



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Doctor en Ciencias en Biomedicina



Caracterización de la microbiota intestinal, biomarcadores inflamatorios y de proliferación celular un modelo animal de fase temprana de cáncer de colon alimentado con garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*).

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias en Biomedicina

Presenta:

M. en C. Edelmira Sánchez Recillas

Dirigido por:

Dra. en C. Haydé Azeneth Vergara Castañeda

Dra. en C. Haydé Azeneth Vergara Castañeda
Presidente

Dr. en C. Enrique Almanza Aguilera
Secretario

Dr. en C. Iván Andrés Luzardo Ocampo
Vocal

Dra. en C. Ana Alicia Sánchez Tusié
Suplente

Dra. en C. María Carlota García Gutiérrez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Junio, 2026
México

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

RESUMEN

El cáncer de colon (CC) es una de las neoplasias comunes en México, asociada a inflamación, y la etiología incluye hábitos alimenticios. Un mecanismo de protección propuesto ante procesos inflamatorios es mediante la producción de metabolitos secundarios por la microbiota intestinal, los cuales intervienen en vías de señalización relacionadas con inflamación y proliferación celular. El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), fruta rica en compuestos bioactivos, ha demostrado prevenir el desarrollo de lesiones preneoplásicas en un modelo animal de CC. Sin embargo, no se han dilucidado por completo los mecanismos asociados al efecto preventivo del garambullo. El objetivo de este proyecto fue determinar el efecto quimiopreventivo del garambullo en fase temprana de cáncer de colon *in vivo* mediante la modulación de la microbiota intestinal y biomarcadores inflamatorios y de proliferación celular. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley asignadas aleatoriamente a grupos experimentales (n=3 por grupo): 1) Control 2) Azoximetano-dextrán sulfato de sodio (AOM/DSS), 3) Residuo de garambullo con AOM/DSS y 4) Garambullo con AOM/DSS. El periodo experimental fue de 16 semanas. La caracterización del microbioma se realizó en la región V3-V4 del gen 16s rRNA de muestras de heces en las semanas 0, 8 y 16. Al finalizar el estudio se identificaron proteínas de inflamación mediante un microarreglo de proteínas y los biomarcadores de proliferación celular por inmunohistoquímica. Los tratamientos con garambullo y residuo de garambullo a la semana 8 aumentaron la abundancia de los géneros *Shuttleworthiia*, *Subdoligranulum*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, y *Alloprevotella*, géneros asociados con mecanismos protectores del colon. Los tratamientos a las 16 semanas disminuyeron la expresión de biomarcadores pro-inflamatorios; ICAM-1, TNF- α , VEGF, CCL20 y CX3CL1, y aumentaron la expresión de proteínas anti-inflmatorias: IL-1ra, CCL5 y L-selectina. Además, el consumo de garambullo aumentó los niveles de expresión de E-cadherina, Claudina-1, β -actina y MUC2. Los tratamientos con garambullo y residuo de garambullo mostraron un efecto preventivo en el modelo inducido con AOM/DSS mediante la modulación del perfil de la microbiota, marcadores inflamatorios y de proliferación celular.

Palabras clave: garambullo, microbiota intestinal, inflamación, cáncer de colon.

ABSTRACT

Colon cancer (CC) is one of the most common neoplasms in Mexico, associated with inflammation, and its etiology includes dietary habits. One proposed protective mechanism against inflammatory processes is through the production of secondary metabolites by the gut microbiota, which are involved in signaling pathways related to inflammation and cell proliferation. Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), a fruit rich in bioactive compounds, has been shown to prevent the development of preneoplastic lesions in an animal model of CC. However, the mechanisms associated with the preventive effect of garambullo have not been fully elucidated. The objective of this project was to determine the chemopreventive effect of garambullo in early-stage colon cancer *in vivo* by modulating the gut microbiota and inflammatory and cell proliferation biomarkers. Sprague-Dawley rats were randomly assigned to three experimental groups (n=3 per group): 1) Control, 2) Azoxymethane-dextran sulfate sodium (AOM/DSS), 3) Garambullo residue with AOM/DSS, and 4) Garambullo with AOM/DSS. The experimental period was 16 weeks. Microbiome characterization was performed using the V3-V4 region of the 16S rRNA gene from fecal samples collected at weeks 0, 8, and 16. At the end of the study, inflammatory proteins were identified using protein microarrays, and cell proliferation biomarkers were identified by immunohistochemistry. Treatments with garambullo and its residue at week 8 increased the abundance of the genera *Shuttleworthiia*, *Subdoligranulum*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, and *Alloprevotella*, genera associated with protective mechanisms in the colon. Treatments at 16 weeks decreased the expression of pro-inflammatory biomarkers, including ICAM-1, TNF- α , VEGF, CCL20, and CX3CL1 and increased the expression of anti-inflammatory proteins including IL-1ra, CCL5, and L-selectin. Furthermore, garambullo consumption increased the expression levels of E-cadherin, claudin-1, β -actin, and MUC2. Treatments with garambullo and garambullo residue showed a preventive effect in the AOM/DSS-induced model by modulating the microbiota profile, inflammatory markers, and cell proliferation.

Keywords: garambullo, gut microbiota, inflammation, colon cancer.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Centro de Investigación Biomédica Avanzada (CIBA) de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro, por brindar el espacio para que se llevara a cabo este proyecto.

De forma muy especial, agradezco a quien ha guiado mi camino, tanto en lo profesional como en lo personal, durante estos años. Muchas gracias, Dra. Haydé Vergara Castañeda, por aceptarme como estudiante y permitirme ser colegas y amigas. Gracias por siempre confiar en mí, por impulsarme a crecer y dar lo mejor, por las enseñanzas de vida y académicas. Usted ha marcado mi vida de una forma muy positiva y me ha inspirado a ser cada vez una mejor persona y a ver la clase de investigadora a la que quiero llegar, ya que es un gran ejemplo a seguir. Sé que nuestros caminos académicos y personales seguirán encontrándose y me siento feliz de haber aprendido de la mejor. Todos los aprendizajes y aventuras vividas juntas me permitieron ver en mí las capacidades que tengo para lograr lo que me propongo con entusiasmo y trabajo, y que eso me llevará a alcanzar mis metas. Muchas gracias por todo el tiempo compartido y los consejos, la quiero y admiro mucho.

A mi familia; mamá, papá, Amanda, Belem, Víctor y Marcos. Gracias por estar siempre, por alentarme a lograr todos mis objetivos. Gracias infinitas por todo su apoyo. Durante estos cuatro años sin ustedes, el camino para lograr esta meta no habría sido sencillo. Me enseñaron paciencia, comprensión y enfoque. Gracias por siempre alentarme a seguir creciendo y por recordarme que puedo lograr lo que me propongo. Así que, gracias a ustedes y a la vida por darme esta hermosa familia, los amo.

A mis amigos, a todos los que han estado en este camino, muchas gracias por los consejos y por apoyarme en cada momento, tanto en el laboratorio como en la vida. Gracias, porque sin su apoyo este camino no habría sido tan divertido, ni tan lleno de aprendizaje y aventuras. Gracias por siempre motivarme y sé que seguiremos compartiendo este camino durante muchos años más.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	3
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS	5
1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. ANTECEDENTES	8
2.1. Epidemiología de cáncer de colon	8
2.2. Carcinogénesis del colon.....	9
2.3. Marcadores moleculares en cáncer de colon	10
2.3.1. Biomarcadores de inflamación celular.....	12
2.3.1.1. Molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1, CD54).....	12
2.3.1.2. Antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1ra).....	13
2.3.1.3. L- selectina	14
2.3.1.4. Quimiocinas (CXCL7, CCL5, CCL20 y CX3CL1)	14
2.3.1.5. Inhibidor tisular de metaloproteasas 1 (TIMP- 1)	15
2.3.1.6. Factor de necrosis tumoral–alfa (TNF- α).....	15
2.3.1.7. Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	16
2.3.2. Biomarcadores de proliferación celular	16
2.3.2.1. Células de Uniones intercelulares – barrera epitelial	16
2.3.2.2. Células de uniones intercelulares y microbiota intestinal.....	18
2.3.2.3. MUC2	18
2.3.2.4. MUC2 y microbiota intestinal.....	19
2.4. Microbiota intestinal	22
2.5. Microbiota y cáncer de colon	23
2.6. Dieta y microbiota.....	24
2.7. Garambullo (<i>Myrtillocactus geometrizans</i>)	25
2.7.1. Descripción.....	25
2.7.2. Características nutraceuticas	26
2.7.3. Efectos del garambullo en la salud	27
3. Justificación	28
4. Hipótesis	29
5. Objetivo general	29
5.1 Objetivos específicos	29

6. METODOLOGIA	30
6.1 Bioética y seguridad	30
6.2 Recolección y tratamiento del garambullo	30
6.3 Fase experimental <i>in vivo</i>.....	31
6.4 Determinación del tipo de microbiota intestinal	32
6.4.1 Análisis metagenómico	32
6.4.2 Caracterización de la microbiota intestinal.....	34
6.5 Microarreglo de proteínas de inflamación	34
6.6. Análisis Inmunohistoquímico de tejidos colónicos	35
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	37
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
8.1. Caracterización del perfil de la microbiota intestinal	38
8.1.2. Alfa diversidad	38
8.1.3 Beta Diversidad.....	39
8.1.4. Abundancia relativa.....	40
8.1.5 Análisis diferencial de abundancias (DAA).....	46
8.2. Biomarcadores de inflamación celular	49
8.3 Biomarcadores de proliferación celular	56
9. CONCLUSIONES	64
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
11. ANEXO.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Carcinogénesis del colon.	10
Figura 2. Modelo de biomarcadores de inflamación y de proliferación celular en el cáncer de colon.	21
Figura 3. Apariencia externa e interna del fruto de garambullo.	25
Figura 4. Diseño experimental in vivo.	32
Figura 5. Alfa diversidad. Gráficos de riqueza de especies bacterianas de los grupos experimentales.	38
Figura 6. Beta diversidad. Plot de análisis principal de coordenadas que muestra diferencias en la composición microbiana de los grupos experimentales.	39
Figura 7. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel filo. Gráfico de barras de la abundancia relativa de la microbiota intestinal a la semana 0,8 y 16.	41
Figura 8. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel familia. Gráfico de barras de la abundancia relativa de la microbiota intestinal a la semana 0,8 y 16.	42
Figura 9. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel género. Gráfico de barras de la abundancia relativa de la microbiota intestinal a la semana 0,8 y 16.	43
Figura 10. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel especie. Gráfico de barras de la abundancia relativa de la microbiota intestinal a la semana 0,8 y 16.	45
Figura 11. Análisis diferencial de abundancias. Gráfico de análisis diferencial de abundancias que muestra diferencias estadísticamente significativas de los géneros de bacterias más abundantes de los grupos experimentales a la semana 8 y 16.	48
Figura 12. Biomarcadores de inflamación celular. Gráfico de barras de las proteínas de inflamación expresadas en los grupos experimentales.	50
Figura 13. Proteínas de proliferación celular. Gráfico de barras de las proteínas de proliferación celular expresadas en los grupos experimentales y fotografías de Inmunohistoquímica de tejido colónico.	57

Figura 14. Esquema de resultados y posibles mecanismos de protección de G y RG ante la inducción con AOM/DSS.

67

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

DAB	3,3'-diaminobenzidina.
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta.
DAA	Análisis diferencial de abundancias.
AOM	Azoxymetano.
CC	Cáncer de colon.
COX-2	Ciclooxigenasa-2.
MLCK	Cinasa de la cadena ligera de miosina.
CFNE	Compuestos fenólicos no extraíbles.
CFE	Compuestos fenólicos solubles o extraíbles.
DSS	Dextran sulfato de sodio.
IBD	Enfermedad inflamatoria intestinal.
TEM	Epitelio-mesenquimal.
TCF	Factor de células T.
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular.
STAT3	Factor de transcripción 3.
LEF	Factor de unión a potenciador linfoide.
HIF	Factor inducible por hipoxia.
NF- κ B	Factor nuclear κ B.
BCL-2	B-cell lymphoma 2 protein (factor antiapoptótico).
TNF- α	Fator de necrosis tumoral alfa.
FA	Fibra antioxidante.
FCA	Fosas crípticas aberrantes.
G	Garambullo.
<i>Myc</i>	Gen myelocytomatosis (gen regulador del crecimiento celular).
HDAC	Histona desacetilasa.
TIMP-1	Inhibidor tisular de metaloproteasas 1.
Ig	Inmunoglobulina.
NHE3	Intercambiador de sodio/hidrogeno 3.
IFN- γ	Interferón gamma.
IL-	Interleucina .
Kg	Kilogramo.
CD8+	Linfocitos T citotóxicos.
LPS	Lipopolisacárido.
MMP	Metaloproteasas de matriz.
MAM	Metilazoximetanol.
ICAM 1	Molécula de adhesión intracelular-1.
PSGL-1	Moléculas de adhesión celular dependientes de glicosilación.
MUC2	Mucina 2.
HRP	Peroxidasa de rábano picante.
AMPK	Proteína quinasa activada por AMP.
CXCL7, CCL5, CCL20 y CX3CL1	Quimiocinas (péptidos de bajo peso molecular que actúan como señales en la respuesta inflamatoria).
IL-1R	Receptor de interleucina-1.

TLR4	Receptor similar a Toll 4.
GRP's	Receptores acoplados a proteínas G.
RG	Residuo de garambullo.
UA	Uniones adherentes.
UE	Uniones estrechas.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de colon (CC) es el tercer cáncer de mayor frecuencia en México y a nivel mundial (Sung et al., 2021). Uno de los principales factores de riesgos asociados al CC es el tipo de dieta. Se ha demostrado que un alto consumo de carne roja y procesada aumenta el riesgo de desarrollar CC (Rawla et al., 2019). Por otro lado, el consumo de alimentos ricos en fibra y polifenoles presentes en vegetales y frutas es considerado un factor protector, debido a que ejercen efectos preventivos y anticarcinogénicos. Una vez que la fibra y los polifenoles son metabolizados por el huésped se producen metabolitos secundarios como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) los cuales intervienen en vías de señalización que disminuyen la presencia de proteínas pro-inflamatorias, inducen apoptosis, activan la respuesta inmune y también pueden intervenir en la modulación de la microbiota colónica, promoviendo la salud colónica (Long et al., 2021). De tal manera, es de suma importancia la búsqueda de alimentos ricos en compuestos bioactivos con efectos quimiopreventivos como el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), el cual ha demostrado poseer una cantidad importante de fibra dietética y fitoquímicos. El fruto de garambullo ha demostrado ser una fuente de sustrato para la generación de AGCC los cuales se sabe que intervienen en diversos mecanismos de acción que promueven la salud colónica (Sánchez-Recillas et al., 2024). Además, el consumo de garambullo durante 16 semanas en un modelo animal inducido con AOM/DSS ocasionó una disminución de las lesiones premalignas características del CC, llamadas fosas de criptas aberrantes (FCA) (Godínez-Santillán et al., 2024), lo que indica que el garambullo ejerce un papel protector en una etapa temprana del CC. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el determinar el efecto quimiopreventivo del garambullo en fase temprana de cáncer de colon *in vivo* a través de la modulación de la microbiota intestinal, junto con biomarcadores de inflamación y proliferación celular.

2. ANTECEDENTES

2.1 Epidemiología de cáncer de colon

A nivel mundial el cáncer de colon (CC) se encuentra ocupando el tercer lugar en incidencia y mortalidad dentro de todos los tipos de cáncer (Bray et al., 2024; Sung et al., 2021). En el año 2020 se diagnosticaron 1.93 millones de casos nuevos y 0.94 millones de muertes en todo el mundo. Actualmente se estima que 5.25 millones de personas en todo el mundo se encuentran viviendo con un cáncer de colon, y se estima que para el 2040 existan 3.2 millones de casos nuevos a nivel mundial (Xi & Xu, 2021). Mientras tanto, en México, en el año 2018 el CC fue la segunda causa más común de muerte en ambos sexos, y en la actualidad, el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) en 2020 lo coloca como el tercer cáncer de mayor frecuencia en México y a nivel mundial (Espinosa-Tamez et al., 2021).

Tanto en México como a nivel mundial, en las últimas décadas se ha observado que la tasa de incidencia del CC ha disminuido en personas mayores de 50 años, mientras que la misma tasa ha aumentado en adultos jóvenes menores de 50 años, lo cual se ha asociado a un estilo de vida más sedentario y a hábitos dietarios poco saludables (Sung et al., 2021). Existen diversos factores que influyen en la generación de CC. Entre los factores no modificables se incluyen los factores genéticos, en los que el carácter esporádico comprende del 60 al 65% de los casos, y están relacionados con mutaciones genéticas somáticas adquiridas o con alteraciones epigenéticas asociadas a factores de riesgo modificables (Xi & Xu, 2021). Dentro de los factores de riesgo modificables existen los ambientales, entre los que se encuentran el estilo de vida (consumo de alcohol, tabaco y baja actividad física), así como el tipo de dieta consumida (Rawla et al., 2019). Se ha demostrado que el alto consumo de carne roja y procesada, así como de alcohol, son factores que aumentan el riesgo de desarrollar CC, mientras que los alimentos ricos en fibra como vegetales y frutas son considerados factores protectores, debido a que presentan efectos preventivos y anticarcinogénicos mediante diversos mecanismos moleculares (Magalhães et al., 2012). El CC resulta ser, por lo tanto, una patología

de gran importancia a nivel mundial y para la que una prevención eficaz, diagnóstico oportuno, y una terapia adecuada de tratamiento llegan a ser factores determinantes para la sobrevivencia del paciente (Rawla et al., 2019).

2.2 Carcinogénesis del colon

El CC conlleva una serie de mutaciones acumuladas en algunos genes específicos, entre los que se encuentran oncogenes, genes supresores tumorales y genes reparadores del ADN (Zamorano-Ponce et al., 2008). De forma general, el proceso de carcinogénesis del colon se divide en 4 estadios: iniciación, promoción, progresión y neoplasia (Figura 1). En el estadio de iniciación hay alteraciones a nivel de ADN, en donde algún mutágeno o la exposición a una inflamación crónica transforma las células epiteliales normales. Esto genera mutaciones que alteran la regulación de la expresión de algunos genes (Zamorano-Ponce et al., 2008), principalmente del gen *apc* (poliposis adenomatosa de colon), un gen supresor tumoral que regula negativamente la vía Wnt/ β -catenina. Esta vía favorece la proliferación y recambio celular dentro de las criptas colónicas, teniendo como objetivo el mantenimiento de la mucosa. En condiciones basales, *apc* se asocia con β -catenina y produce su degradación, pero cuando *apc* se encuentra mutado esta unión a β -catenina no se realiza, lo que permite su acumulación a nivel intracelular, por lo que posteriormente se transloca al núcleo uniéndose al ADN (Schmitt & Greten, 2021). Esto genera un fenotipo hiperproliferativo y antiapoptótico, y así se desarrollan las primeras lesiones de la carcinogénesis de colon, conocidas como fosas crípticas aberrantes (FCA) (Sanabria et al., 2012). Las FCA son variables histopatológicas consideradas el “estándar de oro” que permiten detectar una fase temprana del cáncer de colon tanto en humanos como en roedores. En comparación con las criptas basales, las FCA se caracterizan por tener un mayor tamaño, mayor espacio pericriptal, un epitelio engrosado y contar con aberturas ovals en lugar de circulares (Zamorano-Ponce et al., 2008).

Al paso de la fase de promoción, las células iniciadas anormales acumulan mutaciones oncogénicas, así como un aumento de citocinas proinflamatorias que le

confieren un fenotipo maligno para finalmente dar paso a la fase de progresión y transformarse en un cáncer (Schmitt & Greten, 2021).

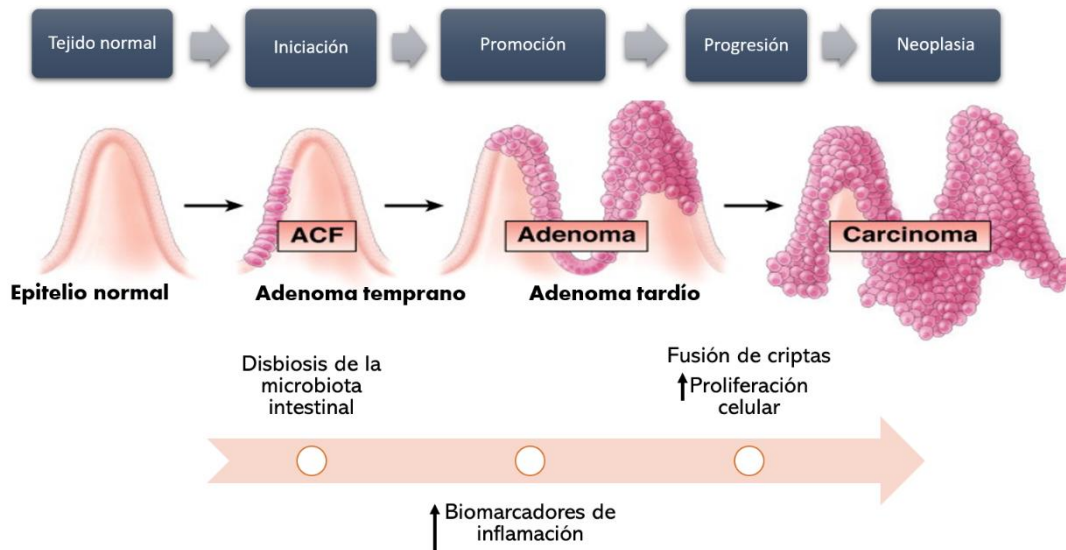


Figura 1. Carcinogénesis del colon. La carcinogénesis del colon se divide en cuatro etapas; iniciación, promoción, progresión hasta llegar a una neoplasia. En la etapa de iniciación y promoción se observa una disbiosis de la microbiota intestinal, lo que da lugar a un estado inflamatorio debido al aumento de biomarcadores de inflamación. Seguido de un aumento de la proliferación celular, que provoca la fusión de criptas colónicas y da paso a la formación de las primeras lesiones preneoplásicas, conocidas como fosas de criptas aberrantes (FCA o ACF, por sus siglas en inglés). Modelo adaptado de Terzic et al., 2010.

2.3 Marcadores moleculares en cáncer de colon

Un evento iniciador dentro del CC es la transformación de células epiteliales, ya sea por mutaciones espontáneas, mutágenos ambientales o cambios epigenéticos, en la que se induce un ambiente inflamatorio y proliferativo de células epiteliales malignas, lo que permite la progresión del CC. El proceso de inflamación en el CC puede deberse al aumento del estrés oxidativo, lo que ocasiona daño al ADN (ruptura de cadena sencilla o doble) de las células epiteliales. Asimismo, el proceso

de inflamación afecta la función de la barrera intestinal aumentando la exposición de las células intestinales a mutagénicos ambientales o permitiendo el paso de patógenos (Luo & Zhang, 2017). Dentro del CC se han descrito algunas vías de señalización asociadas a su progresión. Algunas de estas vías son inducidas por receptores de citocinas que controlan procesos de iniciación y promoción del CC, como lo es la activación del factor nuclear κ B (NF- κ B), el factor de necrosis tumoral (TNF) y el factor de transcripción STAT3 (Luo & Zhang, 2017; Schmitt & Greten, 2021). El NF- κ B es un regulador en el proceso de inflamación, que puede activarse por componentes bacterianos como lipopolisacáridos (LPS) o por citocinas proinflamatorias como TNF- α e interleucina 1 (IL-1), permitiendo el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) y daño al ADN. De este modo, la vía de señalización mediada por NF- κ B estimula la expresión de interleucinas proinflamatorias, genes antiapoptóticos y factores de angiogénesis, promoviendo así la supervivencia, la proliferación y la invasión de células malignas (Schmitt & Greten, 2021). De igual manera, IL-6 dentro del CC puede activar vías de señalización intracelular que incluyen JAK/STAT, Ras/ERK (cinasa regulada por señal extracelular) (Luo & Zhang, 2017). Dentro de los marcadores proliferativos, la activación de STAT3 mediada por IL-6 puede inducir la expresión de factores antiapoptóticos, como BCL-2 y BCL-XL, lo que, a su vez, promueve la supervivencia y la proliferación de células epiteliales malignas (Atreya & Neurath, 2005). Además, la vía COX-2, que puede activarse por factores de crecimiento o por citocinas proinflamatorias, ha mostrado un papel importante en la inflamación del colon, ya que permite la expresión de proteínas antiapoptóticas como BCL-2 (Schmitt & Greten, 2021). Por otra parte, dentro de los mecanismos epigenéticos involucrados en el CC, las señales inducidas por IL-1 β , IL-6 y TNF pueden intervenir en el silenciamiento de genes supresores de tumores debido a que controlan la expresión de las ADN metiltransferasas (DNMT1 y DNMT3), lo que causa cambios en el patrón de metilación y, por lo tanto, en la expresión de genes involucrados en las vías de CC (Li et al., 2020).

Durante el CC, hay una falla mecánica de la barrera epitelial que se caracteriza por un adelgazamiento de la capa interna de moco, una disminución de MUC2 y una

reducción de las proteínas que conforman las uniones estrechas y adherentes de la barrera epitelial. Las vías de señalización, como TLR4 → MyD88 → NF-κB/cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK), promueven el desensamblaje de las uniones estrechas y la fuga paracelular, mientras que las alteraciones de la E-cadherina deterioran aún más las uniones adherentes, facilitando la translocación microbiana. Por lo tanto, la vía LPS–TLR4–MyD88–NF-κB es fundamental en la respuesta inflamatoria dentro de la red barrera epitelial-microbiota-inflamación (Dong et al., 2026).

Estos biomarcadores proliferativos e inflamatorios se han asociado con la formación de FCA en la fase temprana del CC. En un estudio realizado por Xiao y col. en 2018, se demostró, mediante un modelo animal, un aumento en la expresión de citocinas inflamatorias, como IL-6, IL-8 y TNF-α, en relación con una mayor presencia de FCA (Xiao et al., 2018). Además, este trabajo mostró que la formación de FCA y los biomarcadores inflamatorios se relacionaban con una disbiosis de la microbiota intestinal, caracterizada por una disminución de *Bacteroidetes* en los ratones que presentaron FCA (Xiao et al., 2018). De igual manera, se reportó una relación entre alteraciones en los patrones de metilación de genes y la formación de FCA al transferir heces de pacientes con CC a ratones libres de gérmenes, lo que indica una relación entre FCA, la microbiota y las alteraciones del ADN (Sobhani et al., 2019). De tal manera que estos estudios muestran que una disbiosis del perfil microbiano puede reflejar el principio de lesiones premalignas en el colon, asociadas a marcadores inflamatorios.

2.3.1. Biomarcadores de inflamación celular

2.3.1.1. Molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1, CD54)

La molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1, CD54) es una glucoproteína de la superficie celular que pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas (Ig) de las CAM. Está conformada por 5 dominios extracelulares similares a las Ig, un dominio transmembranal y una cola citoplasmática corta. La ICAM-1 se expresa en células epiteliales, fibroblastos y células inmunitarias. Dentro de sus funciones está la

interacción célula-célula, célula-matriz extracelular, señalización celular y proceso inmunológico. ICAM-1 desempeña un papel importante en la respuesta inmunitaria (Qiu et al., 2022). El aumento de la expresión de ICAM-1 refleja una mayor inmunidad frente a las células tumorales, lo que las vuelve más susceptibles a la lisis mediada por linfocitos. Por lo tanto, ICAM-1 desempeña un papel importante en la patogénesis del CC. La expresión de ICAM-1 se encuentra inducida por una variedad de citoquinas inflamatorias, en el caso de las células epiteliales (CE) la expresión de ICAM-1 es inducida por NF- κ B en respuesta a la estimulación con TNF- α o IL-1 β . Asimismo, ICAM-1 puede modular la permeabilidad de las CE al regular la producción de citocinas como CCL5 e IL-8, ambas moléculas alteran la permeabilidad de las CE. De tal manera que ICAM-1 actúa como un biosensor para la transducción de señales externas asociadas a la regulación de una función efectora de las células inmunitarias en un proceso de inflamación y la tumorigénesis (Bui et al., 2020).

2.3.1.2. Antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1ra)

IL-1ra es un polipéptido de 17 kDa, compuesto por 12 hélices beta y dos unidades helicoidales, con una estructura muy similar a la de IL-1 α e IL-1 β . La IL-1ra es un antagonista natural presente en CE, específico del receptor de IL-1 (IL-1RI), que impide la unión de la IL-1 (IL-1 α e IL-1 β). La IL-1 es una citocina proinflamatoria que estimula la respuesta local y sistemática al promover el reclutamiento de células inflamatorias al sitio de inflamación mediante la inducción de la expresión de moléculas de adhesión en las CE y la liberación de quimiocinas proinflamatorias, una respuesta que se observa en el CC (Fields et al., 2019). La IL-1ra bloquea la actividad de la IL-1, influyendo en la inflamación, ya que los knockout de IL-1ra presentan una respuesta inflamatoria excesiva (Gabay et al., 2010). Por otro lado, el aumento de la expresión de IL-1ra, endógena o exógena, ha demostrado disminuir la respuesta inflamatoria en modelos de colitis, y la administración de IL-1ra se ha propuesto como un régimen terapéutico para diferentes neoplasias, incluida la CC (Lopetuso et al., 2013).

2.3.1.3. L- selectina

La L-selectina tiene un papel fundamental en la adhesión de leucocitos al endotelio, al mediar la captura inicial y el anclaje, y al desempeñar un papel importante en la respuesta inflamatoria e inmunológica. La selectina L se expresa exclusivamente en los leucocitos, incluidas las células mieloides y las células T. Sus ligandos endoteliales son las moléculas de adhesión celular dependientes de la glicosilación (PSGL-1). La unión al ligando desencadena una cascada de señalización intracelular en los leucocitos, inducida por la unión de la selectina P de las plaquetas o de la selectina E endotelial (Raffler et al., 2005). La L-selectina actúa en procesos de inflamación agudos o crónicos, presentes en enfermedades como la colitis o la CC, así como ante infecciones bacterianas. De tal manera que la neutralización de las interacciones mediadas por L-selectina puede atenuar la infiltración de leucocitos en sitios inflamatorios y, por lo tanto, reducir la progresión de la inflamación (Borsig, 2018).

2.3.1.4. Quimiocinas (CXCL7, CCL5, CCL20 y CX3CL1)

Las quimiocinas son péptidos cortos de bajo peso molecular, de 8 a 10 kDa; se dividen en cuatro clases principales según la ubicación de los dos primeros residuos de cisteína (C) en la secuencia de aminoácidos: CCL, CXCL, XCL y CX3CL. Las quimiocinas intervienen en la respuesta inflamatoria y tumoral. Se encargan de reclutar células inmunitarias, como linfocitos T, macrófagos, eosinófilos y basófilos, hacia las áreas de inflamación y afectan la invasión o migración tumoral al facilitar la infiltración de células inmunitarias en el tejido tumoral (Zou et al., 2022). Estudios demuestran una relación entre la sobreexpresión de quimiocinas en el CC. CCL20 desempeña un papel importante en la progresión tumoral, el bloqueo de CCL20 se ha relacionado con la supresión tumoral dentro del CC (Wang et al., 2019). La expresión de CCL5 desempeña un papel importante en la respuesta inmunitaria adecuada frente a la progresión tumoral, donde en el CC se ha reportado una sobreexpresión que contribuye al escape inmunitario de las células tumorales. En tejidos de CC, el aumento de la expresión de CCL5 se correlaciona positivamente

con la cantidad y la actividad de linfocitos T citotóxicos (CD8⁺), que inhiben el crecimiento tumoral, lo que evidencia un efecto antitumoral. Sin embargo, la función de CCL5 aún no está del todo clara en la progresión del CC (Chen et al., 2019). La detección de quimiocinas contribuye al diagnóstico temprano y al tratamiento del CC. La expresión de CCL20, CCL5 y CXCL7 se utiliza como indicador diagnóstico del CC (Zou et al., 2022).

2.3.1.5. Inhibidor tisular de metaloproteasas 1 (TIMP- 1)

TIMP-1 pertenece a la familia de metaloproteasas inhibidoras tisulares, por lo que inhibe la actividad proteolítica de las metaloproteasas de matriz (MMP) mediante la formación de complejos estequiométricos no covalentes. La expresión de TIMP-1 se incrementa en el inicio y la progresión del CC, lo que la convierte en un biomarcador pronóstico potencial para pacientes con CC (Song et al., 2016a). TIMP-1 actúa como un inhibidor intracelular del movimiento de las células cancerosas, lo cual se relaciona con la expresión y la función de MMP9. En un modelo de colitis ulcerosa inducida con DSS se observó que MMP9 se encuentra regulada positivamente, además, TIMP-1 inhibe la actividad angiogénica de los macrófagos de forma específica mediante MMP9, por lo que la acción de TIMP-1 sobre MMP9 tiene un efecto sobre la progresión de la colitis ulcerosa y la progresión de CC (Huang et al., 2019a).

2.3.1.6. Factor de necrosis tumoral–alfa (TNF- α)

TNF- α es una citocina multifuncional producida principalmente por células inmunitarias, como macrófagos y monocitos. Sus principales funciones son la regulación de la respuesta inmunitaria, la proliferación celular, la apoptosis y las reacciones inflamatorias. Dentro del CC, TNF- α promueve la proliferación de células tumorales al activar la vía de NF- κ B. En modelos *in vivo* se ha reportado un aumento de la expresión de TNF- α en patologías como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, así como su asociación con la progresión del CC. Durante una respuesta

inflamatoria inicial y de propagación, TNF- α induce la producción de otras citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión endotelial (Y. Li et al., 2025). Asimismo, TNF- α aumenta la permeabilidad vascular, lo que facilita el reclutamiento de leucocitos activados en el sitio de la inflamación. Por lo tanto, TNF- α es considerado un promotor de la inflamación, la angiogénesis y la diseminación tumoral (Terzić et al., 2010).

2.3.1.7. Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)

El VEGF desempeña un papel importante en la progresión del cáncer al facilitar la angiogénesis. Contribuye al establecimiento del microambiente tumoral inmunosupresor al aumentar la acumulación de células supresoras derivadas de células mieloides y de linfocitos T reguladores, así como al inhibir la maduración de las células dendríticas. En pacientes con CC se ha relacionado el aumento en la expresión de VEGF con una progresión del CC por lo que en la actualidad en la clínica se utilizan inhibidores dirigidos a este marcador. Asimismo, se ha relacionado el papel de la microbiota intestinal en la modulación de VEGF al afectar el entorno intestinal, con metabolitos asociados principalmente a los grasos de cadena corta. Los cuales interactúan con la vía oncogénica del VEGF para modular el efecto tumoral (Gong et al., 2024).

2.3.2 Biomarcadores de proliferación celular

2.3.2.1. Células de Uniones intercelulares – barrera epitelial

E-cadherina es la principal proteína que conforma las UA, forma interacciones célula-célula y se une intercelularmente a la β -catenina, participando en la vía Wnt- β -catenina que es importante en la regulación génica relacionada a la adhesión, proliferación y diferenciación celular. La interacción de E-cadherina/ β -catenina mantiene bajos los niveles de la fracción citoplasmática de β -catenina al inhibir la señalización Wnt (vía que regula procesos celulares como la diferenciación, la

proliferación, la migración y la polaridad) y la transición epitelio-mesénquimal (TEM). La unión E-cadherina/ β -catenina ocasiona el secuestro de β -catenina en la membrana plasmática, inhibiendo la activación de Wnt, lo que a su vez evita la translocación nuclear de β -catenina y, por lo tanto, la unión de β -catenina al complejo TCF/LEF (TCF: factor de células T y LEF: factor de unión a potenciador linfóide), que inicia la transcripción de los genes diana de Wnt. Por lo tanto, la actividad transcripcional inductora del crecimiento de la β -catenina puede ser contrarrestada por la E-cadherina, que, a su vez, induce la detención del ciclo celular o la apoptosis (Lialios & Alimperti, 2025).

De este modo, la E-cadherina contribuye a la correcta diferenciación y migración celulares desde las criptas. La pérdida de E-cadherina provoca una migración celular acelerada y una diferenciación aberrante. Además, se ha reportado que la ausencia de E-cadherina altera la vía de transporte paracelular, esto, a su vez, mostró una pérdida de Claudina-1, lo que muestra la relación de E-cadherina con proteínas de UE (Hou et al., 2021). Esto provocó la deficiencia en la eliminación de patógenos al reducir la presencia de péptidos antimicrobianos y, por lo tanto, predisponer al desarrollo de una enfermedad inflamatoria intestinal como el CC. Por lo tanto, E-cadherina es necesaria para el mantenimiento de la arquitectura y función del epitelio, ya que su ausencia puede afectar la maduración de las células calciformes y de Paneth (Gieryńska et al., 2022). Los estudios han confirmado que la reducción de la E-cadherina agrava la colitis inducida por DSS. La disociación dependiente de tirosina quinasa de los complejos E-cadherina/ β -catenina del citoesqueleto es el principal mecanismo implicado en la destrucción de UE y UA por estrés oxidativo (Hou et al., 2022; Lialios y Alimperti et al., 2025).

Las UE son las principales reguladoras de la permeabilidad paracelular, son una red de proteínas ubicadas en el ápice de la membrana lateral de las células epiteliales, incluyendo claudinas. Las claudinas son proteínas transmembranales que forman dos bucles extracelulares que interactúan con sus homólogas de las células vecinas (Barbara et al., 2021). El déficit de Claudina-1 en ratones ocasiona la formación

anormal de UE, lo que induce al desarrollo de cáncer y metástasis (Gierynska et al., 2021).

2.3.2.2. Células de uniones intercelulares y microbiota intestinal

La interacción entre bacterias y la barrera epitelial desempeña un papel esencial en la regulación de la permeabilidad epitelial mediante la modulación de la expresión y el ensamble de las UE (Barbara et al., 2021). Los patógenos también influyen en la disociación de las proteínas de UE y UA, al inducir vías de señalización responsables de la regulación negativa o positiva de la expresión génica de células de uniones intercelulares y el citoesqueleto, provocando un desorden en dichas estructuras. La ruptura de esta barrera por patógenos activa, a su vez, a las células inmunitarias localizadas en la lámina propia para inducir una respuesta proinflamatoria, lo que provoca una desregulación de las UE y UA y contribuye a enfermedades como el CC (Lialios & Alimperti, 2025b). Por otro lado, la generación de AGCC por parte de la microbiota intestinal contribuye a mantener la integridad de la barrera epitelial y a restaurar su función. Se ha descrito el efecto del ácido butírico en la modulación de las UE y las UA, ya que regula positivamente el gen que codifica las proteínas de las UE. Además, los AGCC pueden reducir la permeabilidad de la barrera mucosa intestinal al aumentar la expresión de Claudina-1 (Tian et al., 2024).

2.3.2.3. MUC2

Dentro de la cripta colónica, las células calciformes que se encargan de la formación de la barrera de la mucosa a través de la secreción de la proteína MUC2. La proteína MUC2 se encuentra glicosilada y presenta tres dominios: el dominio N-terminal, el dominio central —compuesto por el núcleo proteico (denominado secuencia PTS), que contiene los aminoácidos prolina, treonina y serina— y el dominio C-terminal (Liu et al., 2020). La capa de moco es la primera línea de defensa que recubre los colonocitos a lo largo del tracto gastrointestinal. En el colon, la capa de moco se encuentra organizada en dos capas: la capa interna firme y la capa externa laxa. La capa interna, anclada a las células epiteliales, presenta una organización plana y

lamina, lo que impide la penetración bacteriana. Por lo que está libre de microbiota. La capa externa se forma a partir de la interna mediante el procesamiento proteolítico de MUC2 polimerizada por las bacterias del huésped. Esta capa externa es laxa, no está adherida a las células epiteliales y alberga múltiples microorganismos (Etienne-Mesmin et al., 2019). La cadena de oligosacáridos de MUC2 proporciona sitios de adhesión a las bacterias comensales intestinales y favorece la colonización por parte de probióticos. Estos pueden aumentar la secreción de MUC2 y proteger la barrera mucosa frente a la adhesión y la invasión de patógenos. MUC2 mejora la unión de la IgA (inmunoglobulina A) y de los péptidos antimicrobianos al epitelio intestinal (Liu et al., 2020).

2.3.2.4. MUC2 y microbiota intestinal

La capa de moco previene la inflamación al mantener la separación e la microbiota intestinal y las células epiteliales. Por lo tanto, la presencia de la microbiota intestinal en el moco es necesaria, ya que los microorganismos producen metabolitos secundarios beneficiosos tanto para el huésped como para la capa mucosa. El moco, además, es una fuente de energía, por lo que puede modular el perfil de la microbiota intestinal, favoreciendo la homeostasis intestinal. La microbiota intestinal se alimenta de la fibra dietaria no digerible por el huésped, sin embargo, la capa de moco es una fuente alternativa de glicanos derivados del huésped. El moco crea nichos selectivos que sirven como sitio de fijación para microorganismos, llamados microorganismos asociados al moco. Los glicanos de las mucinas proporcionan nutrientes a las bacterias mucolíticas, que favorecen su crecimiento y colonización, así como una fuente de carbono y energía. Estas bacterias digieren los glicanos mediante exoglucanasas que eliminan residuos de azúcares y, una vez eliminados todos los glicanos, el núcleo proteico de la mucina se degrada. Este proceso conduce a la formación de MUC2 y, finalmente, a la degradación del moco. No todas las bacterias pueden degradar glicanos, por lo que los glicanos degradados pueden, a su vez, ser utilizados por otras bacterias que los digieren. Esta plasticidad metabólica, que permite convertir glicanos dietéticos en glicanos mucosos, es beneficiosa para la microbiota cuando la dieta carece de carbohidratos, ya que

favorece la supervivencia de la microbiota intestinal en ausencia de fibra dietética (Gierynska et al., 2021). Sin embargo, la privación de la fibra dietética puede tener graves consecuencias para el huésped al provocar la pérdida de la mucosa. Por lo tanto, existe una fuerte correlación entre la pérdida de la capa de moco dependiente de la dieta, resultado de la falta de MUC2, y la protección frente a la infección por bacterias entéricas. Algunas bacterias degradadoras de moco incluyen *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacteroides fragilis*, *Ruminococcus gnavus* y *Ruminococcus torques*. Estas especies son productoras de AGCC mediante la fermentación de glicanos como una fuente de energía (Zhou et al., 2020; Gierynska et al., 2021; X. Wang et al., 2022). La suplementación con *Lactobacillus acidophilus* puede aumentar la expresión de MUC2 en las células de CC HT29. Así como el tratamiento con *Bacillus* y aceite de olivo, ante una lesión inducida por *E.coli* enterotoxigénica (que degrada la barrera intestinal mediante la secreción de serina proteasas, acelerando así la entrada de toxinas en las células intestinales), se ha observado que este tratamiento potencia la secreción de MUC2. Mientras que *Bifidobacterium dentium* regula la síntesis de moco y puede aumentar la secreción de MUC2 (Liu et al., 2020). Algunas bacterias, como *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Faecalibacterium prausnitzii*, promueven la homeostasis del epitelio colónico mediante modificaciones en la diferenciación de las células calciformes, en la expresión de genes relacionados con MUC2 y en la glicosilación de la mucina. Asimismo, la producción de AGCC, en especial el butirato, puede mejorar la función de la barrera mucosa mediante la modulación de la producción y la expresión de MUC2 (Suriano et al., 2022).

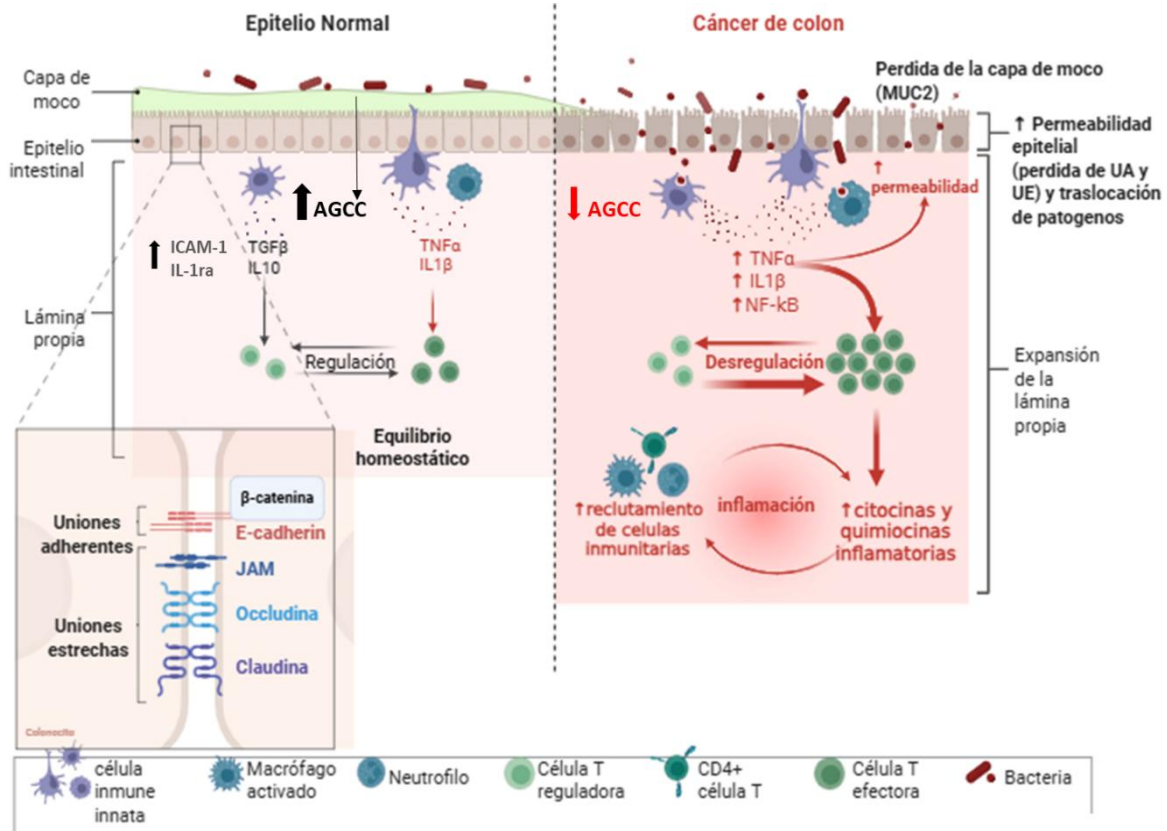


Figura 2. Modelo de biomarcadores de inflamación y de proliferación en el cáncer de colon. Durante la progresión del CC se presenta un estado de inflamación; existe un aumento de biomarcadores inflamatorios como TNF- α , IL-1 β , NF- κ B, junto con una disminución de MUC2, proteínas de uniones adherentes (E-cadherina) y uniones estrechas (Occludina, Claudina-1), lo que aumenta la permeabilidad de la barrera epitelial, dando paso a la translocación de patógenos junto con una disminución de AGCC por parte de la microbiota. En condiciones de homeostasis intestinal, la microbiota se encuentra en equilibrio, lo que permite la generación de AGCC, favorece una respuesta inmunitaria equilibrada y mantiene la integridad de la barrera epitelial. AGCC (ácidos grasos de cadena corta). TNF- α (Factor de necrosis tumoral alfa). IL-1 β (interleucina 1-beta). NF- κ B (factor nuclear kappa B). UA (uniones adherentes). UE (uniones estrechas) (Liu et al., 2020; Gierynska et al., 2021).

2.4 Microbiota intestinal

La microbiota intestinal está compuesta por aproximadamente 35 mil especies de bacterias, distribuidas en los filos *Firmicutes* (*Bacillota*), *Bacteroidetes* (*Bacteroidota*) y *Proteobacterias* (*Pseudomonadota*). De estos, el 90% de los microorganismos son anaerobios y el 70% se encuentra en el colon. El tipo de microbiota presente en cada individuo puede modificarse por diversos factores asociados al huésped, entre los que destaca la dieta propia de cada persona. En el huésped, la microbiota intestinal desempeña un papel importante en el desarrollo del sistema inmune, en el mantenimiento de la homeostasis de la mucosa intestinal, así como en la nutrición humana y en su metabolismo (Macfarlane & Macfarlane, 2012). Entre las funciones metabólicas más importantes de las bacterias del colon se encuentra la digestión de proteínas y carbohidratos, incluida la fibra dietética. Debido a que dichos alimentos no son digeridos durante su paso por el tracto gastrointestinal, llegan al colon sin ser absorbidos y, por lo tanto, son metabolizados por la microbiota colónica, que a su vez los utiliza como fuente de energía (Ramakrishna, 2013). El metabolismo de proteínas y de la fibra dietética por parte de las bacterias del colon se lleva a cabo mediante un proceso de fermentación que da lugar a la formación de metabolitos secundarios. Entre los que se encuentran compuestos fenólicos, vitaminas y AGCC, principalmente en forma de sales como acetato, propionato y butirato. Los AGCC, a su vez, se convierten en una fuente de energía para el huésped al ser absorbidos y metabolizados por el organismo, donde, además, intervienen en diversas funciones dentro de las células epiteliales, como el transporte, el metabolismo, la diferenciación y el crecimiento, lo que refleja una relación bidireccional entre la microbiota intestinal y el huésped (O'Keefe, 2016).

Se ha propuesto en diversos estudios que el perfil de la microbiota intestinal de un individuo puede verse modificado en función de sus hábitos alimentarios. En donde, al haber un mayor consumo de alimentos con fibra dietética fermentable y de fitoquímicos unidos a la fibra dietética (contribuyentes a la fibra antioxidante, aunque

esta denominación requiere pruebas adicionales), estos presentan un mayor impacto benéfico para el huésped.

2.5 Microbiota y cáncer de colon

En los últimos años, se ha descrito el papel de la microbiota intestinal en la salud colónica, al mismo tiempo que se ha caracterizado la presencia de ciertas bacterias en la promoción del CC. Al haber una disbiosis, que se refiere a la alteración en la composición de la microbiota, se favorece una mayor presencia de bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, y *Bacteroides fragilis*. Estas bacterias pueden generar metabolitos genotóxicos que dañan las células intestinales, lo que compromete la función de la barrera intestinal y favorece un ambiente proinflamatorio (Schmitt & Greten, 2021). Se sabe, por ejemplo, que *F. nucleatum* activa la señalización de β -catenina en las células epiteliales del colon, aumenta la expresión de oncogenes como *Myc* e induce señales proinflamatorias como TNF- α e IL-17 (Rubinstein et al., 2013). Además, el aumento de bacterias patógenas puede provocar la formación de biopelículas que inducen señales proinflamatorias involucradas en vías de señalización como NF- κ B y STAT3, lo que promueve el desarrollo del CC (Schmitt & Greten, 2021). Por el contrario, cuando existe una microbiota saludable compuesta por bacterias de los géneros *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium* entre otras, se favorece una mayor producción de AGCC. Estos últimos están asociados a receptores GRP que promueven la inhibición de las desacetilasas de histonas (HDAC) y provocan una disminución de la inflamación mediante la inhibición de la expresión de COX-2, NF- κ B, TNF- α e IL-1 β y la inducción de señales antiinflamatorias como la producción de IL-10 (Y. Yang & Jobin, 2017). Además, estudios han demostrado el papel de la microbiota intestinal en fase temprana de CC. Por ejemplo, un estudio realizado por Do Carmo et al., (2021) demostró cambios en el perfil de la microbiota en un modelo animal con CC alimentado con extracto de berry brasileña (*Myrciaria jaboticaba*). En ese estudio, los ratones tratados mostraron una disminución de FCA, así como una menor abundancia de bacterias patógenas, de interleucinas proinflamatorias como TNF- α y una

disminución de la expresión de COX-2 (Do Carmo et al., 2021). Por otra parte, Shen y col. en el 2020 observaron una disminución de la FCA en relación con una disminución de interleucinas inflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-10 y TNF- α , y un aumento de bacterias benéficas (*Lachnoclostridium*, *Alistipes*, *Roseburia*, *Lactococcus*) en un modelo animal con CC alimentado con un té de hojas populares chinas llamado té Huang-qin (Shen et al., 2020). De este modo, la evidencia previa sugiere que la ingesta de alimentos ricos en compuestos bioactivos puede ejercer un papel quimioprotector frente al CC al modular el perfil de la microbiota intestinal y contribuir con una disminución de lesiones preneoplásicas, así como a una menor expresión de biomarcadores proliferativos e inflamatorios.

2.6 Dieta y microbiota

La fibra dietética se define como aquella que no es absorbida ni digerida en el intestino delgado, sino que pasa directamente al colon para ser fermentada por la microbiota colónica. Su consumo por parte del huésped constituye uno de los principales factores responsables de la modificación del perfil de la microbiota intestinal, así como de la producción de sus metabolitos secundarios. Diversos estudios muestran que un aumento en la ingesta de fibra dietética, ya sea por tiempos prolongados o de forma temporal (24 h), modifica la diversidad de especies bacterianas (Holscher & Microbiome,). Una revisión sistemática realizada por Dreher (2018) concluyó que un microambiente colónico saludable, determinado por un aumento en la diversidad de bacterias benéficas y, por lo tanto, un aumento en la síntesis de AGCC, se origina, a su vez, por el consumo de fibra, así como por la presencia de polifenoles (Dreher, 2018). Los polifenoles son compuestos bioactivos de origen natural asociados a mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios, contribuyendo, a su vez, a la protección del colon (Singh et al., 2017). De acuerdo a su solubilidad, los compuestos fenólicos pueden clasificarse en solubles o extraíbles (CFE) y solubles o no extraíbles (CFNE). Estos últimos se encuentran asociados a la matriz de la fibra dietaria, por lo que esta fibra también se conoce como fibra antioxidante (FA). La baja solubilidad de los CFNE les permite alcanzar

el colon, donde son liberados y metabolizados por la microbiota, lo que genera efectos benéficos, entre ellos la reducción del estrés oxidativo, que promueve el proceso tumoral (Flint et al., 2014). De igual forma, se ha visto que el consumo de FA puede modificar el perfil de la microbiota intestinal al promover el crecimiento de especies de *Lactobacillus*, provocando un microambiente saludable para el intestino (Pozuelo et al., 2012).

2.7. Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*)

2.7.1. Descripción

El garambullo es una especie cactácea endémica de México, adaptada a regiones áridas y semiáridas de estados como Hidalgo, San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro. El fruto comestible, también llamado berry de cactus por su semejanza a las bayas en cuanto a su forma globular y de color púrpura intenso, tiene una altura de 1.2 cm y un diámetro en promedio de 1.5 cm. Su piel o cáscara es delgada y fina, mientras que su pulpa es de consistencia gelatinosa, la cual a su vez contiene numerosas semillas negras menores a un milímetro de tamaño (Guzmán-Maldonado et al., 2010) (Figura 3).



Figura 3. Apariencia externa e interna del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Tomado de Hernández-López et al., 2008.

2.7.2. Características nutraceuticas

El garambullo es considerado un fruto con gran potencial nutricional, ya que es una fuente importante de vitamina C, potasio, calcio, magnesio, hierro y cobre. Dentro de su contenido nutrimental se ha descrito que 100 g de garambullo fresco aportan 10.4 g de carbohidratos, 2.1 g de proteínas y 3.54 g de fibra, siendo esta última mayor en comparación con frutos similares como arándanos y zarzamoras, por lo que se considera una excelente fuente de fibra dietaria (Ramírez-Rodríguez et al., 2020).

El garambullo también es un alimento rico en compuestos bioactivos. Dentro de estos compuestos bioactivos se encuentran las betalaínas (29.5-36.9 mg/kg), fenoles solubles (9.21-10.46 g/kg), taninos condensados (1.20-2.94 g/kg) y ácidos fenólicos como el ácido cafeico, gálico y vanílico (33.57-39.77 mg/kg) (Guzmán-Maldonado et al., 2010; Ramírez-Rodríguez et al., 2020). Los compuestos fenólicos presentes en el garambullo se han relacionado con mecanismos antioxidantes intracelulares, ya que intervienen en la eliminación de radicales libres en procesos inflamatorios y carcinogénicos (Guzmán-Maldonado et al., 2010; López-Palestina et al., 2018). De este modo, su presencia en el garambullo le confiere a este fruto una alta capacidad antioxidante, equiparable a la de la frambuesa, la zarzamora y la fresa (Herrera-Hernández et al., 2011). Recientemente, tras realizar una digestión *in vitro* del garambullo, se reportó un aumento en la producción de metabolitos con alta capacidad antioxidante y de carácter no digerible en el intestino delgado (Sánchez-Recillas et al., 2022). Estos resultados dieron pie a evaluar la fracción no digerible/metabolitos del garambullo, la cual llega al colon (Sánchez-Recillas et al., 2024), donde, una vez fermentada por la microbiota intestinal, genera metabolitos secundarios con un efecto benéfico a nivel local y probablemente sistémico. Acorde con estos antecedentes, se sugiere que el consumo del garambullo resulta ser una fuente importante de fibra antioxidante, la cual es generada por sus altos niveles de fibra dietética junto con la presencia de fitoquímicos con actividad antioxidante con los que cuenta. Por lo tanto, el consumo de garambullo podría contribuir a prevenir

las primeras etapas de la carcinogénesis del colon debido a sus propiedades nutraceuticas.

2.7.3. Efectos del garambullo en la salud

Mediante un modelo de digestión *in vitro* se determinó que el garambullo presenta metabolitos con alta capacidad antioxidante y de carácter no digerible en el intestino delgado, lo que sugiere que la fracción no digerible/metabolitos del fruto alcanza el colon (Sánchez-Recillas et al.,2022). Además, en estudios previos se ha demostrado que el garambullo es una buena fuente de sustrato para la generación de AGCC en modelos de fermentación *in vitro* (Sánchez-Recillas et al., 2024) e *in vivo* (Godínez-Santillán et al., 2024). Además, se ha demostrado que el consumo de garambullo en un modelo murino inducido con AOM/DSS por 16 semanas, disminuyó significativamente la presencia de FCA y su multiplicidad, así como la displasia epitelial e infiltración de linfocitos (Godínez-Santillán et al., 2024). Esto demuestra que el garambullo desempeña un papel protector en una etapa temprana del CC.

3. Justificación

Actualmente, el CC es una de las patologías de mayor prevalencia en el mundo. En México este es uno de los tipos de cáncer más frecuentes en la población y su desarrollo suele asociarse a múltiples factores entre los que destacan los hábitos alimentarios. La prevención del CC puede deberse al consumo de alimentos ricos en fitoquímicos o compuestos bioactivos que pueden ejercer efectos quimiopreventivos y/o de modulación de la microbiota intestinal. La evidencia previa sugiere que la ingesta de alimentos y sus compuestos bioactivos protegen frente a procesos inflamatorios o carcinogénicos en modelos tempranos de CC, mediado por la modulación de la microbiota colónica y través de la producción de metabolitos secundarios. Estos últimos contribuirán a promover la homeostasis intestinal e interferirán en la disminución de la activación de vías de señalización implicadas en procesos tumorales. De tal manera que, al existir una asociación inversa entre el perfil de la microbiota intestinal y el CC, resulta de suma importancia buscar alimentos ricos en compuestos bioactivos con efectos quimiopreventivos. El garambullo es un fruto que ha demostrado contener una cantidad significativa de fibra dietética y compuestos fitoquímicos. Así como el prevenir el desarrollo de lesiones preneoplásicas en un modelo animal de CC. No obstante, a la fecha no se han investigado por completo los mecanismos relacionados con el efecto protector del garambullo en la salud colónica. Por lo tanto, se propone que su consumo en un modelo de rata en fase temprana de cáncer de colon pudiera modificar el perfil microbiano y los biomarcadores asociados a la inflamación y la proliferación celular, permitiendo retrasar las primeras lesiones preneoplásicas de CC.

4. Hipótesis

Un consumo de garambullo presenta efectos quimiopreventivos en la fase temprana de cáncer de colon *in vivo* mediante la inducción de cambios en el perfil de microbiota intestinal y de biomarcadores inflamatorios y de proliferación celular.

5. Objetivo general

Determinar el efecto quimiopreventivo del garambullo en la fase temprana de cáncer de colon *in vivo* a través de la modulación de la microbiota intestinal y de biomarcadores inflamatorios y de proliferación celular.

5.1 Objetivos específicos

- Caracterizar las diferencias en los perfiles de la microbiota intestinal entre los grupos experimentales.
- Identificar las diferencias en la expresión de marcadores inflamatorios en el tejido colónico entre los grupos experimentales.
- Determinar las diferencias en la expresión de marcadores de proliferación celular en el tejido colónico entre los grupos experimentales.

6. METODOLOGIA

6.1 Bioética y seguridad

Las muestras de heces y de tejido colónico de las ratas utilizadas en este proyecto fueron obtenidas a partir de otro proyecto de doctorado previamente aprobado por el comité de bioética de la UAQ (número 11522). La reutilización de estas muestras contribuyó a poner en práctica las 3R en el trabajo con animales, permitiendo aprovechar al máximo las muestras de animales en tratamiento y evitar el uso de un mayor número de animales.

Es importante recalcar que todos los procedimientos se realizaron acuerdo con la NOM-062-200-1999 y el protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina, UAQ. Los especímenes fueron ratas de la cepa Sprague-Dawley; se mantuvieron en el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, en un cuarto con temperatura ambiente de 24 ± 2 °C, con ciclos de luz-oscuridad: 12/12 horas, provistas de agua y alimento *ad libitum*, en condiciones de limpieza y ventilación constantes. A su arribo, las ratas se les permitió una semana de aclimatación y, posteriormente, fueron asignadas a los diferentes grupos experimentales. Se llevaron a cabo los lineamientos de laboratorio de bioseguridad de nivel II. El uso de bolsa roja para residuos biológicos, uso de guantes y bata, así como medidas generales de seguridad se aplicaron en todo momento durante la fase experimental.

6.2 Recolección y tratamiento del garambullo

El garambullo fue recolectado en la comunidad de Garabatillo, Celaya, Guanajuato, en junio de 2021. Una vez recolectado, el garambullo (G) fue lavado con agua corriente sin tallar. En seguida, se liofilizó y se molió, obteniendo el fruto en polvo, que se almacenó en bolsas selladas a -80 °C. El residuo de garambullo (RG), que se refiere a la fracción de fibra no digerible junto con los compuestos bioactivos no solubles, se obtuvo mediante una extracción con metanol-agua (30:70 v/v) del garambullo liofilizado. Se centrifugó a temperatura ambiente a 10.000 g durante 10

minutos y se filtró con papel Whatman (0.20 μm). El sobrenadante se descartó y se obtuvo el RG, que se almacenó en bolsas selladas a -80°C .

6.3 Fase experimental *in vivo*

Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley con peso inicial de 75 ± 5 Kg de 4 semanas de edad. Una semana después de la aclimatación, las ratas se asignaron al azar a uno de los siguientes 4 grupos de tratamiento (n=3 por grupo) (Figura 4):

1) Grupo control (C): Este grupo fue alimentado con dieta basal *ad libitum* y recibió una inyección subcutánea de agua en la semana 3 y 4.

2) Grupo azoximetano-dextrán sulfato de sodio (AOM/DSS): Este grupo recibió dieta basal *ad libitum* más una inyección subcutánea de AOM (10 mg/kg de peso corporal, disuelto en 1 ml de solución fisiológica), una vez a la semana por dos semanas. En la 3er y 4ª semana del periodo experimental, se adicionó DSS al 2% v/v disuelto en agua de consumo por 7 días.

3) Grupo garambullo con inducción con AOM/DSS (G+AOM/DSS): Este grupo recibió tratamiento con garambullo (5 g/kg de peso corporal) diariamente, administrado en forma de croqueta (pellet) una vez por día durante el periodo experimental (16 semanas), a su vez que se le administró AOM/DSS y dieta basal. La dosis se seleccionó de acuerdo con lo reportado previamente por Reynoso et al. (1999) como dosis inocua.

4) Grupo residuo de garambullo con inducción con AOM/DSS (RG+AOM/DSS): Este grupo recibió el tratamiento con residuo de garambullo (5 g/ kg de peso corporal) diariamente administrado en forma de pellet, una vez por día durante el periodo experimental (16 semanas), junto con un complemento de dieta basal e inyección subcutánea de AOM. El DSS fue administrado oralmente.

Diseño experimental

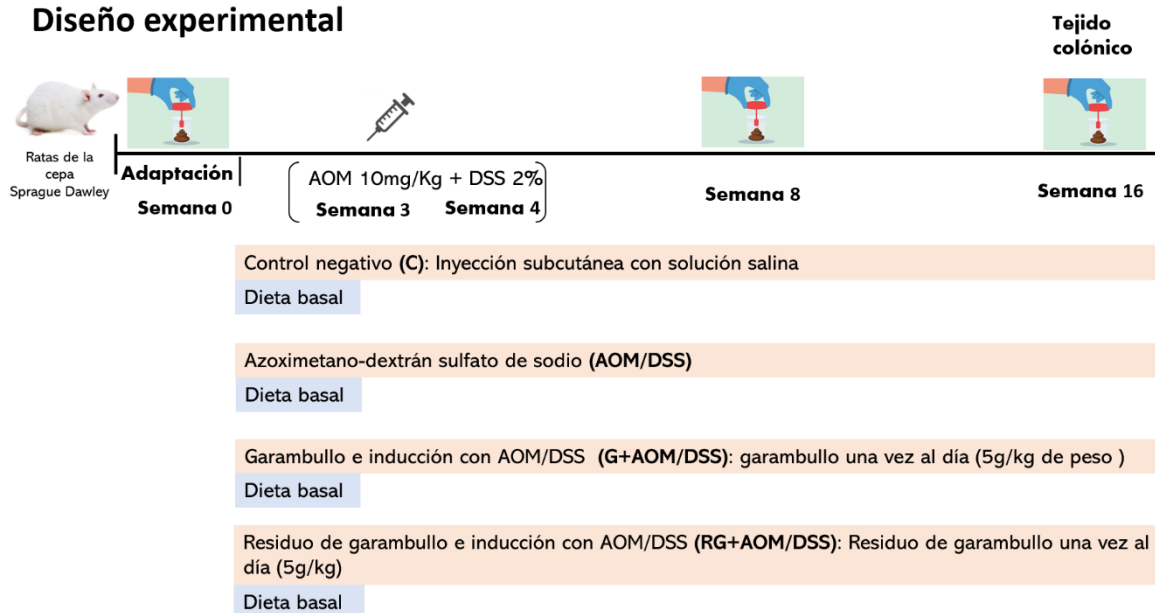


Figura 4. Diseño experimental *in vivo*. C: control, dieta basal e inyección subcutánea de solución fisiológica. AOM: Azoximetano. DSS: dextrán sulfato de sodio. G: garambullo. RG: residuo de garambullo.

A partir de la primera semana de tratamiento se registró el peso de las ratas para ir ajustando los tratamientos semanalmente. Las muestras de heces fueron recolectadas en tres tiempos; inicial (0 semanas), medio (8 semanas) y final (16 semanas). Previo a la recolección de heces, las ratas de cada grupo fueron colocadas en cajas individuales sin aserrín, como regularmente se mantienen, lo que permitió tomar muestras de heces individuales.

Posteriormente, al término del periodo experimental los animales fueron sacrificados siguiendo los lineamientos descritos en la solicitud previamente enviada al Comité de Bioética. Se tomaron muestras de tejido colónico para la determinación de biomarcadores de inflamación y proliferación celular.

6.4 Determinación del tipo de microbiota intestinal

6.4.1 Análisis metagenómico

Se tomaron muestras de heces de cada grupo de forma basal, medial y final. Una vez recolectadas las muestras en tubos de recolección fecal DNA/RNA shield (Zymo

Reserch® No. de catálogo R1101), los cuales fueron almacenados a -20°C. Posteriormente se llevó a cabo la extracción de DNA utilizando el kit de extracción fecal No. D4300 (ZymoBiomics DNA miniprep Kit). La calidad del DNA fue determinada usando un espectrofotometro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA). La identificación taxonómica del perfil de la microbiota se realizó por parte de ZymoBiomics mediante un secuenciador Illumina. Un total de tres muestras por grupo (siendo cada muestra un conjunto de ADN de tres ratas) se diluyeron con agua estéril a una concentración de 20 µg/µL. Las muestras fueron procesadas y analizadas por el servicio de secuenciación metagenómica dirigida (Zymo Research, Irvine, CA) de ZymoBIOMICS. Las muestras de ADN se prepararon para la secuenciación dirigida con el kit de preparación de bibliotecas NGS Quick-16S™ (Zymo Research, Irvine, CA). La biblioteca de secuenciación se preparó mediante reacciones de PCR en tiempo real. Los productos finales de la PCR se cuantificaron con lecturas de fluorescencia de qPCR y se agruparon basándose en la misma molaridad. La biblioteca combinada final se limpió con Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™ (Zymo Research, Irvine, CA) y luego se cuantificó con TapeStation® (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) y Qubit® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, WA). Como control positivo de cada extracción de DNA se utilizó el estándar comunitario microbiano ZymoBIOMICS® (Zymo Research, Irvine, CA). La biblioteca final se secuenció en Illumina® MiSeq™ con un kit de reactivos v3 (600 ciclos). Las secuencias de amplicones únicas se identificaron a partir de lecturas sin procesar utilizando el canal Dada2 y las secuencias quiméricas se eliminaron con el canal Dada2. La asignación de taxonomía se realizó con Uclust de Qiime v.1.9.1. utilizando signó la base de datos Zymo Research. Se realizó una PCR cuantitativa en tiempo real para determinar la abundancia relativa y se configuró con una curva estándar, la cual se realizó con ADN plasmídico que contenía una copia del gen 16S preparada en diluciones seriadas de 10 veces. Los cebadores utilizados fueron los mismos que los usados en la preparación de bibliotecas dirigidas. La ecuación generada por la curva estándar del ADN plasmídico se utilizó para calcular el número de copias del gen en la reacción para cada muestra. El volumen de entrada de la PCR (2 µl) se utilizó

para calcular el número de copias de genes por microlitro en cada muestra de ADN. La cantidad de ADN por microlitro de muestra de ADN se calculó utilizando un tamaño de genoma supuesto de $4,64 \times 10^6$ pb, el tamaño del genoma de *Escherichia coli*. para muestras 16S (protocolo ZymoBiomics).

6.4.2 Caracterización de la microbiota intestinal

La caracterización de la microbiota intestinal incluyeron: alfa diversidad, beta diversidad, análisis de abundancia relativa y diferencia de abundancias. Para la abundancia relativa se determinaron los niveles taxonómicos filo, familia, género y especie. En cuanto al análisis de alfa diversidad se calcularon los índices de Shannon y Chao1, usando como test estadístico la prueba no paramétrica de Wilcoxon. La beta diversidad se analizó mediante CODA (método de análisis para datos composicionales) y, la distancia entre la composición microbiana se calculó mediante el análisis de Bray-Curtis, utilizando como test estadístico del análisis permutacional multivariado de varianza (PERMANOVA). En cuanto al análisis diferencial de abundancias (DAA), se calculó mediante el uso del paquete DESeq2 en donde ambos utilizan un modelo lineal generalizado para la comparación de taxones individuales entre los grupos experimentales. Los análisis se realizaron con el programa RStudio.

6.5 Microarreglo de proteínas de inflamación

Para determinar los biomarcadores inflamatorios se utilizó un microarreglo de proteínas de inflamación (SMA092, Full Moon BioSystems) conformado por 20 anticuerpos distintos de captura.

Inicialmente, se llevó a cabo una extracción de proteínas de los tejidos de colon correspondientes a cada grupo con tratamiento. Específicamente, se pesaron 200 mg de tejido de colon distal formado por una mezcla (pool) de tres ratas dentro de cada grupo experimental. Los tejidos fueron colocados en una solución amortiguadora (buffer) de lisis conformado por PBS 1× y un coctel de inhibición de

proteasas (Sigma-Aldrich). Las muestras fueron homogenizadas con un politrón durante 10 min, seguido de la adición de Tritón X-100 y centrifugación ($10000\times g$ por 5 min) para remover residuos celulares. Una vez obtenido el sobrenadante se llevó a cabo una cuantificación de proteínas mediante el uso del kit de análisis de proteínas por el método del ácido bicinconínico (BCA) (No.P011, ABP Biosciences).

Posteriormente, para determinar la expresión relativa de las proteínas de inflamación, se bloquearon las membranas de nitrocelulosa originales del microarreglo, la cual contenía 20 anticuerpos de captura diferentes. A continuación, se les añadió 500 μL de las muestras de proteínas extraídas mezcladas con un coctel de anticuerpos biotinilados de detección. Las muestras fueron incubadas dentro de cada membrana de anticuerpos, seguido de una detección por estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP). La detección de proteínas se hizo mediante el uso de un fotodocumentador acoplado a una cámara de quimioluminiscencia, el cual permitió obtener imágenes que mostraron señales positivas ante la presencia de proteínas dentro de las membranas. A continuación, se llevó a cabo la identificación de cada proteína expresada utilizando las guías de identificación del microarreglo. Finalmente, se determinó el porcentaje de densidad de expresión correspondiente a cada proteína mediante el uso del programa ImageJ.

6.6. Análisis Inmunohistoquímico de tejidos colónicos

Se realizó un análisis inmunohistoquímico para determinar la presencia biomarcadores de proliferación celular en tejido colónico de los grupos de tratamiento. Para ello, se realizaron cortes de 5 μm de tejido colónico previamente fijado con formaldehído al 4% v/v previamente recubierto con parafina. Los tejidos, una vez cortados, se colocaron en laminillas con carga electroestática positiva (premium charged slides). Posteriormente se realizó un desparafinado calentando los tejidos en un horno de convección a 60°C por 15 min. Se continuó con un tren de desparafinado de xilol, etanol 100% v/v, etanol 96% v/v, etanol 70% v/v y agua tridestilada durante un periodo de 5 min en cada solución. Después, se procedió a la recuperación antigénica calentando las laminillas en una solución amortiguadora

de citratos pH 6.0 en vaporera durante 20 min a 98°C. Las muestras se lavaron con PBS por 10 min. Se continuó con el bloqueo de peroxidasa endógena dejando incubar las muestras con peróxido de hidrógeno al 3% durante 45 min. Terminado el tiempo de incubación las muestras se lavaron con PBS 1× por 10 min. Para continuar con el bloqueo inespecífico con suero de caballo al 20 % y Tween por 30 min. Al finalizar, las muestras se lavaron con PBS 1× por 5 min. En seguida, las muestras se incubaron con el anticuerpo primario correspondiente, anti-MUC2 (No. sc-7314), anti-E-cadherina (No.sc-8426 HRP), anti-Claudina-1 (No. sc-166338 HRP) o anti-Beta-actina (No.sc-47778 HRP), a una concentración 1:100 dejándose incubar durante toda la noche a 4°C. Se continuó con lavados con PBS 1× y se procedió a la incubación de las muestras con el anticuerpo secundario m-IgGk BP-HRP (No. sc-516102) a una concentración 1:100 durante 3 horas a 4°C. Al término, las muestras se lavaron con PBS 1× por 10 min y se continuó con el revelado con DAB (0.01g en 10 mL de amortiguador TRIS 0.1M pH 4.5). Esta solución se preparó 20 minutos antes en agitación y una vez disuelto el DAB (3,3'-diaminobenzidina) se agregaron 900 µL de peróxido de hidrogeno (H₂O₂), dejando las muestras incubar con DAB+H₂O₂ por 10 min. Al finalizar, las muestras se lavaron con agua tridestilada y se llevó a cabo el contraste con hematoxilina agregando 200 µL por 1 min. Una vez lavadas las muestras con agua tridestilada, se llevó a cabo el tren de deshidratación, agua tridestilada, etanol 70% v/v, etanol 96% v/v, etanol 100% v/v y xilol durante un periodo de 5 min en cada solución. Al término se llevó a cabo el montaje de los tejidos con cubreobjetos con resina sintética. Para determinar la presencia de cada anticuerpo se tomaron fotografías por cada tejido utilizando un microscopio de óptico. Para el análisis de los datos, se utilizaron 5 fotografías por cada tejido, usando 3 muestras de tejidos de 3 ratas diferentes por cada grupo experimental para cada anticuerpo. Las imágenes fueron analizadas mediante el uso del programa ImageJ (Fiji versión 2.16.0/1.54, NIH, Bethesda, MD, USA).

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tras el análisis de la parametricidad de los datos, las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se determinaron mediante el análisis estadístico de análisis de varianza (ANOVA) de Wilcoxon para la diversidad α . Para la diversidad β se utilizó PERMANOVA. Se asumió significación estadística en $p < 0.05$ para todas las pruebas. Los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar (DE) de tres ratas por grupo. Los análisis se realizaron con el programa RStudio versión 3.3.0.3. En cuanto a los análisis de biomarcadores de inflamación los resultados son expresados como la media \pm DE dos repeticiones. Para lo biomarcadores de proliferación celular, los resultados se expresaron como la media \pm DE de tres repeticiones. Para ambos biomarcadores, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para calcular las diferencias estadísticamente significativas, seguida de una prueba post-hoc de Tukey como *post hoc* $p < 0.05$. Estos análisis adicionales se realizaron con el programa estadístico JMP versión 7.0 (SAS Institute, INC).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Caracterización del perfil de la microbiota intestinal

8.1.2. Alfa diversidad

Los resultados sobre la alfa diversidad, referida como la riqueza de especies o el número total de especies en una muestra ya sea observado o estimado (Luz Calle, 2019) se muestran en la Figura 5. Los resultados indican que no hubo diferencias significativas en cuanto a la alfa diversidad mediante el índice de Shannon y Chao1 al comparar los cuatro grupos experimentales dentro de cada ventana de tiempo. Por otra parte, al comparar cambios en la riqueza de especies a lo largo del tiempo por cada grupo experimental el grupo AOM/DSS mostró un aumento ($p < 0.05$) en la riqueza de especies mediante el índice de Chao1 de la semana 8 y 16 respecto a la semana 0.

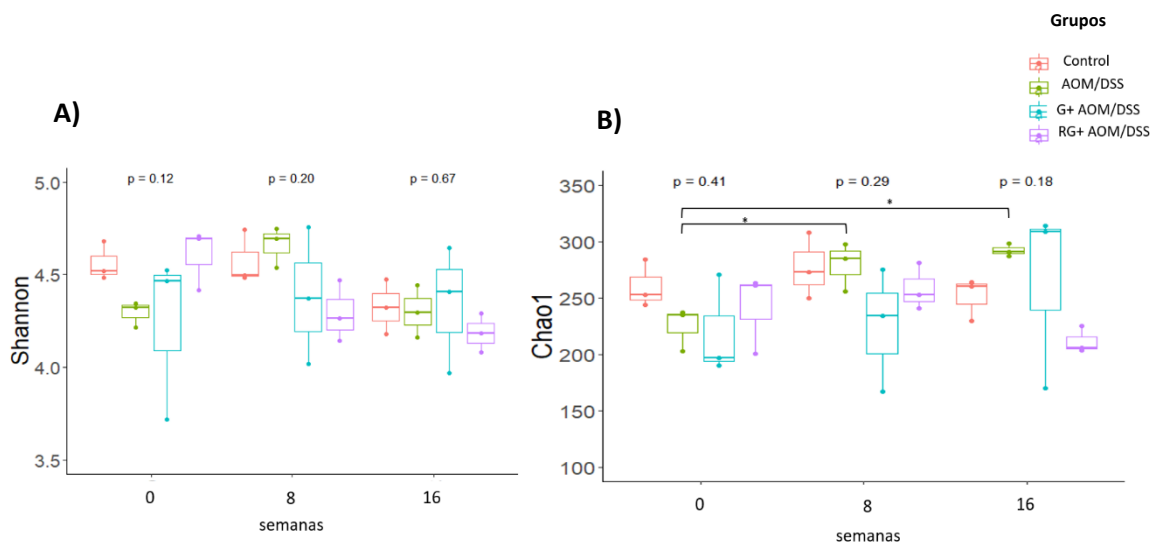


Figura 5. Alfa diversidad. A) índice de Shannon. B) índice de Chao1. Los datos se muestran como la media \pm desviación estándar de tres muestras de heces. Análisis estadístico de Wilcoxon para determinar diferencias significativas entre los grupos y a lo largo del tiempo. Asterisco (*) indica diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) intergrupales y a lo largo del tiempo. AOM/DSS= Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

8.1.3 Beta Diversidad

En cuanto al análisis de beta diversidad, el cual nos indica las diferencias en la composición de la microbiota entre las muestras (Luz Calle., 2019), los resultados se muestran en la Figura 6. A la semana 0 los cuatro grupos experimentales mostraron un agrupamiento entre ellos, indicando que hay similitud en su composición microbiana y, mostrando que todos los grupos en el tiempo inicial contaron con una semejanza en la composición de su microbiota intestinal en comparación a la semana 8 y 16. Por otra parte, los grupos control (semana 8 y 16) y RG+AOM/DSS (semana 16) mostraron una composición de microbiota similar al presentarse un agrupamiento de dichos grupos. La similitud en la composición de microbiota entre el grupo control y el RG+AOM/DSS sugiere que el consumo de RG a las 16 semanas no está permitiendo el crecimiento de bacterias asociadas a la inducción con AOM/DSS. En cuanto a los grupos AOM/DSS en la semana 8, G+AOM/DSS semana 8 y 16 y RG+AOM/DSS semana 8 presentan similitud en la composición de su microbioma.

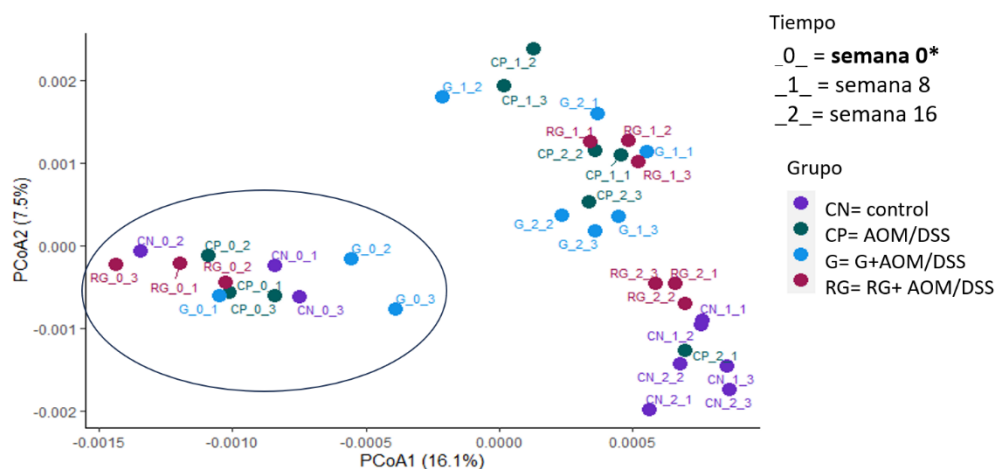


Figura 6. Beta diversidad. Plot PCoA (análisis principal de coordenadas) de distancia de Atchison. Los círculos indican diferencias estadísticamente significativa $p < 0.05$. Análisis estadístico PERMANOVA y ANOSIM. AOM/DSS= Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

8.1.4. Abundancia relativa

Como parte del análisis metagenómico de la microbiota intestinal presente en los cuatro grupos experimentales se determinó la abundancia relativa por nivel taxonómico. A nivel de filo Firmicutes (Bacillota), Bacteroidetes (Bacteroidota) y Proteobacterias (Pseudomonadota) fueron los de mayor abundancia dentro de los cuatro grupos experimentales y durante los tres tiempos evaluados (Figura 7). Los aumentos en la abundancia de Bacillota y Bacteroidota, tras 8 y 16 semanas en grupos tratados con G, coincide con lo reportado en ratas alimentadas con *Ziziphus jujuba* Mill. (Ji et al., 2018), arándano (Cai et al., 2019) y con la baya Aronia (*Aronia melanocarpa*) (Liu et al., 2021). Por otro lado, Bacteroidota y Bacillota son los principales grupos de bacterias que intervienen en el metabolismo de polisacáridos no digeridos en el colon (Dreher, 2018). La relación de ambos filos son de gran importancia en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, en donde al haber un aumento o disminución de su ratio se considera disbiosis (Ji et al., 2020). Estos resultados muestran una mayor abundancia de Bacillota con respecto al resto de los filos en los cuatro grupos experimentales. Es interesante destacar que dentro de este filo se pueden encontrar especies asociadas a inflamación y CC, así como otras especies de bacterias productoras de ácido butírico benéficas para colon (Chang et al., 2022a).

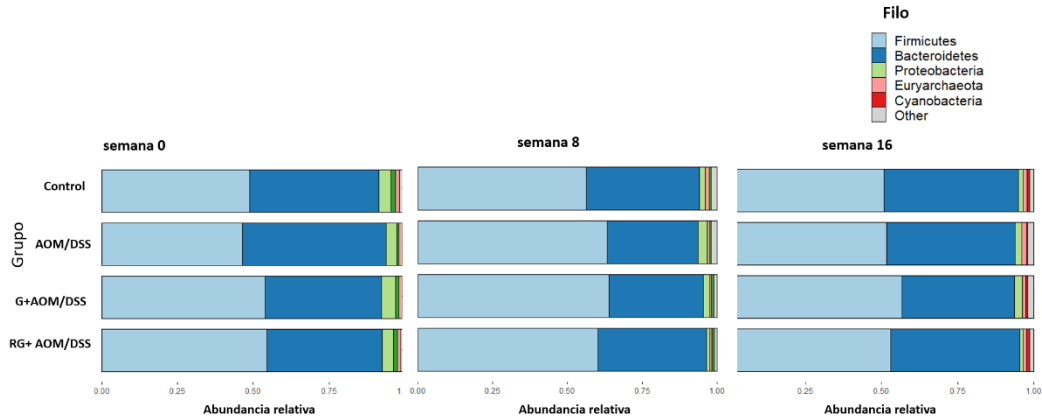


Figura 7. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel filo. AOM/DSS= Azoximetano/ dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato, RG+AOM/DSS=Residuo de garambullo inducido con azoximetano/dextrán

En cuanto a la abundancia relativa a nivel familia (Figura 8), los resultados muestran que las familias más abundantes fueron *Prevotellaceae*, *Lactobacillaceae*, *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae* en los cuatro grupos experimentales. La presencia de estas familias en modelos *in vivo* alimentados con *Evodia rutaecarpa* inducidos con AOM/DSS (Wang et al., 2021) y con arándano inducido con DSS (Cai et al., 2019) se ha reportado previamente. A las 8 y 16 semanas dentro de los grupos G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS se puede observar una mayor abundancia de las familias *Lactobacillaceae* y *Lachnospiraceae* en comparación a los grupos AOM/DSS y control. Ambas familias intervienen en el mantenimiento de la homeostasis intestinal y en la producción de AGCC (Ferreira-Lazarte et al., 2021). Por otra parte, a las 8 y 16 semanas los resultados muestran una mayor abundancia de la familia *Erysipelotrichaceae* en el grupo AOM/DSS en comparación al grupo control, G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS. El aumento en la abundancia de *Erysipelotrichaceae* se ha descrito en modelos de ratones inducidos con AOM/DSS asociada a un estado de inflamación (Tajasuwan et al., 2023).

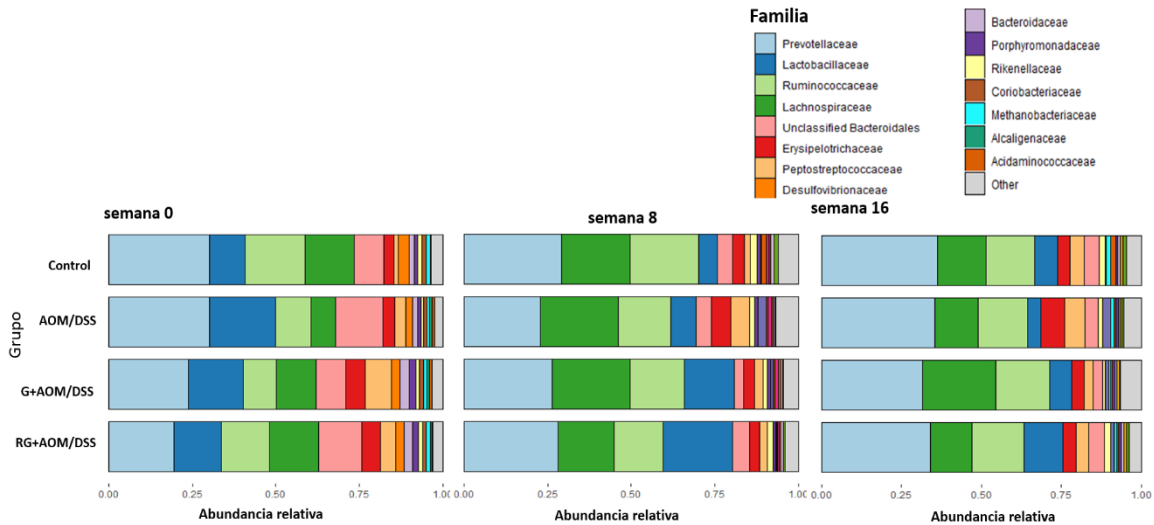


Figura 8. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel familia. AOM/DSS= Azoximetano/ dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato, RG+AOM/DSS=Residuo de garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

A nivel de género, hubo una mayor abundancia de los géneros dentro del espectro de *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* y *Bacteroidales*, además de *Lactobacillus*, *Rombustia*, *Alloprevotella* y *Balutia* dentro de los grupos experimentales (Figura 9). A las 8 y 16 semanas se puede observar que los grupos con G+AOM/DSS y RG+AMO/DSS mostraron una mayor abundancia de los géneros *Lactobacillus*, uno dentro del grupo de *Lachospiraceae*, *Alloprevotella*, *Blautia*, *Faecalibacterium* y *Prevotella* respecto del grupo AOM/DSS y control. El aumento de *Alloprevotella* en los grupos con RG y G es similar a lo reportado por Wang et al. (2021) en un modelo animal inducido con AOM/DSS y alimentado con *Evodia rutaecarpa*. Las bacterias dentro del género *Alloprevotella* son productoras de AGCC por lo que intervienen en la salud colónica al correlacionarse negativamente con factores inflamatorios y positivamente con la integridad de la barrea intestinal (Wang et al., 2021). Por otra parte, el grupo AOM/DSS mostró una mayor abundancia de los géneros *Romboutsia*, *Turicibacter* y *Clostridium* respecto al grupo control y los grupos alimentados con G y RG. El aumento en la abundancia

del género *Romboutsia* ha sido previamente reportado por Chang et al. (2022) en un modelo animal inducido con AOM/DSS, en donde se ha asociado a las bacterias de dicho género con procesos de iniciación tumoral de CC (Mangifesta et al., 2018). De igual forma, el aumento de abundancia de los géneros de *Turicibacter* y *Clostridium* coincide con lo reportado en modelos de ratas inducidos con AOM/DSS y que se han descrito son bacterias asociadas a inflamación (Tajasuwan et al., 2023).

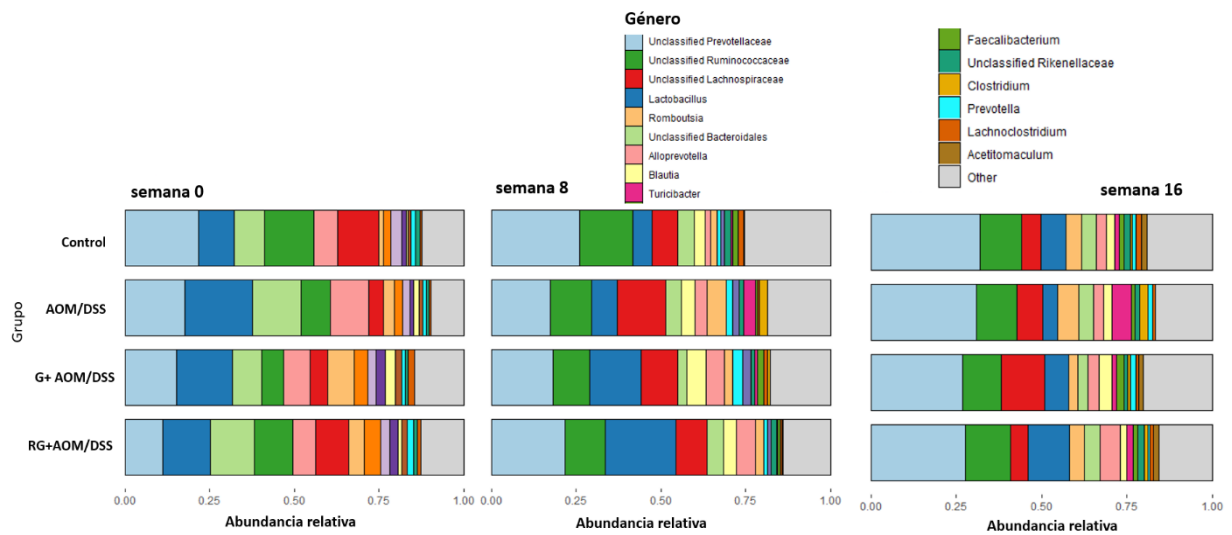


Figura 9. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel género. AOM/DSS= Azoximetano/ dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato, RG+AOM/DSS=Residuo de garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

En cuanto a los resultados de abundancia relativa a nivel de especie (Figura 10) al tiempo 0, 8 y 16 semanas hubo una mayor abundancia de especies *Lactobacillus intestinalis*, *Rombutsis ilealis*, *Lactobacillus jhonsoni* y *Alloprevotella sp13513*. El aumento de dichas especies a la semana 8 y 16 fue mayor en los grupos con G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS. Así mismo a las 16 semanas se puede observar una mayor abundancia de la especie *Faecalibacterium prausnitzii* en los grupos alimentados con G y RG. *F. prausnitzii* es una de las principales bacterias productoras de ácido butírico, además de que se ha descrito su papel en la disminución del nivel de inflamación en enfermedades como la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), colitis ulcerosa y cáncer de colon. Además, ha demostrado efecto probiótico al reducir la formación de fosas crípticas aberrantes en un modelo de rata inducido con AOM (Dikeocha et al., 2022). Integrando la información con los resultados dentro del grupo de trabajo, el aumento de *F. prausnitzii* en los grupos tratados con G y RG podría explicar la prevención en el desarrollo de fosas crípticas aberrantes en ratas inducidas con AOM/DSS en modelo *in vivo* (Godínez-Santillán et al., 2024). Por otra parte, en los grupos con AOM/DSS se puede observar una mayor abundancia de especies como *Turicibacter sanguinis* la cual se ha reportado aumentada en ratones inducidos con AOM/DSS (Chung et al., 2021).

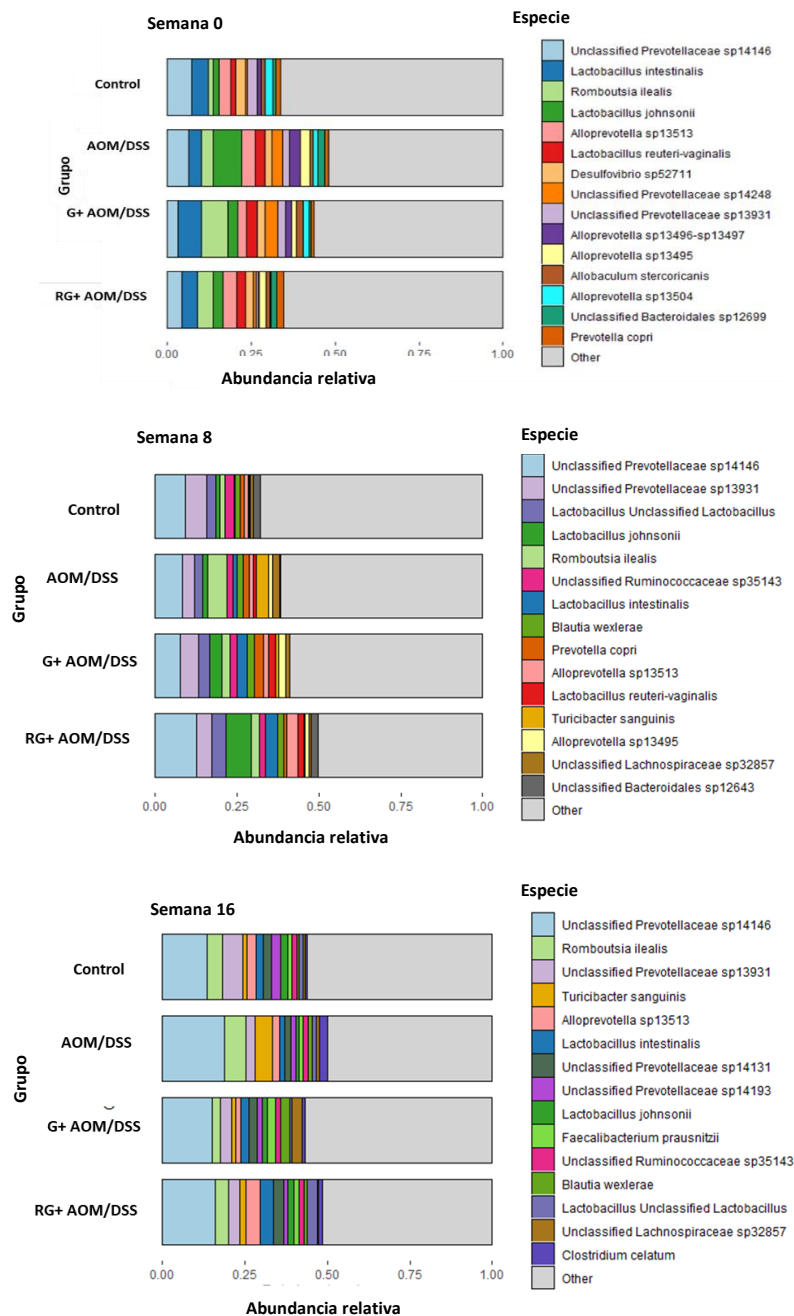


Figura 10. Abundancia relativa de los cuatro grupos experimentales. Nivel especie. AOM/DSS= Azoximetano/ dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato, RG+AOM/DSS=Residuo de garambullo inducido con azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

8.1.5 Análisis diferencial de abundancias (DAA)

En análisis diferencial de abundancias nos indica las diferencias estadísticamente significativas en los grupos taxonómicos individuales entre dos o más grupos (L. Yang & Chen, 2022). Los resultados observados en la Figura 11 muestran las comparaciones entre los grupos a nivel de género. En la Figura 9A se muestran las especies más abundantes del grupo control respecto del grupo AOM/DSS a las 8 y 16 semanas. Se puede observar que las especies estadísticamente ($p < 0.05$) más abundantes en el grupo control en ambas semanas fueron *Acetitomaculum*, *Anaerospobacter*, *Faecalibacterium*, *Marvirbryantia*, *Subdologranum*, *Shutteworthia* y *Blautia*. La presencia de estos géneros de bacterias en el grupo control permitió establecer un perfil de microbiota en los animales sin tratamiento. En donde los resultados muestran una presencia de géneros de bacterias asociadas a el mantenimiento de la homeostasis intestinal (Shen et al., 2020).

La Figura 11B muestra los géneros de bacterias más abundantes dentro del grupo G+AOM/DSS respecto del grupo AOM/DSS a las 8 y 16 semanas. Los resultados muestran que a las 8 semanas el género *Faecalibacterium* ($p < 0.05$) se presenta con mayor abundancia en el grupo G+AOM/DSS. El género *Faecalibacterium* ha estado descrito como un género de bacterias asociado a la promoción de la salud colónica, productoras de AGCC y a una disminución en la inflamación ratones inducidos con AOM/DSS (Ferreira-Lazarte et al., 2020). A las 16 semanas se muestra una mayor abundancia de los géneros *Acetitomaculum*, en donde se encuentran bacterias productoras de ácido acético, así como una mayor abundancia del género *Escherichia-Shigella*, el cual es un género de bacterias asociado a la activación del AOM dentro del colon, ya que una vez que el AOM es administrado de forma intravenosa, es metabolizado por el citocromo P450 por la isoforma CYP2E1 donde se hidroxila su grupo metilo formando un metabolito llamado metilazoximetanol (MAM). El MAM en el hígado es conjugado con ácido glucurónico para ser transportado y eliminado por la bilis en el intestino. Una vez que llega al colon, *E. coli*, a través de la enzima β -glucuronidasa hidroliza el conjugado y libera el MAM.

Lo anterior permite que el MAM pueda absorberse y generar un intermediario altamente reactivo que es el ion metildiazonio, el cual metila al ADN en la O6-metilguanina (O6meG), generando aductos y conduciendo a mutaciones transcripciones G:G → T: A (guanina alquilada se aparea con timina en lugar de citosina) y dando paso a la progresión del CC (Venkatachalam et al., 2020).

El género *Escherichia-Shigella* se asocia a con bacterias patógenas oportunistas que pueden colonizar con frecuencia lesiones cancerosas (Vitali et al., 2022). La presencia del género *Escherichia-Shigella* en los grupos G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS podría indicar que el consumo de G y RG a las 16 semanas no muestra un efecto modulador favorable sobre el perfil de la microbiota al no reducir la abundancia de este género. Sin embargo, estudios previos realizados por Godínez-Santillán et al., (2024) en el mismo modelo de estudio que aborda este trabajo demostró que las ratas inducidas G por 16 semanas presentaron una disminución en β -glucuronidasa en heces. De tal manera que a pesar de observar una mayor abundancia del género *Escherichia-Shigella* en los grupos que consumieron G y RG a la semana 16 esto no es un indicador que exista una actividad biología relacionada con la progresión del CC inducida por AOM/DSS por parte de las bacterias dentro de este género.

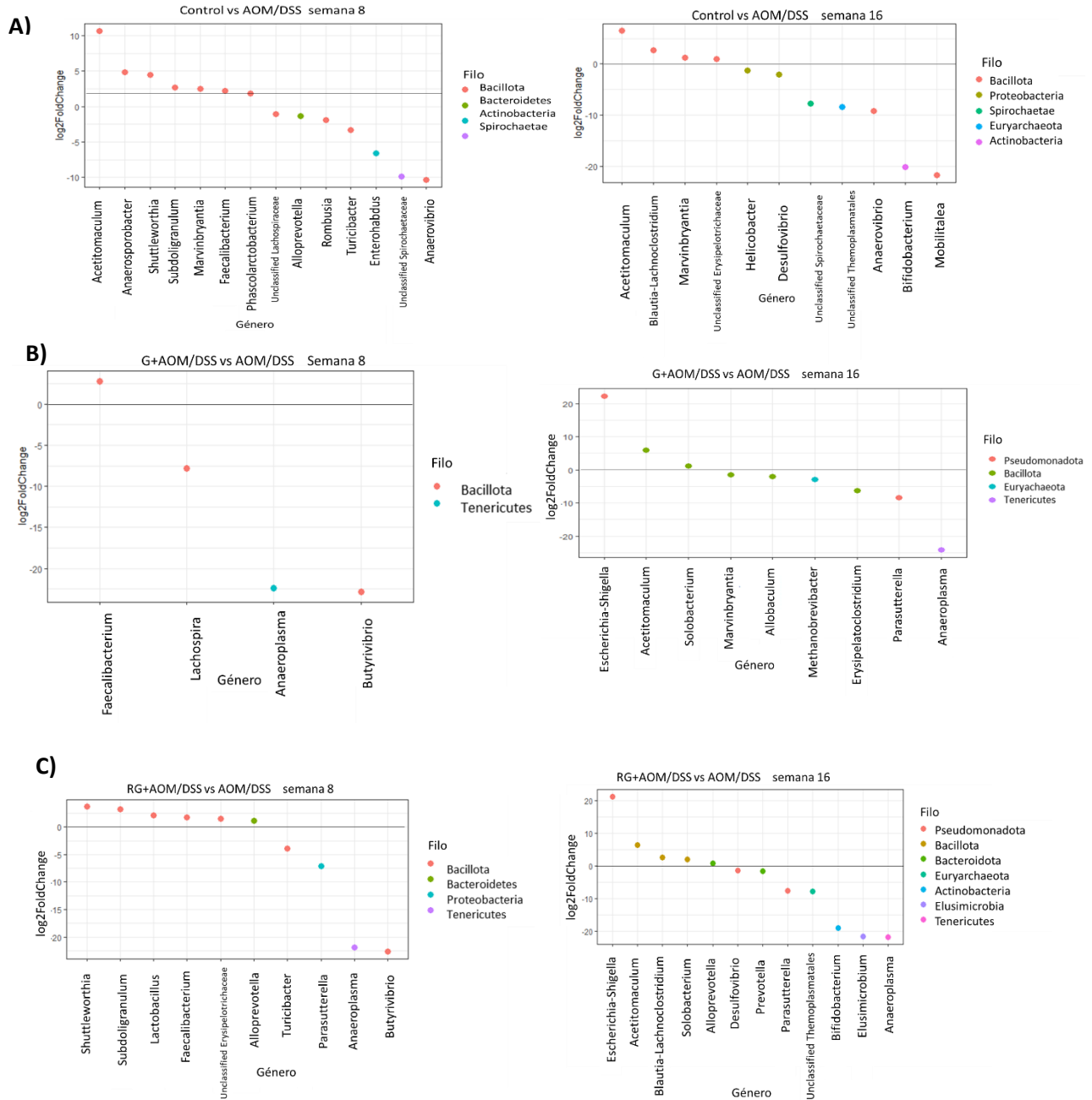


Figura 11. Análisis diferencial de abundancias. Los puntos por arriba de la línea indican los géneros de bacterias que son significativamente más abundantes ($p < 0.05$) en los grupos Control (Figura 11A), G+AOM/DSS (Figura 11B) y RG+AOM/DSS (Figura 11C) en comparación al grupo AOM/DSS. El análisis se realizó con el paquete DESeq2. AOM/DSS= Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

En cuanto a la comparación entre el grupo RG+AOM/DSS y el grupo AOM/DSS los géneros más abundantes dentro del grupo RG+AOM/DSS a las 8 y 16 semanas se muestran en la Figura 11C. Los resultados indican a las 8 semanas una mayor abundancia de géneros *Shuttleworthia*, *Alloprevotella*, *Lactobacillus* y *Faecalibacterium*, mientras que a las 16 semanas se puede observar una mayor abundancia de géneros *Acetitomaculum*, *Alloprevotella* y *Escherichia-Shigella*. De tal manera que los géneros de bacterias más abundantes en el grupo con RG+AOM/DSS son géneros de bacterias asociados a protección del colon, disminución de la inflamación y productoras de AGCC (Ferreira-Lazarte et al.,2020). Lo anterior indicar que el consumo del RG a las 8 semanas permitió una mayor abundancia de bacterias asociadas a mecanismos de protección del colon en comparación a la semana 16 en donde se observa un aumento en el género *Escherichia-Shigella*.

8.2. Biomarcadores de inflamación celular

A partir de los tejidos de colon obtenidos de cada uno de los grupos experimentales se identificaron biomarcadores de inflamación. Los resultados obtenidos (Figura 12) muestran la presencia de molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra), molécula de adhesión L-selectina, quimiocina (CXCL7) e inhibidor tisular de metaloproteinasa 1 (TIMP-1), y el ligando 20 de quimiocina (CCL20) dentro de los cuatro grupos experimentales. Cabe señalar que dentro del grupo control negativo no se identificó ninguna proteína de inflamación (Anexo 11.1). El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) sólo se encontró expresado en el grupo AOM/DSS. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) se expresó en el grupo inducido AOM/DSS y el grupo RG+AOM/DSS. Por otra parte, los grupos G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS mostraron la expresión de la quimiocina 5 (CCL5). Mientras que los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS mostraron una expresión de la proteína fractalquina (CX3CL1).

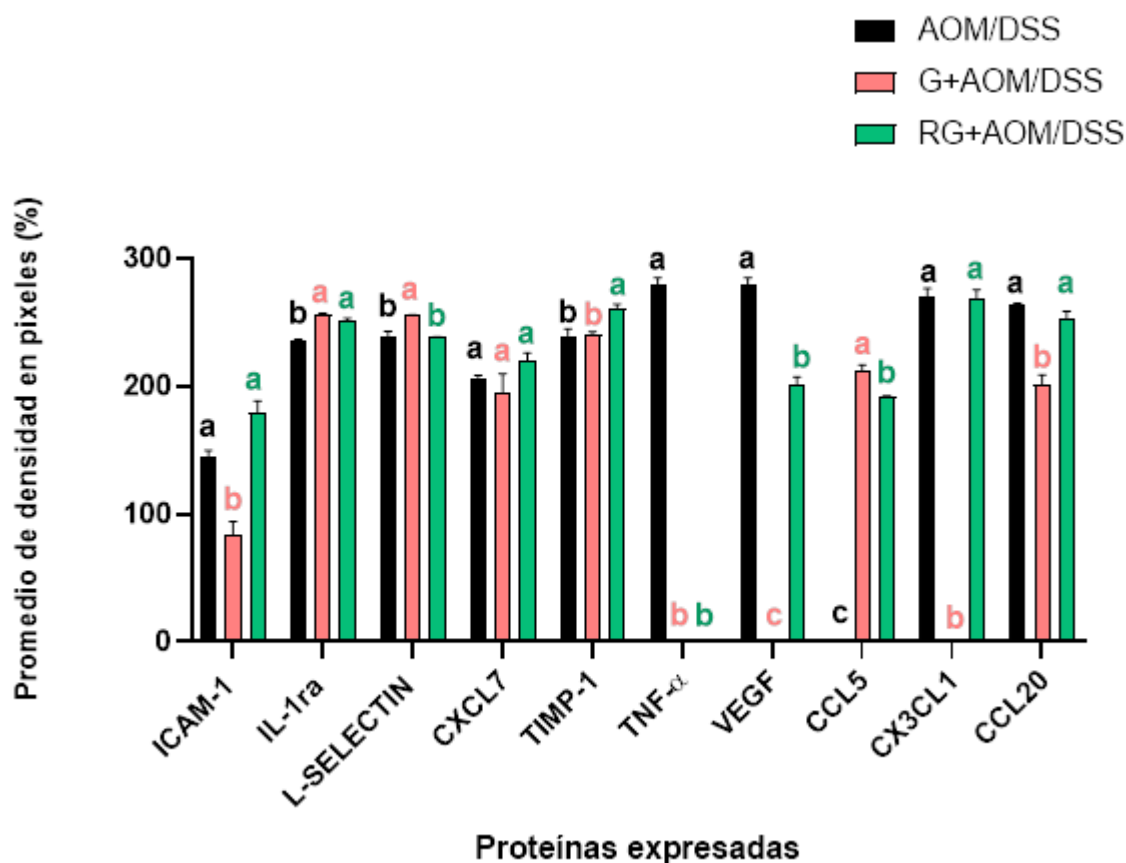


Figura 12. Biomarcadores de inflamación celular. Los datos se muestran como la media \pm desviación estándar de dos repeticiones. Análisis estadístico de ANOVA de una vía. Letras diferentes en barras indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) mediante una prueba post hoc Tukey-Kramer. AOM/DSS= Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio.

La expresión de la proteína ICAM-1 disminuyó en el grupo G+AOM/DSS en comparación a los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS en donde se vio aumentada. La proteína ICAM-1 es una glicoproteína de superficie celular de la superfamilia de inmunoglobulinas que pertenece a las proteínas de adhesión celular debido a que juega un papel importante en la interacción célula-célula, célula-matriz extracelular, señalización celular y procesos inmunológicos. Estudios han demostrado que ICAM-1 tiene un papel importante en la patogénesis del CC debido a que modula funciones como apoptosis, motilidad celular y angiogénesis (Qiu et al., 2022). El aumento en la expresión de ICAM-1 observado en los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS puede ser debido a que ICAM-1 es una proteína pro-inflamatoria

que su expresión aumenta en un estado inflamatorio activada a través de la estimulación por lipopolisacáridos (LPS) o por interleucinas proinflamatorias como TNF- α , IFN- γ e IL-1 por medio de la activación de la vía de señalización NF- κ B (Mitselou et al., 2021). Así mismo la mayor expresión en ICAM-1 se ha asociado con la presencia de una disbiosis de la microbiota intestinal al verse alterada la homeostasis de la barrera intestinal ocasionando la activación de la vía NF- κ B (Jenkins et al., 2019). En consecuencia, el incremento en la expresión de ICAM-1 puede relacionarse con el aumento de bacterias patógenas como *Turicibacter*, *Desulfovibrio*, *Allobaculum*, *Erysipelatoclostridium*, *Parasutterella* y *Anaeroplasma* presentes en los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS a las 16 semanas como se menciona en resultados anteriores. De igual manera, se ha observado una mayor expresión de ICAM-1 en ratones después de la administración de DSS, demostrando que el aumento en la expresión de ICAM-1 en tejido colónico se da en las primeras fases de un proceso inflamatorio (Bendjelloul & Maly, 2000). Por otra parte, la disminución de la expresión de ICAM-1 observada en el grupo G+AOM/DSS presenta similitudes con un estudio previo en el cual la administración de un extracto de Açaí (*Euterpe oleracea* Martius), un fruto rico en compuestos polifenólicos, mostró una disminución en la expresión de ICAM-1 mediante la inhibición de la vía NF- κ B (Días et al., 2014). Igualmente, un estudio previo había demostrado que el ácido butírico puede disminuir la expresión de ICAM-1 mediante la inhibición de NF- κ B (Zapolska-Downar et al., 2004), lo que puede relacionarse con resultados anteriores obtenidos en este trabajo donde se observó que el grupo que consumo G mostró un aumento en bacterias productoras de butirato como *Lactobacillus* y *Faecalibacterium*. Esto podría indicar que un posible mecanismo por el cual el consumo de G disminuyó ICAM-1 fue a través del aumento de bacterias productoras de ácido butírico.

La proteína IL-1ra se observó con mayor expresión en los grupos RG+AOM/DSS y G+AOM/DSS en comparación al grupo AOM/DSS. El aumento en la expresión de IL-1ra muestra un posible papel protector del G y el RG ante la inducción de AOM/DSS debido a que la IL-1ra es una interleucina anti- inflamatoria (Frenay et al., 2022) que funciona como un antagonista del receptor de IL-1 (IL-1R) (Fields et

al., 2019). Se sabe que la IL-1ra se une al receptor de IL-1 boqueando su actividad proinflamatoria en modelos *in vitro* e *in vivo*. El bloqueo de la actividad de IL-1 resulta de importancia en el CC debido a que la IL-1 se ha asociado con la progresión del CC. Algunos estudios han demostrado el efecto anticancerígeno del aumento de IL-1ra al disminuir tumores en modelos animales de xenoinjertos derivados de células de CC humanas (Heo et al., 2021).

La expresión de la proteína L-selectina aumentó en el grupo G+AOM/DSS respecto a los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS. La expresión de la proteína L-selectina responsable de la adhesión de los leucocitos al endotelio es de suma importancia para la disminución de la inflamación aguda. Sin embargo, se ha reportado que cuando existe una infiltración excesiva de leucocitos en un proceso de inflamación esto puede aumentar la gravedad de una lesión (Ivetic et al., 2019). Algunos estudios han reportado que el bloqueo de la función de las selectinas puede prevenir la infiltración masiva de leucocitos en sitios de inflamación y reducir la progresión de la inflamación y el daño al tejido (Borsig, 2018; Raffler et al., 2005). En un estudio previo se ha indicado a la inhibición de las selectinas como estrategia potencial para controlar el estado de inflamación en un modelo de colitis inducido con DSS (Zhang et al., 2001). Sin embargo, aún es importante el determinar en qué medida la modulación de la respuesta inmunitaria mediada por selectina contribuye a una progresión del cáncer. De tal manera que acorde a los resultados obtenidos, se puede sugerir que el consumo de G, al aumentar la expresión de L-selectina, está estimulando la activación de una respuesta inmunológica en cuanto a la adhesión de leucocitos ante la inducción del AOM/DSS. Sin embargo, como se menciona anteriormente, la activación de dicha respuesta excesiva puede llegar a causar daño al tejido, por lo que el consumo de G no muestra un efecto protector ante la inducción de AOM/DSS a través de la modulación de L-selectina.

En cuanto a la proteína CXCL7, la cual participa en el reclutamiento de neutrófilos en un proceso de inflamación y es un biomarcador asociado con la progresión del CC (Yang et al., 2015), no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, lo que indica que el consumo de G no tiene un efecto en la modulación

de dicho biomarcador. Por otra parte, el resultado indica que la proteína TIMP-1 presentó mayor expresión en el grupo RG+AOM/DSS en comparación a los grupos G+AOM/DSS y AOM/DSS. Estudios han demostrado que la expresión de TIMP-1 se encuentra aumentada al inicio y progresión del CC (Huang et al., 2019b; Kapsoritakis et al., 2008). Anteriormente se demostró que la disminución en TIMP-1 puede suprimir la proliferación, migración, apoptosis e invasión de células de CC *in vitro* (Song et al., 2016b). A pesar de que el grupo que consumió G mostró una disminución en la expresión de TIMP-1 las diferencias no fueron estadísticamente significativas al compararse con el grupo inducido con AOM/DSS, lo que indica que el consumo de G y RG a la dosis y tiempo administrado no muestra un efecto protector contra la inducción del AOM/DSS mediante la modulación de TIMP-1.

El TNF- α solo se expresó en el grupo con AOM/DSS en comparación al grupo G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS. Lo anterior sugiere que el G ejerce un papel protector ante la inflamación inducida por AOM/DSS al no permitir la expresión del TNF- α . El TNF- α es un biomarcador pro-inflamatorio que se produce durante una respuesta inflamatoria inicial y propagada. Entre sus mecanismos de acción, se ha descrito la regulación la producción de citocinas pro-inflamatorias, quimiocinas y moléculas de adhesión endotelial. Además, TNF- α aumenta la permeabilidad vascular, lo que permite el reclutamiento de leucocitos activados al lugar de la lesión. Todas estas actividades validan que esta proteína es promotora de inflamación, angiogénesis y progresión tumoral.

Los niveles de TNF- α aumentan en pacientes con enfermedades asociadas a inflamación intestinal como colitis ulcerosa y CC, así como en modelos inducidos con AOM/DSS (Heo et al., 2021). Se sabe que la expresión de TNF- α depende de la activación de NF- κ B, lo que contribuye al proceso de inflamación, por lo que el bloqueo o disminución de TNF- α podría ser eficaz para detener la progresión del CC, algo observado en este estudio. Comparando con estudios previos, por ejemplo, el consumo de frambuesa negra en un modelo murino inducido con DSS demostró una disminución de la ulceración de la mucosa al suprimir los niveles de TNF- α e IL-1, así como la inhibición de la vía NF- κ B (Chen et al., 2019).

Complementariamente, en un modelo murino inducido con AOM/DSS se observó que el consumo de fresa liofilizada disminuyó al TNF- α e IL-1 así como las lesiones preneoplásicas. Esto se relaciona con el efecto protector que mostró el consumo de G ante la inducción con AOM/DSS al disminuir las FCA, en donde se obtuvo un menor grado de inflamación en el tejido de ratas tratadas con garambullo (Godínez-Santillán et al., 2024), lo cual coincide con los resultados presentados aquí, en donde el grupo que consumió G mostró una disminución de la expresión de TNF- α .

Los flavonoides presentes en frutas y verduras tienen propiedades antiinflamatorias. Al respecto, se ha descrito que flavonoides como la quercetina y el kaempferol, presentes en garambullo (Sánchez-Recillas et al., 2022), contribuyen al bloqueo de la activación de la vía NF- κ B, provocando la disminución de la respuesta inflamatorias al inhibir la producción de citocinas proinflamatorias (Hasibuan et al., 2024). Además, se ha reportado que las betalaínas, otro tipo de compuestos bioactivos presentes en garambullo, presentan actividad anti-inflamatoria debido a que disminuyen marcadores como TNF- α , NF- κ B e IL-1 (Lechner & Stoner, 2019).

Por otro lado, estudios han demostrado una correlación entre la microbiota, inflamación y la presencia de TNF- α . Se ha observado una disminución de la expresión de TNF- α ante la presencia de *Lactobacillus* en modelos *in vitro* (Oh et al., 2020). Esto podría indicar que el aumento de *Lactobacillus* observado en el grupo que consumió G podría estar relacionado con la ausencia en la detección de la expresión de TNF- α en el grupo G+AOM/DSS en comparación a la disminución de *Lactobacillus* presente en el grupo AOM/DSS.

El VEGF es un factor angiogénico que aumenta la permeabilidad vascular en el CC. El VEGF mostró mayor expresión en el grupo AOM/DSS, en comparación al grupo RG+AOM/DSS y G+AOM/DSS. La expresión de VEGF se ha asociado con la progresión del CC siendo un indicador de un mal pronóstico de CC, por lo que la menor expresión en los grupos G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS podrían indicar que ambos tratamientos están induciendo un efecto quimiopreventivo ante la modulación de VEGF. Esto puede ser debido a los compuestos con los que cuenta el garambullo ya que se ha reportado que la rutina un glucósido de la quercetina

presente en garambullo (Sánchez-Recillas et al.,2022) puede suprimir la angiogénesis mediante la disminución en la expresión de VEGF en modelos *in vitro*. Así mismo el ácido 3,4-dihidroxicinámico, también presente en garambullo, reduce la expresión de VEGF en células de cáncer de colon HT-29 de forma dosis dependiente (Gong et al., 2024).

La proteína CCL5 se expresó en los grupos G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS, pero no se encontró expresada en el grupo AOM/DSS. CCL5 es una quimiocina que se encarga de reclutar leucocitos como linfocitos T, macrófagos, eosinófilos y basófilos hacia sitios de inflamación. Su producción por parte de los linfocitos es regulada por la vía NF- κ B y es de suma importancia ante la inducción de la respuesta inmunitaria en un proceso cancerígeno (Mielcarska et al., 2022). La función exacta de CCL5 en la progresión de CC aún no está del todo clara. Por ejemplo, en tejidos con presencia de CC, el aumento de CCL5 tiene efecto antitumoral porque se correlaciona positivamente con la cantidad y actividad de los linfocitos citotóxicos CD8+, conocidos inhibidores del crecimiento tumoral y del proceso de metástasis, (Chen et al.,2019). De acuerdo con los resultados aquí presentes relacionados con el aumento de CCL5 en los grupos que consumieron G y RG, se podría sugerir un incremento en la respuesta inmune ante la inflamación dada por la inducción con AOM/DSS.

En cuanto a la proteína CCL20, su expresión fue mayor en los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS en comparación al grupo G+/AOM/DSS, en donde se observó disminuida. La expresión de la proteína CX3CL1 fue mayor en los grupos AOM/DSS y RG+AOM/DSS, mientras que en el grupo G+AOM/DSS mostró una disminución en su expresión. La concentración de quimiocina CX3CL1 se incrementa ante una respuesta inflamatoria de la mucosa intestinal, puesto que, en el proceso de reclutamiento de células inmunes como monocitos, células dendríticas y linfocitos, se promueve mayor expresión de su receptor (Atreya & Neurath, 2005). Comparando con los resultados obtenidos en este trabajo, la disminución de CX3CL1 en el grupo inducido alimentado con G podría estar disminuyendo la respuesta inflamatoria que producen tanto el AOM como el DSS. CCL20 promueve

la proliferación celular y la metástasis, además de ser un biomarcador importante en la progresión del CC (Wang et al., 2019). En modelos de colitis inducida con DSS se ha visto un aumento en la expresión de CCL20, en donde el bloqueo de CCL20 con su receptor CCR6 han provocado la disminución en la inflamación intestinal en modelos animales (Atreya & Neurath 2010). De tal manera que, de acuerdo con nuestros resultados, la disminución de CCL20 en el grupo G+AOM/DSS puede indicar el efecto preventivo del consumo de G ante la inducción de AOM/DSS.

8.3 Biomarcadores de proliferación celular

En cuanto a los biomarcadores de proliferación celular, los resultados se muestran en la Figura 13. Las proteínas E-cadherina y MUC2 aumentaron en tejido colónico en el grupo control y en el grupo G+AOM/DSS en comparación con AOM/DSS. A su vez, el grupo RG+AOM/DSS no presentó diferencias estadísticamente significativas. Respecto a Claudina-1, los resultados muestran una disminución estadísticamente significativa en el grupo inducido con AOM/DSS en comparación al grupo control y los grupos que recibieron el tratamiento con G y RG.

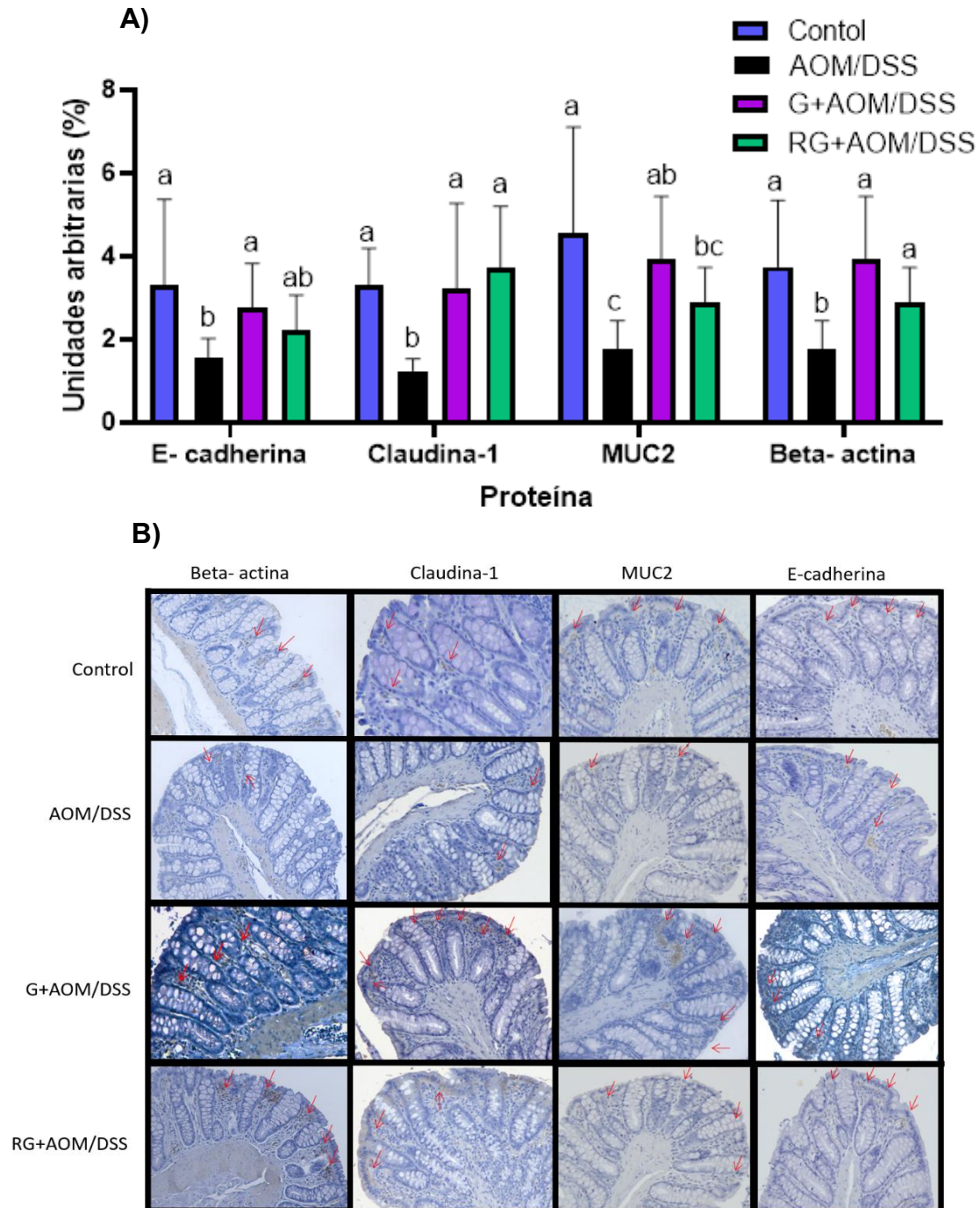


Figura 13. Proteínas de proliferación celular. A) Gráfico de expresión de proteínas de proliferación celular de tejido colónico. Los datos se muestran la media \pm desviación estándar de tres repeticiones. Análisis estadístico de ANOVA de una vía. Letras diferentes en barras indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) mediante una prueba post hoc Tukey-Kramer. AOM/DSS= Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoximetano/dextrán sulfato de sodio. **B) Fotografías de Inmunohistoquímica de tejido colónico.** Las flechas rojas indican positividad del anticuerpo. Objetivo 10x Código de color: café – expresión de proteína (DAB-HRP), azul – Hematoxilina. Barra de escala– 100 μ m.

La disminución en los niveles de E-cadherina, Claudina-1 y MUC2 en el grupo inducido con AOM/DSS ha sido previamente reportado por diferentes autores en tejido colónico de animales inducidos con AOM y DSS (Shi et al., 2021a; Tian et al., 2024; T. Wang et al., 2022; Zhou et al., 2022a). La inducción con ambos compuestos ocasiona un estado de inflamación en la mucosa colónica, así como la formación de criptas epiteliales distorsionadas y distribuidas irregularmente sobre la lámina propia, resultando en una mayor acumulación de las células inflamatorias (Tian et al., 2024). Shi et al. (2021) reportan un aumento en la liberación de biomarcadores pro-inflamatorios como TNF- α a causa de la inflamación ante la inducción con AOM/DSS. El aumento de TNF- α también observado en resultados presentados en la Figura 12 causa daño a la barrera intestinal al disminuir las proteínas de uniones estrechas como E-cadherina y Claudina-1. En consecuencia, se presenta un incremento de la permeabilidad intestinal ante la pérdida de la integridad de la barrera intestinal, potenciando la traslocación de patógenos que estimulan la respuesta inflamatoria de la mucosa (Shi et al., 2021a). La baja expresión del gene *Muc2* está relacionada con la aparición y el mal pronóstico del CC (Yue et al., 2025), esto es debido a que la capa de moco compuesta por la proteínas MUC2 aumenta la susceptibilidad de los patógenos ocasionando un estado de inflamación y disbiosis colónica (Yan et al., 2023). Cuando se presenta disbiosis de la microbiota intestinal, las bacterias patógenas llegan a liberar toxinas bacterianas y se reduce en la producción de AGCC, degradando las proteínas de uniones estrechas (E-cadherina y Claudina-1, entre otras), disminuye la capa de moco por parte de MUC2 y se altera la barrera epitelial. Se ha reportado que bacterias patógenas como *Bacteroides fragilis* y *E. coli* promueve la progresión a un CC mediante daño al ADN, activación de las vías Wnt/ β -catenina y NF/ κ B en colonocitos y por la escisión de E-cadherina, lo que aumenta la permeabilidad intestinal (Yan et al., 2023; Tian et al., 2024).

En cuanto al aumento en la expresión de E-cadherina, Claudina-1 y MUC2 en el grupo que consumió G, los resultados son similares a una investigación previa donde E-cadherina, Claudina-1 y MUC2 su expresión fue mayor en aquellos animales que consumieron un tratamiento anti-inflamatorio llamado Chan Ling Gao

que contiene compuestos antioxidantes provenientes de plantas como *Curcuma zedoaria*, *Rabdosia rubescens* y *Puerariae Lobatae Radix*, lo que podría indicar el posible efecto antiinflamatorio por parte del G al aumentar la expresión de E-cadherina, Claudina-1 y MUC2. El aumento en la expresión de estas proteínas indica el mantenimiento de la barrera intestinal, así como la resistencia a la invasión de patógenos intestinales y por lo tanto la inhibición del desarrollo del CC (Tian et al., 2024). Además, esto coincide con el previamente reportado aumento en los niveles de Claudina-1 en ratones tratados con corilina, un compuesto con alta capacidad antioxidante derivado de la fruta y semilla de *Psoralea corylifolia*, similar a lo mostrado en los animales a los que se les alimentó con G y RG (Chang et al., 2022b). En ratones con CC inducido por AOM/DSS previamente se reportó un incremento en la expresión de MUC2 y E-cadherina tras la administración de un alcaloide indol derivado de la planta *Evodia rutaecarpa* (EVO) (Wang et al., 2021). Este resultado podría indicar la reversión del daño inducido por el carcinógeno en la barrera intestinal y un aumento de la permeabilidad intestinal.

Similarmente, Wang et al. (2021) muestran una correlación positiva entre la abundancia de géneros bacterianos como *Bacteroides*, *Parasutterella* y *Lactobacillus* y el aumento de la expresión de MUC2 y de *Lachnospiraceae* con E-cadherina, así como una correlación negativa con TNF- α y otras proteínas proinflamatorias. Complementariamente, la suplementación dietaria con *Lactobacillus* aumenta la expresión de los genes (mRNA) de Claudina-1, MUC2 y E-cadherina en un modelo de colitis inducida con DSS (Shi et al., 2021b). Ambos resultados también coinciden con lo observado en este trabajo, en el que los grupos inducidos con G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS presentaron un incremento de los géneros *Lactobacillus* y *Lachnospiraceae*, así como una disminución de TNF- α , lo que sugiere que el aumento de E-cadherina, Claudina-1 y MUC2 en estos grupos podría relacionarse con el incremento observado de *Lactobacillus* (Figura 11C). El aumento en la expresión de MUC2 y Claudina-1 en tejido colónico en animales tratados con SWHQ (compuesta por tres hierbas: raíz de *Scutellaria*, raíz de *Sophora flavescens* y raíz de *Rehmannia*) en comparación con ratones tratados con AOM/DSS también ha sido reportado, mostrando igualmente que los grupos que

consumieron SWHQ tienen mayor abundancia de *Faecalibacterium* en comparación con el grupo AOM/DSS (Zhou et al., 2022b). Lo anterior coincide con los resultados de las Figuras 11B y 11C, en las que el grupo administrado con G presenta un mayor número de *Faecalibacterium* (Figuras 11B y 11C). Esto sugiere efectos reparadores del G y RG sobre daños a la barrera epitelial inducidos por AOM/DSS.

Los AGCC actúan mediante diversos mecanismos de acción para el mantenimiento de la integridad de la barrera epitelial y la disminución de la inflamación ante el daño por AOM/DSS. Se ha reportado que los AGCC se disocian para producir H⁺ y disminuir el pH del lumen intestinal, inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas, sumado a la formación de péptidos antimicrobianos con el objetivo de mantener la eubiosis bacteriana en el colon (Ma et al., 2022). El ácido butírico reduce el oxígeno en el lumen intestinal mediante la oxidación del butirato, creando las condiciones anaerobias necesarias y estabilizando el factor inducible por hipoxia (HIF). HIF es un factor de transcripción que actúa sobre genes asociados con la defensa antimicrobiana, la producción de mucina y el factor de transcripción intestinal, implicado en la reparación de la mucosa intestinal (Fernandez-Cantos et al., 2021). El ácido butírico, además de ser una fuente de energía para los colonocitos, regula la expresión del gen *Muc2* mediante la acetilación y la metilación de las histonas del promotor de *Muc2* (Gu et al., 2023). Además, pueden regular la expresión de NHE3 (intercambiador Na⁺/H⁺), que contribuye a la formación de la capa densa interna del moco, manteniendo el medio mucoso ácido necesario para la homeostasis de la microbiota intestinal (Yao et al., 2021). De igual manera, el ácido butírico, a través de la vía de AMPK (proteína quinasa activada por AMP), puede mejorar el ensamblaje de las UE y estimular la expresión de MUC2 en líneas celulares de CC (Mirzaei et al., 2021). La disminución de AMPK es responsable del deterioro de la función de la barrera epitelial inducido por el IFN- γ (interferón gamma) (Yang et al., 2017). El butirato promueve la función de la barrera epitelial al inducir la expresión de genes implicados en el reensamblaje de proteínas de la UE mediante factores de transcripción como STAT3 (Venegas et al., 2019). Esto sugiere que la pérdida de taxones productores de butirato elimina la señalización del ácido butírico a través del receptor GPR109A y la inhibición de histona

desacetilasa (HDAC), vías que regulan la reparación epitelial y la expresión de genes de UE y *Muc2* (Dong et al., 2026). De igual manera, la alteración en la expresión de proteínas de UE está mediada por la cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK) y la activación de NF- κ B. Esta señal provoca la contractilidad de la actomiosina, lo que ocasiona la apertura de la UE. Probióticos como *Lactobacillus* pueden modular la expresión de MLCK al reducir la expresión río arriba mediante la inhibición de activadores como NF- κ B y citocinas pro-inflamatorias. *Lactobacillus*, además, previene el aumento de la permeabilidad de la UE inducido por IL-1 β al inhibir la activación de NF- κ B y normalizar las proteínas como Claudina-1 (Ferris et al., 2025). De tal manera que podemos sugerir que el G y RG, integralmente, al modular positivamente el perfil de la microbiota intestinal, tienen un efecto sobre la disminución de proinflamatorios, lo que, a su vez, mantiene la integridad y funcionalidad de la barrera intestinal.

De igual manera, los compuestos presentes en G pueden estar modulando el aumento de la expresión de E-cadherina, Claudina-1 y MUC2. Se ha reportado que los polisacáridos pueden inhibir la expresión de factores proinflamatorios, como IL-1 β y TNF- α , y proteger la barrera intestinal dañada. Los polisacáridos pueden promover la producción de mucina MUC2. Se ha reportado que los polisacáridos de manzana revierten la reducción del grosor de la capa de moco inducida por una dieta alta en grasas en un modelo animal. El tratamiento con polisacáridos de *Enteromorpha* (algas verdes) estimula la expresión de MUC2 y previene la destrucción de la barrera intestinal inducida por el cisplatino (Dong et al., 2026). La administración de fibra altera la tasa de liberación de vesículas mucosas en un modelo animal, mientras que la deficiencia de esta provoca daños en la capa de moco al disminuir la producción de MUC2 en ratones (Hou et al., 2021). Además, los polifenoles desempeñan un papel importante en la inducción de la expresión de MUC2 y de proteínas de la UE en modelos animales y celulares, a través de diferentes vías de señalización. Estudios muestran que los polifenoles regulan negativamente la vía de señalización NF- κ B inducida por TNF- α , suplementación con berberina (compuesto antioxidante presente en *Berberis vulgaris*) disminuyó la desintegración de Claudina-1 inducida por TNF- α en células de HT-29. También

pueden mejorar la función de la barrera epitelial al modular la vía de señalización de MAPK (familia de quinasas proteicas). En la vía de señalización p38/MAPK, p38 promueve las señales durante un proceso inflamatorio. Por lo que p38 se une directamente a NF- κ B y la fosforila para inducir la transcripción de genes inflamatorios. Polifenoles, como quercetina, pueden reducir la fosforilación de p38/MAPK, teniendo un efecto sobre la expresión de claudinas en modelos *in vitro* de CC, manteniendo la integridad de la barrera epitelial (Yang et al., 2017). Señales inflamatorias como NF- κ B alteran la expresión de Claudina-1 lo que resulta en alteraciones en la barrera epitelial. Curcumina y quercetina inhiben NF- κ B lo que disminuye la expresión de TNF- α (Sadeghi Ekbatan et al., 2016). El tratamiento con resveratrol estimula la transcripción de MUC2 en ratas tratadas con 1,2-dimetilhidrazina por lo que protege la integridad de la barrera intestinal (E-cadherina y Claudina-1). El resveratrol y sus metabolitos microbianos, el ácido 3-(4-hidroxifenil)-propiónico (4HPP), activan la vía de la AMPK. Esta acción contribuye al mantenimiento de la función de barrera epitelial mediante la modulación de la expresión de las proteínas de las UE (Li et al., 2025).

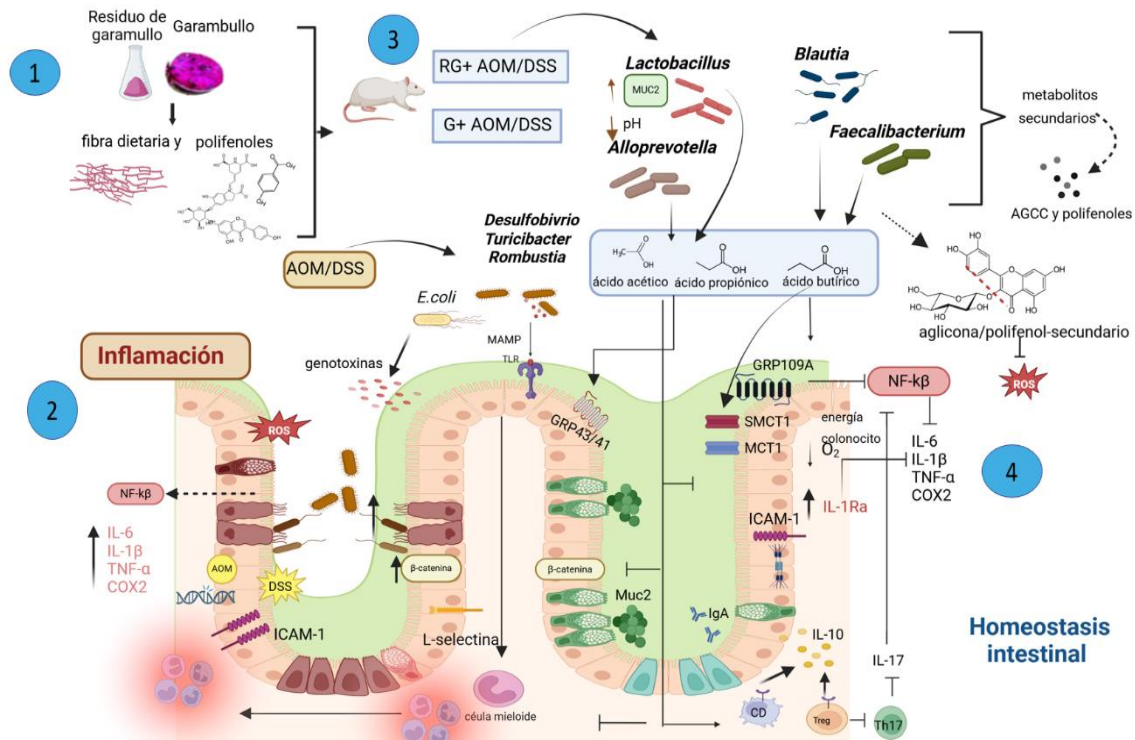


Figura 14. Esquema de resultados y posibles mecanismos de protección de G y RG ante la inducción con AOM/DSS. 1. El residuo de garambullo contiene fibra dietaria y polifenoles, así como compuestos bioactivos con alta capacidad antioxidante. 2. Los animales inducidos con AOM/DSS presentan una pérdida de la homeostasis intestinal, caracterizada por una disminución de la capa de moco (MUC2) y un aumento de los biomarcadores proinflamatorios TNF- α , VEGF e ICAM-1. Junto con un aumento de bacterias patógenas de los géneros *Desulfobivrio*, *Turicibacter* y *Rombustia*. 3 y 4. Los animales que consumieron G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS mostraron una mayor abundancia de géneros de bacterias, como *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Alloprevotella* y *Blautia*, productoras de AGCC, al utilizar la matriz del garambullo y el residuo como fuentes de sustrato. Los AGCC pueden inhibir la vía NF- κ B, lo que bloquea la liberación de biomarcadores proinflamatorios (TNF- α , VEGF e ICAM-1) y promueve la generación de IL-1Ra. El ácido butírico estimula la producción de MUC2 y de proteínas como la E-cadherina y la Claudina-1, lo que evita la pérdida de la función de la barrera epitelial y de la capa de moco en el colon. Lo que indica el efecto protector del garambullo y del residuo de garambullo frente a la inducción con AOM/DSS. GPR43, GPR41 y GPR109A, receptores acoplados a proteínas G.

9. CONCLUSIONES

Los cambios en la abundancia de las bacterias presentes en los cuatro grupos experimentales a lo largo del tiempo se pudieron observar a nivel de filo, familia, género y especie. Los cambios significativos en la abundancia de bacterias dentro de los grupos experimentales se pudieron describir a nivel de género. El tratamiento con RG a las 8 semanas mostró un aumento en la abundancia de géneros de bacterias asociadas con mecanismos de protección del colon, al generar un aumento del *Shuttleworthia*, *Subdoligranulum*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* y *Alloprevotella*. Esto podría indicar que el consumo de RG que corresponde a la fracción no digerible del G es una fuente de sustrato para el aumento de bacterias benéficas para el colon. Así mismo el consumo del G como fruto completo muestra ser una buena fuente de sustrato para el aumento de bacterias del género *Faecalibacterium* a las 8 semanas, pero no a las 16 semanas. El consumo de G y RG moduló la presencia de biomarcadores inflamatorios en tejido de colon al disminuir la expresión de ICAM-1, TNF- α , VEGF, CX3CL1 y CCL20 asociados a mecanismos pro-inflamatorios, y aumentar la expresión de IL-1ra, una proteína anti-inflamatoria, los cuales promueven una disminución de la inflamación causada por la inducción de AOM/DSS. Por otro lado, el consumo de G y RG durante 16 semanas no provocó cambios en biomarcadores inflamatorios como L-selectina, CXCL7, TIMP-1, CCL5. Los grupos que consumieron G muestran un aumento en la expresión de proteínas E-cadherina, Claudina-1 y MUC2. Mientras que el grupo que consumió RG mostró una mayor expresión en Claudina-1. Esto demuestra que el consumo de G está teniendo un papel protector sobre el mantenimiento de la barrera epitelial y la capa de moco ante la inducción con AOM/DSS. De tal manera que el consumo de G y RG modularon positivamente el perfil de la microbiota intestinal, así como biomarcadores de inflamación y proliferación ante la administración con AOM/DSS, demostrando un efecto preventivo sobre la salud colónica en un modelo animal de fase temprana de cáncer de colon.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atreya, R., & Neurath, M. F. (2005). Involvement of IL-6 in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Colon Cancer. In *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* (Vol. 28).
- Barbara, G., Barbaro, M. R., Fuschi, D., Palombo, M., Falangone, F., Cremon, C., Marasco, G., & Stanghellini, V. (2021). Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.718356>
- Barrera, F. a. G., Reynoso, C. R., & González de Mejía, E. (1998). Stability of betalains extracted from garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Science and Technology International*, 4(2), 115–120. <https://doi.org/10.1177/108201329800400206>
- Bendjelloul, F., & Maly´, P. (n.d.). *Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) deficiency protects mice against severe forms of experimentally induced colitis*.
- Borsig, L. (2018). Selectins in cancer immunity. In *Glycobiology* (Vol. 28, Number 9, pp. 648–655). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwx105>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Bui, T. M., Wiesolek, H. L., & Sumagin, R. (2020). ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. In *Journal of Leukocyte Biology* (Vol. 108, Number 3, pp. 787–799). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/JLB.2MR0220-549R>
- Cai, X., Han, Y., Gu, M., Song, M., Wu, X., Li, Z., Li, F., Goulette, T., & Xiao, H. (2019). Dietary cranberry suppressed colonic inflammation and alleviated gut microbiota dysbiosis in dextran sodium sulfate-treated mice. *Food and Function*, 10(10), 6331–6341. <https://doi.org/10.1039/c9fo01537j>
- Chang, Z. Y., Liu, H. M., Leu, Y. L., Hsu, C. H., & Lee, T. Y. (2022a). Modulation of Gut Microbiota Combined with Upregulation of Intestinal Tight Junction Explains Anti-Inflammatory Effect of Corylin on Colitis-Associated Cancer in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/ijms23052667>

- Chen, T., Shi, N., & Afzali, A. (2019). Chemopreventive effects of strawberry and black raspberry on colorectal cancer in inflammatory bowel disease. In *Nutrients* (Vol. 11, Number 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11061261>
- Chung, Y., Ryu, Y., An, B. C., Yoon, Y. S., Choi, O., Kim, T. Y., Yoon, J., Ahn, J. Y., Park, H. J., Kwon, S. K., Kim, J. F., & Chung, M. J. (2021). A synthetic probiotic engineered for colorectal cancer therapy modulates gut microbiota. *Microbiome*, *9*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01071-4>
- Cox, K. E., Liu, S., Lwin, T. M., Hoffman, R. M., Batra, S. K., & Bouvet, M. (2023). The Mucin Family of Proteins: Candidates as Potential Biomarkers for Colon Cancer. In *Cancers* (Vol. 15, Number 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers15051491>
- Dias, M. M. D. S., Noratto, G., Martino, H. S. D., Arbizu, S., Peluzio, M. D. C. G., Talcott, S., Ramos, A. M., & Mertens-Talcott, S. U. (2014). Pro-apoptotic activities of polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Martius) in human SW-480 colon cancer cells. *Nutrition and Cancer*, *66*(8), 1394–1405. <https://doi.org/10.1080/01635581.2014.956252>
- Dikeocha, I. J., Al-Kabsi, A. M., Chiu, H. T., & Alshawsh, M. A. (2022). Faecalibacterium prausnitzii Ameliorates Colorectal Tumorigenesis and Suppresses Proliferation of HCT116 Colorectal Cancer Cells. *Biomedicines*, *10*(5). <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051128>
- do Carmo, M. A. V., Fidelis, M., de Oliveira, P. F., Feitoza, L. Q., Marques, M. J., Ferreira, E. B., Oh, W. Y., Shahidi, F., Hellström, J., Almeida, L. A., Novaes, R. D., Granato, D., & Azevedo, L. (2021). Ellagitannins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) seeds attenuated inflammation, oxidative stress, aberrant crypt foci, and modulated gut microbiota in rats with 1,2 dimethyl hydrazine-induced colon carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*, *154*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112287>
- Dong, X., Yang, J., He, L., Fang, H., Wang, L., Zhu, J., Xu, J., Song, K., & Xuan, Z. (2026). The Barrier–Microbiota–Inflammation Axis in Colorectal Cancer: Mechanisms and Emerging Diagnostic & Therapeutic Strategies. In *Cancers* (Vol. 18, Number 4). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/cancers18040576>
- Dreher, M. L. (2018). Whole fruits and fruit fiber emerging health effects. In *Nutrients* (Vol. 10, Number 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu10121833>
- Espinosa-Tamez, P., Suazo-Zepeda, E., Sánchez-Blas, H., Meneses-Medina, M., Huitzil-Meléndez, F. D., Van Loon, K., Potter, M., & Lajous, M. (2021). National and state-level colorectal cancer mortality trends in Mexico, 1998–2018. *Salud Pública de México*, 1–9. <https://doi.org/10.21149/12522>

- Etienne-Mesmin, L., Chassaing, B., Desvaux, M., De Paepe, K., Gresse, R., Sauvaitre, T., Forano, E., De Wiele, T. Van, Schüller, S., Juge, N., & Blanquet-Diot, S. (2019). Experimental models to study intestinal microbes–mucus interactions in health and disease. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 43, Number 5, pp. 457–489). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz013>
- Fernandez-Cantos, M. V., Garcia-Morena, D., Iannone, V., El-Nezami, H., Kolehmainen, M., & Kuipers, O. P. (2021). Role of microbiota and related metabolites in gastrointestinal tract barrier function in NAFLD. In *Tissue Barriers* (Vol. 9, Number 3). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/21688370.2021.1879719>
- Ferreira-Lazarte, A., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2021). Bringing the digestibility of prebiotics into focus: update of carbohydrate digestion models. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 61, Number 19, pp. 3267–3278). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798344>
- Ferris, M. M., Subitoni Antonio, L., & Al-Sadi, R. (2025). Probiotics and the intestinal tight junction barrier function. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 13). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fcell.2025.1671152>
- Fields, J. K., Günther, S., & Sundberg, E. J. (2019). Structural basis of IL-1 family cytokine signaling. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Number JUN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01412>
- Flint, H. J., Duncan, S. H., Scott, K. P., & Louis, P. (2014). Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*, 760. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001463>
- Frenay, J., Bellaye, P. S., Oudot, A., Helbling, A., Petitot, C., Ferrand, C., Collin, B., & Dias, A. M. M. (2022). IL-1RAP, a Key Therapeutic Target in Cancer. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Number 23). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms232314918>
- Gabay, C., Lamacchia, C., & Palmer, G. (2010). IL-1 pathways in inflammation and human diseases. In *Nature Reviews Rheumatology* (Vol. 6, Number 4, pp. 232–241). <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.4>
- Gieryńska, M., Szulc-Dąbrowska, L., Struzik, J., Mielcarska, M. B., & Gregorczyk-Zboroch, K. P. (2022). Integrity of the Intestinal Barrier: The Involvement of Epithelial Cells and Microbiota—A Mutual Relationship. In *Animals* (Vol. 12, Number 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ani12020145>
- Godínez-Santillán, R. I., Kuri-García, A., Ramírez-Pérez, I. F., Herrera-Hernández, M. G., Ahumada-Solórzano, S. M., Guzmán-Maldonado, S. H., & Vergara-

- Castañeda, H. A. (2024). Characterization of Extractable and Non-Extractable Phenols and Betalains in *Berrycactus* (*Myrtillocactus geometrizans*) and Its Chemoprotective Effect in Early Stage of Colon Cancer In Vivo. *Antioxidants*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/antiox13091112>
- Gong, L., Yang, S., Huang, J., & Li, Y. (2024). Modulation of gut microbiota in targeted cancer therapy: insights on the EGFR/VEGF/KRAS pathways. In *Cancer biology & medicine* (Vol. 21, Number 12). <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2024.0320>
- Gu, M., Yin, W., Zhang, J., Yin, J., Tang, X., Ling, J., Tang, Z., Yin, W., Wang, X., Ni, Q., Zhu, Y., & Chen, T. (2023). Role of gut microbiota and bacterial metabolites in mucins of colorectal cancer. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1119992>
- Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, 121(2), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.039>
- Hasibuan, P. A. Z., Simanjuntak, Y., Hey-Hawkins, E., Lubis, M. F., Rohani, A. S., Park, M. N., Kim, B., & Syahputra, R. A. (2024). Unlocking the potential of flavonoids: Natural solutions in the fight against colon cancer. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 176). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116827>
- Heo, G., Lee, Y., & Im, E. (2021). Interplay between the gut microbiota and inflammatory mediators in the development of colorectal cancer. In *Cancers* (Vol. 13, Number 4, pp. 1–17). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers13040734>
- Holscher, H. D., & Microbiome, H. (n.d.). *Dietary Fiber and Prebiotics and the Gastrointestinal Microbiota*.
- Hou, L., Yang, Y., Sun, B., Jing, Y., & Deng, W. (2021). Dietary Fiber, Gut Microbiota, Short-Chain Fatty Acids, and Host Metabolism. *American Journal of Life Sciences*, 9(6), 162. <https://doi.org/10.11648/j.ajls.20210906.12>
- Huang, R., Wang, K., Gao, L., & Gao, W. (2019a). TIMP1 is a potential key gene associated with the pathogenesis and prognosis of ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *OncoTargets and Therapy*, 12, 8895–8904. <https://doi.org/10.2147/OTT.S222608>
- Ivetic, A., Green, H. L. H., & Hart, S. J. (2019). L-selectin: A major regulator of leukocyte adhesion, migration and signaling. In *Frontiers in Immunology* (Vol.

10, Number MAY). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01068>

- Jenkins, S. V., Robeson, M. S., Griffin, R. J., Quick, C. M., Siegel, E. R., Cannon, M. J., Vang, K. B., & Dings, R. P. M. (2019). Gastrointestinal tract dysbiosis enhances distal tumor progression through suppression of leukocyte trafficking. *Cancer Research*, 79(23), 5999–6009.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-4108>
- Ji, X., Peng, Q., & Wang, M. (2018). Anti-colon-cancer effects of polysaccharides: A mini-review of the mechanisms. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 114, pp. 1127–1133). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.186>
- Kapsoritakis, A. N., Kapsoritaki, A. I., Davidi, I. P., Lotis, V. D., Manolakis, A. C., Mylonis, P. I., Theodoridou, A. T., Germanis, A. E., & Potamianos, S. P. (2008). Imbalance of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP) - 1 and - 4 serum levels, in patients with inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterology*, 8. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-8-55>
- Lechner, J. F., & Stoner, G. D. (2019). Red beetroot and betalains as cancer chemopreventative agents. *Molecules*, 24(8).
<https://doi.org/10.3390/molecules24081602>
- Li, J., Su, X., Dai, L., Chen, N., Fang, C., Dong, Z., Fu, J., Yu, Y., Wang, W., Zhang, H., Wang, H., Ji, Y., Liu, Y., Cheng, L., Shi, G., Zhang, S., Yang, Y., & Deng, H. (2020). Temporal DNA methylation pattern and targeted therapy in colitis-Associated cancer. *Carcinogenesis*, 41(2), 235–244.
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgz199>
- Li, Y., Luo, Y., Ran, Y., Lu, F., & Qin, Y. (2025). Biomarkers of inflammation and colorectal cancer risk. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 15). Frontiers Media SA.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2025.1514009>
- Lialios, P., & Alimperti, S. (2025a). Role of E-cadherin in epithelial barrier dysfunction: implications for bacterial infection, inflammation, and disease pathogenesis. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1506636>
- Liu, X., Martin, D. A., Valdez, J. C., Sudakaran, S., Rey, F., & Bolling, B. W. (2021). Aronia berry polyphenols have matrix-dependent effects on the gut microbiota. *Food Chemistry*, 359. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129831>
- Liu, Y., Yu, X., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). The role of MUC2 mucin in intestinal homeostasis and the impact of dietary components on MUC2 expression. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol.

164, pp. 884–891). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.191>

- Lopetuso, L. R., Chowdhry, S., & Pizarro, T. T. (2013). Opposing functions of classic and novel IL-1 family members in gut health and disease. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 4, Number JUL).
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00181>
- López-Palestina, C. U., Aguirre-Mancilla, C. L., Raya-Pérez, J. C., Ramírez-Pimentel, J. G., Gutiérrez-Tlahque, J., & Hernández-Fuentes, A. D. (2018). The effect of an edible coating with tomato oily extract on the physicochemical and antioxidant properties of garambullo (*myrtillocactus geometrizans*) fruits. *Agronomy*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy8110248>
- Luo, C., & Zhang, H. (2017). The Role of Proinflammatory Pathways in the Pathogenesis of Colitis-Associated Colorectal Cancer. In *Mediators of Inflammation* (Vol. 2017). Hindawi Limited.
<https://doi.org/10.1155/2017/5126048>
- Luz Calle, M. (2019). Statistical analysis of metagenomics data. In *Genomics and Informatics* (Vol. 17, Number 1). Korea Genome Organization.
<https://doi.org/10.5808/GI.2019.17.1.e6>
- Ma, J., Piao, X., Mahfuz, S., Long, S., & Wang, J. (2022). The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids. In *Animal Nutrition* (Vol. 9, pp. 159–174). KeAi Communications Co.
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.09.012>
- Macfarlane, G. T., & Macfarlane, S. (2012). Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *Journal of AOAC International*, 95(1), 50–60.
https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Macfarlane
- Magalhães, B., Peleteiro, B., & Lunet, N. (2012). Dietary patterns and colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. In *European Journal of Cancer Prevention* (Vol. 21, Number 1, pp. 15–23).
<https://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e3283472241>
- Mangifesta, M., Mancabelli, L., Milani, C., Gaiani, F., de'Angelis, N., de'Angelis, G. L., van Sinderen, D., Ventura, M., & Turrone, F. (2018). Mucosal microbiota of intestinal polyps reveals putative biomarkers of colorectal cancer. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32413-2>
- Mielcarska, S., Kula, A., Dawidowicz, M., Kiczmer, P., Chrabańska, M., Rynkiewicz, M., Wziątek-Kuczmik, D., Świętochowska, E., & Waniczek, D. (2022). Assessment of the RANTES Level Correlation and Selected Inflammatory and Pro-Angiogenic Molecules Evaluation of Their Influence on

- CRC Clinical Features: A Preliminary Observational Study. *Medicina (Lithuania)*, 58(2). <https://doi.org/10.3390/medicina58020203>
- Mirzaei, R., Afaghi, A., Babakhani, S., Sohrabi, M. R., Hosseini-Fard, S. R., Babolhavaeji, K., Khani Ali Akbari, S., Yousefimashouf, R., & Karampoor, S. (2021). Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in cancer development and prevention. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 139). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111619>
- Mitselou, A., Grammeniatis, V., Varouktsi, A., Papadatos, S. S., Klaroudas, A., Katsanos, K., & Galani, V. (2021). Immunohistochemical Study of Adhesion Molecules in Irritable Bowel Syndrome: A Comparison to Inflammatory Bowel Diseases. *Advanced Biomedical Research*, 10(1), 21. https://doi.org/10.4103/abr.abr_2_20
- O'Keefe, S. J. D. (2016). Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 13, Number 12, pp. 691–706). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.165>
- Pozuelo, M. J., Agis-Torres, A., Hervert-Hernández, D., López-Oliva, M. E., Muñoz-Martínez, E., Rotger, R., & Goñi, I. (2012). Grape Antioxidant Dietary Fiber Stimulates Lactobacillus Growth in Rat Cecum. *Journal of Food Science*, 77(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02520.x>
- Qiu, Z., Wang, Y., Zhang, Z., Qin, R., Peng, Y., Tang, W., Xi, Y., Tian, G., & Zhang, Y. (2022). Roles of intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) in colorectal cancer: expression, functions, prognosis, tumorigenesis, polymorphisms and therapeutic implications. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1052672>
- Raffler, N. A., Rivera-Nieves, J., & Ley, K. (2005). L-selectin in inflammation, infection and immunity. In *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies* (Vol. 2, Number 3, pp. 213–220). <https://doi.org/10.1016/j.ddstr.2005.08.012>
- Ramakrishna, B. S. (2013). Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 28(S4), 9–17. <https://doi.org/10.1111/jgh.12294>
- Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüeña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, 312(July 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126073>
- Rawla, P., Sunkara, T., & Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival, and risk factors. In *Przeglad*

Gastroenterologiczny (Vol. 14, Number 2, pp. 89–103). Termedia Publishing House Ltd. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>

- Rubinstein, M. R., Wang, X., Liu, W., Hao, Y., Cai, G., & Han, Y. W. (2013). *Fusobacterium nucleatum* Promotes Colorectal Carcinogenesis by Modulating E-Cadherin/ β -Catenin Signaling via its FadA Adhesin. *Cell Host and Microbe*, 14(2), 195–206. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.07.012>
- Sadeghi Ekbatan, S., Sleno, L., Sabally, K., Khairallah, J., Azadi, B., Rodes, L., Prakash, S., Donnelly, D. J., & Kubow, S. (2016). Biotransformation of polyphenols in a dynamic multistage gastrointestinal model. *Food Chemistry*, 204, 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.140>
- Sanabria, M. C., Umaña, A., Serrano, M. L., Sánchez, M., Mesa, J., & Hernández, G. A. (2012). Vías de carcinogénesis colorrectal y sus implicaciones clínicas. *Revista Colombiana de Cancerología*, 16(3), 170–181. [https://doi.org/10.1016/s0123-9015\(12\)70014-8](https://doi.org/10.1016/s0123-9015(12)70014-8)
- Sánchez-Recillas, E., Almanza-Aguilera, E., Dufoo-Hurtado, E., Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., & Vergara-Castañeda, H. A. (2024). Untargeted metabolomics of gut-derived metabolites from in vitro colonic fermentation of garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Journal of Functional Foods*, 114. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106063>
- Sánchez-Recillas, E., Campos-Vega, R., Pérez-Ramírez, I. F., Luzardo-Ocampo, I., Cuéllar-Núñez, M. L., & Vergara-Castañeda, H. A. (2022). Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*): effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phytochemicals. *Food and Function*. <https://doi.org/10.1039/d1fo04392g>
- Schmitt, M., & Greten, F. R. (2021). The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 21, Number 10, pp. 653–667). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00534-x>
- Shen, J., Li, P., Liu, S., Liu, Q., Li, Y., Zhang, Z., Yang, C., Hu, M., Sun, Y., He, C., & Xiao, P. (2020). The chemopreventive effects of Huangqin-tea against AOM-induced preneoplastic colonic aberrant crypt foci in rats and omics analysis. *Food and Function*, 11(11), 9634–9650. <https://doi.org/10.1039/d0fo01731k>
- Shi, J., Xie, Q., Yue, Y., Chen, Q., Zhao, L., Evvie, S. E., Li, B., & Huo, G. (2021a). Gut microbiota modulation and anti-inflammatory properties of mixed lactobacilli in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Food and Function*, 12(11), 5130–5143. <https://doi.org/10.1039/d1fo00317h>
- Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T. H., Bhutani, T., & Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. In

Journal of Translational Medicine (Vol. 15, Number 1). BioMed Central Ltd.
<https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>

- Sobhani, I., Bergsten, E., Couffin, S., Amiot, A., Nebbad, B., Barau, C., de'Angelis, N., Rabot, S., Canoui-Poitrine, F., Mestivier, D., Pédrón, T., Khazaie, K., & Sansonetti, P. J. (2019). Colorectal cancer-associated microbiota contributes to oncogenic epigenetic signatures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(48), 24285–24295.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1912129116>
- Song, G., Xu, S., Zhang, H., Wang, Y., Xiao, C., Jiang, T., Wu, L., Zhang, T., Sun, X., Zhong, L., Zhou, C., Wang, Z., Peng, Z., Chen, J., & Wang, X. (2016a). TIMP1 is a prognostic marker for the progression and metastasis of colon cancer through FAK-PI3K/AKT and MAPK pathway. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, *35*(1). <https://doi.org/10.1186/s13046-016-0427-7>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *71*(3), 209–249.
<https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Suriano, F., Nyström, E. E. L., Sergi, D., & Gustafsson, J. K. (2022). Diet, microbiota, and the mucus layer: The guardians of our health. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953196>
- Tajasuwan, L., Kettawan, A., Rungruang, T., Wunjuntuk, K., & Prombutara, P. (2023). Role of Dietary Defatted Rice Bran in the Modulation of Gut Microbiota in AOM/DSS-Induced Colitis-Associated Colorectal Cancer Rat Model. *Nutrients*, *15*(6). <https://doi.org/10.3390/nu15061528>
- Terzić, J., Grivennikov, S., Karin, E., & Karin, M. (2010). Inflammation and Colon Cancer. *Gastroenterology*, *138*(6). <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.058>
- Tian, T. ting, Chen, G., Sun, K., Wang, X. yi, Liu, Y., Wang, F. qing, Yang, B., Liu, J., Han, J. Y., & Tang, D. xin. (2024). ChanLingGao alleviates intestinal mucosal barrier damage and suppresses the onset and progression of Colorectal cancer in AOM/DSS murine model. *International Immunopharmacology*, *143*. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.113193>
- Venegas, D. P., De La Fuente, M. K., Landskron, G., González, M. J., Quera, R., Dijkstra, G., Harmsen, H. J. M., Faber, K. N., & Hermoso, M. A. (2019). Short chain fatty acids (SCFAs) mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. In *Frontiers in Immunology*

(Vol. 10, Number MAR). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00277>

- Venkatachalam, K., Vinayagam, R., Anand, M. A. V., Isa, N. M., & Ponnaiyan, R. (2020). Biochemical and molecular aspects of 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon carcinogenesis: A review. *Toxicology Research*, 9(1), 2–18. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa004>
- Vitali, F., Tortora, K., Di Paola, M., Bartolucci, G., Menicatti, M., De Filippo, C., & Caderni, G. (2022). Intestinal microbiota profiles in a genetic model of colon tumorigenesis correlates with colon cancer biomarkers. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05249-0>
- Wang, M., Wichienchot, S., He, X., Fu, X., Huang, Q., & Zhang, B. (2019). In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 88, pp. 1–9). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.005>
- Wang, T., Zheng, J., Dong, S., Ismael, M., Shan, Y., Wang, X., & Lü, X. (2022). Lactobacillus rhamnosus LS8 Ameliorates Azoxymethane/Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis-Associated Tumorigenesis in Mice via Regulating Gut Microbiota and Inhibiting Inflammation. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 947–959. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09967-9>
- Wang, X., Qi, Y., & Zheng, H. (2022). Dietary Polyphenol, Gut Microbiota, and Health Benefits. In *Antioxidants* (Vol. 11, Number 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox11061212>
- Xi, Y., & Xu, P. (2021). Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. In *Translational Oncology* (Vol. 14, Number 10). Neoplasia Press, Inc. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101174>
- Xiao, X., Long, W., Huang, T., Xia, T., Ye, R., Liu, Y., & Long, H. (2018). Differences Between the Intestinal Lumen Microbiota of Aberrant Crypt Foci (ACF)-Bearing and Non-bearing Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 63(11), 2923–2929. <https://doi.org/10.1007/s10620-018-5180-7>
- Yan, J., Duan, W., Gao, Q., Mao, T., Wang, M., Duan, J., & Li, J. (2023). ENPP2 inhibitor improves proliferation in AOM/DSS-induced colorectal cancer mice via remodeling the gut barrier function and gut microbiota composition. *Pharmacological Research*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106877>
- Yang, D., Dai, T., Xue, L., Liu, X., Wu, B., Geng, J., Mao, X., Wang, R., Chen, L., & Chu, X. (2015). Expression of chemokine receptor CXCR7 in colorectal carcinoma and its prognostic significance. In *Int J Clin Exp Pathol* (Vol. 8, Number 10). www.ijcep.com/

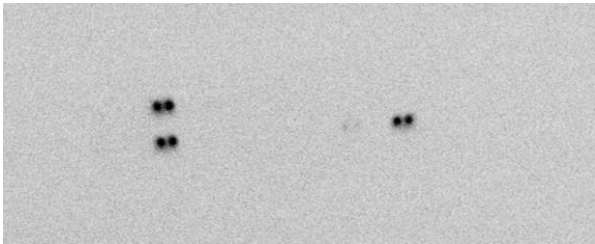
- Yang, G., Bibi, S., Du, M., Suzuki, T., & Zhu, M. J. (2017). Regulation of the intestinal tight junction by natural polyphenols: A mechanistic perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(18), 3830–3839. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1152230>
- Yang, L., & Chen, J. (2022). A comprehensive evaluation of microbial differential abundance analysis methods: current status and potential solutions. *Microbiome*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01320-0>
- Yang, Y., & Jobin, C. (2017). Novel insights into microbiome in colitis and colorectal cancer. In *Current Opinion in Gastroenterology* (Vol. 33, Number 6, pp. 422–427). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000399>
- Yao, D., Dai, W., Dong, M., Dai, C., & Wu, S. (2021). MUC2 and related bacterial factors: Therapeutic targets for ulcerative colitis. In *EBioMedicine* (Vol. 74). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103751>
- Yue, Y., Su, L., Wang, Y., Li, X., Xiao, X., Xie, J., & Yan, S. (2025). Banxia Xiexin Decoction inhibits colitis-associated colorectal cancer development by modulating STAT3 signaling and gut microbiota. *Chinese Herbal Medicines*, 17(2), 380–391. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2024.02.004>
- Zamorano-Ponce, E., Muñoz, P. L., Rivera Caamaño, P., Julia, Y., & Romero, F. (2008). AN INDUCIBLE EXPERIMENTAL MODEL IN MICE TO CONDUCT STUDIES IN CHEMOPREVENTION AND ANTICARCINOGENESIS. In *Revisión / Revision Theoria* (Vol. 17, Number 1).
- Zapolska-Downar, D., Siennicka, A., Kaczmarczyk, M., Kołodziej, B., & Naruszewicz, M. (2004). Butyrate inhibits cytokine-induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in cultured endothelial cells: The role of NF-κB and PPARα. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(4), 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2003.11.008>
- Zhang, X. W., Liu, Q., & Thorlacius, H. (2001). *Inhibition of Selectin Function and Leukocyte Rolling Protects Against Dextran Sodium Sulfate-Induced Murine Colitis*.
- Zhou, Y., Feng, Y., Cen, R., Hou, X., Yu, H., Sun, J., Zhou, L., Ji, Q., Zhao, L., Wang, Y., & Li, Q. (2022a). San-Wu-Huang-Qin decoction attenuates tumorigenesis and mucosal barrier impairment in the AOM/DSS model by targeting gut microbiome. *Phytomedicine*, 98. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.153966>
- Zou, Q., Lei, X., Xu, A., Li, Z., He, Q., Huang, X., Xu, G., Tian, F., Ding, Y., & Zhu, W. (2022). Chemokines in progression, chemoresistance, diagnosis, and

prognosis of colorectal cancer. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.724139>

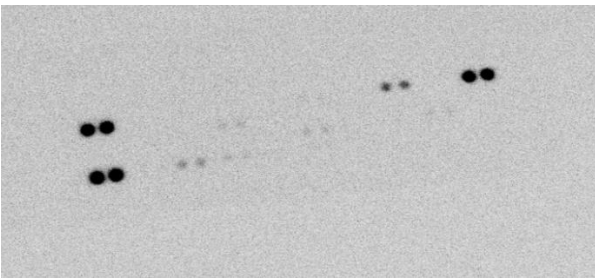
11. ANEXO

11.1 Imágenes de los resultados de membranas de microarreglo de proteínas de inflamación de los grupos experimentales.

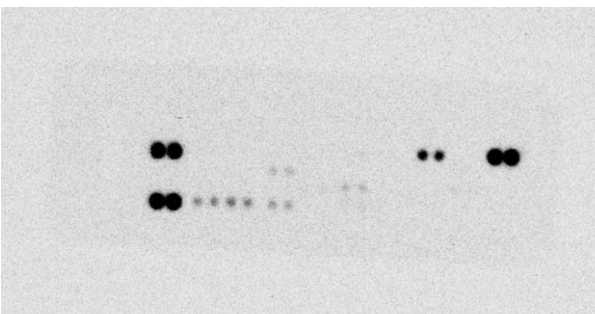
Control



AOM/DSS



G+AOM/DSS



RG+AOM/DSS

