización de especialistas en Medicina Familiar sobre profilaxis preexposición al virus de inmunodeficiencia humana

Professional development for Family Medicine specialists on pre-exposure prophylaxis for human immunodeficiency virus

Manuel Felipe Moreno Soto[1] * https://orcid.org/0009-0008-5932-687X
Sandra María Casas Gross[2] https://orcid.org/0000-0002-8478-5727
María Elena Alvarez López[3] https://orcid.org/0000-0002-6474-5111
Roilan Hidalgo Almenares[4] https://orcid.org/0009-0006-5086-0457
Iván Ayllón Alvarez[5] https://orcid.org/0009-0002-4109-8107
Yunia Portuondo Tamayo[6] https://orcid.org/0009-0007-7656-5218

[1] Doctor en Medicina. Especialista de 1er grado en Medicina General Integral. Especialista de 1er grado en Geriatría y Gerontología. Profesor Auxiliar. Investigador Agregado. Máster en Salud Pública. Facultad de Medicina no. 1. Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Santiago de Cuba, Cuba. Correo: dr.mfmoreno@infomed.sld.cu *(autor para correspondencia).

[2] Doctora en Medicina. Especialista de 1er y 2do grado en Farmacología Clínica. Profesora Titular. Investigadora Auxiliar. Máster en Salud Pública. Doctora en Ciencias de la Educación Médica. Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Santiago de Cuba, Cuba. Correo: sandra.casas@infomed.sld.cu

[3] Licenciada en Educación, Especialidad Inglés. Profesora Titular. Investigador Agregado. Máster en Ciencias de la Educación Superior. Doctora en Ciencias Pedagógicas. Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Santiago de Cuba, Cuba. Correo: mariaelenaalvarezlopez59@gmail.com

[4] Doctor en Medicina. Especialista de 1er grado en Medicina General Integral. Profesor Asistente. Policlínico Docente Armando García Aspurú. Santiago de Cuba, Cuba. Correo: hidalgoroilan@gmail.com

[5] Doctor en Medicina. Especialista de 1er grado en Medicina General Integral. Especialista de 1er grado en Geriatría y Gerontología. Profesor Instructor. Hospital Provincial Saturnino Lora Torres. Santiago de Cuba, Cuba. Correo: iayllona@infomed.sld.cu

[6] Doctora en Medicina. Especialista de 1er grado en Bioquímica Clínica. Profesora Auxiliar. Máster en Salud Pública. Facultad de Medicina no.1, Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, Cuba. Correo: yunia.portuondo@infomed.sld.cu

Available from: https://revistabionatura.org/files-web/. (Doi10.70373/RB/2026.11.03.10)

Resumen

Introducción: La descentralización de la Profilaxis Preexposición (PrEP) al VIH hacia la Atención Primaria de Salud exige la profesionalización del médico de familia para superar barreras cognoscitivas y garantizar una atención integral e inclusiva.

Objetivo: Evaluar la efectividad de un curso de profesionalización para modificar el nivel de conocimientos sobre PrEP en especialistas en Medicina Familiar.

Material y Método: Estudio experimental de tipo antes-después sin grupo control en 33 especialistas en Medicina Familiar de Santiago de Cuba (muestreo no probabilístico por conveniencia). Se aplicó un cuestionario estructurado (validado por expertos mediante criterios de Moriyama) antes y después de un curso de 120 horas. La modificación de conocimientos se analizó con la Prueba de McNemar (α= 0,05).

Resultados: Antes del curso, el 97,0 % (n= 32) de los participantes presentaba un nivel global de conocimientos inadecuado, independientemente de sus años de experiencia. Tras el curso, la proporción de profesionales con conocimientos adecuados sobre PrEP (Sección C) se elevó del 3,0 % (n= 1) al 90,9 % (n= 30), alcanzando una reconversión cognoscitiva del 90,6 % en los insuficientes iniciales ($p < 0,001$).

Conclusiones: El curso de profesionalización demostró ser efectivo para modificar significativamente el nivel de conocimientos sobre la PrEP en los especialistas, constituyendo una etapa inicial clave para transformar su modo de actuación profesional en la atención primaria.

Palabras clave: Profilaxis Pre-Exposición; Educación Médica; Conocimientos; Desarrollo Profesional; Atención Primaria de Salud; VIH.

ABSTRACT

Introduction: Decentralizing HIV Pre-Exposure Prophylaxis (PrEP) to primary health care requires the professional development of family physicians to overcome knowledge-related barriers and ensure comprehensive, inclusive care.

Objective: To evaluate the effectiveness of a professional development course in modifying the level of knowledge regarding PrEP among family medicine specialists.

Materials and Methods: A pre-test/post-test experimental study without a control group was conducted with 33 family medicine specialists in Santiago de Cuba (using non-probability convenience sampling). A structured questionnaire (validated by experts using Moriyama criteria)

was administered before and after a 120-hour course. Changes in knowledge were analyzed using McNemar's test ($\alpha = 0.05$).

Results: Before the course, 97.0% (n = 32) of participants demonstrated an inadequate overall level of knowledge, regardless of their years of experience. Following the course, the proportion of professionals with adequate knowledge regarding PrEP (Section C) rose from 3.0% (n = 1) to 90.9% (n = 30), representing a 90.6% improvement in knowledge among those who initially lacked it ($p < 0.001$).

Conclusions: The professional development course proved effective in significantly improving the specialists' knowledge of PrEP, serving as a key initial step toward transforming their professional practice within primary care.

Keywords: Pre-Exposure Prophylaxis; Medical Education; Knowledge; Professional Development; Primary Health Care; HIV.

Introducción

A más de cuatro décadas de la identificación del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), la epidemia continúa representando uno de los desafíos más complejos para la salud pública mundial. A nivel global, aproximadamente 39 millones de personas viven con la infección, y la incidencia se mantiene particularmente elevada en poblaciones clave, entre las que destacan los hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH), las mujeres transgénero (MTG), los trabajadores del sexo y las personas privadas de libertad. [(1)] En América Latina y el Caribe, los avances en el control de la epidemia han sido heterogéneos, lo que exige la transición desde enfoques preventivos exclusivamente conductuales hacia estrategias integrales de prevención combinada que incorporen innovaciones biomédicas.[(2)] En este contexto, la Profilaxis Preexposición al VIH (PrEP) oral, basada en la administración diaria o a demanda de antirretrovirales en personas seronegativas con riesgo sustancial, se ha consolidado como una herramienta costo-efectiva que reduce la transmisión sexual del VIH en más del 99 % cuando se garantiza una adherencia adecuada.[(3)] Organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan su integración prioritaria en los servicios del primer nivel de atención médica.[(4)]

Cuba ha mantenido una respuesta sistemática frente a la epidemia del VIH desde la década de 1980, transitando desde el control epidemiológico inicial hacia la integración de modelos comunitarios y de prevención combinada, lo que ha permitido mantener la prevalencia en niveles bajos y garantizar el acceso gratuito al tratamiento.[(5)] En alineación con las metas globales 95-95-95 y el Plan Estratégico Nacional para la prevención de ITS, VIH y Hepatitis 2024-2028, el país ha iniciado la descentralización de los servicios de PrEP hacia la Atención Primaria de Salud (APS).[(6)] Investigaciones recientes en Santiago de Cuba han identificado barreras socioculturales críticas que

limitan el acceso al servicio, como el bajo nivel educacional, el miedo al rechazo, la depresión, la ansiedad, el estigma social y la ausencia de apoyo social.[7] Estos hallazgos confirman que el acceso efectivo a la PrEP no depende únicamente de la disponibilidad del medicamento, sino que está mediado por determinantes sociales que requieren ser abordados desde la formación de los profesionales. Ante esta problemática, la superación profesional continua y en particular la profesionalización se erigen como ejes dinamizadores para perfeccionar el modo de actuación del médico de familia en el contexto de la prevención combinada del VIH, integrando conocimientos declarativos, habilidades procedimentales, actitudinales y de gestión,[8, 9] por lo que los autores de este artículo se proponen como **objetivo:** evaluar la efectividad de un curso de profesionalización para modificar el nivel de conocimientos sobre Profilaxis Preexposición al VIH en médicos especialistas en Medicina Familiar.

Materiales y métodos

Diseño y tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental de tipo antes-después (de intervención educativa sin grupo control) para evaluar la profesionalización y el nivel de conocimientos sobre la prevención del VIH y la Profilaxis Pre-Exposición (PrEP) al VIH de médicos especialistas en Medicina Familiar.

Población y muestra

La población estuvo constituida por médicos especialistas en Medicina Familiar. Mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, la muestra quedó conformada por 33 especialistas que cumplieron con los criterios de inclusión (estar en activo laboralmente y aceptar voluntariamente participar en el curso de profesionalización, completando, además, las mediciones previa y posterior al curso).

Variables de estudio

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados, se operacionalizaron las siguientes variables:

- **Años de experiencia profesional en Medicina Familiar:** Variable cualitativa ordinal, categorizada en: *menos de 5 años*, *de 5 a 10 años*, *de 11 a 20 años* y *más de 20 años*.
- **Nivel de conocimientos por secciones (Secciones A, B y C):** Variable cualitativa nominal dicotómica evaluada antes (*Pre*) y después (*Post*) del curso de profesionalización educativa, categorizada en:
    - **Sección A (Prevención general del VIH - 2 preguntas):** *Adecuado* (2/2 respuestas correctas) o *Inadecuado* (menos de 2 respuestas correctas).
    - **Sección B (Prevención combinada del VIH - 2 preguntas):** *Adecuado* (2/2 respuestas correctas) o *Inadecuado* (menos de 2 respuestas correctas).

- **Sección C (Profilaxis Pre-Exposición - PrEP - 6 preguntas):** *Adecuado* (6/6 respuestas correctas) o *Inadecuado* (menos de 6 respuestas correctas).

- **Nivel global de conocimientos:** Variable cualitativa nominal dicotómica calculada a partir del puntaje total del instrumento (10 ítems):
  - **Adecuado:** 10/10 respuestas correctas (100 % de acierto).
  - **Inadecuado:** Menos de 10 respuestas correctas.

Instrumento de recolección de información

Como instrumento de recolección de datos se empleó una encuesta estructurada y anónima con un tiempo estimado de resolución de 15 minutos. El cuestionario consta de un apartado inicial de datos generales (años de experiencia) y tres secciones temáticas con un total de 10 preguntas de opción múltiple con única respuesta correcta y opción de descarte "No lo sé" para minimizar el sesgo por adivinación:

- **Sección A:** Evaluó aspectos conceptuales de vías de transmisión y eficacia del preservativo (preguntas 1 y 2).
- **Sección B:** Abordó los fundamentos de la prevención combinada y el protocolo de Profilaxis Post-Exposición (PEP) (preguntas 3 y 4).
- **Sección C:** Indagó sobre criterios de elegibilidad, esquemas de administración, diagnóstico serológico previo, espectro de protección de la PrEP, seguimiento renal/VIH y la necesidad de asesoría integral (preguntas 5 a 10).

El instrumento fue aplicado en dos momentos: inmediatamente antes de iniciar la primera actividad docente del curso (*Pre-test*) y al finalizar la última actividad docente del curso (*Post-test*).

Para la validación del instrumento se aplicó el test de Moriyama [(10)] a un grupo de expertos (n=7) que cumplían los siguientes criterios de selección:

1. Ser médico especialista en Medicina Familiar con más de cinco años de trabajo en la Atención Primaria de Salud.

2. Tener más de cinco años de experiencia trabajando con servicios y programas relacionados con la prevención de enfermedades trasmisibles.

5. Tener participación en investigaciones, publicaciones o ponencias en eventos científicos relacionadas con la prevención de enfermedades trasmisibles.

6. Poseer categoría docente superior de auxiliar o titular.

7. Poseer el grado académico de Máster en Ciencias o el grado científico de Doctor en Ciencias y/o especialista de segundo grado.

Procedimiento y curso de profesionalización

El curso de profesionalización consistió en un programa de capacitación y superación profesional estructurado sobre la implementación de la prevención combinada y la PrEP en la atención primaria de salud. El contenido abarcó las guías internacionales y protocolos vigentes de actuación para el médico de familia en la prevención del VIH, con un total de 120 horas lectivas, 6 módulos de aprendizaje y 1 mes de duración, acreditado por la Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba:

-Módulo 1: Contexto Epidemiológico y Marco Conceptual de la Prevención Combinada
-Módulo 2: Fundamentos Farmacológicos y Diferenciación de PrEP vs. PEP
-Módulo 3: Esquemas Orales de PrEP y Modalidades de Dosis
-Módulo 4: Evaluación Clínica, Criterios de Elegibilidad y Manejo de Complicaciones
-Módulo 5: Protocolo de Captación, Seguimiento Longitudinal y Acompañamiento
-Módulo 6: Salud Sexual, Enfoque Comunitario y Plan Estratégico Nacional

Procesamiento y análisis estadístico

Los datos recopilados fueron procesados e introducidos en el software estadístico Jamovi (versión 2.3). Se realizó un análisis descriptivo mediante el cálculo de frecuencias absolutas (n) y relativas porcentuales (%).

Para el análisis inferencial de la modificación en el nivel de conocimientos (*Pre* vs. *Post*) en muestras pareadas, se empleó la **Prueba de McNemar** para tablas de contingencia (2x2). Para la asociación entre los años de experiencia y el nivel de conocimientos previo se empleó estadística descriptiva mediante tablas cruzadas. En todas las pruebas de hipótesis se fijó un nivel de significación estadística del 5 % ($\alpha = 0,05$), considerándose significativos los valores de $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

La investigación se rigió por los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki. Se garantizó el carácter voluntario y anónimo de la encuesta, requiriéndose el consentimiento informado previo de cada participante. La información obtenida fue utilizada exclusivamente con fines científicos y académicos.

Análisis de los resultados

Tabla 1. Resultados de la validación por expertos del instrumento empleado para medir la profesionalización de los especialistas de Medicina Familiar en la implementación de la PrEP al VIH según criterios básicos de Moriyama.

Preguntas	**Evaluación**		
	Poco	**Moderadamente**	**Mucho**

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

	No.	%	No.	%	No.	%
Comprensible	0	0	1	14.29	6	85.71
Sensible a variaciones del fenómeno que mide	1	14.29	1	14.29	5	71.43
Tiene suposiciones básicas justificables e intuitivamente razonables	0	0	2	28.57	4	57.14
Componentes claramente definidos	1	14.29	0	0	5	71.43
Si deriva de datos factibles de obtener	0	0	0	0	6	85.71

% Calculado en base al total de expertos (n=7)

En la tabla 1 se presentan los resultados del proceso de validación del contenido del instrumento mediante el criterio de expertos (n= 7), evaluado a través de los criterios básicos de Moriyama. De forma general, predominó una valoración favorable en todas las dimensiones evaluadas. Los criterios con mayor nivel de acuerdo en la categoría de "Mucho" fueron la comprensibilidad del instrumento y la factibilidad de obtener los datos a partir de los cuales se deriva, ambos alcanzando el 85.71% (n= 6). Así mismo, la sensibilidad a las variaciones del fenómeno y la clara definición de los componentes registraron una evaluación positiva del 71.43% (n= 5) en la categoría máxima. Finalmente, el 57.14% (n= 4) consideró que las suposiciones básicas eran altamente justificables y razonables, mientras que el 28.57% (n= 2) las valoró como moderadamente razonables. Ningún experto otorgó la calificación de "Poco" a la comprensibilidad, la justificabilidad de las suposiciones, ni a la factibilidad de los datos.

Tabla 2. Distribución de médicos según años de experiencia como especialistas en Medicina Familiar y nivel global de conocimientos sobre prevención del VIH previa a la capacitación

Años de Experiencia en Medicina Familiar		**Nivel Global de Conocimientos Pre Curso**		
		Inadecuado	**Adecuado**	**Total**
Más de 20 años	Frecuencia	5	0	5
	% de la fila			

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Años de Experiencia en Medicina Familiar		Nivel Global de Conocimientos Pre Curso		
		Inadecuado	**Adecuado**	**Total**
		100.0%	0.0%	100.0%
de 11 a 20 años	Frecuencia	4	1	5
	% de la fila	80.0%	20.0%	100.0%
de 5 a 10 años	Frecuencia	12	0	12
	% de la fila	100.0%	0.0%	100.0%
menos de 5 años	Frecuencia	11	0	11
	% de la fila	100.0%	0.0%	100.0%
Total	Frecuencia	32	1	33
	% de la fila	97.0%	3.0%	100.0%

Al analizar la relación entre el tiempo profesional y el nivel global de conocimientos previo al curso (N= 33), se evidenció un claro predominio de la categoría Inadecuado en la totalidad de los estratos analizados (Tabla 1). El 97,0 % de la muestra (n= 32) inició el estudio con un nivel global de conocimientos insuficientes sobre la materia.

Tabla 3. Modificación del nivel de conocimientos sobre prevención general del VIH antes y después del curso (Sección A).

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Evaluación Pre Curso Sección A		Evaluación Post Curso Sección A		
		Inadecuado	**Adecuado**	**Total**
Inadecuado	Frecuencia	2	4	6
	% de fila	33.3%	66.7%	
Adecuado	Frecuencia	0	27	27
	% de fila	0.0%	100.0%	
Total	Frecuencia	2	31	33
	% de fila	6.1%	93.9%	

Prueba de McNemar (x2= 4,00; gl= 1; p= 0,046)

En la sección A (Conocimientos generales sobre la prevención del VIH) (N= 33), la evaluación inicial mostró que el 18,2% (n= 6) presentaba un nivel de conocimientos Inadecuado, mientras que el 81,8% (n= 27) se ubicó en categoría Adecuado. Tras el curso de profesionalización, el 66,7% (n= 4) de los profesionales con desempeño inicial insuficiente logró migrar favorablemente hacia la condición de Adecuado, reduciendo la proporción de evaluaciones inadecuadas al 6,1% (n= 2) y elevando la representatividad final de la categoría satisfactoria al 93,9% (n= 31).

El 100% (n= 27) de los profesionales que iniciaron con nivel adecuado mantuvo su resultado y no se registraron retrocesos en la muestra. La prueba McNemar confirmó que el cambio observado fue estadísticamente significativo (x^2= 4,00; gl= 1; p= 0,046), evidenciando un impacto positivo en el aprendizaje alcanzado en esta dimensión.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Tabla 4. Modificación del nivel de conocimientos sobre prevención combinada del VIH antes y después del curso (Sección B).

		Evaluación Post Curso Sección B		
Evaluación Pre Curso Sección B		**Inadecuado**	**Adecuado**	**Total**
Inadecuado	Frecuencia	3	27	30
	% de fila	10.0%	90.0%	
Adecuado	Frecuencia	0	3	3
	% de fila	0.0%	100.0%	
Total	Frecuencia	3	30	33
	% de fila	9.1%	90.9%	

Prueba de McNemar (x^2= 29.0, gl= 1, p< 0.001)

La evaluación de la Sección B (Conocimientos sobre Prevención Combinada del VIH) demostró una efectividad alta del curso de profesionalización implementado, el 90.0% (n= 27) de los profesionales que iniciaron en un nivel Inadecuado de conocimientos logró migrar hacia la categoría Adecuado, elevando la proporción global de desempeño satisfactorio del 9.1% (n= 3) al 90.9% (n= 30). La prueba de McNemar confirmó la significación estadística de esta reconversión cognoscitiva (x^2= 29.0, gl= 1, p< 0.001).

Tabla 5. Modificación del nivel de conocimientos sobre Profilaxis Pre-Exposición al VIH (PrEP) antes y después de la capacitación (Sección C)

		Evaluación Post Curso Sección C		
Evaluación Pre Curso Sección C		**Inadecuado**	**Adecuado**	**Total**
Inadecuado	Frecuencia	3	29	32
	% de fila	9.4%	90.6%	
Adecuado	Frecuencia	0	1	1
	% de fila	0.0%	100.0%	
Total	Frecuencia	3	30	33

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

		Evaluación Post Curso Sección C		
Evaluación Pre Curso Sección C		**Inadecuado**	**Adecuado**	**Total**
	% de fila	9.1%	90.9%	

Prueba de McNemar (x^2= 29.0, gl= 1, p< 0.001)

Los resultados correspondientes a la Sección C (Conocimientos sobre la Profilaxis Preexposición al VIH) mostraron un incremento sustancial en el nivel de conocimientos tras el curso. En la evaluación inicial, el 97.0 % (n= 32) de los participantes presentó un desempeño Inadecuado, mientras que solo un profesional (3.0%, n = 1) alcanzó la categoría Adecuado. Tras el curso, la proporción de participantes con conocimientos Adecuados aumentó al 90.9 % (n= 30). La prueba de McNemar confirmó que este cambio cognoscitivo fue estadísticamente significativo (x^2 = 29.0, gl = 1, p < 0.001), demostrando la efectividad del curso de profesionalización.

Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran que la profesionalización de los especialistas en Medicina Familiar a través del curso impartido logró una modificación significativa en el nivel de conocimientos sobre prevención combinada del VIH y Profilaxis Preexposición (PrEP). Estos hallazgos cobran especial relevancia al considerar que el nivel de conocimientos previo era predominantemente inadecuado (97.0 %), situación que se alinea con las barreras reportadas en la literatura internacional, donde la falta de familiaridad con las guías y la carencia de capacitación específica se identifican como obstáculos críticos para la prescripción de PrEP. [(11)]

La efectividad del curso se evidenció en las tres secciones evaluadas, con cambios estadísticamente significativos que alcanzaron valores de p < 0.001 en las secciones B y C. Particularmente relevante resulta la reconversión cognoscitiva en la Sección C (PrEP), donde el 90.6 % de los profesionales que iniciaron con nivel inadecuado logró migrar hacia la categoría adecuada. Este resultado supera lo reportado por Guin y colaboradores, quienes en un estudio con residentes de Medicina Familiar en el sur de Estados Unidos encontraron que, aunque el conocimiento aumentó ligeramente (de 85.7 % a 89.2 %), el cambio más significativo fue en la confianza para prescribir PrEP, que se incrementó del 30 % al 72 % tras una intervención educativa breve.[(12)] La diferencia en la magnitud del cambio cognitivo entre ambos estudios podría explicarse por la duración e intensidad de la intervención: mientras que el presente estudio abarcó un programa de superación de 120 horas lectivas, la intervención referida fue de menor duración.

Zhang y colaboradores, en un estudio cualitativo con 18 proveedores de atención primaria en Nueva York, identificaron barreras significativas en la prescripción y seguimiento de la PrEP, incluyendo

vacíos de conocimiento, incomodidad al discutir sobre salud sexual y limitaciones logísticas.[13] Estos hallazgos son consistentes con la realidad del contexto cubano, donde investigaciones previas en el Policlínico José Martí de Santiago de Cuba habían identificado barreras socioculturales críticas que limitan el acceso al servicio.[7] El curso de profesionalización implementado en este estudio aborda precisamente estas brechas al fortalecer las competencias cognitivas necesarias para superar dichas barreras.

El estudio de Tiruneh y colaboradores, basado en una encuesta a 519 médicos en Texas, cuantificó que los profesionales familiarizados con las guías del Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) tenían 18 veces más probabilidades de prescribir PrEP.[11] Este dato refuerza la importancia de cursos de profesionalización como el implementado en este estudio, dado que el 97.0 % de la muestra inició con conocimientos inadecuados. La transformación lograda, donde el 90.9 % alcanzó un nivel adecuado al finalizar la capacitación, sugiere que los especialistas estarían ahora en mejores condiciones para ofrecer consejería de calidad y realizar una captación oportuna de usuarios potenciales.

El hecho de que especialistas con más de 20 años de experiencia presentaran niveles inadecuados de conocimientos en la evaluación inicial evidencia que la antigüedad profesional no constituye un factor protector frente a la obsolescencia cognoscitiva. Este hallazgo coincide con las observaciones de Zhang y colaboradores, quienes encontraron que los proveedores con experiencia en prescripción de PrEP la valoraban como una herramienta preventiva útil, mientras que los no prescriptores reportaban dudas y familiaridad limitada, independientemente de su experiencia general.[13]

La sostenibilidad de los cambios cognoscitivos alcanzados representa un desafío que deberá ser abordado en investigaciones futuras. Farmer y colaboradores evaluaron el impacto de intervenciones dirigidas a proveedores en el condado de Los Ángeles, encontrando que, aunque las prescripciones aumentaron en números absolutos (de 84 a 144 pacientes), el incremento en la tasa por 100,000 pacientes no fue estadísticamente significativo, lo que sugiere que las intervenciones educativas requieren complementarse con estrategias de soporte estructural para traducirse en cambios sostenidos en la práctica clínica.[14] Este aspecto resulta particularmente relevante para el contexto cubano, donde la descentralización de la PrEP hacia la Atención Primaria demanda no solo competencias cognitivas, sino también condiciones organizacionales que faciliten su implementación.

La magnitud del cambio cognitivo logrado, con una reconversión del 90.6 % en la sección de PrEP, resulta especialmente alentadora si se considera que el 97.0 % de los especialistas inició el curso con conocimientos inadecuados. Sin embargo, la sostenibilidad de estos resultados a largo plazo representa el verdadero desafío, y el abordaje de las barreras socioculturales identificadas en Santiago

de Cuba no puede limitarse a la formación académica, sino que debe complementarse con intervenciones que promuevan cambios actitudinales y entornos libres de estigma en los servicios de salud.

El curso de profesionalización demostró ser altamente efectivo para modificar el nivel de conocimientos sobre prevención del VIH y PrEP, con cambios estadísticamente significativos en todas las secciones evaluadas. Además, permitió elevar el desempeño adecuado al 90.9 % en las secciones B y C, con una reconversión del 90.6 % en el dominio específico de PrEP. La antigüedad profesional no constituye un factor protector frente a la obsolescencia cognoscitiva, por lo que los programas de educación continua deben dirigirse a todos los estratos etarios.

Desde la perspectiva de la educación médica continua en el contexto cubano, la profesionalización trasciende la mera adquisición de conocimientos teóricos, pues exige la integración armónica de saber, saber hacer y saber ser para la transformación del modo de actuación profesional. En este sentido, aunque la presente investigación evaluó de manera directa la dimensión cognitiva mediante la modificación del nivel de conocimientos, los resultados alcanzados constituyen un eslabón inicial y dinamizador en el proceso de profesionalización continua del especialista en Medicina Familiar. Esta base cognoscitiva resulta indispensable para articular en etapas posteriores las competencias actitudinales, procedimentales y de gestión requeridas para la implementación efectiva de la Profilaxis Preexposición en la atención primaria de salud.

El estudio presenta limitaciones que deben ser consideradas al interpretar sus resultados. El diseño pre-experimental sin grupo control y el muestreo no probabilístico por conveniencia limitan la atribución de los cambios y la generalización de los hallazgos. La investigación solo midió conocimientos sin explorar cambios actitudinales ni la aplicación en la práctica clínica real, y se desarrolló únicamente en Santiago de Cuba.

Conclusiones

El curso de profesionalización demostró ser efectivo para modificar significativamente el nivel de conocimientos sobre la PrEP en los especialistas, constituyendo una etapa inicial clave para transformar su modo de actuación profesional en la atención primaria**.**

Financiamiento: ninguno

Conflicto de intereses: los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Contribución de autoría

Conceptualización: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross, María Elena Álvarez López, Roilan Hidalgo Almenares, Iván Ayllón Álvarez, Yunia Portuondo Tamayo.

Curación de datos: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross.

Análisis formal: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross.

Investigación: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross, María Elena Álvarez López, Roilan Hidalgo Almenares, Iván Ayllón Álvarez, Yunia Portuondo Tamayo.

Metodología: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross.

Administración del proyecto: Manuel Felipe Moreno Soto.

Supervisión: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross.

Validación: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross, María Elena Álvarez López, Roilan Hidalgo Almenares, Iván Ayllón Álvarez, Yunia Portuondo Tamayo.

Visualización: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross, María Elena Álvarez López, Roilan Hidalgo Almenares, Iván Ayllón Álvarez, Yunia Portuondo Tamayo.

Redacción - borrador original: Manuel Felipe Moreno Soto, Sandra María Casas Gross.

Referencias

1-UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet 2023 [Internet]. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS; 2023 [citado 17 ago 2026]. Disponible en: https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet

2-Murphy L, Bowra A, Adams E, Cabello R, Clark JL, Konda K, et al. Carencias y oportunidades en la implementación de políticas de la PrEP en América Latina y el Caribe: una revisión de alcance. Ther Adv Infect Dis. 2023;10:20499361231164030. doi: 10.1177/20499361231164030

3-Fonner VA, Dalglish SL, Kennedy CE, Baggaley R, O'Reilly KR, Koechlin FM, et al. Effectiveness and safety of oral HIV preexposure prophylaxis for all populations: a systematic review and meta-analysis. AIDS. 2016;30(12):1973-1983. doi: 10.1097/QAD.0000000000001145

4-World Health Organization. WHO implementation tool for pre-exposure prophylaxis (PrEP) of HIV infection: provider module for oral and long-acting PrEP [Internet]. Geneva: WHO; 2024

[citado 17 ago 2026]. Disponible en: https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/ac4f38b5-99d4-4fad-b32b-ab3a5475b11f/content

5-Ochoa Soto R, Rojo Pérez N, Estruch Rancaño L, González Ochoa E, Más Bermejo P. Periodización de la estrategia de prevención del VIH en Cuba 1983-2022. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2024;61. Disponible en: https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/1480

6-Ministerio de Salud Pública de Cuba. Plan Estratégico Nacional para la prevención y el control de las ITS, el VIH y las hepatitis 2024-2028. La Habana: MINSAP; 2023. Disponible en: https://temas.sld.cu/vihsida/files/2016/12/Plan-Estrat%C3%A9gico-Nacional-ITS-VIH-hepatitis-2024-2028.pdf

7-Moreno Soto MF, Delgado Castillo D. Barreras socioculturales de acceso al Servicio de Profilaxis Pre Exposición al VIH. Rev Electron Dr Zoilo E Marinello Vidaurreta [Internet]. 2025 Dic 22 [citado 2026 May 24];50(1). Disponible en: https://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/3862

8-Añorga-Morales J. La Educación Avanzada y la profesionalización del especialista en Medicina General Integral. Educ Med Super. 2022;36(2):e3120. Disponible en: https://ems.sld.cu/index.php/ems/article/view/3120

9-Sánchez LM, García Hernández KC, Mestre AY, et al. La profesionalización desde la Educación Médica. Rev Cub de Tec de la Sal. 2019;10(1):49-56 [citado 2026 May 24] Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubtecsal/cts-2019/cts191g.pdf

10-Zires SR. Criterios Moriyama. Academia [Internet] 2020 [citado 2023 jun 22] Disponible en: https://www.academia.edu/30744384/CRITERIOS_MORIYAMA

11-Tiruneh Y, Atem F, Anagaw E, Kuiper B, Dehili J, Martin JA, et al. Addressing Clinician-Reported Barriers Improves Confidence in PrEP Prescribing. Healthcare. 2024;12(22):2230. doi: 10.3390/healthcare12222230

12-Guin JR, O'Neal M, Thomas J, Nolen M, Uribe M, West K, et al. Boosting HIV Pre-exposure Prophylaxis (PrEP) Prescribing Confidence in a Southern Family Medicine Residency. Cureus. 2025;17(9):e93499. doi: 10.7759/cureus.93499

13-Zhang C, Villarreal D, Belizaire M, Lin W, Zhang A, Gabe M, et al. Understanding the PrEP Care Continuum for Adults: Health Care Providers' Perspectives on Barriers, Facilitators, and Missed Opportunities. AIDS Patient Care STDS. 2025 Feb 5. doi: 10.1089/apc.2024.0241

14-Farmer C, Hatch M, Wang M, Shedd A, Javanbakht M, Klausner JD, et al. Changes in HIV pre-exposure prophylaxis (PrEP) prescriptions after implementation of provider-focused PrEP initiatives in Los Angeles County, 2018-2020. AIDS Care. 2025 Jan;37(1):46-53. doi: 10.1080/09540121.2024.2412867

| Received: [22 agosto 2026] | Accepted: [12 octubre 2026] | Published: [15 noviembre 2026] |

Citation: Moreno, M; Casas, S; Álvarez, M; Hidalgo, R; Ayllón, I. Profesionalización de especialistas en Medicina Familiar sobre profilaxis preexposición al virus de inmunodeficiencia humana. Bionatura. 2026. Volumen 11, No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using https://reviewerlocator.webofscience.com/

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

LICOR DE MARACUYÁ

(*Passiflora edulis*)

El licor de maracuyá es una bebida espirituosa, dulce y exótica, caracterizada por su intenso aroma tropical, color amarillo brillante o dorado y un equilibrio perfecto entre el dulzor y la acidez natural de la fruta.

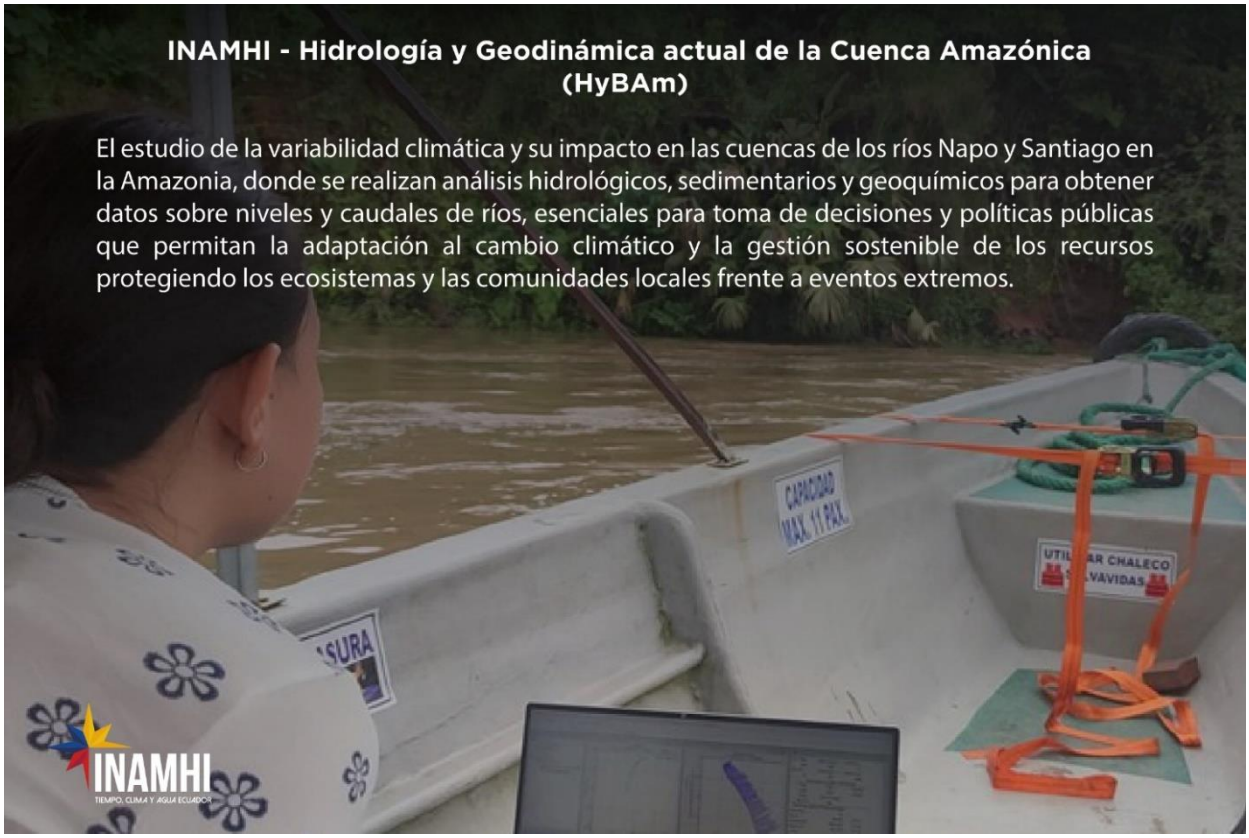
Sus componentes bioactivos, como antioxidantes (carotenoides), flavonoides y triptófano, ofrecen beneficios antiinflamatorios, relajantes, cardiovasculares y digestivos, además de ayudar a la salud de la piel y el sistema inmunológico

CONTACTO: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
info.biodiversity@gmail.com, Cel. +593 99 758 9267. Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: https://cebaecuador.org/
inf.ceba@gmail.com, Cel + 593 99 579 7813. Ibarra-Ecuador





ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026





ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

EL NUEVO ECUADOR

Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación



Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

Contacto
https://www.facebook.com/BiodiversityEC
info.biodiversity@gmail.com
Cel.: +593 99 758 9267
Ibarra-Ecuador.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

CALÉNDULA
(*Caléndula officinalis*)

BENEFICIOS:

Ayuda a proteger los ojos del daño causado por la luz azul y los radicales libres, reduciendo el riesgo de degeneración macular y cataratas.

CONTACTO:
Dr. Julio Pinedalnsuasti, PhD.
info.biodiversity@gmail.com
Cel. +593 99 758 9267
Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNERS:https://cebaecuador.org/

21/11/2025 info.biodiversity@gmail.com 35



Biodiversity®
Bioingeniería a la medida

Noni (*Morinda citrifolia L.)*

Full Spectrum Extract

- Depura y desintoxica
- Facilita la expulsión de líquidos
- Favorece la disolución y eliminación de piedras
- **DESINTOXICA HÍGADO, RIÑÓN Y PÁNCREAS**

NS: 806014ALN4237
CONTACTO: info.biodiversity@gmail.com
Cel. +593 99 758 9267, Ibarra-Ecuador
SCIENTIFIC PARTNER: Dr. Julio Pineda Insuasti, PhD
https://cebaecuador.org/, inf.ceba@gmail.com
Cel + 593 99 579 7813, Ibarra-Ecuador

29/10/2026 info.biodiversity



ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Instrucciones a los autores

Los Trabajos serán Inéditos: Una vez aprobados, no podrán someterse a la consideración de otra revista, con vistas a una publicación múltiple, sin la debida autorización del Comité Editorial de la Revista. La extensión máxima será 8 cuartillas para los trabajos originales, 12 las revisiones y 4 las comunicaciones breves e informes de casos, incluidas las tablas y figuras.

Los artículos se presentarán impresos (dos ejemplares). Todas las páginas se numerarán con arábigos y consecutivamente a partir de la primera. Estos deben acompañarse de una versión digital (correo electrónico o CD) en lenguaje Microsoft Word, sin sangrías, tabuladores o cualquier otro atributo de diseño (títulos centrados, justificaciones, espacios entre párrafos, etc.). Siempre se ha de adjuntar la carta del consejo científico que avala la publicación y una declaración jurada de los autores. Referencias Bibliográficas. Se numerarán según el orden de mención en el texto y deberán identificarse mediante arábigos en forma exponencial. Los trabajos originales no sobrepasarán las 20 citas; las revisiones, de 25 a 50 y las comunicaciones breves e informes de casos. En las Referencias en caso de que las publicaciones revisadas estén online se debe proveer un enlace consistente para su localización en Internet. Actualmente, no todos los documentos tienen DOI, pero si lo tienen se debe incluir como parte de las referencias. Si no tuviese DOI, incluir la URL.

Tablas, modelos y anexos: Se presentarán en hojas aparte (no se intercalarán en el artículo) y en forma vertical numeradas consecutivamente y mencionadas en el texto. Las tablas se ajustarán al formato de la publicación se podrán modificar si presentan dificultades técnicas. Figuras: Las fotografías, gráficos, dibujos, esquemas, mapas, salidas de computadora, otras representaciones gráficas y fórmulas no lineales, se denominarán figuras y tendrán numeración arábiga consecutiva. Se presentarán impresas en el artículo en páginas independientes y en formato digital con una resolución de 300 dpi. Todas se mencionarán en el texto. Los pies de figuras se colocarán en página aparte. El total de las figuras y tablas ascenderá a 5 para los trabajos originales y de revisión y 3 para las comunicaciones breves e informes de casos. Abreviaturas y siglas: Las precederá su nombre completo la primera vez que aparezcan en el texto. No figurarán en títulos ni resúmenes. Se emplearán las de uso internacional. Sistema Internacional de Unidades (SI): Todos los resultados de laboratorio clínico se informarán en unidades del SI o permitidas por este. Si se desea añadir las unidades tradicionales, se escribirán entre paréntesis. Ejemplo: glicemia: 5,55 mmol/L (100 mg/100 mL). Para facilitar la elaboración de los originales, se orienta a los autores consultar los requisitos uniformes antes señalados disponibles en: http://www. fisterra.com/recursos_web/ mbelvancouver. htm#ilustraciones%20 (figura) Los trabajos que no se ajusten a estas instrucciones, se devolverán a los autores. Los aceptados se procesarán según las normas establecidas por el Comité Editorial. El arbitraje se realizará por pares y a doble ciego en un período no mayor de 60 días. Los autores podrán disponer de no más de 45 días para enviar el artículo con correcciones, se aceptan hasta tres reenvíos. El Consejo de Redacción se reserva el derecho de introducir modificaciones de estilo y /o acotar los textos que lo precisen, comprometiéndose a respetar el contenido original. El Comité Editorial de la Revista se reserva todos los derechos sobre los trabajos originales publicados en esta.

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026





Alternativas Naturales para el Desarrollo Sustentable
BIO ECOLOGICOS®

Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín.
San Antonio.
https://bioecologicos.com/
https://www.facebook.com/BioecologicosEC/
Email: bioecologicosec@gmail.com
Cel.: +593 99 5968529
Ibarra – Ecuador

ISSN 1390-9355
Vol. 11 No.3 2026

Docencia, investigación, extensión y proyección social al servicio del territorio

UCO
Universidad Católica de Oriente
Vigilada Mineducación

Fortalezas institucionales

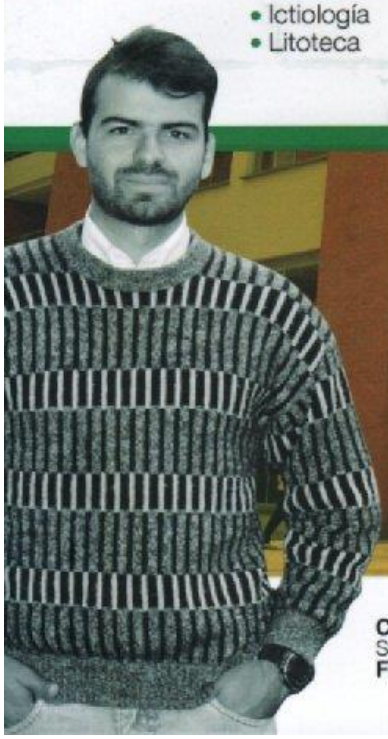
- Biotecnología
- Limnología
- Derechos Humanos – Posconflicto
- Internacionalización
- Inclusión Social
  - SER – Servicio Educativo Rural
  - Educación de Alfabetización
- MIES – Instituto de formación para el trabajo y el desarrollo humano
- Formación humanística "Ruta Humanística en el currículo - Cátedra abierta Madre de la Sabiduría"
- Investigación y desarrollo tecnológico
- Comprometida con la calidad
- Centro de Estudios Territoriales
- Biodiversidad
  - Herbario
  - Ictiología
  - Litoteca

Áreas del conocimiento

- Ciencias Agropecuarias
- Ciencias de la Educación
- Ciencias de la Salud
- Ciencias Económicas y Administrativas
- Ciencias Sociales
- Derecho
- Ingenierías
- Teología y Humanidades

- 26 programas de pregrado
- 16 programas de posgrado
  - 1 doctorado
  - 8 maestrías
  - 7 especializaciones

www.uco.edu.co universidad.catolicadeoriente @uconiano



Contacto institucional Universidad Católica de Oriente
Sector 3, Cra. 46 No. 40B 50 - **PBX:** +(57)(4) 569 90 90. Ext. 694
Fax: +(57)(4) 531 39 72 - **Email:** uco@uco.edu.co