



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y METANÓLICOS DE
PLANTAS COMESTIBLES SOBRE BIOMARCADORES
ANTIOXIDANTES EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY”**

**PROPIEDAD DE LA FACULTAD
DE QUÍMICA DE LA U. A. Q.
TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

CENTEOTL VERÓNICA BENITEZ MARÍN

DIRIGIDA POR

Dra. MINERVA RAMOS GÓMEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2008.

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.

No. Adq. 150945

No. Titulo

Glas. 664.06

B'167c



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y METANÓLICOS
DE PLANTAS COMESTIBLES SOBRE BIOMARCADORES
ANTIOXIDANTES EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

CENTEOTL VERÓNICA BENITEZ MARÍN

DIRIGIDA POR

Dra. MINERVA RAMOS GÓMEZ

SINODALES

Dra. MINERVA RAMOS GÓMEZ

DIRECTOR

Dra. SANDRA O. MENDOZA DÍAZ

SINODAL

Dra. MA. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA

SINODAL

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN.	
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. ANTECEDENTES.	3
II.1 La dieta y su influencia en la salud.	3
II.2 Mortalidad por enfermedades crónico-degenerativas.	4
II.3 Mortalidad por tumores malignos.	4
II.4 Generalidades del cáncer.	5
II. 5 Biotransformación de xenobióticos.	5
II.6 Estrés oxidativo	7
II.7 Sistemas de defensa antioxidante.	8
II.7.1 Mecanismos enzimáticos y no-enzimáticos.	9
II.8 Quimioprotectores.	11
II.9 Flavonoides.	11
II.10 Plantas comestibles del estado de Querétaro.	14
II.10.1 Yuca filifera Chab "Palma"	14
II.10.2 Amaranthus hybridus L. "Quelite de pollo".	15
II.10.3 Melampodium perfoliatum "Tinaja o Tinajilla"	16
II.10.4 Taraxacum officinale "Diente de león"	18
II.10.5 Brassica rapa L. "Nabo o Mostaza"	19
II.10.6 Rumex crispus L. "Lengua de vaca"	20
II.10.7 Physalis philadelphica Lam. "Tomatillo o Tomate de hoja"	21
II.11 Inducción de enzimas de fase 2 por extractos de plantas comestibles.	23
III. HIPÓTESIS.	26
IV. OBJETIVOS.	27
IV. 1 General.	27
IV. 2 Específicos.	27

Contenido	Página
V. METODOLOGÍA.	28
V.1 Materiales.	28
V.2 Métodos.	29
V.2.1 Preparación de los extractos acuosos y metanólicos de las plantas comestibles.	29
V.2.2 Tratamientos.	30
V.2.3 Preparación de homogenados citosólicos.	32
V.2.4 Cuantificación de proteínas en los homogenados citosólicos.	32
V.2.5 Determinación de la concentración de glutatión reducido (GSH).	33
V.2.6 Determinación de la actividad de glutatión-S-transferasa (GST): CDNB.	34
V.2.7 Determinación de la actividad de glutatión peroxidasa (GPX).	35
V.2.8 Determinación de la actividad de quinona reductasa (QR).	35
V.2.9 Análisis estadístico.	37
VI. RESULTADOS.	38
VI.1. Concentración de glutatión reducido y actividad enzimática en ratas tratadas con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	38
VI.1.1. Concentración de glutatión reducido (GSH) en hígado.	38
VI.1.2. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en hígado.	40
VI.1.3. Actividad enzimática de glutatión peroxidasa (GPX) en hígado.	42
VI.1.4. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en hígado.	44
VI. 2. Concentración de glutatión reducido y actividad enzimática en ratas tratadas con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	48
VI.2.1. Concentración de glutatión reducido (GSH) en hígado.	48
VI.2.2. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en hígado.	50

Contenido	Página
VI.2.3. Actividad enzimática de glutatión peroxidasa (GPX) en hígado.	50
VI.2.3. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en hígado.	53
VI.3. Actividad enzimática en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	57
VI.3.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon proximal.	57
VI.3.2. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon proximal.	59
VI.4. Actividad enzimática en el colon proximal de ratas tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	62
VI.4.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon proximal.	62
VI.4.1. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon proximal.	64
VI.5. Actividad enzimática en el colon distal de ratas tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	67
VI.5.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon distal.	67
VI.5.2. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon distal.	69
VI.6. Actividad enzimática en el colon distal de ratas tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	72

Contenido	Página
VI.6.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon distal.	72
VI.6.2. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon distal.	74
VII. DISCUSIONES.	77
VIII. CONCLUSIONES.	88
IX. BIBLIOGRAFÍA.	90
X. ANEXOS	97

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Plantas comestibles en el estado de Querétaro	14
2	Diseño experimental.	30
3	Efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de plantas comestibles sobre la concentración de GSH y la actividad enzimática de GST, GPX y QR en el hígado de ratas Sprague-Dawley.	46
4	Efecto de la administración intragástrica de los extractos metanólicos de diferentes plantas comestibles sobre la concentración de GSH y actividad enzimática de GST, GPX y QR en el hígado de ratas Sprague-Dawley.	55
5	Efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de diferentes plantas comestibles sobre la actividad enzimática de GST y QR en colon proximal de ratas Sprague-Dawley.	61
6	Efecto de la administración intragástrica de los extractos metanólicos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST y QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley.	66
7	Efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST y QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley.	71
8	Efecto de la administración intragástrica de los extractos metanólicos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST y QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley.	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Reacciones de fase y fase 2 en la biotransformación y eliminación de los xenobióticos.	7
2	Estructura molecular de la quercetina.	12
3	Familia Agavaceae, <i>Yuca filifera</i> Chab.	15
4	Familia Amaranthaceae, <i>Amaranthus hybridus</i> L.	16
5	Familia Asteraceae, <i>Melampodium perfoliatum</i> .	17
6	Familia Asteraceae, <i>Taraxacum officinale</i> .	18
7	Familia Brassicaceae, <i>Brassica rapa</i> L.	19
8	Familia Polygonaceae, <i>Rumex crispus</i> L.	20
9	Familia Solaneceae, <i>Physalis philadelphica</i> Lam.	22
10	Concentración de GSH en el hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	39
11	Actividad enzimática de GST en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	41
12	Actividad enzimática de GPX en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	43

Figura		Página
13	Actividad enzimática de QR en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	45
14	Concentración de GSH en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	49
15	Actividad enzimática de GST en el hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	51
16	Actividad enzimática de GPX en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	49
17	Actividad enzimática de QR en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	54

Figura		Página
18	Actividad enzimática de GST en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	58
19	Actividad enzimática de QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	60
20	Actividad enzimática de GST en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	63
21	Actividad enzimática de QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	62
22	Actividad enzimática de GST en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	68

Figura		Página
23	Actividad enzimática de QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, y <i>Melampodium perfoliatum</i> .	70
24	Actividad enzimática de GST en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	73
25	Actividad enzimática de QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de <i>Amaranthus hybridus</i> L, <i>Physalis philadelphica</i> L, <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i> L, <i>Brassica rapa</i> L, <i>Melampodium perfoliatum</i> y <i>Yuca filifera</i> Chab.	75

RESUMEN.

En la actualidad, las enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes tipo 2, el cáncer, la obesidad, sobrepeso y las enfermedades cardiovasculares, entre otras, son causas principales del fallecimiento de una parte importante de la población y su morbilidad está aumentando. Asimismo, se ha identificado al estrés oxidativo como un factor importante en el desarrollo de estas enfermedades. Estudios *in vitro* han demostrado la actividad quimioprotectora de plantas comestibles en el estado de Querétaro a través de la inducción de biomarcadores antioxidantes. Sin embargo, no existen reportes en la literatura acerca del potencial de inducción *in vivo* de estas plantas. Por ello, este trabajo evaluó el efecto quimioprotector de los extractos metanólicos y acuosos de plantas comestibles del estado de Querétaro *Yuca filifera* Chab (palma), *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Melampodium perfoliatum* (tinajilla), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Brassica rapa* L (nabo), *Rumex crispus* L (lengua de vaca) y *Physalis philadelphica* L (tomatillo), a través de la inducción de biomarcadores antioxidantes como las enzimas glutatión-S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPX) y quinona reductasa (QR), así como la concentración de glutatión reducido (GSH) en ratas machos Sprague-Dawley (80-99 g). Los extractos se administraron vía intragástrica en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg de peso corporal, durante una semana con intervalos de 48 horas. Los animales se sacrificaron y se determinó la actividad de las enzimas QR, GST y GPX en hígado, colon proximal y distal; así como los niveles de GSH en hígado por espectrofotometría. Los extractos que reportaron una mayor inducción en la concentración de GSH fueron el extracto acuoso de *T. officinale* (3.8 veces a la dosis de 50 mg/Kg), el extracto metanólico de *A. hybridus* (3.9 veces a la dosis 100 mg/Kg), respecto al control negativo. Por otro lado, los extractos acuoso y metanólico de *A. hybridus* (50, 100 y 200 mg/Kg) incrementaron significativamente la actividad enzimática de GST, QR y GPX, tanto en hígado como en colon, con respecto al control. De igual forma, el extracto acuoso de *T. officinale* y el extracto metanólico de *Brassica rapa* se muestran como potentes inductores de estas enzimas. Con estos resultados se identifican nuevas especies vegetales con capacidad de inducir biomarcadores antioxidantes, sugiriendo un efecto quimioprotector de estas plantas comestibles contra el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas entre la población mexicana.

A mis padres Emilia y Juan
por confiar en mí, por su ayuda,
comprensión y sobre todo por su cariño.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida, la oportunidad de vivirla con sabiduría y llegar hasta este punto, donde comienza otra etapa.

A mis hermanas Mara y Bere por su apoyo incondicional.

A mis abuelitas por ser un impulso constante en mi vida con sus oraciones.

A mis amigos:

Sheila por tu apoyo en los momentos difíciles, por todas las desveladas, por abrirme las puertas de tu casa. Pero sobre todo por tu amistad.

Toño gracias porque unas cuantas palabras bastan siempre para ponernos al día y saber que siempre has estado a mi lado.

A Lupita, Miryam, Gilda, Rafa, Paul y Chucho por todos los buenos momentos que pasamos juntos y por otros muchos que me perdí en la realización de este proyecto.

A mi tío Ciro, Tere y Emma a Miguel y Estela, por la oportunidad de entrar en sus vidas y hacerme parte de ella.

A mis compañeros de laboratorio, es especial a Mary, Rosy y Lupita.

A la Dra. Minerva y la Dra. Sandra por darme la oportunidad de colaborar en este proyecto y en sus laboratorios, así como por ser mis sinodales a la Dra. Loarca y la Dra. Rosalía.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto.

I. INTRODUCCIÓN.

En general, las enfermedades crónicas degenerativas se convierten en un problema de salud pública muy importante a nivel mundial. La incidencia en los últimos 50 años de enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades coronarias, asma, hipertensión, varios tipos de cánceres y enfermedades autoinmunes, se atribuye al medio ambiente y los estilos de vida. De hecho son las causas principales del fallecimiento de una parte importante de la población y continua en aumentando su prevalencia. La obesidad, la diabetes y la hipertensión son comunes en los niños.

En específico, el cáncer es un término genérico que se emplea para designar un grupo de neoplasias que difieren de forma variable en su histogénesis, morfología, evolución clínica y pronóstico, presentando particularidades morfológicas y biológicas que permiten clasificar e identificar por separado las diferentes lesiones neoplásicas. En esencia, el cáncer puede tener un comportamiento biológico maligno que presenta diferencias fundamentales con las neoplasias benignas.

Todos los sistemas antioxidantes celulares, como el glutatión reducido (GSH), están implicados en la protección de las macromoléculas biológicas esenciales, entre las que se encuentra el ADN. En este sentido, el interior nuclear posee el doble del antioxidante GSH que el citoplasma celular. Además, sistemas intracelulares antioxidantes, entre los que se encuentran el GSH, el ácido ascórbico, la vitamina E, el β -caroteno, la ubiquinona, la transferrina y las enzimas catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX), quinona reductasa (QR), glutatión reductasa (GR) y enzimas de reparación del ADN, actúan atendiendo el equilibrio entre la prooxidación y antioxidación a nivel celular.

Una gran variedad de estos compuestos antioxidantes son incorporados a través de la dieta, de ahí que una alimentación adecuada en antioxidantes podría ayudar a prevenir el desarrollo de determinadas enfermedades o atenuarían las lesiones producidas por las mismas.

En México, los conocimientos empíricos sobre las propiedades medicinales de las plantas es la base para su utilización como remedios caseros. Por lo que es un hecho generalmente aceptado por muchas personas en México y, en otras partes

del mundo, que diversos efectos beneficiosos se pueden obtener a través del consumo de productos vegetales. Diversas hierbas y plantas se han utilizado para una gran variedad de propósitos durante cientos de años, y los efectos en los humanos no han sido ampliamente estudiados.

Igualmente, la eliminación de determinadas conductas oxidantes, tales como dejar de fumar o reducir la ingestión de alcohol, reducirían el desarrollo de ciertas alteraciones genéticas relacionadas con el cáncer. Por lo tanto, la ampliación de los conocimientos referentes a estrés oxidativo y la relación que guarda con la alimentación diaria y, en especial con el consumo de ciertas plantas comestibles ricas en compuestos fenólicos, entre otros, podrán aportar estrategias que ayuden a mejorar o complementar las medidas terapéuticas existentes.

II. ANTECEDENTES.

II.1 La dieta y su influencia en la salud.

La dieta óptima recomendada por la mayoría de las organizaciones en pro de la salud está basada en un contenido bajo en calorías y alto en fibras, caracterizada por un consumo regular de vegetales, frutas, arroz y pastas integrales. Una dieta basada en alimentos de origen vegetal es naturalmente baja en grasas saturadas, colesterol y sodio, y rica en potasio, fibra y vitaminas antioxidantes. Las personas que consumen este tipo de dietas presentan un menor riesgo de contraer enfermedades crónico-degenerativas. Sin embargo, nuestra dieta comprende una compleja mezcla de sustancias orgánicas, las cuales no sólo nos proporcionan sustento sino que también pueden desempeñar un importante papel en el desarrollo, modulación y prevención de enfermedades (Olanlude, 2004).

Estudios bioquímicos y clínicos, y un gran número de estudios poblacionales en Europa y Estados Unidos han demostrado, sin lugar a dudas, que una dieta con alto contenido de grasa, rica en ácidos grasos saturados, como es común en Europa del Este y del Norte, eleva los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL)-colesterol y es causa de la alta incidencia de enfermedad coronaria.

En contraste, una dieta rica en hidratos de carbono complejos y fibra, en la cual la fuente de grasa se basa principalmente en ácidos grasos monoinsaturados, como la dieta estilo mediterráneo, rica en aceite de oliva, que se utiliza en Europa del Sur, disminuye los niveles de colesterol de las LDL y se asocia a una baja incidencia de enfermedad coronaria. Además, este tipo de dieta presenta efectos benéficos como lo es la reducción del riesgo a desarrollar diabetes mellitus tipo 2. Este efecto benéfico puede también estar relacionado, entre otros factores, con una menor prevalencia de obesidad y menor producción de los niveles de insulina de los individuos que la consumen (Cuneo, 2005).

II.2 Mortalidad por enfermedades crónico-degenerativas.

En el 2003, las enfermedades del corazón y cerebrovasculares, la diabetes, la cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado, además de los tumores malignos, concentraron casi el 35% de las muertes ocurridas en México.

En el 2005, la diabetes mellitus fue la primera causa de mortalidad. Esta enfermedad se caracteriza por una incapacidad metabólica para mantener la glucosa sanguínea en niveles adecuados, lo que ocasiona daños vasculares y nerviosos que a la larga afectan el funcionamiento de riñones, corazón, retina y extremidades corporales. Las enfermedades isquémicas del corazón son la segunda causa de muerte y se asocian con la inactividad física, tabaquismo, sobrepeso e hipertensión arterial. Con respecto a esta enfermedad, la tasa de mortalidad en hombres es mayor (85.6 %) que en mujeres (59.8 %).

A nivel mundial, las enfermedades cerebrovasculares son la segunda causa de muerte y causan el mayor número de discapacidades en la población mayor de 60 años. La tasa de mortalidad en México es relativamente.

En los análisis de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se indica que, desde la edad madura hasta la vejez, la principal causa de muerte es por lo general el cáncer en el caso de las mujeres y las cardiopatías en lo que se refiere a los hombres. En México, la mortalidad por tumores malignos va en aumento y una parte importante de éstos ocurren en las mujeres (INEGI, 2007).

II.3 Mortalidad por tumores malignos.

El cáncer resulta ser una enfermedad que afecta tanto a hombres como a mujeres, pero es mayor su presencia en mujeres. Dentro del grupo de tumores malignos que afectan a ambos sexos se destaca el cáncer de pulmón, tráquea y bronquios, que tiene mayor incidencia en los hombres; no obstante, se ha visto un crecimiento de éstos en las mujeres por los cambios en los estilos de vida y el aumento del tabaquismo. Si bien se observan diferencias en los órganos afectados por el cáncer

en hombres y mujeres, los de tipo ginecológico son los que más defunciones causan a las mujeres.

En los hombres, las principales causas de muerte por cáncer en el año 2004 corresponden a: tráquea, bronquios y pulmón (15.5%), próstata (5.2%) y estómago (9.4%). De cada 1 000 defunciones por cáncer en las mujeres, 135 se deben al del cuello del útero (13.5%), 133 al de mama (13.3%), 81 al de hígado y vías biliares (8.1%) y 78 al de estómago (7.8 %) (INEGI, 2007).

II.4 Generalidades del cáncer.

El cáncer es una serie compleja de alteraciones que afectan un amplio rango de células y tejidos. Esta enfermedad se clasifica de acuerdo con el tejido y el tipo celular del que se origina, dando lugar a la siguiente clasificación: carcinoma de las células epiteliales, sarcoma de las células musculares, leucemia de las células hematopoyéticas, linfoma de las células del sistema inmunitario y glioma de las células del sistema nervioso central.

Los factores ambientales juegan un papel determinante en el desarrollo del cáncer. Entre éstos podemos citar a:

- a) Los productos químicos que causan cambios específicos en la secuencia del DNA.
- b) Los fenómenos físicos, como las radiaciones ionizantes, que provocan traslocaciones y rupturas de cromosomas.
- c) Los virus que introducen secuencias nucleotídicas en el interior de la célula.

La frecuencia de la mayoría de los cánceres aumenta con la edad, de modo que conforme el promedio y la calidad de vida de las personas incrementa, un número mayor de éstas desarrollará la enfermedad (Barrera y col, 2003).

II. 5 Biotransformación de xenobióticos.

Una gran variedad de compuestos extraños al organismo, como los xenobióticos o tóxicos, se absorben a través de los pulmones, la piel o con mayor frecuencia, se

ingieren de manera no intencional por estar presentes en los alimentos y bebidas. La exposición a los xenobióticos o tóxicos ambientales puede pasar inadvertida, o accidental, cuando éstos están presentes inevitablemente como componentes del aire, agua y alimentos. Algunos xenobióticos son inocuos, pero la gran mayoría ocasionan respuestas biológicas adversas (Katzunz, 1999).

La composición de la dieta influye sobre la forma activa o metabolito de cualquier tóxico o xenobiótico, debido a: a) la presencia de contaminantes que tengan la capacidad de provocar o de inhibir enzimas biotransformadoras (insecticidas o benzopirenos); b) el equilibrio de los principios inmediatos en la dieta que pueden influir sobre la flora digestiva y su capacidad de biotransformar ciertos xenobióticos, y c) el tipo o hábito de dieta, que influye sobre la capacidad biotrasformante de una particular dotación enzimática de un individuo (Flores, 1997).

En general, los xenobióticos lipofílicos se biotransforman en productos más polares y, en consecuencia, pueden excretarse con mayor facilidad. El metabolismo puede participar de manera muy notable en la desactivación de xenobióticos liposolubles. Sin embargo, algunos productos o metabolitos resultado de la biotransformación tienen mayor actividad o propiedades más tóxicas, incluyendo mutagenicidad, teratogenicidad y carcinogenicidad. Estas biotransformaciones metabólicas se producen en algún momento entre la absorción del xenobiótico en la circulación general y su eliminación renal o biliar. En general, estas reacciones pueden atribuirse a una de dos categorías principales, que se denominan fase 1 y fase 2 (Figura 1) (Katzunz, 1999).

Las reacciones de la fase 1 o de funcionalidad suelen transformar el xenobiótico original en un metabolito más polar, introduciendo o desenmascarando un grupo funcional (-OH, -NH₂, -SH) por medio de reacciones de oxidación y reducción. Estos cambios producen en general un aumento en la polaridad de la molécula y determina algunos o varios de estos resultados: a) inactivación; b) conversión de un producto inactivo en otro activo; c) conversión de un producto activo en otro activo, cuya actividad puede ser aprovechable con fines terapéuticos y d) conversión de un producto activo en otro activo, pero cuya actividad resulta tóxica (Flores, 1997; Katzunz, 1999).

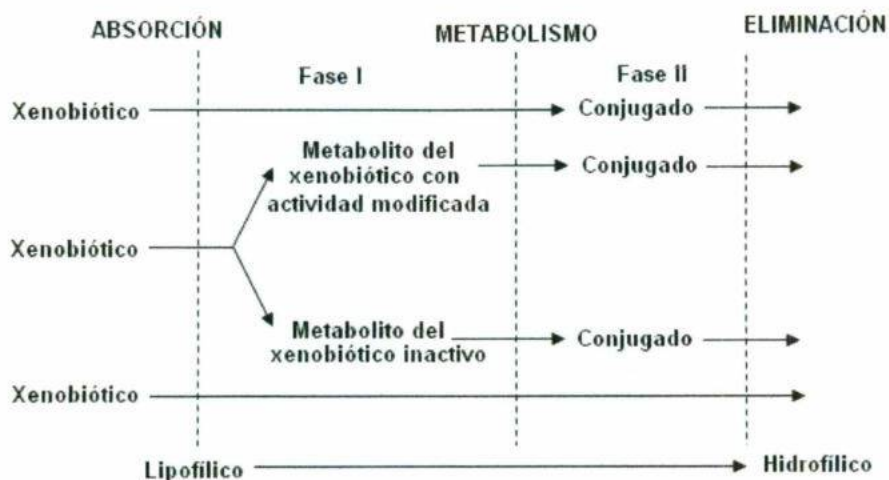


Figura 1. Reacciones de fase 1 y fase 2 en la biotransformación y eliminación de los xenobióticos.

Por otro lado, las reacciones de fase 2 son reacciones de conjugación, en las cuales el xenobiótico o el metabolito procedente de la fase 1 se acopla a un sustrato endógeno como el ácido glucurónico o el ácido sulfúrico, con lo cual casi siempre se inactiva el xenobiótico y se facilita su excreción. Entre las principales enzimas de fase 2 encontramos a la quinona reductasa (QR), glutatión-S-transferasa (GST) y glutatión peroxidasa (GPX) (Figura 1) (Flores, 1997; Katzung, 1999).

Las enzimas encargadas de realizar estas transformaciones se encuentran principalmente en hígado, aunque también se hallan en menor proporción en otros órganos como riñón, pulmón, intestino, glándulas suprarrenales y otros tejidos (Flores, 1997).

II.6 Estrés oxidativo

EL estrés oxidativo está asociado al declive general de las funciones celulares, titulares y orgánicas, y está relacionado con enfermedades como el Alzheimer, aterosclerosis lateral amiotrófica, Parkinson, degeneración muscular, artritis reumatoide, cáncer, entre otras. También una inadecuada protección contra las

especies reactivas de oxígeno, es el factor principal que da origen al envejecimiento e incrementa la vulnerabilidad a enfermedades crónico-degenerativas (Salvadó, 2005; Beristain y col., 2006)

Las especies reactivas del oxígeno (ERO) incluyen: el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$), el oxígeno (O_2) y el ácido hipocloroso ($HOCl$). Si el balance entre la formación y la eliminación de las especies ERO se altera a favor de lo primero, estas especies oxidantes inducen reacciones en cadena, capaces de dañar moléculas de importancia biológica (carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos), a este fenómeno se le denomina estrés oxidativo. En particular, el ataque a los lípidos provoca su oxidación y esto a su vez conduce a la formación de nuevas especies de radicales libres y metabolitos tóxicos, por lo que se desencadena una cascada de eventos que amplifican el daño. Las ERO pueden generarse por fuentes como los contaminantes, el tabaquismo, factores ambientales o como un producto secundario de las reacciones del metabolismo (Salvadó, 2005).

Debido a que la oxidación es un proceso natural, el organismo requiere mecanismos preventivos para retardar el proceso de oxidación. Las vitaminas A, C, E y los oligoelementos (zinc, manganeso, cobre, selenio y el hierro) son ejemplos de antioxidantes que se encuentran en las frutas y verduras, y son requeridos por las enzimas detoxificantes/detoxificadoras y antioxidantes (Arellano, 2007).

II.7 Sistemas de defensa antioxidante.

Desde el punto de vista químico, un antioxidante es un compuesto químico que previene la oxidación de otra especie química. Los antioxidantes desempeñan un papel fundamental en la protección de estructuras celulares que pudiesen dañarse en reacciones que involucren radicales libres, pues éstos atacan a los ácidos grasos saturados en las biomembranas, causando así peroxidación de lípidos y disminución en la permeabilidad membranal, así como daño a proteínas membranales. También se producen alteraciones en el ADN en condiciones de estrés oxidativo, con un incremento en sus niveles de fragmentación y

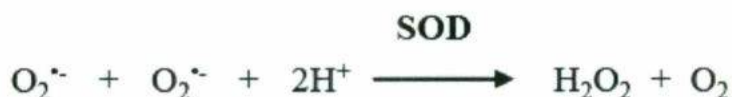
modificaciones oxidativas en las bases púricas y pirimidínicas. Estos procesos están relacionados en el desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas, declive del estado inmune y disfunción cerebral (Alvira y Roche, 2004; Tenorio y col., 2006).

La mayoría de los organismos vivos, incluyendo a los seres humanos, poseen un sistema de defensa eficiente, que ha evolucionado en mecanismos enzimáticos y no-enzimáticos, contra el exceso de producción de ERO protegiendo así contra daños oxidantes. Sin embargo, diferentes factores externos y el envejecimiento disminuye la capacidad de tales sistemas, resultando en perturbaciones del equilibrio redox. Por consiguiente, los antioxidantes son secuestradores de EROs de gran valor en la prevención del ataque y/o la progresión de enfermedades oxidativas (Salvadó, 2005; González, 2007).

II.7.1 Mecanismos enzimáticos y no-enzimáticos.

Los sistemas enzimáticos incluyen la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y las enzimas implicadas en el ciclo de glutatión: glutatión peroxidasa (GPX), glutatión reductasa (GR) y glutatión-S-transferasa (GST).

La SOD cataliza la dismutación del anión superóxido transformándolo en oxígeno (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2).



La CAT es una enzima que se localiza en los peroxisomas y descompone al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (Salvadó, 2005).



La superóxido dismutasa (SOD) y el glutatión reducido (GSH) son los principales antioxidantes que protegen las células contra los efectos nocivos y tóxicos de las

EROs. Por lo tanto, la SOD y el GSH constituyen el primer paso enzimático que desempeña un papel protector celular, catalizando la conversión del radical superóxido en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Al-Gubory y col., 2004; Salvadó, 2005).

Tanto la GPX como la CAT catalizan la conversión de H_2O_2 a H_2O . Sin embargo, la GPX convierte H_2O_2 a H_2O a través de la oxidación de GSH (GSSG). Además, la GPX cataliza la degradación de los lípidos peróxidos (LPO). La GR es una enzima importante del mecanismo de defensa antioxidante celular. La regeneración de GSSG a GSH requiere la acción de la GR que utiliza el NADPH como cofactor. Por lo tanto, la GR es esencial para el ciclo del GSH, ya que mantiene los niveles adecuados de GSH. La capacidad de GPX de reducir H_2O_2 y otros hidroperóxidos depende de la actividad de la GR (Al-Gubory y col., 2004).

Las glutatión S-transferasas (GST) son una familia de isoenzimas citoplásmicas que desempeñan un papel importante en la desintoxicación de una gran diversidad de metabolitos activos y de compuestos electrofílicos exógenos o endógenos, a través de la conjugación con GSH. De esta forma, la enzima neutraliza los sitios activos del electrófilo y genera productos menos reactivos o más hidrosolubles y, por tanto, más fácilmente excretables (Baez, 1997; García, 2004; Zhang y col., 2007).

En cuanto al sistema de defensa no enzimático, las proteínas antioxidantes generalmente pueden tener funciones duales, es decir, como proteínas transportadoras y también como quelantes en cuestión de iones metálicos. El GSH es el antioxidante no enzimático más relevante, su función no es eliminar directamente las ERO, sino mantener el equilibrio redox y participar en las reacciones enzimáticas antioxidantes proporcionando los reductores equivalentes. El GSH actúa a través de tres reacciones: 1) reacciones de conjugación, 2) oxidación, y 3) degradación (Salvadó, 2005).

Por lo tanto, es importante mantener los niveles adecuados de los sistemas enzimáticos y no enzimáticos. Existe evidencia de que una dieta alta en frutas y vegetales es fundamental en la protección contra enfermedades crónicas degenerativas, lo que sugiere un efecto quimioprotector de los vegetales a través

de la inducción de enzimas de fase 2 o antioxidantes en diferentes tejidos (Munday y col., 2005).

II.8 Quimioprotectores.

El término quimioprotección fue introducido para referirse al uso de agentes farmacológicos o naturales que inhiben el desarrollo del cáncer, ya sea por el bloqueo del daño al ADN que inicia la carcinogénesis o por inhibición o reversión de la evolución de células premalignas, en las cuales el daño ya ha ocurrido. En la actualidad, los agentes mejor estudiados en la quimioprotección humana son los retinoides (los derivados naturales y los análogos sintéticos de la vitamina A) y un miembro de la clase de los carotenoides, el β -caroteno, y se asocian con una reducción del riesgo de cáncer. Sin embargo, los carotenoides se consumen en las frutas y verduras, las cuales contienen otras muchas sustancias con propiedades preventivas contra el cáncer tales como los compuestos fenólicos, los flavonoides, isotiocianatos, dioles, etc. (Devita y col., 1997).

El papel biológico que desempeñan los flavonoides y compuestos fenólicos es de gran importancia, se les atribuyen actividades antioxidantes y antiinflamatorias, dando como resultado en general un efecto benéfico a la salud, resaltando la importancia de una dieta rica en flavonoides (Pérez, 2003; Gonzáles y col., 2007).

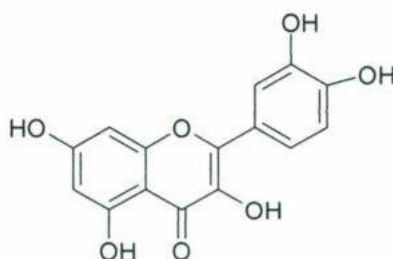
II.9 Flavonoides.

A través de estudios *in vivo* e *in vitro*, se ha demostrado que los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales y anticarcinogénicas, pueden actuar como potentes quelantes de metales, como atrapadores de radicales libres y como antioxidantes rompedores de la reacción en cadena, es decir, finalizan la cadena de formación de especies prooxidantes mediante la donación o aceptación tanto de un átomo de hidrógeno como un electrón.

Químicamente, los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que se encuentran en plantas vasculares. Estructuralmente, estos fitoquímicos pueden considerarse como fenilbenzo–pironas (fenilcromonas) compuestos de dos anillos bencénicos unidos mediante un anillo heterocíclico de pirano o pirona. En función de sus sustituyentes químicos, los flavonoides se clasifican en: flavanoles, antocianidinas, flavonas, flavanonas y chalconas.

Los compuestos fenólicos incluyen los ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos, derivados de ácido hidroxicinámicos y flavonoides, entre los cuales se encuentran las proantocianinas, las antocianinas y las catequinas (Subías, 2007). Estos compuestos tienen efectos muy importantes en la bioquímica y fisiología de las plantas, en donde actúan como antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tóxicas, así como en la formación de pigmentos y filtros solares (Tenorio y col., 2006).

El flavonoide quercetina es uno de los compuestos polifenólicos más abundantes presentes en la dieta humana (Figura 2) y se encuentran comúnmente en las manzanas, arándanos, moras azules y cebollas. Se ha reportado que la quercetina posee propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias, y cardioprotectoras. Recientemente, se reportó que la quercetina reduce la presión sanguínea elevada, disfunción endotelial y cardíaca e hipertrofia renal en un modelo de ratas macho Wistar (220-250 g) hipertensas. El efecto protector ejercido por la quercetina se asoció con una mejora en el estatus oxidativo, atribuido a sus propiedades antioxidantes (Galisteo y col., 2004; Ustesch y col., 2008).



5, 7,3',4'-tetrahidroxiflavonol (Quercetina)

Figura 2. Estructura molecular de la quercetina.

Recientemente, se ha reportado que tanto la quercetina como los metabolitos metilados de ésta, ejercen efectos antihipertensivos y reducen la hipertrofia del ventrículo izquierdo, la disfunción endotelial y mejoran el estatus oxidativo plasmático y hepático. Este flavonoide también muestra un efecto positivo en enfermedades cardiovasculares y se estima que, como un componente regular en la dieta, se consume en cantidades aproximadas a los 16-25 mg/día (Dajas y col., 2003; Ikizler y col., 2006).

Por otro lado, Inal y Kahraman (2000) estudiaron el efecto de la administración de quercetina (50 mg/kg de peso corporal) antes de un período de exposición a irradiación. Los autores observaron que la exposición de ratas a los rayos ultravioletas les causó un estrés oxidativo, mientras que la quercetina aumentó los niveles de antioxidantes enzimáticos, por lo que concluyen que la quercetina puede ser útil en la prevención de daños fotobiológicos.

Por otro lado, en un ensayo en ratas Sprague-Dawley se midió la capacidad neuroprotectora de un grupo de flavonoides, incluida la quercetina, encontrándose una reducción en las lesiones cerebrales y una mayor capacidad citoprotectora en aquellas ratas que fueron tratadas con dosis de 30 y 50 mg/Kg de quercetina (Dajas y col., 2003)

Además, existen evidencias de que la quercetina inhibe la NADPH citocromo reductasa del sistema de la citocromo P-450 en microsomas hepáticos. Este efecto pudiera impedir las reacciones de biotransformación de fase 1 de una gran diversidad de xenobióticos que emplean esta vía para generar radicales libres (RLs). Debido a que el sistema de citocromo P-450 consiste de una familia de isoenzimas, la eficacia de la inhibición varía enormemente; así, un único flavonoide puede inhibir una isoenzima a bajas concentraciones, pero puede necesitar de concentraciones 100 veces superiores para inhibir otra isoenzima. Además de secuestrar RLs, quelar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides pueden aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como la actividad de enzimas antioxidantes. Al mismo tiempo estos compuestos son capaces de inhibir enzimas involucradas en la generación de ROS (Tenorio y col., 2006).

La ingesta diaria de flavonoides proviene del consumo de cebolla, manzanas, uvas, vino, té, cerezas, jugo de cítricos, especias, entre otras. Aunque es altamente variable, se ha estimado que el consumo de flavonoides totales por día oscila entre 23 y 500 mg de estos fitoquímicos (Tenorio y col., 2006).

II.10 Plantas comestibles del estado de Querétaro.

Resultados previos obtenidos por el grupo de investigación indican que algunas plantas de consumo común en el estado de Querétaro, y que se presentan en el Cuadro 1, se emplean para el tratamiento de ciertas enfermedades (Subías, 2007).

Cuadro 1. Plantas comestibles en el estado de Querétaro

Familia	Nombre científico	Nombre común	Uso
Amaranthaceae	<i>Amaranthus hybridus</i> L	Quelite de pollo	Alimento y medicina
Solaneceae	<i>Physalis philadelphica</i> L	Tomatillo	Alimento
Astereasa	<i>Taraxacum officinale</i>	Diente de León	Alimento y medicina
Polygonaceae	<i>Rumex crispus</i> L	Lengua de vaca	Alimento y medicina
Brassicaceae	<i>Brassica rapa</i> L	Nabo o Mostaza	Alimento y medicina
Asteraceae	<i>Melampodium perfoliatum</i>	Tinajilla o Aguadora	Alimento y medicina
Agavaceae	<i>Yuca filifera</i> Chab.	Palma	Alimento y medicina

II.10.1 *Yuca filifera* Chab “Palma”

La *Yuca filifera* Chab es una planta arborescente, con aspecto de palma, muy ramificada de 12 a 15 m de altura. Las hojas son muy rígidas, de 20 a 60 cm de largo con una espina terminal; las flores de 4 a 6 cm de largo, blancas o de color crema, muy numerosas, agrupadas en una inflorescencia colgante (Figura 3).

Las flores de esta planta se comen preparadas en distintas formas. La planta se localiza en la parte sur de la entidad, desde Pachuca hasta Tizayuca y Apan; asimismo se presenta en el valle del mezquital (Villavicencio, 1995).

Las flores de la *Yuca filifera* Chab se consumen y comercializan en los meses de marzo a mayo en la zona de Pachuca. La palma es polinizada exclusivamente por el insecto *T. yuccasella*. Los frutos maduros tienen un mesocarpio carnoso, amarillo y con semillas negras (Renteria y Cantú, 2003).



Figura 3. Familia Agavaceae, *Yuca filifera* Chab.

Nombre común: Palma

II.10.2 *Amaranthus hybridus* L. "Quelite de pollo".

El *Amaranthus hybridus* L (Figura 4) es originario de México, distribuido también en el viejo mundo. El *Amaranthus hybridus* L habita en climas cálidos, semisecos y templados desde el nivel del mar hasta los 2,600 msnm. Esta planta se encuentra distribuida en casi todo el estado de Querétaro, excepto en los municipios de Colón, Corregidora y Huimilpan. El quelite de pollo se le emplea en casi todo el estado con

frecuencia como forraje para toda clase de animales y como alimento cuando está en estado tierno (Suárez y col., 2004; Rose y col., 2005).

El quelite de pollo es una planta herbácea, erecta, de hasta 1 m de alto; con tallo rojizo, cuadrangular, glabro; las hojas son ovadas, de 2 a 12 cm de largo por 1.5 a 7 cm de ancho, con pequeños tintes rojos. Las flores están agrupadas en espigas paniculadas, de 4 a 12 cm de largo, de color verde, pequeñas y algo espinosas en sus extremos. Los frutos son utrículos dehiscentes (Suárez y col., 2004).



Figura 4. Familia Amaranthaceae, *Amaranthus hybridus* L.

Nombre común: Quelite de pollo

II.10.3 *Melampodium perfoliatum* "Tinaja o Tinajilla"

El *Melampodium perfoliatum* es una planta herbácea, erecta de hasta 1.5 m de alto; con tallo estriado y glabro; las hojas son sésiles abrazando el tallo, rómbico-ovaladas, de 2 a 21 cm de largo por 1 a 1.5 cm de ancho, de borde aserrado. Las

flores están agrupadas en cabezuelas, en los extremos de las ramas, en número de 3 a 5, de color amarillo. Los frutos son aquenios de color café oscuro a negro.

El *Melampodium perfoliatum* (Figura 5) es probablemente de origen americano y se localiza en Chihuahua, Sinaloa, Durango, Nayarit, Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, Estado de México, Morelos, Puebla, Guerrero, Oaxaca, Chiapas y Centroamérica (Suárez y col., 2004).

En el estado de Querétaro, el *Melampodium perfoliatum* se encuentra en los municipios de Landa de Matamoros, San Juan del Río y Pinal de Amoles a altitudes por debajo de las reportadas en el valle de México, de 1,200 a 2,075 msnm, acompañando lo cultivos de maíz y calabaza. En el municipio de Pinal de Amoles, la tinajilla se usa como alimento y se ha reportado su utilización en Brasil contra enfermedades como la malaria (Suárez y col., 2004; Botsaris, 2007).



Figura 5. Familia Asteraceae, *Melempodium perfoliatum*.

Nombre común: Tinaja o Tinajilla

II.10.4 *Taraxacum officinale* "Diente de león"

El *Taraxacum officinale* (Figura 6) es una planta de origen Euroasiática, y en la actualidad es cosmopolita. El diente de león se distribuye ampliamente en el Valle de México, en altitudes de 2,250 a 4,00 msnm. El tamaño de las plantas y de algunas de sus partes varía notablemente con las condiciones ambientales.

En el estado de Querétaro, el *Taraxacum officinale* se localiza en los municipios de Cadereyta, Corregidora, El Marqués, Huimilpan, Pedro Escobedo, Pinal de Amoles y Querétaro. En los municipios de El Marqués y Querétaro, se usa como forraje para borregos y chivos, así como medicina para el tratamiento de la diabetes. Además, el diente de león tiene un historial de uso en la medicina tradicional de los pueblos chino, árabe y nativos americanos, para tratar una variedad de enfermedades principalmente en problemas del hígado, vesícula biliar, se utiliza también contra la nube e inflamaciones oculares, puesto que contiene taraxina; funciona como estomacal, hepática, depurativa, estimulante, diurética y contra afecciones cutáneas y gota (Suárez y col., 2004; Sigstedt y col., 2008).



Figura 6. Familia Asteraceae, *Taraxacum officinale*.

Nombre común: Diente de León

El *Taraxacum officinale* es una planta herbácea, erecta, de hasta 50 cm de alto; con hojas concentradas en la base de la planta, oblongas, profundamente onduladas en el margen, de hasta 40 cm de largo. Las flores están agrupadas en cabezuelas solitarias de color amarillo. Los frutos son aquenios de color café claro, con vilano de cerdas plumosas blancas.

II.10.5 *Brassica rapa* L. "Nabo o Mostaza"

La *Brassica rapa* L. (Figura 7) es una especie de origen Euroasiática, adventicia en América; muy difundida como maleza de los cultivos en los rastrojos. Se encuentra ampliamente difundida en altitudes de 2,250 a 2,950 msnm, es una maleza abundante arvense y ruderal y se usa como alimento para aves domésticas (Suárez y col., 2004).



Figura 7. Familia Brassicaceae, *Brassica rapa* L.
Nombre común: Nabo o Mostaza

En el estado de Querétaro, la *Brassica rapa* L. se localiza en los municipios de Amealco, Colón, Corregidora, El Marqués, Huimilpan, Pedro Escobedo, Pinal de Amoles, Querétaro y San Juan del Río, en altitudes por debajo de las reportadas para el valle de México. Se usa como forraje, para borregos, puercos, y vacas en San Joaquín, Pinal y Huimilpan. En Pedro Escobedo, Amealco, San Joaquín, Huimilpan y Querétaro la usan como alimento cuando está en estado tierno.

La *Brassica rapa* L. es una planta herbácea, erecta de 30 a 120 mm de alto; con tallo pubescente. Las hojas inferiores están divididas, con un lóbulo terminal grande, de 10 a 20 cm de largo; las superiores más pequeñas y enteras. Las flores son pequeñas, con cuatro pétalos de color amarillo. Los frutos son silicuas alargadas de 1 a 1.5 cm, dehiscentes, con varias semillas.

II.10.6 *Rumex crispus* L. "Lengua de vaca"

El *Rumex crispus* L (Figura 8) es una planta originaria de Europa y adventicia en todo el mundo. Se presenta en clima templado en altitudes de 1,950 a 2,500 msnm (Anónimo, 1994). Esta especie se desarrolla por arriba del círculo ártico en Noruega, se extiende arriba de los 65 ° latitud norte en Norteamérica y regiones templadas de Sudamérica, también está presente en Nueva Zelanda, Australia y Asia; al igual que en África en donde la lengua de vaca está ampliamente distribuida por todo el Valle de México en las orillas de arroyos y zanjas en general. En el estado de Querétaro, la lengua de vaca se encuentra en los municipios de Amealco, El Marqués, Colón, Huimilpan, Pedro Escobedo y Querétaro. En el municipio de Huimilpan, la lengua de vaca se utiliza como forraje para borregos; en Pedro Escobedo, la planta se come en estado tierno, además es utilizada en medicina tradicional por su raíz que es estimulante, tónica, astringente o laxante y activadora de secreción biliar. También se puede utilizar contra la calentura y para sanar riñones y heridas. En el estado de Oaxaca se usa para algunos tratamientos empleando las hojas en cataplasmas y aplicándolas localmente (Suárez y col., 2004).

El *Rumex crispus* L o lengua de vaca es una planta herbácea perenne, erecta, de 30 a 150 cm de alto; el tallo es estriado, glabro, poco ramificado; las hojas en la parte basal son lanceolado-oblongas de hasta 30 cm de largo, las hojas superiores son más pequeñas. Las flores están dispuestas en inflorescencia verticiladas, de 10 a 50 cm de largo, de color verdoso, flores de 3 a 5 mm cada una. Los frutos son aquenios de color rojo brillante, de 2 a 3 mm de longitud, de color oscuro brillante (Yildirim y col., 2001; Suárez y col., 2004).

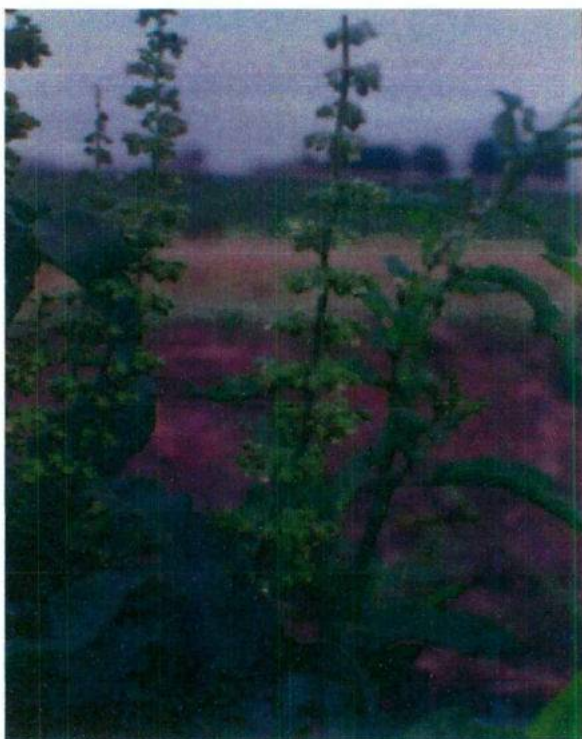


Figura 8. Familia Polygonaceae, *Rumex crispus* L.

Nombre común: Lengua de vaca

II.10.7 *Physalis philadelphica* Lam. "Tomatillo o Tomate de hoja"

La *Physalis philadelphica* Lam. (Figura 9) es una planta nativa de América que se distribuye desde el sur de los Estados Unidos, México y Centro América como maleza común en cultivos de riego. Los frutos se emplean como alimento por el

hombre y los animales silvestres, por lo que se le ha cultivado por mucho tiempo. El follaje tierno es muy apetecido por el ganado y es una especie de fácil control.

En el estado de Querétaro, la planta de *Physalis philadelphica* Lam se encuentra en los municipios de Landa de Matamoros, Pedro Escobedo, Peñamiller, Arroyo Seco y Pinal de Amoles como maleza en los cultivos de maíz, calabaza y girasol. En la zona de Querétaro se usa como alimento. En la región de Norte América es utilizada en forma de salsas y otras comidas (Gu y col., 2003; Suárez y col., 2004).

El tomatillo es una planta herbácea, erecta de 80 cm de tallo grueso angular, con pelos glandulares de color rojizo. Las hojas son ovadas de 2 a 4.5 cm de largo por 1.5 a 3 cm de ancho, pubescentes. Las flores se presentan solitarias o en pares en las axilas de las hojas, de color amarillo con pequeñas manchas moradas en la base, de 1.5 a 2 cm de diámetro. Los frutos son redondos, carnosos, rodeados por cáliz acrescente, de color verde pálido, reticulado (Suárez y col., 2004).



Figura 9. Familia Solaneceae, *Physalis philadelphica* Lam.

Nombre común: Tomatillo o Tomate de hoja

II.11 Inducción de enzimas de fase 2 por extractos de plantas comestibles.

En un estudio previo *in vitro* realizado en células transformadas de hígado de ratón Hepa 1c1c7, los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L y *Brassica rapa* L mostraron tener una actividad inductora sobre QR, una enzima de fase 2. Los extractos metanólicos de las plantas *Amaranthus hybridus* L, *Brassica rapa* L, *Rumex crispus* L y *Yuca filifera* Chab., también mostraron una potencia inductora sobre la actividad de QR. A este respecto, el extracto metanólico de *Amaranthus hybridus* L mostró la mayor potencia inductora, con un incremento altamente significativo (74.3%) con respecto al control.

Existe evidencia de la función protectora del nabo (*Brassica rapa* L) contra el cáncer colorrectal *in vitro*, debido a que ejerce efectos citotóxicos en líneas celulares de cáncer de colon humano. En particular, las brassicas parecen ser una buena fuente de fitoquímicos protectores, encontrándose que los brotes jóvenes de crucíferas contienen de 10 a 100 veces niveles más altos de ciertos glucosinolatos en comparación con plantas maduras. Además, los extractos vegetales de la familia de las Brassicas son potentes inductores de la actividad de QR en células transformadas de hígado de ratón Hepa 1c1c7 (Subías, 2007). Sin embargo, diversos estudios indican que esto depende del método de preparación de los extractos (Gill y col., 2004).

En un estudio donde se evaluó la relación del consumo de vegetales, en particular *Brasicas* con el aumento de la actividad enzimática de GST en colon, el consumo de *Brassica* se asoció positivamente al aumento en la actividad de la enzima GST. En general, el estudio mostró una asociación positiva de los niveles de consumo de frutas y vegetales con la actividad enzimática de GST en colon de rata (Wark y col., 2004).

En estudios *in vivo* realizados por el grupo de trabajo sobre la evaluación de la actividad quimiprotectora de extractos acuosos y metanólicos de plantas medicinales y comestibles en el estado de Querétaro como inductores de enzimas de fase 2, se demostró un aumento aun mayor de las actividades enzimáticas tanto de GST como de QR en la zona distal del colon de ratas Sprague-Dawley después

de la administración gástrica de los extractos de las plantas (*Malva parviflora*, *Nasturtium officinale* R. Br., *Porophyllum tagetoides*, *Chenopodium murale* L., *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh), comparadas con las actividades de los animales del grupo control (sulfurofano), sugiriendo un efecto quimioprotector contra el cáncer colorrectal (Gutiérrez, 2006).

En un estudio realizado *in vitro* en células Hepa 1c1c7 se evaluó la capacidad de extractos de diferentes partes (hojas, frutas) de *Physalis philadelphica* para inducir la actividad enzimática de QR. Además, los extractos también se sometieron a una cromatografía líquida, determinando que el fruto de esta planta contiene ixocarpalactonas y funciona como un agente quimioprotector contra el cáncer. En particular los frutos de *Physalis philadelphica* o tomatillos se utilizaron para inducir la actividad QR y el extracto fue fraccionado. Las fracciones resultaron ser compuestos inductores, en particular elevan las enzimas de fase 2 responsables de la desintoxicación (Kennelly y col., 1997; Gu y col., 2003; Choi y col., 2006).

Hu y Kitts (2003) encontraron que la fracción hidrofóbica de la flor de diente de león (*Taraxacum officinale*) muestra una mayor afinidad a equilibrar los radicales libres y prevenir la oxidación del ADN, por lo que los autores concluyen que la flor diente de león representa una fuente potencial de antioxidantes naturales y materiales bioactivos. Por otro lado, en un estudio *in vitro* se evaluó el efecto antiproliferativo de tres extractos acuosos elaborados a partir de las hojas maduras, las flores y las raíces del diente de león. Los resultados muestran que el extracto crudo de la hoja de diente de león redujo el crecimiento de células del cáncer de mama MCF-7 y MCF-AZ, mientras que los extractos acuosos de las flores y la raíz no tuvieron ningún efecto en el crecimiento de una u otra línea celular (Sigstedt y col., 2008).

La inducción de enzimas detoxificadoras o de fase 2 se ha asociado a la presencia de compuestos fenólicos, los flavonoides, isotiocianatos, dioles, etc. A este respecto, se encontró que el contenido de fenoles totales en los extractos metanólicos fue mayor en *Rumex crispus* L (456 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto), seguido de *Brassica rapa* L (351 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto), *Yuca filifera* Chab (222 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto) y

el extracto de *Amaranthus hybridus* L (155 mg equivalentes de ácido gálico/g del extracto) (Subías, 2007).

En otra investigación, se encontró que el extracto acuoso de *Melampodium perfoliatum* mostró la mayor concentración de fenoles (52.88 ± 0.67 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto); seguido por *Amaranthus hybridus* L (52.33 ± 0.75 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto). Se observó también que el extracto acuoso de *Melampodium perfoliatum* mostró una mayor concentración de flavonoides (51.83 ± 0.10 mg equivalentes de catequina/g de extracto), seguido por *Amaranthus hybridus* L (49.82 ± 1.18 mg equivalentes de catequina/g de extracto) y la especie que resultó con el menor contenido de flavonoides fue *Brassica rapa* L (12.17 ± 0.32 mg equivalentes de catequina/g de extracto) (González, 2007).

Con base en lo expuesto anteriormente, es evidente que las plantas tienen un uso alimenticio y medicinal que ha sido escasamente estudiado. Por lo cual, se decidió profundizar en los estudios en plantas buscando alternativas a los tratamientos de enfermedades crónico degenerativas, como el cáncer y la diabetes. En el presente estudio se evaluó el efecto de extractos acuosos y metanólicos de plantas comestibles a diferentes concentraciones sobre biomarcadores antioxidantes en hígado y colon de ratas Sprague-Dawley, por ser el órgano de desintoxicación principal y el órgano blanco del cáncer de colon, respectivamente. Los resultados se utilizarán para evaluar el efecto quimioprotector de estas plantas en un modelo animal de cáncer colorrectal y seleccionar la planta y la dosis que presente la mayor capacidad para inducir biomarcadores antioxidantes.

III. HIPÓTESIS.

Los extractos acuosos y metanólicos de las plantas comestibles (*Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* Lam, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab.) del estado de Querétaro tiene la capacidad de inducir los niveles de biomarcadores antioxidantes enzimáticos (GPX, GR y GST) y no enzimáticos como GSH en un experimento *in vivo*, debido a su contenido amplio de compuestos fenólicos.

IV. OBJETIVOS.

IV.1 General.

Evaluar el efecto de los extractos acuosos y metanólicos de plantas comestibles sobre biomarcadores antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en el hígado y colon de ratas macho Sprague-Dawley

IV.2 Específicos.

- Determinar el efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos y metanólicos de plantas comestibles sobre los niveles de glutatión reducido (GSH) en el hígado de rata macho Sprague-Dawley.
- Determinar la capacidad inductora de los extractos acuosos y metanólicos de las plantas comestibles bajo estudio sobre la actividad de glutatión S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPX) y quinona reductasa (QR) en el hígado y colon de ratas macho Sprague-Dawley.
- Comparar el efecto de plantas comestibles sobre los biomarcadores antioxidantes en dos zonas del intestino grueso (proximal y distal).
- Identificar las especies comestibles y la dosis que presenten mayor capacidad para inducir biomarcadores antioxidantes en el hígado y colon (proximal y distal) de ratas macho Sprague-Dawley.

V. METODOLOGÍA.

V.1 Materiales.

Reactivos químicos

Los reactivos para las determinaciones enzimáticas tales como ácido 5,5'-ditiobis dinitro benzoico (DTNB), 1-cloro,-2,4-dinitrobenceno (CDNB), quercetina, L-glutación reducido (GSH) 99%, glutación reductasa (GR), dicumarol, flavín adenín-dinucleótido (FAD), glucosa-6-fosfato (G6P), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDh), menadiona, hidroxicumeno, tetrazolium (MTT), nicotín-adenín-difosfato (NADP), Tween 20 y Tritón fueron de la marca Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

Los siguientes solventes y reactivos para las determinaciones enzimáticas como acetona, metanol, acetonitrilo, ácido tricloro-acético (TCA), albúmina bovina sérica (BSA), cloruro de magnesio ($MgCl_2$), cloruro de potasio (KCl), ácido etilén diamino tetra acético (EDTA), etanol 100% puro, hexano, fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4), fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) fueron de la marca J. T Baker (Phillipsburg, NJ, EUA).

El kit para la cuantificación de proteína por el método ácido bicinconínico (BCA) fue de la marca Pierce, Inc (Rockford, IL, EUA)

Reactivos biológicos.

Plantas

Las muestras de cada una de las plantas (*Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* Lam, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab.) se colectaron en los municipios de Pedro Escobedo y Querétaro. Las muestras de referencia de cada una de las plantas se depositaron en el herbario de Querétaro (QMEX), a cargo de la M. en C. Valentina Serrano.

Animales

En el presente trabajo se usaron ratas macho Sprague-Dawley de 80-99 g de peso corporal, los cuales fueron adquiridos en el bioterio de Rismart S. A. de C. V., México. Los animales se sometieron a un proceso de adaptación por una semana con ciclos de luz- oscuridad de 12 horas y temperatura de 25 °C, con un consumo libre de agua y alimento.

V.2 Métodos.

V.2.1 Preparación de los extractos acuosos y metanólicos de las plantas comestibles.

Las plantas (Cuadro 1) se colectaron y clasificaron por la M.C. Valentina Serrano, a cargo del herbario de Querétaro. En la preparación de los extractos metanólicos se utilizó una extracción tipo Soxhlet. Se tomaron 20 g de cada especie y se realizó una maceración primero con hexano, se decantó el hexano y se agregó acetona; al momento que ya no se observó coloración, ésta se retiró y se adicionó metanol. El extracto metanólico se concentró mediante el rotaevaporador hasta sequedad, el residuo resultante se protegió de la luz y guardó a 4 °C.

En cuanto a los extractos acuosos, se pesaron 20 g de la planta seca o del fruto, el cual se molió, posteriormente se hizo una infusión usando agua como disolvente, este proceso se repitió dos veces. El agua se decantó de la planta y se llevó al rotaevaporador para concentrar el extracto hasta un volumen aproximado de 10 mL. Por último, estos extractos se liofilizaron hasta obtener un polvo muy fino. Los procedimientos anteriores se siguieron de acuerdo a las técnicas estandarizadas en el laboratorio de Química de Nutraceúticos a cargo de la Dra. Sandra O. Mendoza Díaz de la Facultad de Química.

V.2.2 Tratamientos.

Se emplearon ratas macho Sprague-Dawley con un peso promedio de 80 - 99 g. Los animales se aclimataron por una semana bajo condiciones controladas de temperatura y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas. Los animales recibieron los extractos metanólicos o acuosos, vía intragástrica en dosis de 50, 100 o 200 mg/kg de peso corporal, cada tercer día por una semana (Cuadro 2). Se incluyó un grupo control negativo al cual se le administró únicamente agua; así como un control positivo, al cual se le administró 40 mg de quercetina/kg de peso corporal, de acuerdo a Inal y Kahraman (2000).

Al final del tratamiento, los animales se anestesiaron con éter etílico y se sacrificaron para extraer el hígado y el colon. Ambos tejidos se lavaron con solución salina estéril y el colon se dividió en colon distal y proximal. Todas las muestras se congelaron con nitrógeno líquido y se almacenaron a -70 °C para su análisis posterior.

Cuadro 2. Diseño experimental.

No. de animales	Planta	Extracto	Concentración mg de extracto/ Kg de peso corporal	Código
3	<i>Amaranthus hybridus L</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3		Acuoso	50	EA50
3		Acuoso	100	EA100
3		Acuoso	200	EA200
3	<i>Physalis philadelphica L</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3		Acuoso	50	EA50
3		Acuoso	100	EA100
3		Acuoso	200	EA200

(Continúa)

No. de animales	Planta	Extracto	Concentración mg de extracto/ Kg de peso corporal	Código
3	<i>Taraxacum officinale</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3		Acuoso	50	EA50
3		Acuoso	100	EA100
3		Acuoso	200	EA200
3	<i>Rumex crispus L.</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3		Acuoso	50	EA50
3		Acuoso	100	EA100
3		Acuoso	200	EA200
3	<i>Brassica rapa L.</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3		Acuoso	50	EA50
3		Acuoso	100	EA100
3		Acuoso	200	EA200
3	<i>Melampodium perfoliatum</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3		Acuoso	50	EA50
3		Acuoso	100	EA100
3		Acuoso	200	EA200
3	<i>Yuca filifera Chab.</i>	Metanólico	50	EM50
3		Metanólico	100	EM100
3		Metanólico	200	EM200
3	Quercetina		40	Control(+)
3	Agua			Control(-)

V.2.3 Preparación de homogenados citosólicos.

Para las determinaciones de GSH, GST y QR en los homogenados citosólicos de hígado y colon, se pesaron 0.5 g de órgano en un tubo cónico, se añadieron 3 mL de solución amortiguadora Tris/Sacarosa (Anexo 1) y se homogenizaron con la ayuda de un polytrón (Kinematica, Suiza). Los homogenados se centrifugaron a 8000 *g* durante 20 min a 4 °C en una centrífuga Universal 32 R (Andreas Hettich GMBH & Co. KG, Alemania). Se recuperó el sobrenadante mediante una pipeta Pasteur y se transfirió a la celda de la ultracentrífuga Beckman Optima L90K (Beckman, EUA). Los tubos se ultracentrifugaron a 4 °C con una velocidad 100,000 *g* durante 1 hora. El sobrenadante o citosol se transfirió a tubos eppendorf y se almacenaron a -70 °C hasta su análisis. Durante todo el procedimiento los tubos y las soluciones se estuvieron a 4 °C en hielo.

Para la determinación de GPX en los homogenados citosólicos de hígado, se pesaron 0.5 g de órgano en un tubo cónico, se añadieron 5 mL de solución amortiguadora fosfatos 50 mM (Anexo 2), que contenía EDTA 0.5 mM, Tritón 0.5% y etanol 0.01 mL/mL, posteriormente se homogenizaron con la ayuda de un polytrón (Kinematica, Suiza). Los homogenados se centrifugaron a 8000 *g* durante 15 min a 4 °C en una centrífuga Universal 32 R (Andreas Hettich GMBH & Co. KG, Alemania). El sobrenadante se colocó en tubos eppendorf y se almacenó a -70 °C hasta su análisis. Todo el tiempo los tubos y las soluciones se mantuvieron a 4 °C.

V.2.4 Cuantificación de proteínas en los homogenados citosólicos.

La cuantificación de proteínas de los homogenados citosólicos se realizó por el método del ácido bicinconínico (BCA), empleando albúmina bovina como estándar. Se realizaron diluciones apropiadas de los citosoles con solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 6.5 (Anexo 3). Posteriormente, se colocaron 50 µL del citosol diluido en placas de 96 pozos (tres pozos por muestra). Se agregaron 250 µL de la solución de trabajo para la determinación de proteína (Anexo 4) en cada pozo. La

placa se incubó una hora a temperatura ambiente o 30 min a 37 °C. Finalmente, las muestras se leyeron en un lector de microplacas modelo Versa Max Turnable Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA) a una longitud de onda de 562 nm. Los resultados se analizaron con el software Pro Ver.4.7.1.

V.2.5 Determinación de la concentración de glutatión reducido (GSH).

La concentración de GSH fue determinada por el metodo de Ellman (1985), basado en la habilidad del grupo SH para reducir ácido 5,5'-ditiobis dinitro benzoico (DTNB) a ácido 5-thio-2-nitrobenzoico (TNB). Los niveles de GSH en las muestras fueron expresadas en μM extrapolando la absorbancia de las muestras en la curva de calibración realizada previamente. Los resultados se expresan en $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína. Para la realización de la curva estándar de GSH, las soluciones se adicionaron en el siguiente orden: Solución amortiguadora TRIS 0.2M, EDTA 0.02 M pH 8.2, TRIS-EDTA (Anexo 5), solución de trabajo inicial para la curva estándar de GSH (Anexo 6), metanol y solución de DTNB 2.46 mM (Anexo 7). La reacción se inició con la adición de este último reactivo y se incubó por 5 min. Las muestras se leyeron inmediatamente por espectofotometría a una longitud de onda de 412 nm a 25 °C en el lector de microplacas modelo Versa Max Turnable Microplate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

Para las muestras se utilizaron citosoles concentrados, a los cuales se les precipitó previamente la proteína con el siguiente procedimiento: En un tubo eppendorf se adicionaron 120 μL de agua destilada, 150 μL de citosol concentrado y 30 μL de TCA al 20% (Anexo 8), a continuación se dejaron reposar por 30 min a 4 °C y luego se centrifugaron a 8000 *g* por 5 min a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante y se colocó en un nuevo tubo eppendorf. De este nuevo tubo se tomaron 50 μL para colocarse en placas de 96 pozos (tres pozos por muestra). Se agregaron además 150 μL de solución amortiguadora TRIS-EDTA, 80 μL de metanol y 20 μL de DTNB, se incubaron 5 minutos y se leyeron inmediatamente con las mismas condiciones utilizadas en la curva estándar.

V.2.6 Determinación de la actividad de glutatión-S-transferasa (GST): CDNB

Este método se basa en la reacción catalizada por esta enzima entre GSH y el sustrato CDNB (1-cloro,-2,4-dinitrobenceno), el cual tiene un amplio intervalo para detectar las diferentes isoenzimas. Una unidad de GST se define como la cantidad de enzima que produce 1 nmol de CDNB-GSH conjugado por minuto (Habig y col., 1974).

De las diluciones de los homogenados citosólicos empleadas para la cuantificación de proteínas, se colocaron 50 μ L en placas de 96 pozos (tres pozos por muestra). Se agregaron 100 μ L de la solución de trabajo de GSH 3 mM (Anexo 9) y en seguida se adicionaron 150 μ L de la solución de trabajo CDNB de 2 mM (Anexo 10) en cada pozo, evitando la formación de burbujas. La formación del conjugado CDNB-GSH por la enzima de GST se monitoreó inmediatamente por espectrofotometría a una longitud de onda de 340 nm a 25 °C en un periodo de 2 min de reacción en el lector de microplacas modelo Versa Max Turnable Microplate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA), obteniéndose lecturas cada 20 segundos. Los resultados se analizaron con el software Pro Ver.4.7.1. La actividad de GST se expresó en nmol de producto formado por mg de proteína por minuto, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{nmol}}{(\text{mg})(\text{min})} = \frac{\Delta (\text{abs min 2} - \text{abs min 1})}{(\text{mg de proteína}) (0.0096)}$$

Donde:

abs min 2: es la absorbancia de la muestra a 340 nm en el min 2 de reacción.

abs min 1: es la absorbancia a 340 nm en el min 1 de reacción.

mg proteína: mg de proteína de la muestra.

0.0096: es el coeficiente de extinción de CDNB ($\mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

V.2.7 Determinación de la actividad de glutatión peroxidasa (GPX).

La actividad de GPX fue medida por el metodo de Plagia y Valentine (1976). Esta basada en la oxidación de GSH a glutatión oxidado (GSSG) catalizado por GPX, completando el ciclo convirtiendo GSSG a GSH utilizando glutatión reductasa y NADPH. Para esta determinación las soluciones se adicionaron en el siguiente orden: se colocaron en placas de 96 pozos (tres pozos por muestra) 100 μL de solución amortiguadora de reacción (Anexo 11), 50 μL cocktail de GSH/GPX (42 mM GSH, 10 unidades/mL de GPX) (Anexo 12), 50 μL muestra y 50 μL NADPH (Anexo 13). Justo antes de realizar la lectura, se adicionaron 50 μL de hidroxicumeno (50 mM) y mezclar bien. Las muestras se leyeron inmediatamente por espectofotometría a una longitud de onda de 340 nm a 25 °C, con una frecuencia de mediciones cada 9 segundos por un tiempo de corrida de 2 min en el lector de microplacas modelo Versa Max Turnable Microplate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

Nota: No debe transcurrir más de 10 segundos entre la adición de hidroxicumeno y la lectura de la muestra en el espectofotómetro.

La actividad de GPX (unidades/mL) se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{nmol}}{(\text{mg})(\text{min})} = \frac{(|\text{Pendiente de la muestra}| - |\text{Pendiente del blanco de reacción}|)}{(0.02018) (\text{mg de proteína})}$$

Donde:

0.02018 es el coeficiente de absortividad molar del NADPH ($\text{nM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

V.2.8 Determinación de la actividad de quinona reductasa (QR).

La formación de 6-fosfogluconolactona mediante la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa genera poder reductor (NADPH), el cual es utilizado por la enzima

QR para reducir al compuesto tetrazolium (MTT), dando como resultado un precipitado azul-café, el cual puede medirse a través de espectrofotometría a 610 nm después de 5 minutos de reacción (Pochaska y col., 1992).

De acuerdo a la concentración de proteína encontrada en el ensayo de glutatión-S-transferasa, se prepararon diluciones de los citosoles de los diferentes tejidos con una concentración de proteína entre 10-40 µg.

Primeramente, se calculó el número de mL de solución amortiguadora de trabajo TRIS 0.025 M, pH 7.4 (Anexo 14) de acuerdo al número de pozos (200 µL/pozo). Para cada 15 mL de solución amortiguadora de trabajo se adicionaron los siguientes cofactores: 10 µL de FAD (6.2 mg/mL), 9 µL de NADP (38.3 mg/mL), 100 µL de G6P (42.3 mg/mL), 30 unidades de G6PD y 4.5 mg de MTT. Inmediatamente antes de la reacción, se adicionaron 15 µL de menadiona en acetonitrilo (8.6 mg/mL) a los 15 mL de la solución amortiguadora anterior.

Se tomarán 50 µL de citosol diluido por pozo y se colocaron en placas de 96 pozos (tres pozos por muestra). Se agregaron 200 µL de solución amortiguadora de trabajo y la reacción se detuvo a los 5 min con 50 µL de 4 mL de una solución amortiguadora de fosfatos 0.025 mM (pH 7.4) conteniendo 2 µL de dicumarol preparado en NaOH 0.1 N a una concentración de 20 mg/mL. La placa se midió a los 5 min por espectrofotometría a una longitud de onda de 610 nm a 25 °C en el lector de microplacas modelo Versa Max Turnable Microplate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

Los resultados se analizaron con el software Pro Ver.4.7.1. y se realizaron los cálculos correspondientes empleando la siguiente fórmula. Los resultados se expresaron en nmol de producto formado por mg proteína por min.

$$\frac{\text{nmol}}{(\text{mg})(\text{min})} = \frac{A_{610}}{(\text{mg de proteína}) (0.1833)}$$

Donde:

A : es la absorbancia de la muestra a 610 nm;

mg de proteína: son los mg de proteína en la muestra.

0.1833: es la relación entre el coeficiente de extinción y los 5 min de reacción ($\text{nM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

V.2.9 Análisis estadístico.

Los resultados se expresaron como la media $\pm$ el error estándar (EE) y se evaluaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), seguido de la prueba de Dunnet o Dunn para la comparación entre los grupos tratados con cada extracto y el grupo control (negativo). La prueba de Tukey se empleó para la comparación de medias entre los grupos tratados con los diferentes extractos y el control positivo. La prueba de t-student se empleó en la comparación de un grupo en particular contra el control negativo. En todos los casos, se empleó un nivel de significancia de $P < 0.05$. Los análisis fueron realizados en el programa estadístico Sigma Stat versión 2.0 (1992 - 1997).

VI. RESULTADOS.

VI.1. Concentración de glutatión reducido y actividad enzimática en ratas tratadas con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*.

VI.1.1. Concentración de glutatión reducido (GSH) en hígado.

Un componente importante para detener daño oxidativo es el sistema antioxidante del glutatión, el cual mediante las enzimas óxido-reductasas y transferasas, protege a las células de las sustancias oxidantes de origen endógeno y exógeno. El GSH participa como co-factor en múltiples reacciones del metabolismo animal, vegetal y en el transporte de aminoácidos hacia el interior de la célula. La conjugación con glutatión es con frecuencia un proceso muy importante en la desintoxicación de diferentes compuestos (García, 2004).

En la Figura 10 se puede observar el efecto de la administración intragástrica de extractos de diferentes plantas a tres distintas dosis en la concentración de GSH en hígados de ratas Sprague-Dawley. El aumento en la concentración de GSH muestra una diferencia significativa con respecto al control negativo en los homogenados citosólicos de hígado de las ratas tratadas con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Taraxacum officinale* (diente de león) y *Brassica rapa* L (nabo). El grupo de la quercetina (control positivo) mostró un incremento estadísticamente significativo (2.5 veces) comparado con el control negativo ($P < 0.05$). Con respecto al quelite de pollo, las dosis de 50 y 100 mg de extracto/kg (mg/Kg) de peso corporal incrementaron la concentración de GSH en un 159 y 238 %, respectivamente. Las tres dosis del extracto de diente de león aumentaron significativamente la concentración de GSH en 369 % para 50 mg/Kg, 343% para 100 mg/Kg y 324 % 200 mg/Kg. Por último, la tinajilla en las dosis de 50 y 200 mg/Kg incrementó significativamente la concentración en 3.1 y 2.4 veces, respectivamente ($P < 0.05$). Los resultados de la concentración de GSH se

muestran como la media $\pm$ el error estándar (EE) y los valores se presentan en el Cuadro 3.

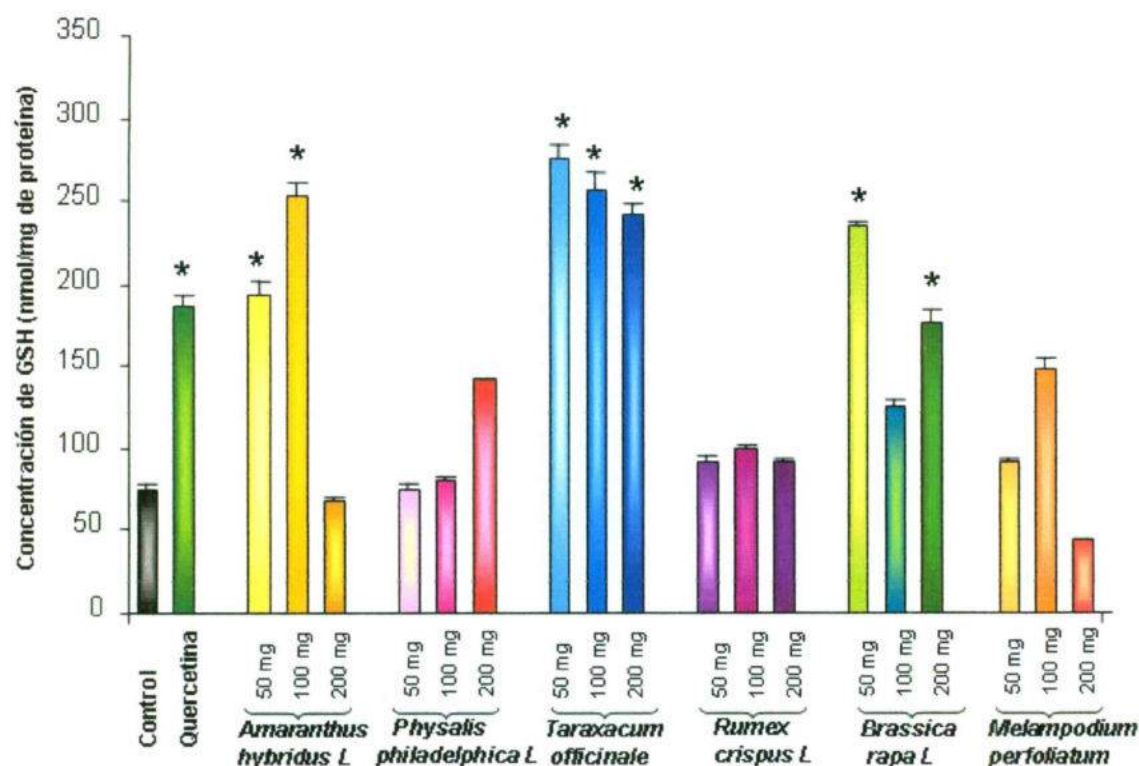


Figura 10. Concentración de GSH en el hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

VI.1.2. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en hígado.

La GST representa una familia multifuncional de enzimas que están involucradas básicamente en los procesos de defensa contra el estrés tóxico y oxidativo en los tejidos, incluyendo un grupo de proteínas que participa en los eventos de desintoxicación de una amplia variedad de compuestos de origen biológico y químico. La reacción principal catalizada por las GSTs es la conjugación del glutatión (γ -L-glutamyl-L-cisteinyl-glicina, GSH) con una amplia variedad de compuestos electrofílicos exógenos o endógenos. De esta forma, las enzimas GSTs neutralizan los sitios activos del electrófilo y generan productos más hidrosolubles y, por lo tanto, más fácilmente excretables (García, 2004).

En la Figura 11 se puede observar el efecto de la administración de los extractos acuosos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST en el hígado de ratas Sprague-Dawley. Los extractos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Physalis philadelphica* L (tomatillo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla) incrementaron significativamente la actividad enzimática de GST. A este respecto, las tres dosis de los extractos anteriormente mencionados, a excepción del de tinajilla, incrementaron significativamente la actividad enzimática de GST, siendo los extractos de 50, 100 y 200 mg/Kg de diente de león los que mostraron un incremento estadísticamente mas alto en 2.5, 3.2 y 2.3 veces, respectivamente ($P < 0.05$), con respecto al control negativo. Por otro lado, únicamente la dosis de 200 mg/Kg del extracto de tinajilla incrementó (80%) la actividad enzimática. Por el contrario, el grupo control positivo no mostró diferencia estadísticamente significativa comparado con el control negativo. Los resultados de la actividad enzimática de GST se muestran como la media $\pm$ EE y los valores se presentan en el Cuadro 3.

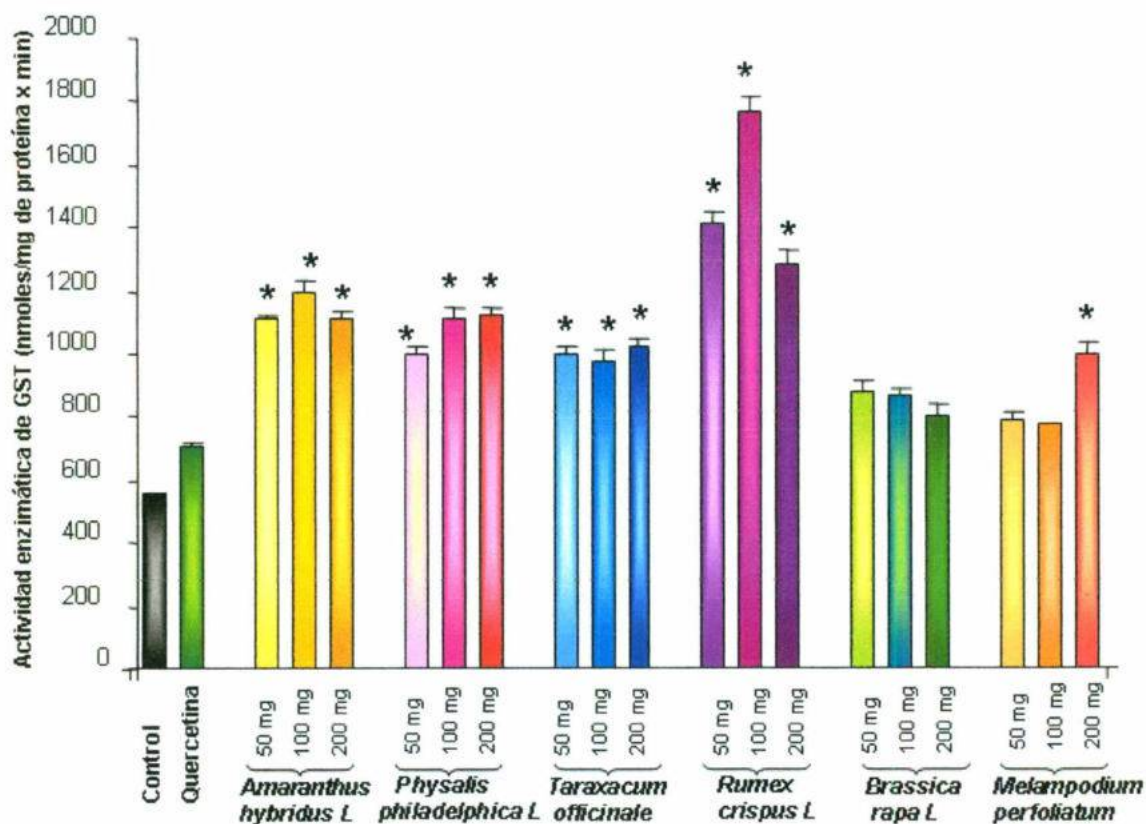


Figura 11. Actividad enzimática de GST en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

VI.1.3. Actividad enzimática de glutatión peroxidasa (GPX) en hígado.

La glutatión peroxidasa es una de las enzimas que participan en las transformaciones de especies reactivas del oxígeno, catalizando la reducción del peróxido o lipoperóxido, utilizando como agente reductor al glutatión reducido. Esta enzima desempeña un importante papel en la defensa antioxidante por su localización en todos los órganos y tejidos, como parte del sistema antioxidante del glutatión. El método para determinar la actividad enzimática está basado en la oxidación de glutatión (GSH) a glutatión oxidado (GSSG) catalizado por GPX, el cual es nuevamente reciclado a GSH por la glutatión reductasa (GR) y NADPH.

En la Figura 12 se observa un incremento estadísticamente significativo de la actividad enzimática de GPX, con respecto al grupo control negativo, en los homogenados de hígado de los animales tratados con los extractos *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Brassica rapa* L (nabo) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla). El extracto de quelite de pollo incrementó significativamente la actividad de GPX en 1.4 y 1.3 veces a las dosis de 50 y 100 mg/Kg, respectivamente, en comparación con el control negativo ($P < 0.05$). Similarmente, los extractos de diente de león (50 mg/Kg) y *Brassica rapa* (100 y 200 mg/Kg) incrementaron la actividad enzimática en 1.6, 1.5 y 1.4 veces, respectivamente; mientras que las mismas dosis de *Melampodium perfoliatum* (100 y 200 mg/Kg) incrementaron 1.3 y 1.4 veces la actividad de GPX con respecto al control negativo. Los resultados de la actividad enzimática de GPX se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y los valores se presentan en el Cuadro 3.

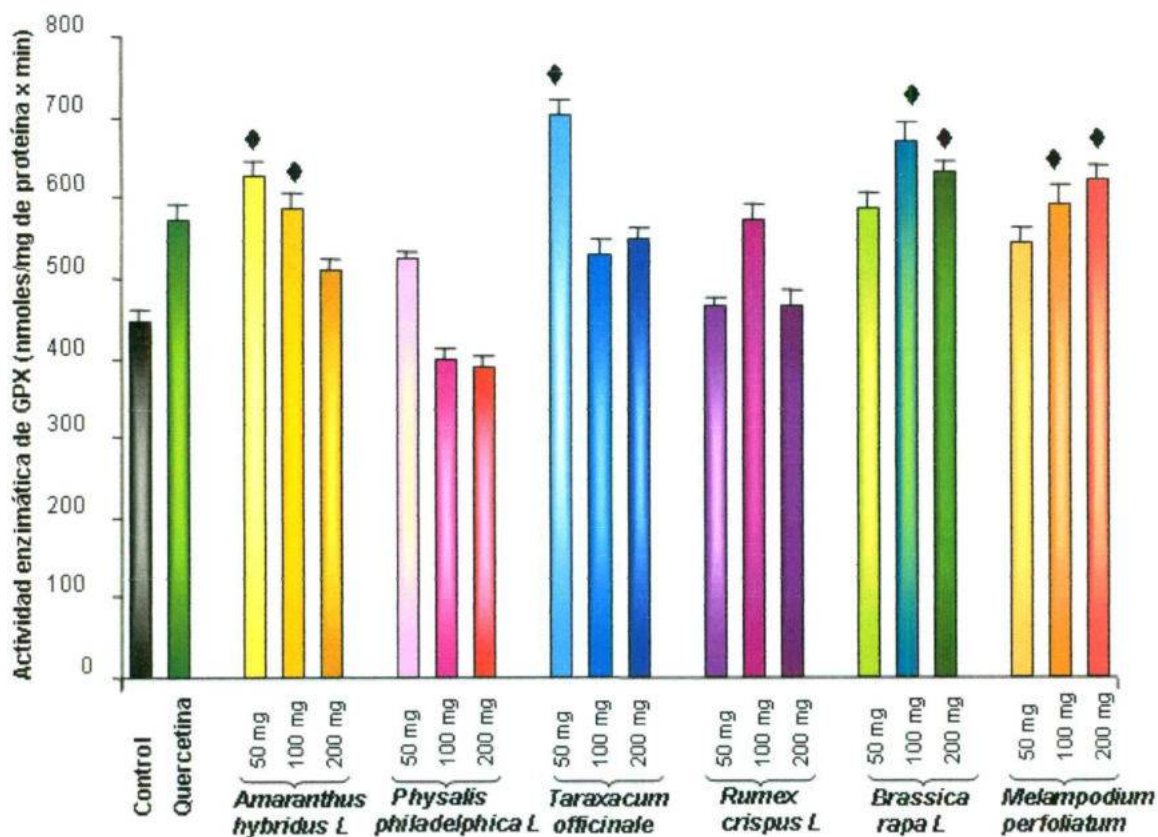


Figura 12. Actividad enzimática de GPX en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

VI.1.4. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en hígado.

Quinona reductasa cataliza la reducción de dos electrones de quinonas y sus derivados a hidroquinonas, con lo cual protege a la célula de daño electrofílico (Sasaki y col., 2005).

En la Figura 13 se observa el efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de diferentes plantas comestibles sobre la actividad enzimática de QR en hígados de ratas Sprague-Dawley. Los resultados demuestran una inducción significativa de la actividad enzimática QR, con respecto al control negativo, en los homogenados citosólicos de hígado de las ratas que fueron tratadas con los extractos acuosos de *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla). El control positivo tuvo un incremento estadísticamente significativo de 148 % con respecto al control negativo. Las dosis de 100 y 200 mg/Kg del extracto de *Taraxacum officinale* aumentaron significativamente la actividad de QR 1.4 y 1.5 veces, respectivamente ($P < 0.05$). El extracto de *Rumex crispus* L incrementó significativamente y de manera dosis-dependiente la actividad de la enzima QR en un 121, 183 y 251% a las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg, respectivamente. Asimismo, el extracto de *Melampodium perfoliatum* mostró un aumento de QR con las dosis de 100 y 200 mg/Kg de 1.2 y 4.6 veces con respecto al control ($P < 0.05$). Los resultados de la actividad enzimática de QR se muestran como la media $\pm$ EE de cada extracto utilizado en el estudio y se presentan en el Cuadro 3.

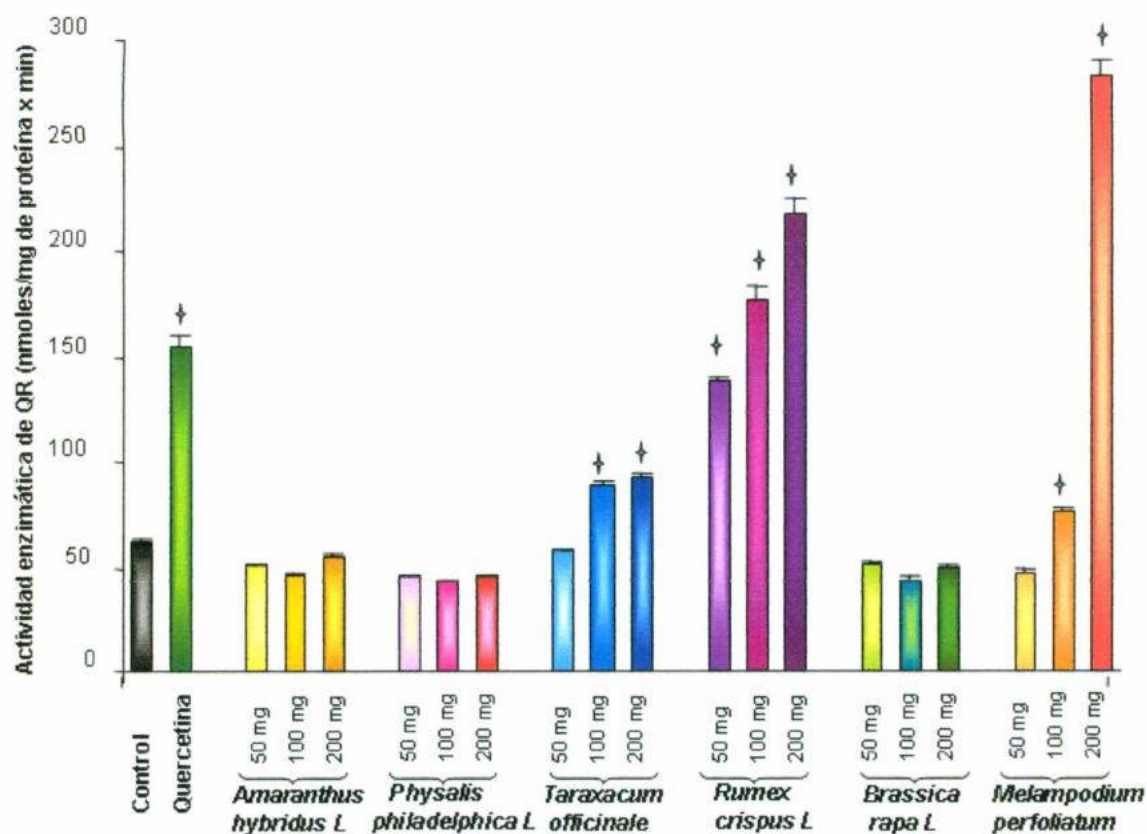


Figura 13. Actividad enzimática de QR en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

✦ Indica diferencia estadística significativa de la media de una dosis en un grupo con respecto a la media del control negativo de acuerdo a la prueba de t ($P < 0.001$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

Cuadro 3. Efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de plantas comestibles sobre la concentración de

GSH y la actividad enzimática de GST, GPX y QR en el hígado de ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Glutatión reducido (nmol/mg de proteína)	Glutatión-S-transferasa (nmol/mg de proteína/min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína/min)	Glutatión peroxidasa (nmol/mg de proteína/min)
Control Negativo	74.81 ± 2.81	556.32 ± 10.03	62.26 ± 1.89	443.94 ± 18.41
Quercetina 40 mg/Kg	187.63 ± 4.84 *	701.66 ± 18.19	154.29 ± 5.18 *	573.09 ± 17.33 *
<i>A. hybridus</i> L 50 mg/Kg	193.74 ± 6.88 *	1109.36 ± 18.27 *	50.80 ± 0.61	624.42 ± 20.15 *
100 mg/Kg	252.84 ± 7.04 *	1190.48 ± 40.26 *	45.88 ± 1.02	585.82 ± 21.46 *
200 mg/Kg	67.10 ± 2.78	1111.21 ± 26.63 *	54.82 ± 0.79	509.12 ± 15.57
<i>P. philadelphica</i> L 50 mg/Kg	75.18 ± 2.94	999.23 ± 28.06 *	45.02 ± 0.84	524.47 ± 10.38
100 mg/Kg	79.81 ± 2.96	1115.34 ± 29.53 *	42.93 ± 1.58	396.36 ± 14.16
200 mg/Kg	141.18 ± 1.54	1116.40 ± 25.92 *	44.55 ± 1.46	390.00 ± 13.82
<i>T. officinale</i> 50 mg/Kg	276.06 ± 7.87 *	997.63 ± 23.50 *	57.57 ± 1.29	702.16 ± 20.46 *
100 mg/Kg	256.28 ± 11.82 *	975.36 ± 32.82 *	89.90 ± 1.29 *	530.21 ± 18.32
200 mg/Kg	242.66 ± 5.06 *	1022.00 ± 24.14 *	93.13 ± 1.81 *	547.43 ± 13.78
<i>R. crispus</i> L 50 mg/Kg	91.42 ± 3.46	1413.38 ± 38.60 *	137.57 ± 1.76 *	463.54 ± 13.66
100 mg/Kg	99.23 ± 2.14	1770.12 ± 43.68 *	176.39 ± 6.44 *	570.15 ± 21.75
200 mg/Kg	90.77 ± 2.21	1285.41 ± 44.02 *	218.54 ± 6.30 *	465.80 ± 19.54

(Continúa)

Tratamiento	Glutatión reducido (nmol/mg de proteína)	Glutatión-S-transferasa (nmol/mg de proteína/min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína/min)	Glutatión peroxidasa (nmol/mg de proteína/min)
<i>B. rapa L</i>				
50 mg/Kg	234.48 ± 3.23 *	874.22 ± 36.36	51.59 ± 0.38	585.31 ± 21.98
100 mg/Kg	125.22 ± 4.71	866.99 ± 18.03	44.48 ± 1.69	667.69 ± 24.63 ♦
200 mg/Kg	176.87 ± 8.19 *	808.74 ± 35.07	49.10 ± 1.15	628.74 ± 15.81 ♦
<i>M. perfoliatum</i>				
50 mg/Kg	91.62 ± 1.27	793.10 ± 18.72	46.86 ± 2.20	541.08 ± 20.41
100 mg/Kg	148.87 ± 6.20	778.51 ± 6.46	76.51 ± 1.89 ♦	592.43 ± 23.31 ♦
200 mg/Kg	43.48 ± 1.63	1004.67 ± 34.72 *	284.33 ± 7.34 ♦	618.61 ± 22.83 ♦

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$).

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$).

✦ Indica diferencia estadística significativa con respecto a la media del control negativo de acuerdo a la prueba de t ($P < 0.001$). El Cuadro muestra la media de los experimentos ± error estándar (EE) de cada grupo.

VI. 2. Concentración de glutatión reducido y actividad enzimática en ratas tratadas con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab.

VI.2.1. Concentración de glutatión reducido (GSH) en hígado.

En la Figura 14 se puede observar el efecto de diferentes dosis de los extractos metanólicos en la concentración de glutatión reducido en el hígado de ratas Sprague-Dawley. El aumento en la concentración de GSH muestra una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo en los homogenados citosólicos de hígado de los animales que fueron tratados con los extractos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Physalis philadelphica* L (tomatillo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca), *Melampodium perfoliatum* (tinajilla) y *Yuca filifera* Chab (palma). El tratamiento con quercetina (40 mg/Kg) incrementó significativamente 2.5 veces los niveles de GSH ($P < 0.05$). El extracto metanólico de *A. hybridus* L a las tres dosis (50, 100 y 200 mg/kg de peso corporal) incrementó significativamente la concentración de GSH en 2.3, 3.9 y 3.3 veces, respectivamente ($P < 0.05$). Las dosis de 50 y 100 mg/Kg del extracto de *P. philadelphica* L incrementaron en un 222.8 y 106.5%, respectivamente, la concentración de GSH. Las tres dosis de *T. officinale* elevaron significativamente la concentración en 3.8, 3.7 y 2.6 veces ($P < 0.05$). La dosis de 50 mg/Kg de *R. crispus* aumentó 2.5 veces la concentración de GSH ($P < 0.05$). En el caso de *M. perfoliatum*, las dosis de 50 y 100 mg/Kg incrementaron significativamente la concentración de GSH en 3.0 y 2.8 veces, respectivamente ($P < 0.05$); mientras que la dosis de 100 mg/kg de *Y. filifera* mostró un aumento significativo de 2.1 veces ($P < 0.05$), con respecto al control negativo. Los resultados de la concentración de GSH se muestran como la media $\pm$ EE y los valores se presentan en el Cuadro 4.

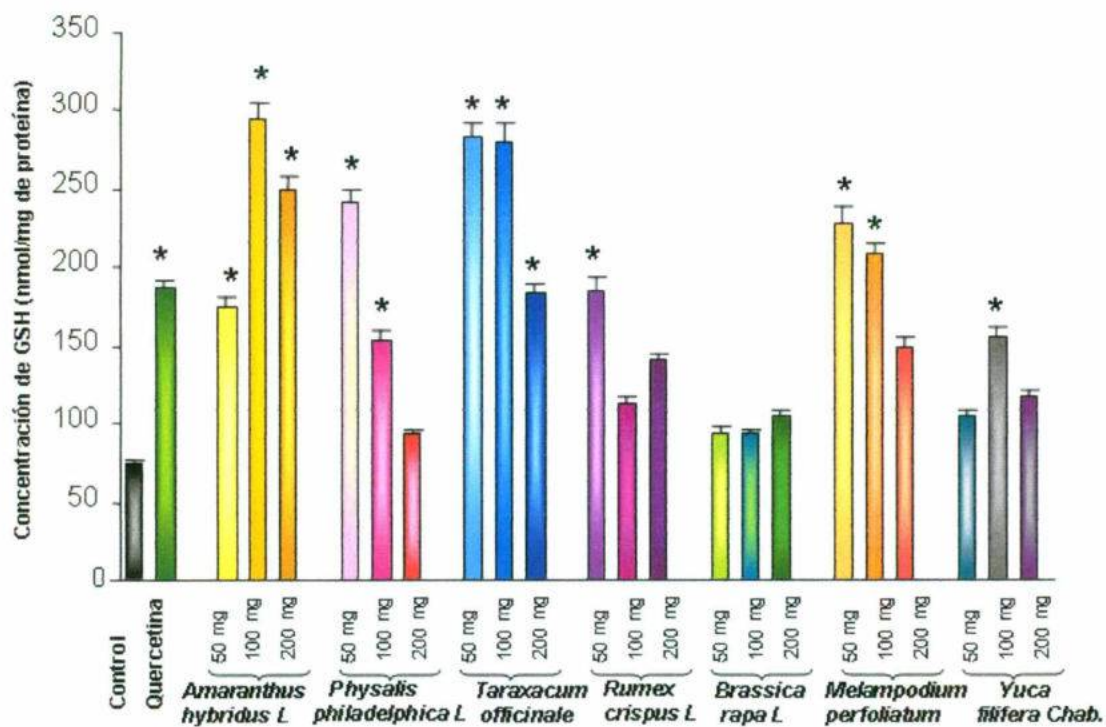


Figura 14. Concentración de GSH en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

VI.2.2. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en hígado.

En la Figura 15 se muestra los resultados de la actividad enzimática de glutatión-S-transferasa en el hígado de ratas Sprague-Dawley. El incremento en la actividad enzimática de GST muestra una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo en los homogenados citosólicos de hígado de los animales que fueron tratados durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Physalis philadelphica* L (tomatillo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Brassica rapa* L (nabo) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla).

Aunque no estadísticamente significativo, el grupo control positivo incrementó 1.3 veces la actividad de GST con respecto al control negativo ($P < 0.05$). Ambas dosis de 50 y 200 mg/Kg del extracto de *A. hybridus* L incrementaron significativamente la actividad enzimática de GST en 1.9 veces ($P < 0.05$). La dosis de 100 mg/Kg de *P. philadelphica* L y de *M. perfoliatum* aumentaron significativamente la actividad alrededor del 90% ($P < 0.05$). Para los extractos de *T. officinale* y *B. rapa*, las tres dosis incrementaron significativamente la actividad enzimática, siendo mayor para todas las dosis de *B. rapa* (160, 203, y 166 %, respectivamente).

Los resultados de la actividad enzimática de GST se muestran como la media $\pm$ EE y los valores se presentan en el Cuadro 4.

VI.2.3. Actividad enzimática de glutatión peroxidasa (GPX) en hígado.

En la Figura 16 se observa la actividad enzimática de GPX en el hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los diferentes extractos de las plantas en estudio. Los resultados muestran un incremento estadísticamente significativo con respecto al grupo control negativo en los homogenados de hígado de los animales tratados con los extractos *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Physalis philadelphica* L (tomatillo), *Rumex crispus* L (lengua de vaca), *Brassica rapa* L (nabo), *Melampodium perfoliatum* (tinajilla) y *Yuca filifera* Chab (palma). El tratamiento con quercetina (40 mg/kg) incrementó significativamente la actividad enzimática de GPX 1.3 veces respecto al control negativo ($P < 0.05$).

Las dosis de 50 y 200 mg/Kg del extracto metanólico del quelite de pollo incrementaron significativamente la actividad enzimática de GPX en 1.2 y 1.4 veces, respectivamente ($P < 0.05$). El extracto de tomatillo en las dosis de 100 y 200 mg/Kg aumento la actividad enzimática en 39 y 33% respectivamente.

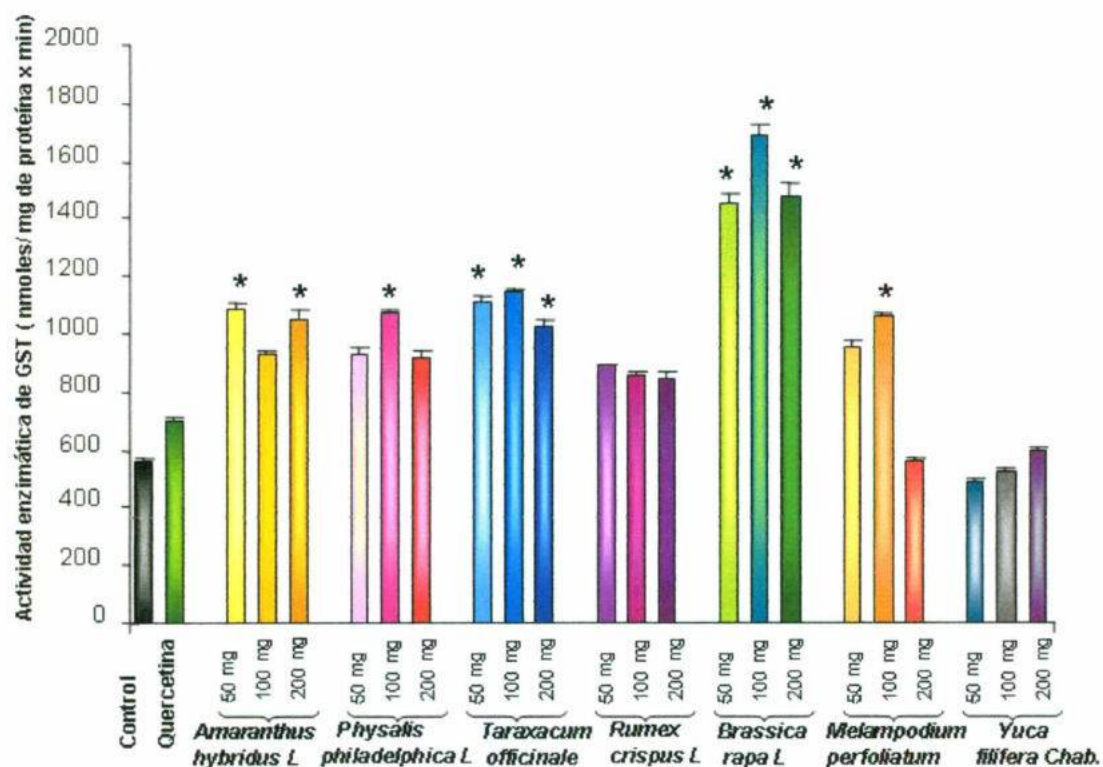


Figura 15. Actividad enzimática de GST en el hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus L.*, *Physalis philadelphica L.*, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus L.*, *Brassica rapa L.*, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera Chab.* Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

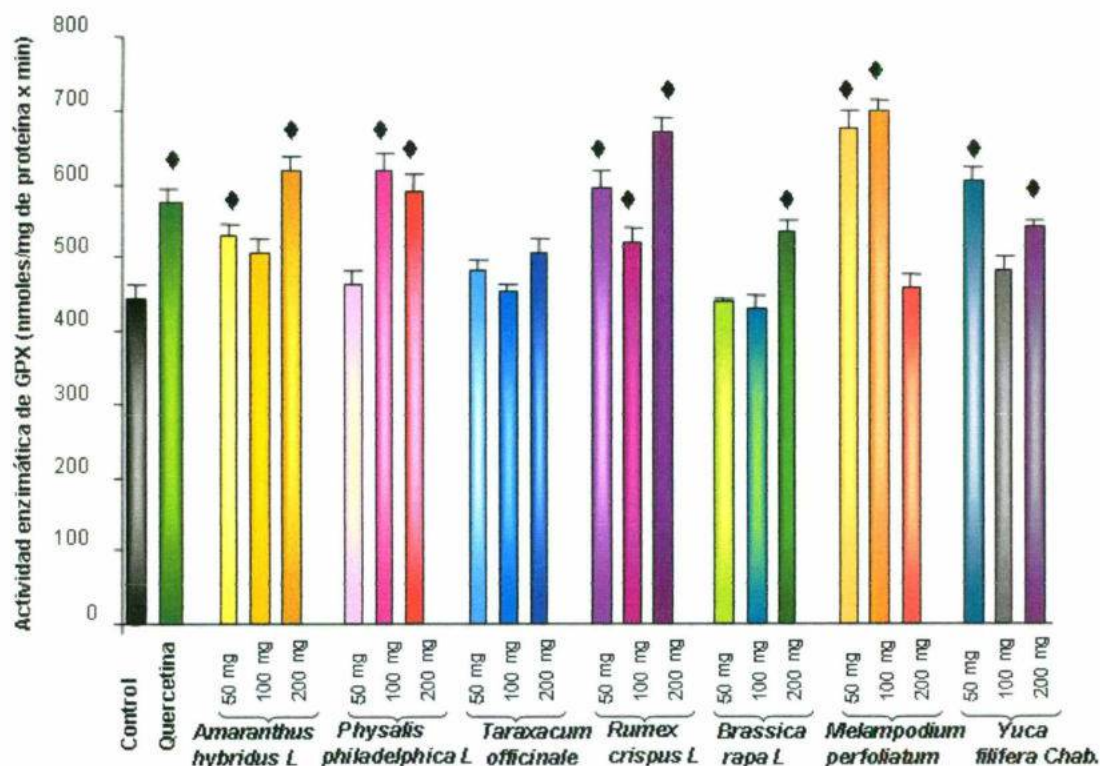


Figura 16. Actividad enzimática de GPX en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

De igual manera animales que fueron tratados con los extractos metanólicos de lengua de vaca incrementaron en 1.3, 1.1 y 1.5 veces ($P < 0.05$) la actividad enzimática de GPX a las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg, respectivamente. La dosis de 200 mg/kg del extracto de nabo elevó significativamente la actividad enzimática de GPX en 1.2 veces ($P < 0.05$) respecto al control. La tinajilla incrementó significativamente la actividad enzimática en un 51 y 57% con respecto al control a las dosis de 50 y 100 mg/Kg, respectivamente. En cuanto al extracto de palma, las dosis de 50 y 200 mg/Kg incrementaron la actividad enzimática en un 35 y 21%, respectivamente. El grupo identificado como control positivo (quercetina, 40 mg/kg) aumentó significativamente la actividad de GPX en 1.3 veces ($P < 0.05$) respecto al control negativo. Los resultados de la actividad enzimática de GPX se muestran como la media $\pm$ EE y los valores se presentan en el Cuadro 4.

VI.2.3. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en hígado.

En la Figura 17 se observa el efecto de la administración intragástrica de diferentes extractos metanólicos sobre la actividad enzimática de QR en hígados de ratas Sprague-Dawley. El incremento en la actividad de QR muestra una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo únicamente en los homogenados citosólicos de hígado de las ratas tratadas con los extractos metanólicos de *Brassica rapa L* (nabo), observándose un incremento de 2.1, 2.0 y 1.7 veces para las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg, respectivamente ($P < 0.05$). El grupo de quercetina (control positivo) incrementó significativamente la actividad enzimática de QR en un 148% ($P < 0.05$).

Los resultados de la actividad enzimática de QR se muestran como la media $\pm$ EE de cada extracto utilizado en el estudio y se presentan en el Cuadro 4.

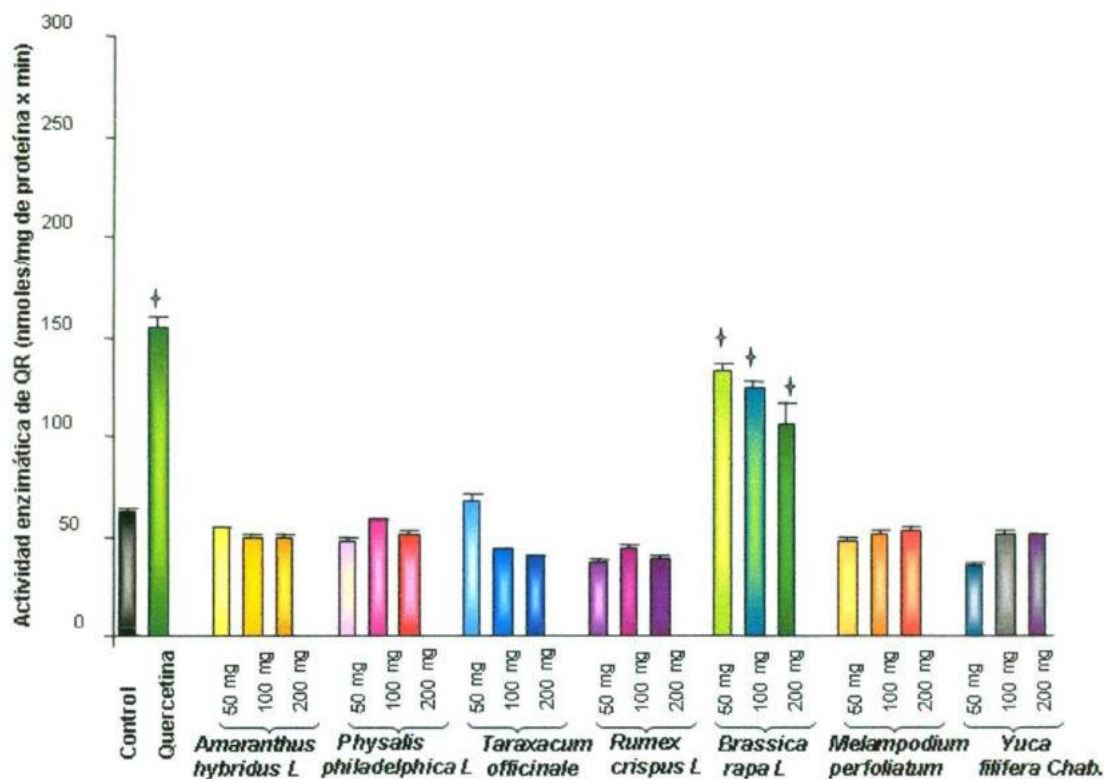


Figura 17. Actividad enzimática de QR en hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

† Indica diferencia estadística significativa de la media de una dosis en un grupo con respecto a la media del control negativo de acuerdo a la prueba de t ($P < 0.001$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

Cuadro 4. Efecto de la administración intragástrica de los extractos metanólicos de diferentes plantas comestibles sobre la concentración de GSH y actividad enzimática de GST, GPX y QR en el hígado de ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Glutatión reducido (nmol/mg de proteína)	Glutatión-S-transferasa (nmol/mg de proteína·min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína·min)	Glutatión peroxidasa (nmol/mg de proteína·min)
Control Negativo	74.81 ± 2.81	556.32 ± 10.03	62.26 ± 1.89	443.94 ± 18.41
Quercetina				
40 mg/Kg	187.63 ± 4.84 *	701.66 ± 18.19	154.291 ± 5.18 *	573.09 ± 17.33 *
<i>A. hybridus</i> L				
50 mg/Kg	174.52 ± 5.91 *	1081.30 ± 20.98 *	53.90 ± 1.14	529.55 ± 13.37 *
100 mg/Kg	294.40 ± 10.34 *	929.84 ± 14.95	49.65 ± 1.66	505.92 ± 17.45
200 mg/Kg	250.12 ± 8.57 *	1051.90 ± 27.11 *	49.76 ± 1.711	615.93 ± 21.69 *
<i>P. philadelphica</i> L				
50 mg/Kg	241.55 ± 7.25	932.82 ± 22.56	46.98 ± 1.33	461.97 ± 17.88
100 mg/Kg	154.55 ± 4.56	1076.41 ± 11.54 *	57.43 ± 0.47	617.69 ± 21.75 *
200 mg/Kg	93.30 ± 2.92	919.92 ± 22.48	51.75 ± 1.80	589.03 ± 21.69 *
<i>T. officinale</i>				
50 mg/Kg	283.62 ± 8.67 *	1102.98 ± 23.60 *	67.16 ± 2.94	482.03 ± 14.54
100 mg/Kg	280.06 ± 12.13 *	1137.47 ± 13.87 *	43.30 ± 1.18	451.38 ± 13.20
200 mg/Kg	184.23 ± 5.39 *	1026.48 ± 16.17 *	39.42 ± 1.34	507.14 ± 18.13
<i>R. crispus</i> L				
50 mg/Kg	186.18 ± 7.18 *	890.46 ± 8.19	36.11 ± 1.20	591.37 ± 23.09 *
100 mg/Kg	112.65 ± 4.93	854.07 ± 17.69	43.77 ± 1.69	522.28 ± 17.07 *
200 mg/Kg	141.53 ± 3.72	849.51 ± 19.44	38.46 ± 0.94	669.01 ± 21.18 *

(Continúa)

Tratamiento	Glutatión reducido (nmol/mg de proteína)	Glutatión-S-transferasa (nmol/mg de proteína/min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína/min)	Glutatión peroxidasa (nmol/mg de proteína/min)
<i>B. rapa</i> L				
50 mg/Kg	94.69 ± 3.49	1451.40 ± 41.17 *	132.06 ± 4.96 †	437.36 ± 8.30
100 mg/Kg	93.54 ± 2.94	1686.88 ± 33.82 *	123.20 ± 3.94 †	429.03 ± 16.75
200 mg/Kg	104.66 ± 4.75	1480.84 ± 39.33 *	105.63 ± 10.73 †	534.77 ± 12.82 †
<i>M. perfoliatum</i>				
50 mg/Kg	229.41 ± 9.06 *	954.86 ± 18.64	47.12 ± 1.81	673.34 ± 25.09 †
100 mg/Kg	208.91 ± 6.12 *	1055.92 ± 14.25 *	51.63 ± 0.85	697.10 ± 15.69 †
200 mg/Kg	149.27 ± 6.34	562.84 ± 8.29	52.97 ± 1.91	459.78 ± 17.89
<i>Y. filifera</i> Chab.				
50 mg/Kg	104.27 ± 4.54	491.56 ± 11.83	35.07 ± 0.92	600.59 ± 21.95 †
100 mg/Kg	155.80 ± 5.56 *	527.51 ± 8.76	51.53 ± 1.09	481.85 ± 17.48
200 mg/Kg	117.41 ± 4.88	590.57 ± 15.27	50.70 ± 1.10	537.44 ± 14.09 †

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$).

† Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$).

‡ Indica diferencia estadística significativa con respecto a la media del control negativo de acuerdo a la prueba de t ($P < 0.001$). El Cuadro muestra la media de los experimentos ± error estándar (EE) de cada grupo.

VI.3. Actividad enzimática en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*.

VI.3.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon proximal.

En la Figura 18 se puede observar el efecto de la administración de diferentes dosis de los extractos acuosos de plantas sobre la actividad enzimática de glutatión-S-transferasa en colon proximal de ratas Sprague-Dawley. Los extractos de *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca), *Brassica rapa* L (nabo) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla) mostraron un incremento estadísticamente significativo en la actividad enzimática de GST, con respecto al control negativo, en los homogenados citosólicos del colon proximal de los animales tratados durante una semana con distintas dosis de los extractos acuosos. La quercetina incrementó significativamente (110%) la actividad enzimática de GST con respecto al control negativo. En cuanto a los extractos acuosos, las tres dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg del diente de león incrementaron significativamente la actividad de GST en un 116, 112 y 87 %, respectivamente ($P < 0.05$). Asimismo, el extracto de lengua de vaca a las dosis de 50 y 100 mg/Kg aumentó la actividad enzimática de GST en 2.5 y 1.8 veces, respectivamente ($P < 0.05$). En los animales tratados con los extractos de nabo, las dosis de 100 y 200 mg/Kg elevaron significativamente la actividad de GST 2.0 y 2.6 veces, respectivamente, respecto al control negativo ($P < 0.05$); mientras que el extracto de tinajilla en sus dosis de 100 y 200 mg/Kg elevó la actividad enzimática en 132 y 89%, respectivamente, comparado con el control negativo. Los resultados de la actividad enzimática de GST se muestran como la media $\pm$ EE y los valores se presentan en el Cuadro 5.

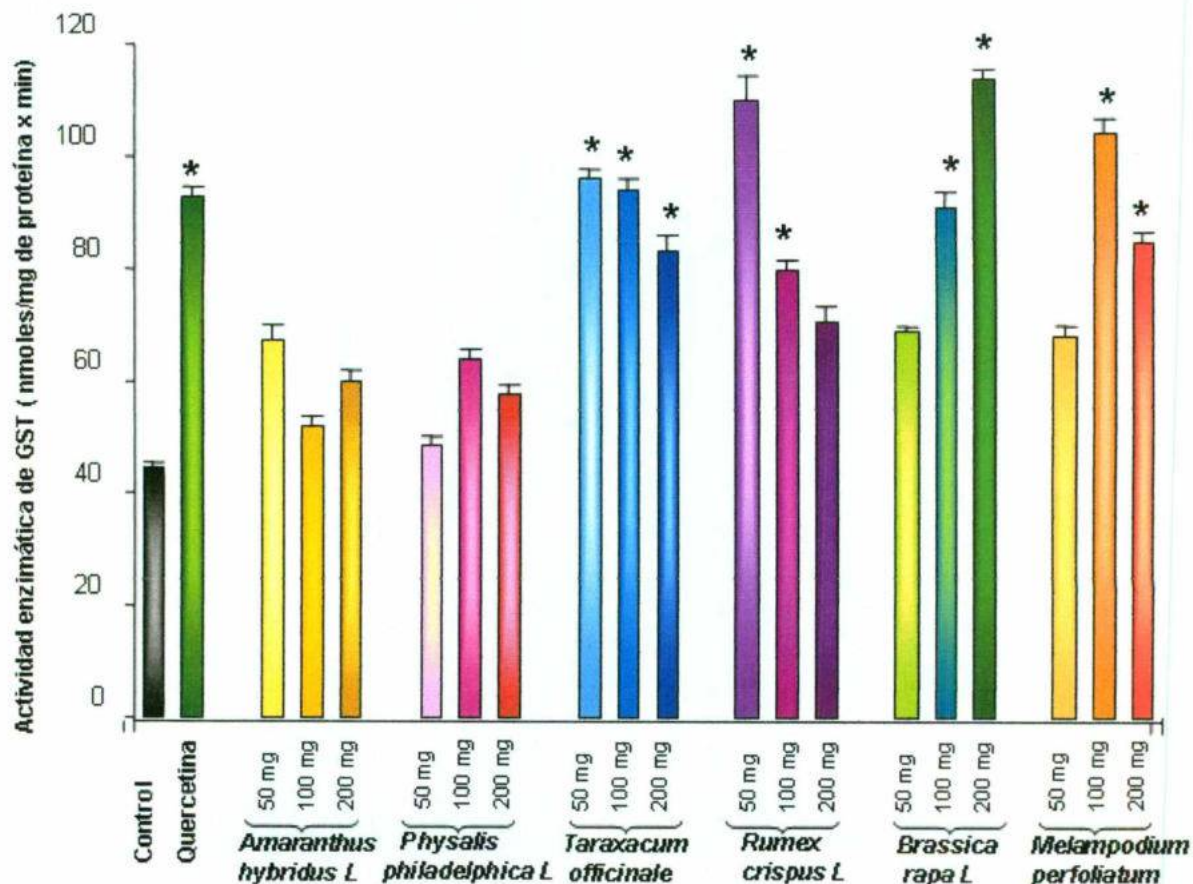


Figura 18. Actividad enzimática de GST en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ error estándar (EE) de cada grupo.

VI.3.2. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon proximal.

La administración de diferentes extractos acuosos sobre la actividad enzimática de quinona reductasa en colon proximal y los resultados se muestran en la Figura 19.

Los extractos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca), *Brassica rapa* L (nabo) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla) mostraron una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo. En este análisis, las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg del extracto acuoso de *Amaranthus hybridus* L (2.0, 2.9 y 2.2 veces, respectivamente), *Rumex crispus* L (1.7, 1.3 y 1.2 veces, respectivamente) y *Melempodium perfoliatum* (1.4, 2.0 y 1.7 veces, respectivamente) mostraron una inducción de la actividad enzimática de QR con respecto al control negativo. El extracto de *Taraxacum officinale* incrementó significativamente la actividad enzimática de QR en 1.9 veces ($P < 0.05$) y la dosis de 100 mg/Kg de *Brassica rapa* L elevó la actividad en un 23%.

Los resultados de la actividad enzimática de QR se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y se presentan en el Cuadro 5.

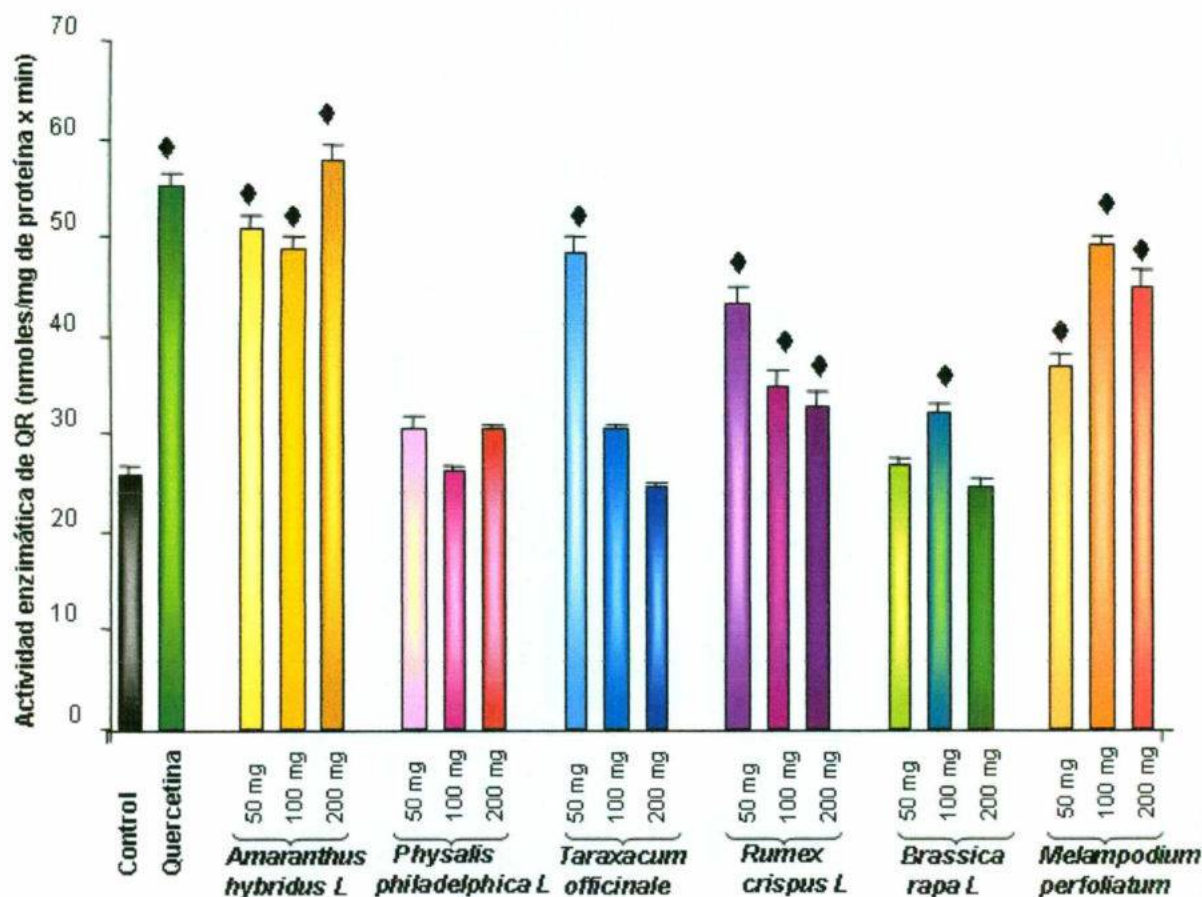


Figura 19. Actividad enzimática de QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

Cuadro 5. Efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de diferentes plantas comestibles sobre la actividad enzimática de GST y QR en colon proximal de ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Glutación-S-transferasa (nmol/mg de proteína x min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína x min)
Control Negativo	44.19 ± 1.27	26.04 ± 0.68
Quercetina 40 mg/Kg	92.97 ± 1.68 *	55.04 ± 1.42 ♦
<i>A. hybridus</i> L		
50 mg/Kg	67.50 ± 2.60	50.91 ± 1.23 ♦
100 mg/Kg	52.17 ± 1.05	48.83 ± 1.19 ♦
200 mg/Kg	59.92 ± 1.45	57.70 ± 1.56 ♦
<i>P. philadelphica</i> L		
50 mg/Kg	48.21 ± 1.95	30.64 ± 1.32
100 mg/Kg	63.70 ± 1.45	26.33 ± 0.35
200 mg/Kg	57.18 ± 1.93	30.55 ± 0.56
<i>T. officinale</i>		
50 mg/Kg	95.37 ± 2.03 *	48.47 ± 1.54 ♦
100 mg/Kg	93.86 ± 1.92 *	30.48 ± 0.51
200 mg/Kg	82.99 ± 2.25 *	24.58 ± 0.63
<i>R. crispus</i> L		
50 mg/Kg	109.27 ± 4.70 *	43.20 ± 1.81 ♦
100 mg/Kg	79.06 ± 1.69 *	34.91 ± 1.39 ♦
200 mg/Kg	69.72 ± 3.15	32.71 ± 1.69 ♦
<i>B. rapa</i> L		
50 mg/Kg	67.92 ± 0.98	26.64 ± 0.99
100 mg/Kg	89.81 ± 3.09 *	32.05 ± 0.98 ♦
200 mg/Kg	112.87 ± 2.11 *	24.73 ± 0.75
<i>M. perfoliatum</i>		
50 mg/Kg	66.93 ± 2.30	37.04 ± 1.30 ♦
100 mg/Kg	102.35 ± 3.53 *	49.19 ± 0.69 ♦
200 mg/Kg	83.70 ± 1.98 *	45.06 ± 1.74 ♦

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). ♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). El Cuadro muestra la media de los experimentos ± error estándar (EE) de cada grupo.

VI.4. Actividad enzimática en el colon proximal de ratas tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab.

VI.4.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon proximal.

En la Figura 20 se muestra el efecto de la administración intragástrica de los extractos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST en el colon proximal de los animales tratados. Los extractos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Physalis philadelphica* L (tomatillo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca), *Brassica rapa* L (nabo), *Melampodium perfoliatum* (tinajilla) y *Yuca filifera* Chab. (palma) incrementaron estadísticamente la actividad de GST, con respecto al control negativo ($P < 0.05$).

El tratamiento con la quercetina (40 mg/Kg) elevó la actividad enzimática en 2.1 veces, respecto al control negativo. Los extractos de quelite de pollo (200 mg/Kg), tomatillo (100 mg/Kg) y diente de león (200 mg/Kg) elevaron significativamente la actividad enzimática de GST en 78% para los dos primeros extractos y en un 87% para el tercer extracto. Los tres extractos lengua de vaca (50, 100 y 200 mg/Kg) elevaron la actividad de GST 1.8, 1.9 y 2.0 veces, respectivamente. El extracto de nabo a las dosis de 100 y 200 mg/Kg incrementó significativamente la actividad de GST en 104 y 144%, respectivamente; mientras que las dosis de 50 y 100 mg/Kg de tinajilla (2.1 y 1.9) y palma (2.0 y 1.7) aumentaron significativamente la actividad de GST, respecto al control negativo.

Los resultados de la actividad enzimática de GST se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y se presentan en el Cuadro 6.

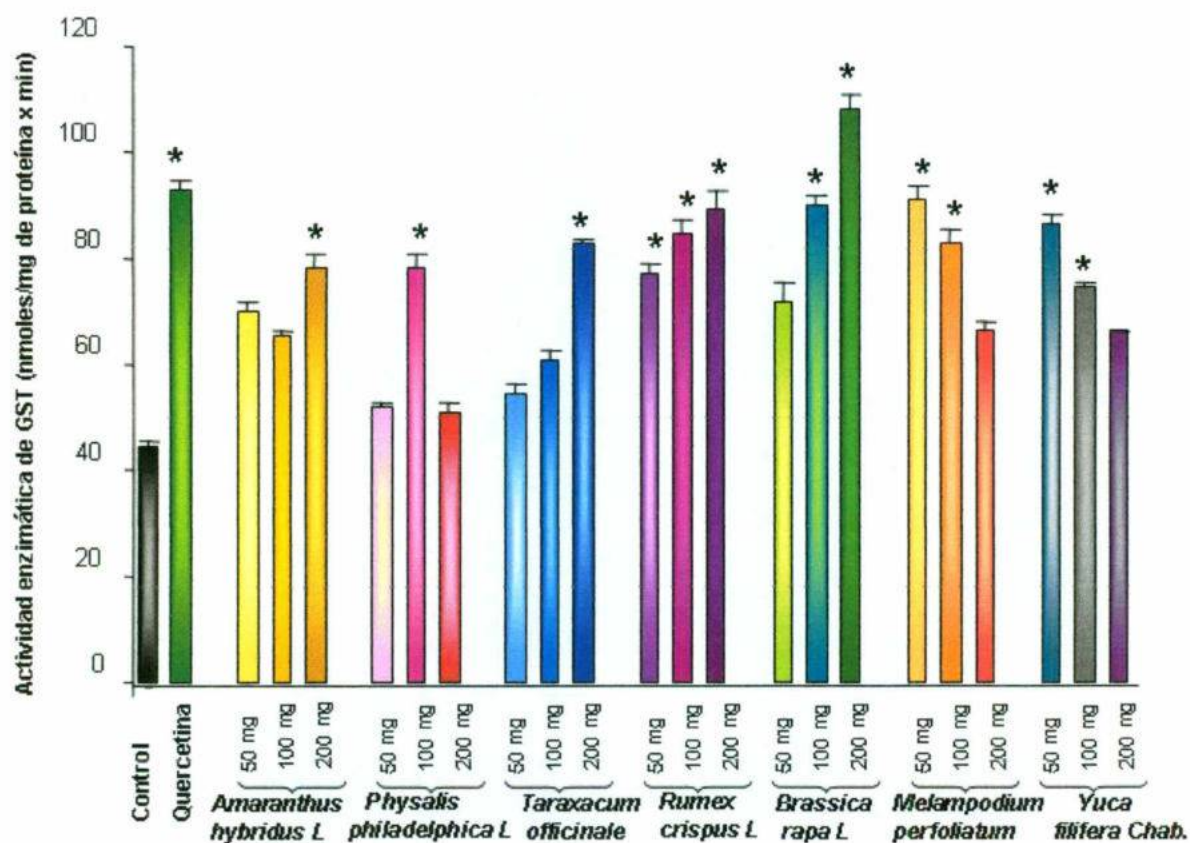


Figura 20. Actividad enzimática de GST en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

VI.4.1. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon proximal.

En la Figura 21 se observa el efecto de la administración intragástrica de diferentes extractos metanólicos sobre la actividad enzimática de QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley. El incremento en la actividad enzimática de QR muestra una diferencia significativa, con respecto al control negativo, en los homogenados citosólicos de colon proximal de las ratas tratadas con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L (quelite de pollo), *Physalis philadelphica* L (tomatillo), *Taraxacum officinale* (diente de león), *Rumex crispus* L (lengua de vaca), *Brassica rapa* L (nabo) y *Melampodium perfoliatum* (tinajilla).

El control positivo (quercetina, 40 mg/Kg) incrementó estadísticamente la actividad de QR (2.1 veces, $P < 0.05$). La administración intragástrica de 50, 100 y 200 mg/Kg de los extractos de *A. hybridus* L (90, 88 y 77%), *P. philadelphica* (91, 77 y 54%) y *B. rapa* L (138, 75 y 59%) incrementaron significativamente la actividad enzimática de QR. Por otro lado, el extracto de *T. officinale* (50 mg/Kg) incrementó la actividad enzimática de QR en 1.2 veces, el extracto de *R. crispus* L (200 mg/Kg) mostró un aumento de 1.3 veces; mientras que las dosis de 100 y 200 mg/Kg de *M. perfoliatum* incrementaron la actividad en 1.2 y 1.4 veces, respectivamente ($P < 0.05$). Los resultados de la actividad enzimática de QR se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y se presentan en el Cuadro 6.

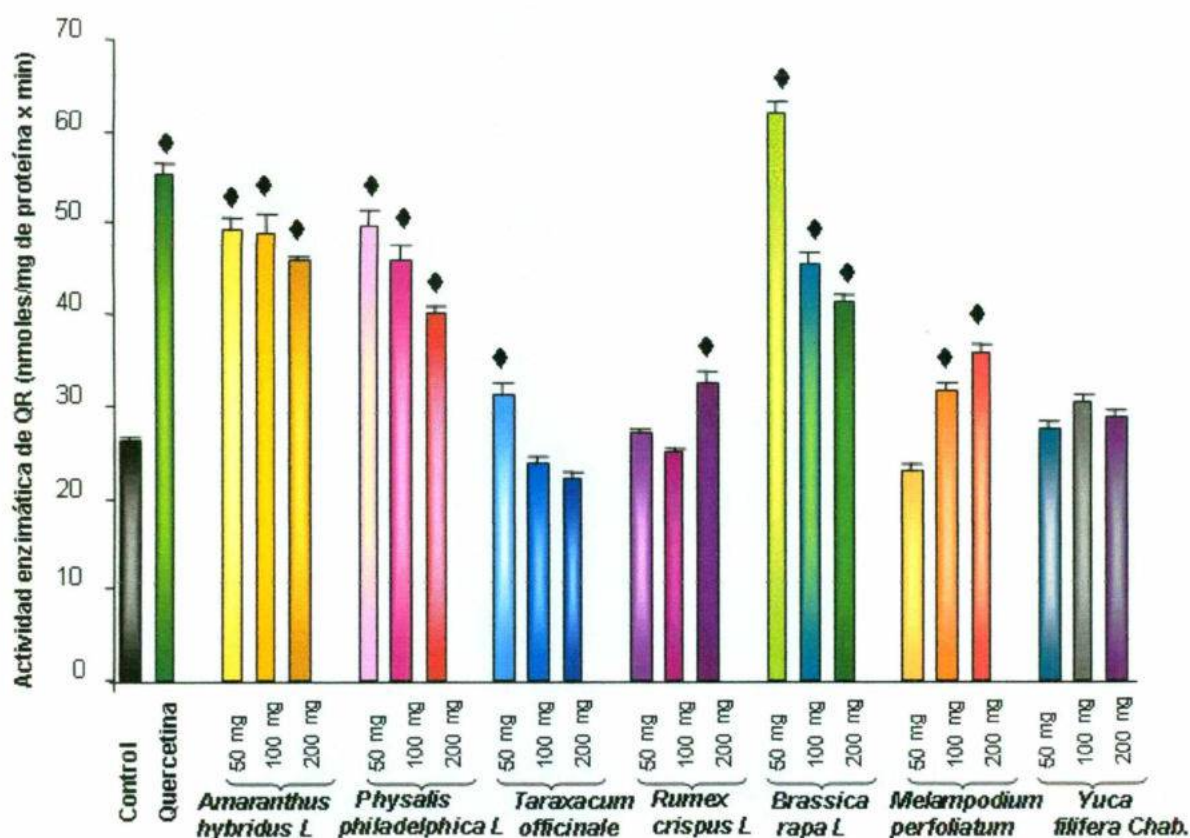


Figura 21. Actividad enzimática de QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

Cuadro 6. Efecto de la administración intragástrica de los extractos metanólicos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST y QR en el colon proximal de ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Glutación-S-transferasa (nmol/mg de proteína x min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína x min)
Control Negativo	44.19 ± 1.27	26.04 ± 0.68
Quercetina		
40 mg/Kg	92.97 ± 1.68 *	55.04 ± 1.42 ♦
<i>A. hybridus</i> L		
50 mg/Kg	69.97 ± 1.79	49.42 ± 1.19 ♦
100 mg/Kg	65.18 ± 1.03	48.80 ± 2.12 ♦
200 mg/Kg	78.52 ± 2.51 *	46.00 ± 0.41 ♦
<i>P. philadelphica</i> L		
50 mg/Kg	51.56 ± 1.18	49.71 ± 1.82 ♦
100 mg/Kg	78.47 ± 2.23 *	45.98 ± 1.54 ♦
200 mg/Kg	50.94 ± 1.66	40.20 ± 0.82 ♦
<i>T. officinale</i>		
50 mg/Kg	54.71 ± 1.37	31.30 ± 1.06 ♦
100 mg/Kg	60.90 ± 2.25	23.71 ± 0.73
200 mg/Kg	82.48 ± 1.26 *	21.92 ± 0.85
<i>R. crispus</i> L		
50 mg/Kg	77.71 ± 1.46 *	26.82 ± 0.70
100 mg/Kg	84.49 ± 3.15 *	25.04 ± 0.23
200 mg/Kg	89.21 ± 3.42 *	32.49 ± 1.34 ♦
<i>B. rapa</i> L		
50 mg/Kg	71.72 ± 3.42	62.01 ± 1.16 ♦
100 mg/Kg	89.94 ± 1.62 *	45.63 ± 1.06 ♦
200 mg/Kg	107.89 ± 3.34 *	41.33 ± 0.93 ♦
<i>M. perfoliatum</i>		
50 mg/Kg	90.68 ± 3.08 *	22.75 ± 0.90
100 mg/Kg	82.65 ± 3.13 *	31.49 ± 0.86 ♦
200 mg/Kg	66.52 ± 1.30	35.81 ± 0.79 ♦
<i>Y. filifera</i> Chab.		
50 mg/Kg	86.13 ± 2.38 *	27.23 ± 0.94
100 mg/Kg	74.90 ± 0.84 *	30.15 ± 1.01
200 mg/Kg	66.12 ± 0.52	28.65 ± 0.73

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). ♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). El Cuadro muestra la media de los experimentos ± error estándar (EE) de cada grupo.

VI.5. Actividad enzimática en el colon distal de ratas tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*.

VI.5.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon distal.

En la Figura 22 se muestra el efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST en colon distal de las ratas Sprague-Dawley. El incremento en la actividad enzimática de GST muestra una diferencia significativa con respecto al control negativo en los homogenados citosólicos de colon distal de las ratas que fueron tratadas con los extractos acuosos de *A. hybridus* L (quelite de pollo), *P. philadelphica* L (tomatillo), *T. officinale* (diente de león), *R. crispus* L (lengua de vaca), *B. rapa* L (nabo) y *M. perfoliatum* (tinajilla). A las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg, los extractos del quelite de pollo (3.5, 3.8 y 3.9 veces) y del tomatillo (4.1, 3.9 y 4.0 veces) incrementaron significativamente la actividad enzimática de GST, con respecto al control negativo. Por otro lado, los animales tratados con el diente de león a las dosis de 50 y 200 mg/Kg mostraron una elevada actividad enzimática (363 y 250%, respectivamente); la dosis de 200 mg/Kg del extracto de lengua de vaca incrementó significativamente (3.7 veces) la actividad enzimática de GST. Similarmente, las dosis de 100 y 200 mg/Kg de los extractos de nabo y tinajilla aumentaron la actividad enzimática en 4.3 y 3.5 veces (nabo), y 3.9 y 3.7 veces (tinajilla), respectivamente. Por otro lado, la administración de la quercetina (40 mg/Kg) mostró una elevada actividad de GST, pero ésta no fue estadísticamente significativa. Los resultados de la actividad enzimática de GST se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y se presentan en el Cuadro 7.

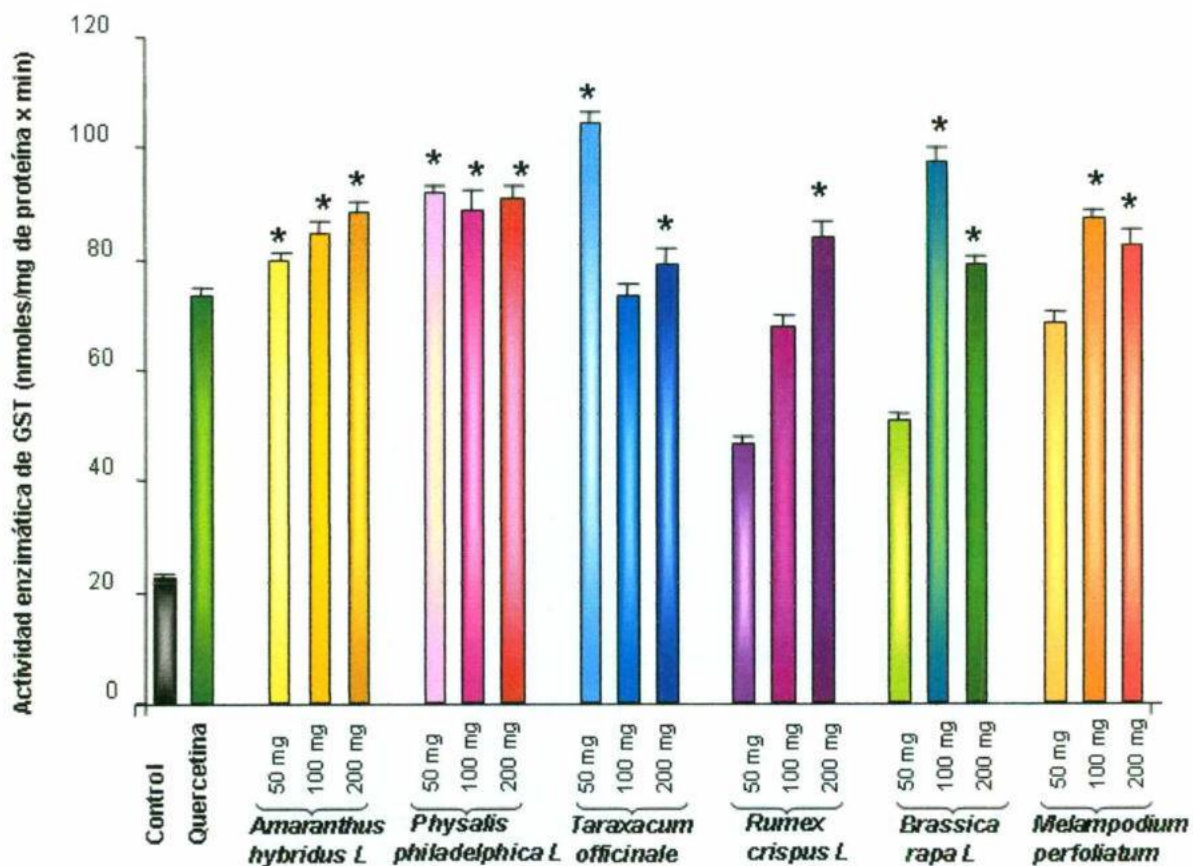


Figura 22. Actividad enzimática de GST en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunn ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

VI.5.2. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon distal.

En la Figura 23 se observa el efecto de la administración intragástrica de diferentes extractos acuosos sobre la actividad enzimática de QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley. Los extractos de *A. hybridus* L (quelite de pollo), *P. philadelphica* L (tomatillo), *T. officinale* (diente de león), *R. crispus* L (lengua de vaca), *B. rapa* L (nabo) y *M. perfoliatum* (tinajilla) mostraron un incremento significativo en la actividad de QR, con respecto al control negativo ($P < 0.05$). El tratamiento con quercetina incrementó significativamente la actividad de QR (1.4 veces), respecto al control negativo ($P < 0.05$).

Las dosis de 100 y 200 mg/Kg incrementaron significativamente la actividad enzimática de QR en 1.3 y 1.6 veces, respectivamente, con el extracto de quelite de pollo, 1.3 y 1.4 veces para el extracto de tomatillo y 1.4 veces para ambas dosis del extracto de tinajilla. El extracto de nabo aumentó significativamente la actividad de QR en un 20, 27 y 55% a las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg, respectivamente. Las dosis de 50 y 200 mg/Kg del extracto de diente de león incrementaron la actividad enzimática de QR en 48 y 20%, respectivamente; mientras que el extracto de lengua de vaca (200 mg/Kg) elevó la actividad de QR en 1.2 veces.

Los resultados de la actividad enzimática de QR se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y se presentan en el Cuadro 7.

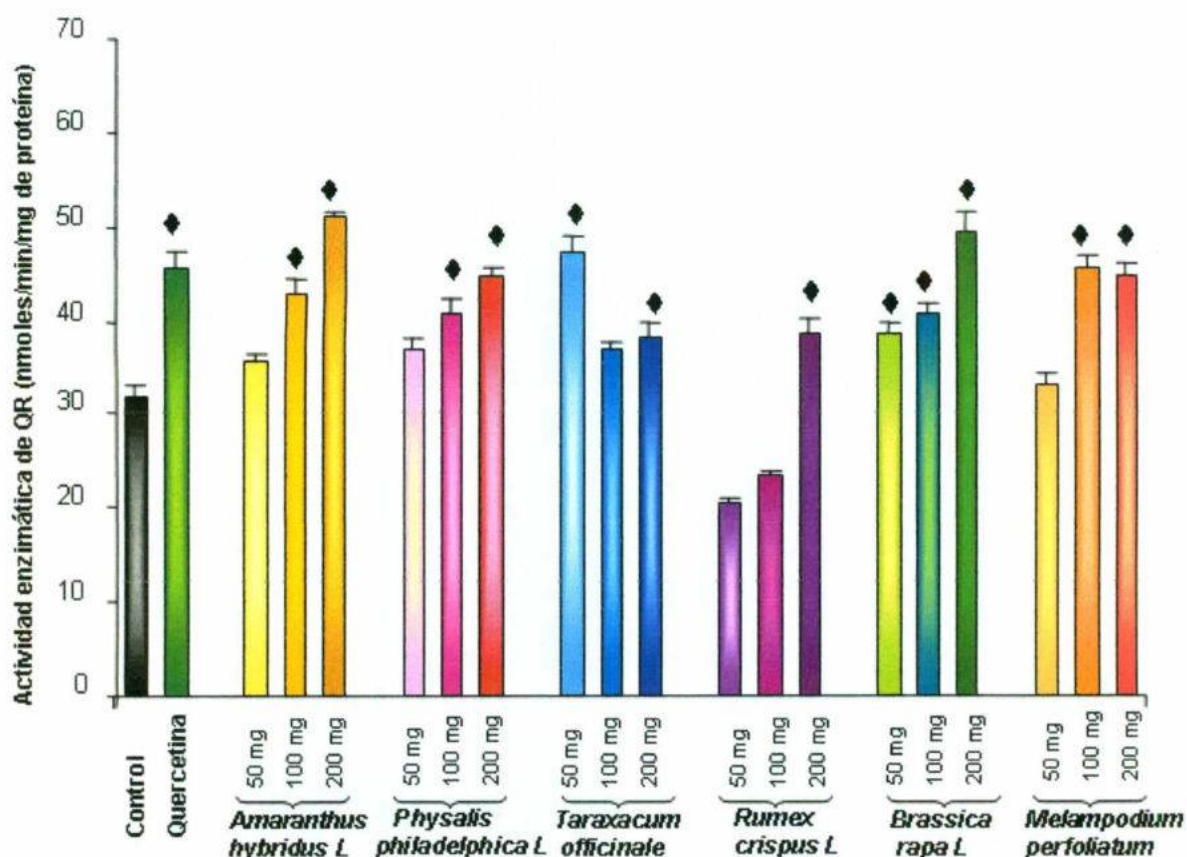


Figura 23. Actividad enzimática de QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

Cuadro 7. Efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST y QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Glutación-S-transferasa (nmol/mg de proteína x min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína x min)
Control Negativo	22.56 ± 0.68	32.05 ± 0.91
Quercetina		
40 mg/Kg	73.70 ± 1.36 *	45.72 ± 1.58 ♦
<i>A. hybridus</i> L		
50 mg/Kg	79.52 ± 1.55 *	35.52 ± 0.87
100 mg/Kg	85.03 ± 1.44 *	42.58 ± 1.69 ♦
200 mg/Kg	88.29 ± 2.15 *	50.93 ± 0.64 ♦
<i>P. philadelphica</i> L		
50 mg/Kg	91.44 ± 1.87 *	37.02 ± 1.16
100 mg/Kg	88.69 ± 3.46 *	40.80 ± 1.47 ♦
200 mg/Kg	91.06 ± 2.39 *	44.74 ± 1.00 ♦
<i>T. officinale</i>		
50 mg/Kg	104.55 ± 1.91 *	47.33 ± 1.66 ♦
100 mg/Kg	73.70 ± 2.06	37.01 ± 0.55
200 mg/Kg	78.86 ± 2.97 *	38.29 ± 1.53 ♦
<i>R. crispus</i> L		
50 mg/Kg	46.49 ± 1.53	20.46 ± 0.59
100 mg/Kg	67.80 ± 2.19	23.29 ± 0.78
200 mg/Kg	84.06 ± 2.99 *	38.60 ± 1.49 ♦
<i>B. rapa</i> L		
50 mg/Kg	51.02 ± 0.91	38.55 ± 1.17 ♦
100 mg/Kg	97.06 ± 3.23 *	40.70 ± 1.05 ♦
200 mg/Kg	78.74 ± 1.77 *	49.66 ± 1.72 ♦
<i>M. perfoliatum</i>		
50 mg/Kg	68.71 ± 1.71	33.25 ± 0.99
100 mg/Kg	87.23 ± 1.90 *	45.57 ± 1.33 ♦
200 mg/Kg	82.73 ± 2.76 *	44.77 ± 1.47 ♦

* Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). ♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). El Cuadro muestra la media de los experimentos ± error estándar (EE) de cada grupo.

VI.6. Actividad enzimática en el colon distal de ratas tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab.

VI.6.1. Actividad enzimática de glutatión-S-transferasa (GST) en colon distal.

En la Figura 24 se puede observar el efecto de diferentes extractos metanólicos en la actividad enzimática de GST en el colon distal de ratas Sprague-Dawley. El aumento en la actividad enzimática de GST fue estadísticamente significativa con respecto al control negativo en los homogenados citosólicos de colon distal de los animales tratados con los extractos de *A. hybridus* L (quelite de pollo), *P. philadelphica* L (tomatillo), *T. officinale* (diente de león), *R. crispus* L (lengua de vaca), *B. rapa* L (nabo), *M. perfoliatum* (tinajilla) y *Y. filifera* Chab. (palma) a las tres dosis (50, 100 y 200 mg/Kg). El control positivo quercetina (40 mg/Kg) incrementó 3.3 veces la actividad enzimática de GST con respecto al control negativo. Los extractos que mostraron la mayor inducción en la actividad de GST fueron 50 mg/Kg de *P. philadelphica* L (4.9 veces), 100 y 200 mg/Kg de *T. officinale* (4.3 y 4.9 veces, respectivamente) y del extracto de *M. perfoliatum* (5.2 y 4.2 veces, respectivamente).

Los resultados de la actividad enzimática de GST se muestran como la media $\pm$ EE de cada grupo y se presentan en el Cuadro 8.

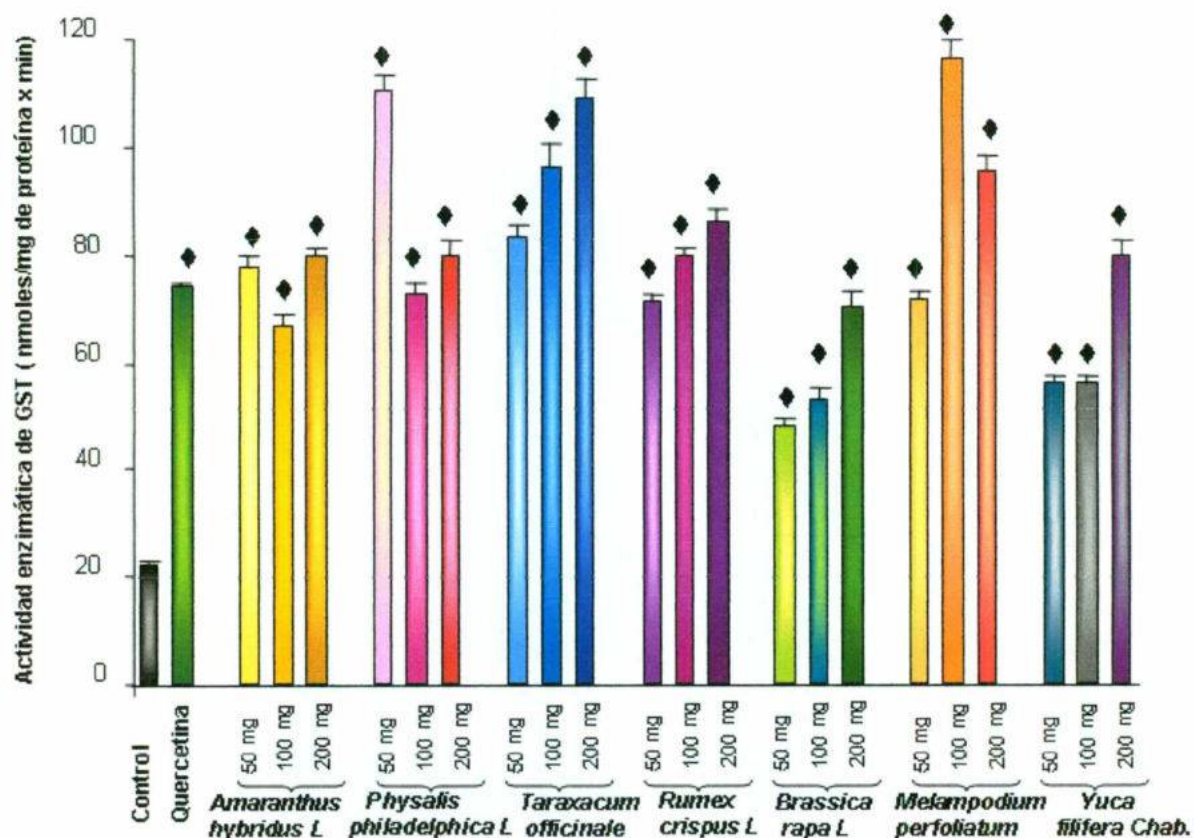


Figura 24. Actividad enzimática de GST en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

VI.6.2. Actividad enzimática de quinona reductasa (QR) en colon distal.

En la Figura 25 se presenta el efecto de la administración intragástrica de diferentes extractos sobre la actividad enzimática de QR en colon distal de ratas Sprague-Dawley. El incremento en la actividad enzimática de QR muestra una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo en los homogenados de colon distal de las ratas que fueron tratadas con los extractos acuosos de *A. hybridus* L (quelite de pollo), *P. philadelphica* L (tomatillo), *T. officinale* (diente de león), *R. crispus* L (lengua de vaca), *B. rapa* L (nabo), *M. perfoliatum* (tinajilla) y *Y. filifera* Chab. (palma). El control positivo (quercetina) mostró un incremento significativo (1.4 veces, $P < 0.05$) respecto al control negativo. La dosis de 50 mg/Kg de los extractos de quelite de pollo, tomatillo, diente de león y nabo incrementaron significativamente la actividad enzimática de QR en 47, 52, 30 y 30%, respectivamente. A pesar de que las tres dosis 50, 100 y 200 mg/Kg del quelite de pollo, nabo y palma aumentaron la actividad enzimática de QR, se observó una mayor inducción con la dosis de 50 mg/Kg. Por otro lado, los extractos de lengua de vaca (200 mg/Kg) y tinajilla (100 y 200 mg/Kg) incrementaron significativamente la actividad de QR en 1.2 veces, 1.4 y 1.5 veces, respectivamente ($P < 0.05$).

Los resultados de la actividad enzimática de QR se muestran como la media $\pm$ EE de cada extracto y se presentan en el Cuadro 8.

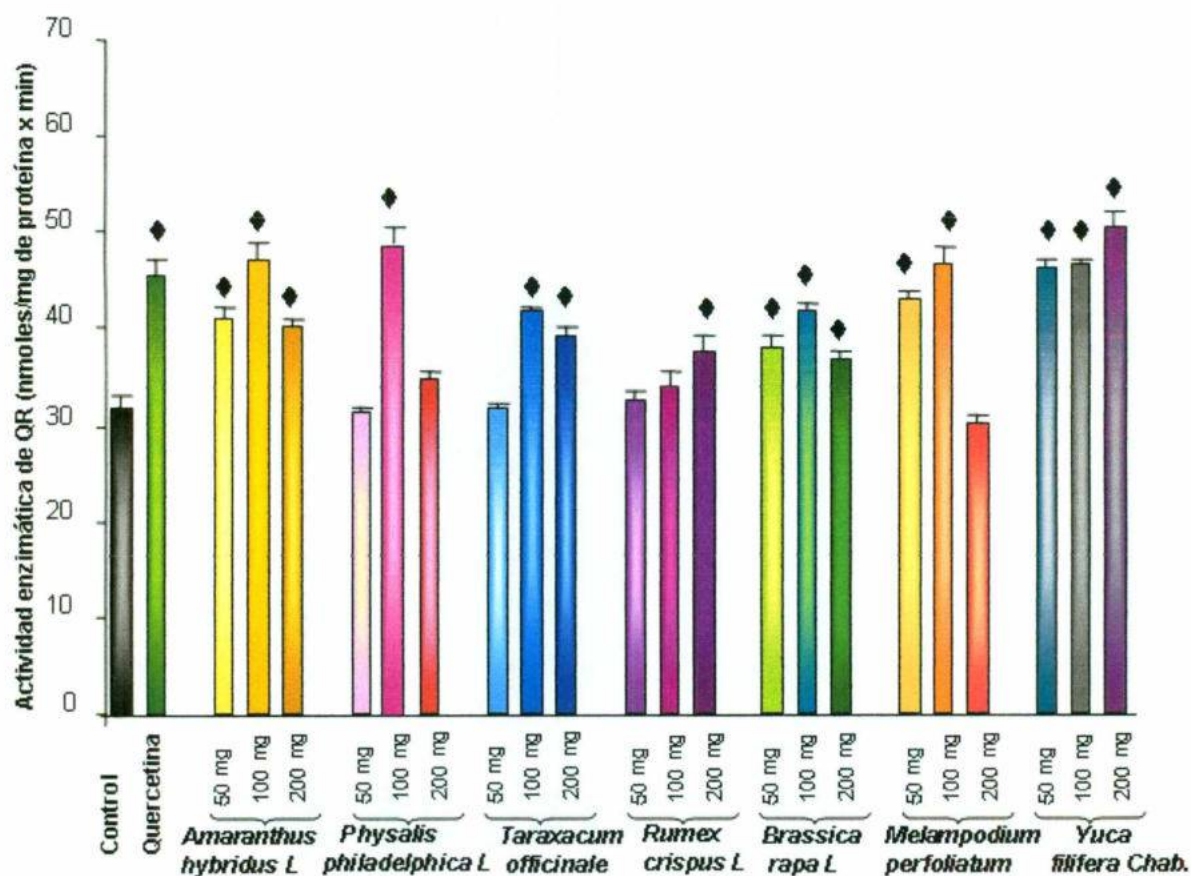


Figura 25. Actividad enzimática de QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley tratadas durante una semana con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab. Las dosis representan mg de extracto/Kg de peso corporal.

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). La gráfica representa la media de los experimentos $\pm$ EE de cada grupo.

Cuadro 8. Efecto de la administración intragástrica de los extractos metanólicos de diferentes plantas sobre la actividad enzimática de GST y QR en el colon distal de ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Glutación-S-transferasa (nmol/mg de proteína x min)	Quinona reductasa (nmol/mg de proteína x min)
Control Negativo	22.56 ± 0.68	32.05 ± 0.91
Quercetina		
40 mg/Kg	73.70 ± 1.36 ♦	45.72 ± 1.58 ♦
<i>A. hybridus L</i>		
50 mg/Kg	77.37 ± 2.28 ♦	41.00 ± 1.32 ♦
100 mg/Kg	66.91 ± 2.25 ♦	47.17 ± 1.79 ♦
200 mg/Kg	79.75 ± 1.68 ♦	39.97 ± 1.21 ♦
<i>P. philadelphica L</i>		
50 mg/Kg	110.62 ± 3.10 ♦	31.37 ± 0.54 ♦
100 mg/Kg	72.43 ± 2.12 ♦	48.83 ± 1.75 ♦
200 mg/Kg	79.53 ± 2.97 ♦	34.60 ± 0.88 ♦
<i>T. officinale</i>		
50 mg/Kg	83.38 ± 2.21 ♦	31.85 ± 0.44 ♦
100 mg/Kg	96.46 ± 3.85 ♦	41.71 ± 0.59
200 mg/Kg	109.36 ± 3.17 ♦	39.53 ± 0.47
<i>R. crispus L</i>		
50 mg/Kg	71.10 ± 1.16 ♦	32.89 ± 0.60
100 mg/Kg	79.62 ± 1.24 ♦	34.04 ± 1.44
200 mg/Kg	85.88 ± 2.78 ♦	37.87 ± 1.26 ♦
<i>B. rapa L</i>		
50 mg/Kg	47.99 ± 1.40 ♦	37.93 ± 1.32 ♦
100 mg/Kg	52.84 ± 2.13 ♦	41.72 ± 0.89 ♦
200 mg/Kg	70.18 ± 2.77 ♦	36.78 ± 0.71 ♦
<i>M. perfoliatum</i>		
50 mg/Kg	71.77 ± 1.35 ♦	43.14 ± 0.72 ♦
100 mg/Kg	116.48 ± 3.25 ♦	46.88 ± 1.66 ♦
200 mg/Kg	95.51 ± 3.04 ♦	30.39 ± 0.85
<i>Y. filifera Chab.</i>		
50 mg/Kg	55.87 ± 1.74 ♦	46.39 ± 0.95 ♦
100 mg/Kg	55.88 ± 1.84 ♦	46.65 ± 0.46 ♦
200 mg/Kg	79.88 ± 2.48 ♦	50.67 ± 1.35 ♦

♦ Indica diferencia estadística significativa con respecto al control negativo de acuerdo a la prueba de Dunnett ($P < 0.05$). El Cuadro muestra la media de los experimentos ± error estándar (EE) de cada grupo.

VII. DISCUSIONES.

En México, los conocimientos empíricos sobre propiedades medicinales de las plantas es la base para su utilización como remedios caseros (Fragoso y col., 2007; Hudec y col., 2007). La medicina tradicional es muy utilizada para satisfacer necesidades de atención primaria de salud y gran parte de los tratamientos tradicionales implican el uso de extractos de plantas (Stezelecka y col., 2005).

Por otro lado, existe una gran diversidad de plantas medicinales que forman también parte de la dieta diaria y que son ricas en sustancias fitoquímicas. Así mismo, se cree que una dieta enriquecida con antioxidantes naturales, debido a su capacidad para inhibir los efectos negativos de las especies reactivas del oxígeno (EROs), son de gran ayuda en la prevención de numerosas enfermedades crónico degenerativas, tales como el cáncer, el envejecimiento celular, las cataratas, enfermedades del corazón, diabetes, patologías cerebrales y artritis, entre otras. Además, algunos de estos antioxidantes también poseen efectos antivirales y antiinflamatorios. Los antioxidantes, en particular los compuestos fenólicos, flavonoides y las vitaminas C y E, están presentes en frutas, hortalizas y especias (Fraser y col., 2007; Hudec y col., 2007).

La quercetina es un miembro importante de la familia de los flavonoides, que poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales y anticarcinogénicas (Ikizler y col., 2006). Al ser considerados también como compuestos fenólicos, los flavonoides pueden actuar como potentes quelantes de metales, como "atrapadores" o supresores de radicales libres y como antioxidantes de especies prooxidantes mediante la donación o aceptación tanto de un átomo de hidrógeno como un electrón (Tenorio y col., 2006; Gonzáles y col., 2007). El efecto protector ejercido por la quercetina se asoció con una mejora en el estatus oxidativo, atribuido a sus propiedades antioxidantes (Galisteo y col., 2004). En el presente estudio se incluyó la quercetina como control positivo a la dosis de 40 mg/Kg, observándose una inducción clara de los biomarcadores antioxidantes evaluados.

Las EROs se generan durante las funciones celulares, aun bajo condiciones normales, y son eliminadas por los sistemas antioxidantes endógenos no enzimáticos como el GSH y enzimáticos como la GST, GPX y CAT (Ikizler y col., 2006). Estas enzimas participan activamente en la desintoxicación e inactivación de muchos xenobióticos, incluidos varios carcinógenos y un número considerable de medicamentos (Al-Gobury y col., 2004; Díaz y col., 2004).

El sistema antioxidante del GSH se asocia con la síntesis de importantes macromoléculas y la protección contra las EROs (Kim y col., 2006). Además, el GSH participa como cofactor de la enzima GST en múltiples reacciones del metabolismo animal, vegetal y en el transporte de aminoácidos hacia el interior de la célula (Manzano y col., 2007). La GST representa una familia multifuncional de enzimas que están involucradas básicamente en los procesos de defensa contra el estrés tóxico y el daño oxidativo en los tejidos (García, 2004). Así mismo, la enzima GPX es la principal peroxidasa en los mamíferos y participa en la inactivación de EROs, catalizando la reducción del peróxido o lipoperóxido, para lo cual utiliza como agente reductor al GSH. Por otro lado, la reducción catalizada por QR puede inactivar directamente carcinógenos o sus metabolitos y hacerlos sustratos más adecuados para GST, facilitando su eliminación de las células (Prego, 1997; Al-Gobury y col., 2004; Alía, 2006).

Dada la importancia citoprotectora de estos biomarcadores antioxidantes en el organismo, estos fueron evaluados después de la administración intragástrica de extractos acuosos y metanólicos de plantas comestibles en el hígado y colon de ratas Sprague-Dawley.

En el presente trabajo se encontró que la concentración de GSH se incrementó estadísticamente (2.5 veces) en el hígado del grupo tratado con la quercetina (40 mg/kg, control positivo), comparado con el control negativo. Así mismo, la concentración hepática de GSH bajo la influencia de la administración intragástrica de los extractos acuosos analizados en el presente estudio, se comportó de la siguiente forma: la concentración de GSH, aunque mayor que la del control negativo (369 %, 343% y 324 %), disminuye conforme aumenta la dosis del extracto de *Taraxacum officinale*; algo similar ocurre con el extracto de *Brassica*

rapa L (3.1, 1.7 y 2.4 veces); mientras que la concentración de GSH aumenta en las dos primeras dosis (159 y 238 %) de *Amaranthus hybridus* L y en la última no se observa un cambio significativo. Esta variación del comportamiento de los extractos es posible que se deba a la diferente estabilidad de los compuestos o la relación de los mismos presentes en el extracto.

También es posible que el efecto de un extracto dependa fuertemente de una correlación positiva entre el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante, de igual forma podrían guardar una relación con el poder inductor de enzimas de fase 2. Sin embargo, en lo que respecta al contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales sólo se tiene reportes para los extractos de acuosos de *Melampodium perfoliatum* (52.88 ± 0.67 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 51.83 ± 0.10 mg equivalente de catequina/g de extracto, respectivamente), *Amaranthus hybridus* (52.32 ± 0.75 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 49.82 ± 1.18 mg equivalente de catequina/g de extracto, respectivamente) y *Brassica rapa* (25.91 ± 0.31 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 12.17 ± 0.47 mg equivalente de catequina/g de extracto), por lo que no se puede realizar una correlación completa entre la capacidad para elevar la concentración de GSH en hígado con el contenido de compuestos fenólicos.

En el caso de los animales tratados con los extractos metanólicos, la concentración hepática de GSH es mayor que aquella del grupo control negativo, para los extractos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Melampodium perfoliatum* y *Yuca filifera* Chab, lo que sugiere que compuestos medianamente polares presentes en estas plantas tienen un gran potencial inductor sobre este biomarcador en hígado. Sin embargo, se observa que la concentración de GSH disminuye conforme aumenta la dosis (50, 100 y 200 mg/Kg) del extracto de *Physalis philadelphica* L (3.2, 2.0 y 1.2 veces), *Taraxacum officinale* (3.8, 3.7 y 2.6 veces) y *Melampodium perfoliatum* (3.0, 2.8 y 2.0 veces). Por el contrario, los extractos de *Amaranthus hybridus* L y *Yuca filifera* Chab. no muestran un patrón claro de inducción de este biomarcador. En lo que respecta al contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales sólo se tiene reportes para los extractos metanólicos de *Melampodium perfoliatum* (626 ± 21 mg equivalentes

de ácido gálico/g de extracto y 53.5 ± 2.70 mg equivalente de catequina/g de extracto, respectivamente) siendo este el extracto con mayor contenido de fenoles y flavonoides totales seguido de *Rumex crispus* L (456 ± 9 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 14.8 ± 0.73 mg equivalente de catequina/g de extracto, respectivamente), *Brassica rapa* (351 ± 15 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 7.4 ± 0.05 mg equivalente de catequina/g de extracto, respectivamente), *Yuca filifera* Chab (222 ± 18 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 4.4 ± 0.15 mg equivalente de catequina/g de extracto), *Physalis philadelphica* L (211 ± 7 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 4.3 ± 0.15 mg equivalente de catequina/g de extracto) y *Amaranthus hybridus* L (155 ± 25 mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto y 9.4 ± 0.35 mg equivalente de catequina/g de extracto). Conjuntando la información anterior y los resultados obtenidos en el presente estudio se observa que los extractos metanólicos no guardan una marcada actividad inductora con respecto al contenido de fenoles y flavonoides totales, pero sus concentraciones de estos compuestos son superiores respecto a los extracos acuosos. Por ejemplo, el extracto metanólico de *Amatranthus hybridus* mostró el mayor poder inductor, pero su contenido de fenoles es el menor comparado con el resto de los extractos metanólicos. Además, tomando en cuenta que no contamos con los datos de todos los extractos, no es posible observar una relación clara entre estos factores.

La actividad de GST en el hígado de los animales tratados se incrementó significativamente con los extractos acuosos de *Amaranthus hybridus* L (1.9, 2.1 y 2.0 veces), *Physalis philadelphica* L (1.8, 2.0 y 2.0 veces) y *Rumex crispus* L (2.5, 3.2 y 2.3 veces), sin embargo, esta inducción no fue dosis-dependiente. El comportamiento que se observa con algunos extractos donde la actividad se induce conforme aumenta la dosis y se disminuye o mantiene con la dosis mas alta, se atribuye a que al estar el extracto mas concentrado, pueden también incrementarse sustancias que inhiban o neutralicen el efecto de los compuestos antioxidantes "predominantes". Por otro lado, las tres dosis de *Taraxacum officinale* incrementaron significativamente la actividad de GST, sin embargo, los valores son muy parecidos.

El extracto de *Melampodium perfoliatum* aumentó la actividad enzimática de GST únicamente a la dosis de 200 mg/Kg, quizás porque a esta concentración predominan las sustancias que inducen esta enzima. Sue-Jing y colaboradores (2005) reportan que la actividad de GST se elevó en un 42 % en el hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas con *Allium sativum* L. (ajo) también a la dosis de 200 mg/Kg de peso corporal.

Aunque no estadísticamente significativo, el grupo control positivo incrementó la actividad de GST, comparado con el control negativo. Esta falta de respuesta inductora también se ha observado en otros estudios. Amin y colaboradores (2004) encontraron que la administración de hasta 500 mg/Kg de peso corporal por día de un extracto metanólico de cacao, rico en compuestos fenólicos, no mostró diferencia estadística en la actividad de GST en el hígado de ratas Sprague-Dawley, comparando con el control negativo. La actividad enzimática de GST en hígado incrementó de manera importante con los extractos metanólicos de *Physalis philadelphica* L (93.5%), *Taraxacum officinale* (104.5%), *Brassica rapa* L (203.2%) y *Melampodium perfoliatum* (89.8%), siendo mayor para la dosis de 100 mg/Kg. Por otro lado, el extracto de *Yuca filifera* Chab inhibió la actividad enzimática de GST a todas las dosis, comparada con el control negativo, tal y como previamente se observó para la enzima QR en el estudio realizado por Subías (2007) en células de hígado de ratón.

Aun cuando la desintoxicación de xenobióticos se ha vinculado principalmente al metabolismo hepático, en el tracto intestinal también ocurre una cantidad significativa de desintoxicación. Por otro lado, el metabolismo de los flavonoides es intenso y su biotransformación tiene lugar en dos localizaciones: en primer lugar en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase 1 y de fase 2, donde una parte importante de los metabolitos conjugados se excretan por la orina; en segundo lugar en el colon, donde los compuestos fenólicos que no son completamente absorbidos en el intestino delgado, pueden alcanzar el colon, ser degradados por los microorganismos y absorberse en esta zona, ejerciendo así su efecto inductor. Diversos estudios muestran que existen diferencias en cuanto a la absorción y metabolismo entre la porción proximal (colon ascendente) y la distal.

Por lo anterior, en este estudio se evaluó la actividad enzimática de GST y QR en colon proximal y distal (Martínez y col., 2002; Zhang y col., 2007).

En el estudio realizado por Gutiérrez (2006), la actividad enzimática de GST en la porción proximal del colon de ratas Sprague-dawley disminuyó en los animales tratados con los extractos acuosos de *Porophyllum tagetoides* (hierba del venado), *Nasturtium officinale* (berros), *Chenopodium murale* (quelite), *Malva parviflora* (malva) y *Cnidoscolus chayamansa* (chaya) a las tres dosis empleadas, en comparación con el control negativo. Por el contrario, los extractos acuosos de las plantas seleccionadas en el presente estudio si incrementaron la actividad enzimática de GST en el colon proximal; similarmente, la quercetina aumentó significativamente (110%) la actividad enzimática de GST con respecto al control negativo. Los animales tratados con los extractos de *Taraxacum officinale* (2.2, 2.1 y 1.9 veces) y *Rumex crispus* L (2.5, 1.8 y 1.6 veces) mostraron la mayor actividad enzimática a la dosis de 50 mg/Kg; en el caso *Melampodium perfoliatum*, la dosis de 100 mg/Kg incrementó más la actividad de GST en el colon proximal. Un efecto contrario se observó en los animales tratado con el extracto acuoso de *Brassica rapa* L (1.5, 2.0 y 2.6 veces) donde hubo un incremento de la actividad con el aumento de la concentración de la planta. El comportamiento tan variado que se observa entre la actividad enzimática y la dosis de extracto se puede atribuir a las diferencias en la composición química de cada planta, así como a la proporción de los fitoquímicos en la misma.

En los animales tratados con los extractos metanólicos, la actividad de GST en la fracción proximal del colon se incrementó principalmente con la dosis de 200 mg/Kg de *Taraxacum officinale* (86.7%), *Rumex crispus* L (101.9%) y *Brassica rapa* L (144.2%); mientras que *Amaranthus hybridus* L (77.7%) y *Physalis philadelphica* (77.6%) incrementaron positivamente la actividad a las dosis de 200 y 100 mg/Kg, respectivamente. Por el contrario, los extractos de *Melampodium perfoliatum* (105.2%) y *Yuca filifera* Chab (94.9%) mostraron su mayor capacidad inductora con la dosis de 50 mg/Kg. La actividad enzimática de GST en colon proximal se incrementó preferentemente en los animales tratados con los extractos metanólicos, en comparación con los animales tratados con los extractos acuosos

de las plantas bajo estudio. Sin embargo, ambos extractos de *B. rapa* L mostraron la mayor potencia inductora sobre la actividad enzimática de GST en colon proximal, seguidos de los extractos acuosos de *T. officinale* y *R. crispus* L.

El comportamiento de la actividad enzimática de GST en la fracción distal del colon de animales tratados con los extractos acuosos mostraron que *Amaranthus hybridus* L y *Rumex crispus* L incrementan la actividad enzimática de forma dosis-dependiente; algo similar ocurre con *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*, aunque en la última dosis la actividad de GST disminuye, por lo que la dosis de 100 mg/Kg resulta ser la mejor inductora. En cuanto a los animales tratados con los extractos metanólicos, la actividad de GST en el colon distal se incrementó en todas las dosis de los extractos, siendo de manera dosis-dependiente para *Taraxacum officinale* (3.7, 4.3 y 4.8 veces), *Rumex crispus* L (3.2, 3.5 y 3.8 veces), *Brassica rapa* L (2.1, 2.3 y 3.1 veces) y *Yuca filifera* Chab (2.5, 2.5 y 3.5 veces).

El colon forma parte del aparato digestivo y se divide en apéndice, cecum, colon ascendente, transversal, descendente, sigmoideo y recto. Dentro de las funciones principales del intestino grueso se encuentran la reabsorción de agua y electrolitos, así como la eliminación del material no digerido a heces fecales. La eliminación es facilitada por la excreción de moco, que lubrica y protege a la mucosa del contenido del lumen, de tal forma que el contenido del intestino delgado fluye al grueso de manera intermitente. En el colon proximal el contenido es líquido y cambia a semisólido conforme va descendiendo, debido a la absorción de agua y electrolitos (Fenoglio-Preiser y col., 1989). Así mismo, se reporta que la flora en cada zona del colon es diferente y diversos estudios muestran una mayor actividad de β -glucuronidasas microbianas en el colon distal comparada con la zona proximal en ratas Sprague-Dawley. Lo anterior puede resultar en una mayor hidrólisis y liberación de los compuestos fenólicos conjugados provenientes del hígado (glucoronidados y sulfatados), por lo que están más disponibles para su reabsorción en esta zona del colon para ejercer su actividad inductora. Con lo cual se podría explicar que la actividad de GST en colon distal es inducida por más extractos comparada con la actividad de GST en colon proximal.

La actividad enzimática de GPX en el hígado de los animales tratados con los extractos acuosos se incrementó con *Amaranthus hybridus* L (1.4, 1.3 y 1.1 veces), *Physalis philadelphica* L (1.2, 0.9 y 0.9 veces) y *Taraxacum officinale* (1.6, 1.2 y 1.2 veces), siendo mayor en la dosis de 50 mg/Kg. La dosis de 100 mg/Kg de *Rumex crispus* L (1.0, 1.3 y 1.0 veces) y *Brassica rapa* L (1.3, 1.5 y 1.4 veces) muestran una mayor inducción de GPX; mientras que *Melampodium perfoliatum* (1.2, 1.3 y 1.4 veces) muestra una clara relación dosis-respuesta. Los extractos acuosos de *T. officinale* y *Brassica rapa* L indujeron la mayor actividad enzimática de GPX en hígado. La variación en el comportamiento de los extractos es posible que se deba a la composición de las plantas y relación de agentes fitoquímicos.

La actividad enzimática de GPX en el hígado de los animales tratados se incrementó con los extractos metanólicos de *Amaranthus hybridus* L, *Taraxacum officinale*, *Rumex crispus* L, *Brassica rapa* L y *Yuca filifera* Chab, siendo mejor a las dosis de 50 y 200 mg/Kg, mientras que *Physalis philadelphica* L y *Melampodium perfoliatum* incrementaron la actividad enzimática a la dosis de 100 mg/kg.

El efecto de la administración intragástrica de los extractos acuosos sobre la actividad enzimática de QR en hígado mostró un incremento positivo de manera dosis-dependiente con los extractos de *Taraxacum officinale* (0.9, 1.4 y 1.5 veces), *Rumex crispus* L (2.2, 2.8 y 3.5 veces) y *Melampodium perfoliatum* (0.8, 1.2 y 4.6 veces). Similarmente, en el estudio *in vitro* realizado por Subías (2007), los resultados indican que el extracto acuoso de *Amaranthus hybridus* a la concentración de 0.5 mg/ml de medio mínimo modificado de Eagle (DMEM) incrementó 5.1% la actividad enzimática de QR en células transformadas de hígado de ratón Hepa 1c1c7; mientras que el extracto acuoso de *Brassica rapa* incrementó en un 3.5% la actividad a la concentración de 0.05 mg/ml DMEM.

En los animales tratados con los extractos metanólicos, la actividad hepática de QR fue similar a la actividad del control negativo, únicamente el extracto de *Brassica rapa* L incrementó significativamente la actividad enzimática de QR, sin embargo esta actividad disminuyó con el aumento en la concentración de la planta. Prochaska y colaboradores (1992) indican que algunos extractos vegetales de la familia de las Brassicas son potentes inductores de la actividad de QR en células

Hepa 1c1c7, corroborando la potencia inductora de esta familia tanto *in vitro* como *in vivo*. En el caso de *Yuca fillifera* Chab, el extracto metanólico mostró un efecto citotóxico bien marcado en células Hepa 1c1c7 (Subías, 2007), y no fue posible comparar los resultados contra el extracto acuoso correspondiente debido a la falta de material disponible para el ensayo, por lo que se decidió no hacer la evaluación del extracto *in vivo*. En este mismo estudio, la mayor actividad enzimática de QR en células Hepa 1c1c7 se obtuvo a la concentración de 0.1 mg/ml DMEM de los diferentes extractos metanólicos, donde el extracto metanólico de *Amaranthus hybridus* mostró la mayor potencia inductora (74.3%), a excepción de *Rumex crispus* (0.5 mg/ml DMEM).

En el estudio previo realizado por Gutiérrez (2006) se reportó que la actividad enzimática de QR de la fracción proximal del colon disminuye cuando los animales son tratados con los extractos acuosos de *Chenopodium murale* (12.6 %) y *Cnidioscolus chyamansa* (19.2%), así como el extracto metanólico de *Malva parviflora* (20 %); en cambio, los extractos metanólicos de *Porophyllum tagetoides*, y *Nasturtium officinale* elevan la actividad de esta enzima (1.2 y 1.1 veces, respectivamente) en esa fracción del colon. Por el contrario, los resultados del presente trabajo indican que la actividad enzimática de QR en el colon proximal se incrementa con los extractos acuosos de *Taraxacum officinale* (1.8 veces, para 50 mg/kg) y *Rumex crispus* L (1.7, 1.3 y 1.2 veces), siendo inversamente proporcional a la dosis. Con los extractos acuosos de *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum*, la mayor actividad enzimática de QR se obtuvo con la dosis de 100 mg/Kg, mientras que con el extracto de *Amaranthus hybridus* L la dosis fue 200 mg/Kg.

En el colon proximal de los animales tratados con los extractos metanólicos, la actividad enzimática de QR se incrementó en la mayoría de los casos; sin embargo, ésta fue inversamente proporcional a la dosis de los extractos de *Amaranthus hybridus* L (1.9, 1.8 y 1.7 veces), *Physalis philadelphica* (1.9, 1.8 y 1.5 veces), *Taraxacum officinale* (1.2, 0.9 y 0.8 veces) y *Brassica rapa* L (2.4, 1.8 y 0.6 veces). Sin embargo, los extractos de *Rumex crispus* L (1.3 veces) y *Melampodium perfoliatum* (1.4 veces) mostraron ser mejores inductores a la dosis de 200 mg/Kg.

Es importante señalar que la inhibición de la actividad enzimática puede ser causada por el agente protector o modulador, ya que los antioxidantes presentes en el extracto podrían actuar como pro-oxidantes, lo que provocaría estragos en las células (Ramos y col., 2006; García y Altamirano, 2007).

La actividad enzimática de QR en el colon distal se incrementó de manera dosis-dependiente en los animales tratados con los extractos acuosos de *A. hybridus* L, *P. philadelphica* y *B. rapa* L. Por otro lado, se obtuvieron resultados muy variables para los extractos de *Melampodium perfoliatum*, *Taraxacum officinale* (47.7 %) y *Rumex crispus* L (20.5 %). El control positivo de quercetina (42.7 %) incrementó positivamente la actividad enzimática.

La actividad enzimática de QR en colon distal de ratas tratadas con los extractos metanólicos no muestra una asociación directa entre la dosis y la actividad. Sin embargo, es notable que los extractos de *Amaranthus hybridus* L, *Physalis philadelphica*, *Taraxacum officinale*, *Brassica rapa* L y *Melampodium perfoliatum* mostraron ser mejores inductores de la actividad a la dosis de 100 mg/Kg; mientras que *Rumex crispus* L y *Yuca filifera* Chab resultaron ser más efectivos a la dosis 200 mg/Kg.

Los experimentos *in vitro* realizados por Subías (2007) con *Brassica rapa* L, *Yuca filifera* Chab, *Amaranthus hybridus* L y *Rumex crispus* L indican que el extracto metanólico de *Amaranthus hybridus* (familia Amaranthaceae) fue el mejor inductor comparado con los extractos metanólicos y acuosos de las otras plantas (Subías y col., 2007). Estos resultados son de gran importancia, ya que los extractos no son puros y su composición varía dependiendo del tipo de extracción (Subías y col., 2007). Por otro lado, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que los extractos metanólicos no guardan una marcada actividad inductora con respecto al contenido de fenoles totales. Resultados similares fueron obtenidos al correlacionar el contenido de fenoles totales y flavonoides presentes en estas plantas con su capacidad antiproliferativa en células de cáncer humano de epitelio mamario (MDA-MB-231, MCF-7 y MCF-10F) (Miranda-Centeno, 2005). De manera inesperada, los tres estudios sugieren que no existe una correlación positiva y significativa en cuanto a la actividad biológica (medida como la capacidad

antiproliferativa o la inducción de enzimas de fase 2) con el contenido de fenoles totales de las plantas que han sido analizadas a la fecha.

Suponemos que la variación observada se debe a que las propiedades antioxidantes son diferentes debido a la composición de compuestos fenólicos presentes en cada uno de estas plantas (Rose y col., 2005), aunque esto requiere un estudio más a fondo. Además, se deberían tomar en cuenta factores como la temporada y el área de recolección de plantas, como así como la parte de la planta a partir de la cual el extracto se deriva, ya que esto afecta la actividad antioxidante (Fraser, 2007). A este respecto, en los dos estudios las plantas fueron recolectadas en diferente año, pero seleccionadas y proporcionadas por la M. en C. Valentina Serrano, minimizando en parte los factores que pudieran alterar la actividad biológica de las plantas evaluadas.

Todas las plantas seleccionadas en el presente estudio demostraron tener cierta capacidad para inducir enzimas de fase 2, si bien no indujeron todas las enzimas en todos los órganos, si muestran su poder para inducir algunas de estas. De manera particular, se corrobora que *Amaranthus hybridus* L es uno de los mejores inductores de enzimas de fase 2, al igual que *Brassica rapa* L, las cuales resultaron ser poderosas inductoras de biomarcadores antioxidantes en este estudio. En cuanto al tipo de extracto, los metanólicos mostraron tener una mayor potencia inductora, tal efecto es atribuido a que la extracción con metanol puede arrastrar diferentes compuestos de mediana polaridad con elevada potencia inductora. Además, los extractos metanólicos se prepararon a partir de una extracción previa con hexano y acetona para eliminar compuestos de carácter lipofílico, tales como los carotenoides, la clorofila y las grasas. Por otro lado, en los extractos acuosos pudieran encontrarse compuestos de diferentes polaridad, así como compuestos que no están presentes en el extracto metanólico. Es muy posible que la variabilidad en los resultados se deba a que los extractos son una mezcla de sustancias que desconocemos, así como su concentración y funciones que desempeñan en el organismo.

VIII. CONCLUSIONES.

En el presente estudio se demuestra que la quercetina incrementa de manera significativa tanto los biomarcadores no enzimáticos (GSH) como enzimáticos (GST, GPX y QR) en el hígado y colon de ratas Sprague-Dawley, corroborando así la actividad inductora de este flavonoide *in vivo*.

Los resultados demuestran que la administración intragástrica de los extractos metanólicos incrementó de manera más significativa la concentración de GSH en hígado a las diferentes dosis, en comparación con los extractos acuosos de las plantas bajo estudio. Particularmente, los extractos metanólicos de *T. officinale* y de *A. hybridus* L mostraron un mayor incremento en la concentración de este biomarcador antioxidante no enzimático.

En el hígado, los extractos acuosos incrementan la actividad de GST y QR de manera importante, mientras que los metanólicos activan a GST y GPX. Además, la actividad hepática de GST y GPX se comportan de manera dosis-dependiente, por lo que la enzima GST se sugiere como un mejor biomarcador antioxidante de exposición a extractos vegetales en hígado.

En la region proximal y distal del colon, la actividad de GST se incrementó preferentemente en los animales tratados con los extractos metanólicos, comparados con los extractos acuosos, y esta inducción fue dosis-dependiente, por lo que se sugiere esta actividad también como un biomarcador de exposición a extractos vegetales.

La inducción de la actividad enzimática de QR fue muy similar en los animales tratados con los extractos acuosos y metanólicos en la zona proximal, siendo mayor la inducción con el extracto acuoso de *Amaranthus hybridus* L y el extracto metanólico de *Brassica rapa* L. Por otro lado, la actividad de QR en la zona distal se incrementó preferentemente en los animales tratados con los extractos metanólicos.

Cabe resaltar que aunque los niveles basales de la actividad enzimática de GST son mayores en el colon proximal, los niveles inducibles de esta enzima son mayores en la zona distal del colon, tanto en los animales tratados con los extractos

acuosos como metanólicos. Por el contrario, los niveles basales de la actividad enzimática de QR son mayores en el colon distal, sin embargo, los niveles inducibles de esta enzima son mayores en la zona del colon distal tanto en los animales tratados con los extractos acuosos como metanólicos. Estos resultados sugieren que los extractos vegetales bajo estudio muestran un mayor efecto quimioprotector en la zona del colon distal, lo que pudiera ser de gran importancia en la prevención del cáncer de colon.

En general, se observa que los extractos acuosos y metanólicos de *Amaranthus hybridus* (quelite de pollo, 50, 100 y 200 mg/Kg) incrementaron significativamente las actividades enzimáticas de GST, GPX y QR en hígado, así como las actividades de GST y QR en colon, con respecto al control negativo. De igual forma, el extracto acuoso de *Taraxacum officinale* (diente de león) y el extracto metanólico de *Brassica rapa* (nabo) se muestran como potentes inductores de estos biomarcadores enzimáticos. Por lo que los resultados derivados de este estudio indican que las plantas comestibles evaluadas incrementaron la actividad de enzimas de fase 2 o detoxificación (GST y QR) y enzimas antioxidantes (GPX), así como la concentración de un cofactor antioxidante (GSH) tanto en hígado como en colon (proximal y distal), por lo que se sugieren como biomarcadores antioxidantes de exposición a extractos vegetales y con potencial quimioprotector contra enfermedades crónico degenerativas entre la población mexicana.

X. BIBLIOGRAFÍA.

- Al-Gobury**, K. H. Bolifraud, P. Germain, G. Ceballos, B. S. N y Y. **2004**. Antioxidant enzymatic defence systems in sheep corpus luteum throughout pregnancy. Society for Reproduction and Fertility DOI. Vol . 389: 1741- 1754.
- Alía**, M. Ramos, S. Mateos, R. Granado-Serrano, A. B. Bravo, L. y Goya, L. **2006**. Quercetin protects human hematoma HwpG2 again oxidative stres induced by Pert-butyl hydroperoxide.. Toxixology and Applied Pharmacology. 212: 110-118.
- Alvira**, R. D. y Roche, E. **2004**. Alteraciones en el ADN inducidas por el estrés oxidativo. Medicina Clínica. Vol. 106: 144-153.
- Amin**, I. Koh, B. K., y Asmah, R. **2004**. Effect of cacao liquor extract on tumor enzymes during chemical hepatocarcinogenesis in rats. Journal of Medicinal Food. Vol. 7: 7 – 12.
- Arellano**, R. L. **2007**. Evaluación de la capacidad reductora por el ensayo FRAP de extractos de plantas con alto contenido de flavonoides. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo: 3-6, 15.
- Baez**, S., Segura, A. J., Widersten, M. Johansson, A. S. y Mannervik, B. **1997**. Glutathione transferases catalyse the detoxication of oxidized metabolites (o-quinones) of catecholamines and may serve as an antioxidant system preventing degenerative cellular processes. Biochemistry. Vol. 324: 25-28.
- Barrera**, H., Martínez, R. y Ortiz, R. **2003**. Diagnóstico Molecular del Cáncer. Revista de Investigación Clínica. Vol. 55: 128-137.
- Beristain**, P. A. S., Sánchez, R. M. A., Ruiz, R. M. y Mendoza, N. V. M. **2006**. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. Bioquimia. Vol. 31: 13-22.
- Botsaris**, S. A. **2007**. Plants use traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of flora medicinal. Journal of Enthnobiology and Enthnomedicine. Vol. 3: 1-18.
- Choi**, J. K., Murillo, G., Su, B-N., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. y Mehta, R. G. **2006**. Ixocarpalactone a isolated from the mexican tomatillo shows potent

antiproliferative and apoptotic activit in colon cancer cell. Journal FEBS. Vol. 273: 5714-5723.

Cuneo, A. C. 2005. Dieta mediterránea y enfermedades coronarias: manejo no farmacológico de los factores de riesgo para la aterosclerosis. Prevención cardiovascular. Vol. 28: 119-124.

Dajas, F., Rivera, F., Blasina, F., Arredondo, F., Echeverri, C., Morquio, A. y Heizen, H. 2003. Cell cultive Protection and in vivo Neuroprotective Capacity of Flavonoids. Vol 5: 425-432.

Devita, V.T., Hellman, S.J. y Rosenberg, S. A. 1997. Cáncer Principios y Prácticas de Oncología. 5ª. ed., Médica Panamericana, EUA:579-587, 1144-1148.

Díaz, C. Rodríguez, M. M. Fresneda, M. y Bisset, J. B. 2004. Determinación de la actividad-S-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. Instituto de Medicina Tropical. Vol. 52: 375-386.

Ellman, G. 1985. Determination of glutathione. Arch. Biochem. Biophys. Vol. 82: 70-79.

Fenoglio-Preiser, C., Lantz, P., Listrom, M., Davis, M., y Rilke, F. 1989. Gastrointestinal Pathology. Raven Press, Ltd., New Cork, USA, 383-397.

Flores, J. 1997. Farmacología Humana. 3ª. ed., Masson, Barcelona: 73, 81.

Fragoso, R. L., Esperanza, R. J., Burchiel, S. W. Ruiz, H. D. y Torres, E. 2007. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in México. Toxicology and Application Farmacology. Vol. 227: 125-135.

Fraser, M. H., Cuerrier, A., Haddad, P. S., Arnason, J. T. Owen, P. L. y Johns, T. 2007. Medicinal plants of cree communities (Que'bec, Canada): Antioxidant activity of plants used to treta type 2 diabetes symptoms. Canadian Journal of Fisiology and Farmacology. Vol. 85: 1200-1214.

Galisteo, M., García-Saura, F. M., Jiménez, R., Villar, C. I., Zarzuelo, A., Vargas F. y Duarte, J. 2004. Effects of chronic quercitin treatment on antioxidant defense system and oxidative status of the deoxycorticosterone acetate-salt-hypertensive rats. Molecular and Cellular Biochemistry. Vol. 259: 91-99.

García, R. J. C. 2004. Glutati6n-S-transferasa como sistema protector en los procesos neuro degenerativos. Ciencias Biológicas. Vol. 35: 56-58.

- García, R. M. C. y Altamirano, L. M. A. 2007.** La clorofilina como modulador y protector de daño al ADN: experiencia en el ratón *in vivo*. *Bioquímica*. Vol 32: 15-24.
- Gill, I.R.C., Haldar, S., Potter, S., Mathew, S., Sullivan, S., Coulter, J., McGlynn, H. y Rowland, I. 2004.** The effect of cruciferous and leguminous sprouts on genotoxicity, *in vitro* and *in vivo*. *Cancer and Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. Vol.13: 1199-1205.
- González, L. R. F., Reyes, N. M. G., Preza, L. A. M., Rosales, C. M. Morales, C. J. Gallegos, I. J. A. y Rocha, G. N. E. 2007.** Evaluación del efecto antioxidante y quimioprotector de extractos fenólicos de semillas de manzana. *Grasas y Aceites*. Vol. 58: 5-9.
- González, P. F. L. 2007.** Evaluación de la actividad antioxidante total de extractos acuosos de especies vegetales comestibles en el estado de Querétaro. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo. : 3: 35-37.
- Gu, J. Q., Li, W., Kang, Y. H., Su, B. N., Fong, H. H., Pezzuto, J. M. y Kinghorn, A. D. 2003.** Minor withanolides from *Phisalis philadelphica*: Structures, quinone reductase induction activities, and liquid chromatography (LC)-MS-MS investigation as artifacts. *Pharmaceutical Society of Japan*. Vol. 51: 530-539.
- Gutiérrez, G. G. 2006.** Evaluación de la actividad quimioprotectora de extractos acuosos y metanólicos de plantas medicinales y comestibles en el estado de Querétaro como inductores de enzimas de fase 2. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo: 3-4,6-9.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. y Jakoby, 1974.** Glutathione-S-transferase the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*: Vol 249: 7130-7139
- Hu, Ch. y Kitts, D. D. 2003.** Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvents-fractionates Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 51: 301-310.
- Hudec, J., Bordová, M., Kobida, L., Komora, L., Macho, V., Kogan, G., Turianica, I., Kochanová, R., Lozek, O., Habán, M. y Chileno, P. 2007.** Antioxidant capacity

changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, Nettle (*Urtica dioica* L.), and Dandelion (*Taraxacum officinales*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 55: 5689-5696.

Ikizler, M., Erkasap, N., Dernek, S., Kural, T. y Kaygisiz, E. 2006. Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. Vol. 7: 404-410.

Inal, M. E. y Kahraman, A. 2000. The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet induced oxidative stress in rats. Toxicology. Vol 154: 21-29.

INEGI, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 2007. Anuario Estadístico. www.inegi.gob.mx

Katzunz, B. G. 1999. Farmacología Básica y Clínica. 7ª. ed., Manual moderno, México, DF: 61-62.

Kennelly, E. J., Gerhäuser, C., Song, L. L., Graham, J. G., Beecher, C. W. W., Pezzuto, J. M. y Douglas, K. A. 1997. Induction of quinone reductase by withanolides isolated from *Physalis philadelphica* (Tomillos). Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 45: 3771-3777.

Kim, S. H., Hyun, S. H. y Choung, S. Y. 2006. Antioxidative effects of *Cinnamomum cassiae* and *Rhodiola rosea* extracts in liver of diabetic mice. BioFactors. Vol. 26: 209-219.

Manzano, C. E., Espinosa, P. D. Bahr, V. P. Y Sanfiel, V. L. 2007. Marcadores bioquímicos del estrés oxidativo en pacientes hipertensos esenciales no tratados. Revista Cubana de Investigación Biomédica. Vol. 26: 1-9.

Martínez, M.S., González, G. J., Culebras, J. M. y Tuñón, M. J. 2002. Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. Vol. 6: 271-278.

Miranda-Centeno, C. N. 2005. Estudio químico y evaluación del potencial quimioprotector de plantas comestibles en zonas rurales queretanas. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de Maestro en ciencias y tecnología de los alimentos. 41-28.

- Munday, R., Munday, C.M. y Munday, J. S. 2005.** Hemolytic anemia and induction of Phase II detoxification enzymes by diprop-1-enyl sulfide in rats: Dose-response study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53: 9695-9700.
- Olantunde, E. 2004.** Diet related cancer and prevention using anticarcinogens. *African journal de Botecnology*. Vol. 3: 651-661.
- Paglia, D.E., Valentine, W.N. 1976.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clinica Medica*. Vol.70: 158-169
- Pérez, T. G. 2003.** Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"*. Vol. 22: 4-8.
- Pochaska, H. ,J., Santamaría, A. B., y Talalay, P. 1992.** Rapid detection of inducers of enzymes that protect against carcinogens. *Medical Sciences*. Vol. 89: 2394-2398.
- Prego, C. E. Balboa, P. J. y Céspedes, M. E. 1997.** Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libre: III. Glutación peroxidasa. *Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón*. Vol 16: 10-15.
- Ramos, I. M. L., Batista, G. C. M., Gómez, M. B. C. y Zamora, P. A. L. 2006.** Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigaciones en Salud*. Vol. 8: 3-10.
- Renteria, L. y Cantú, C. 2003.** El efecto de *Tegeticula yuccasella* riley sobre la fenología reproductiva de *Yucca filifera* Chabaud en Linares N.L. México. *Acta Zoológica Mexicana*. Vol.89: 85-92.
- Rose, P. Nam, O. C. y Whiteman, M. 2005.** Protective effects of Asian green vegetables against oxidant induced cytotoxicity. *World Journal of Gastroenterology*. Vol. 11: 7607-7614.
- Salvadó, R. J. 2005.** Efecte antigenotòxic i modilador de l'expressió d'enzims antioxidants per procianidines del vi negre en condicions d'estrés oxidatiu. *Univeritat Rovira i Virgili. Tarragona, Italia*. Tesis para obtener el título de Doctora en bioquímica: 26-36, 56-60.
- Sasaki, K., Wada, K., Tanaka, Y., Yoshimura, T., Matuoka, K. y Anno, T. 2005.** Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Leaves and its constituents increase the activities of xenobiótico-metabolizing enzymes in mouse liver. *Journal of Medicinal Food*. Vol. 8: 184-189.

- Sigstedt**, C. S., Hooten, J. C., Callewaert, C. M., Jenkins, R. A., Romero, E. A., Pullin, J.M., Kornienko, A., Lowrey, K. T., Slambrouck, V. S. y Steelant, F. A. W. **2008**. Evaluation of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on growth and invasion of breast and prostate cancer cells. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 115: 82-88.
- Stezelecka**, M., Bzowska, M., Koziel, J. Suba, B., Dubiel, O. Rivera, D. **2005**. Anti-inflammatory effects of extracts from some traditional mediterranean diet plants. Journal of Physiology and Pharmacology. Vol. 56: 139-156.
- Suárez**, R. G., Serrano C. V., Balderas, A. P. y Pelz, M. R. **2004**. Atlas de Malezas Arvenses del estado de Querétaro. 1ª. Ed. Ediciones UAQ, México: 34-35, 66-67, 82-83, 90-91, 210-211, 222-223.
- Subías**, J. D. E. **2007**. Evaluación de la actividad quimioprotectora de extractos acuosos y metanólicos de plantas comestibles en el estado de Querétaro como inductores de enzimas de fase 2. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Químico en Alimentos: 3-8.
- Subías**, J. D. E., Piña, Z. R. M., Reynoso, C. R., Serrano, V., Mendoza, D. S. y Ramos, G. M. **2007**. Evaluación *in vitro* del potencial quimioprotector de extractos metanólicos y acuosos de plantas comestibles del estado de Querétaro". Edición Especial, 7, 96 1-5. ISSN 1870-0160.
- Sue-Jing**, W., Lean-Teik, NG., Yuan-Man, H., Doung-Liang, L. y Shyh-Shyan, W. **2005**. Antioxidant Activities of *Physalis peruviana*. Biology Pharmaceutical. Vol 28: 963-966.
- Tenorio**, L., F. A., Del Valle, M. L. y Pastelín, H. G. **2006**. Flavonoides and the cardiovascular system: Can they be a therapeutic alternative? Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Vol. 76: 14-22.
- Utesch**, D., Beige, K., Dasenbrock, J., Broschard, T. H., Harwood, M., Danielewska-Nikiel, B. y Lines, T. C. **2008**. Evaluation of the potential *in vivo* genotoxicity of quercetin. Toxicology. Vol. 308: 15-23.
- Villavicencio**, M. A. **1995**. Plantas Útiles del Estado de Hidalgo. 1ª. ed. Ediciones UAEH, México: 58-60.

Wark, P. A., Grubben, M. J. A. L., Nagengast, F. M., Kampman, E., Kok, F. J. y Veet, P. V. **2004**. Habitual consumption of fruit and vegetables: associations with human rectal glutathione S-transferase. *Carcinogenesis*. Vol. 25: 2135-2142.

Yildirim, A., Mavi, A. y Aydan, K. A. **2001**. Determination of antioxidant y antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. Vol. 49: 4083-4089.

Zhang, H., Liao, L. H., Liu, S. M., Lau, K. W. Lai, A. K. Ch., Zhang, J. H., Wang, O., Chen, X. O., Wei, W. Liu, H., Hua, J., Lung, M. L. Tai, S. S. W. y Wu, M. **2007**. Microsomal glutathione S-transferase gene polymorphisms and colorectal cancer risk in a Han Chinese population. *Journal of Colorectal Disturbances*. Vol. 22: 1185-1194.

X. ANEXOS

ANEXO 1. Solución amortiguadora de Tris/Sacarosa, pH 7

- a) Pesar 7.9 g de Tris-HCl
- b) Pesar 2.1 g de MgCl_2
- c) Pesar 1.9 g de KCl
- d) Pesar 85.6 g de sacarosa ultra pura
- e) Disolver con 1000 mL agua destilada
- f) Medir el pH antes de aforar. En caso de almacenarse por un período prolongado, esterilizar mediante filtración ($45\ \mu\text{m}$) al vacío en una atmósfera estéril.

ANEXO 2. Solución amortiguadora de fosfatos 50 mM, pH 7

- a) Pesar 1.362 g de NaH_2PO_4
- b) Pesar 2.67 g de Na_2HPO_4
- c) Disolver en 500 mL de agua destilada y medir el pH antes de aforar.

ANEXO 3. Solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 6.5

- a) Pesar 4.725 g de NaH_2PO_4
- b) Pesar 2.237 g de Na_2HPO_4
- c) Disolver en 500 mL de agua destilada y medir el pH antes de aforar.

ANEXO 4. Solución de trabajo para la determinación de proteína (Kit de BCA).

- a) Solución de trabajo = 10 mL de reactivo A + 200 μL de reactivo B.

ANEXO 5. Solución amortiguadora TRIS 0.2M, EDTA 0.02 M, pH 8.2

- a) Pesar 0.744 g de EDTA, para preparar 100 mL de EDTA con una concentración de 0.02 M.
- b) Pesar 3.152 g de TRIS, para preparar 100 mL de TRIS con una concentración de 0.2 M.

- c) Para ambas soluciones diluir en agua destilada
- d) Ajustar el pH antes de aforar.

ANEXO 6. Solución de trabajo inicial para la curva estándar de GSH.

- a) Pesar 0.00184 g de GHS.
- b) Disolver en 10 mL de metanol
- c) Almacenar en refrigeración.

ANEXO 7. Solución de DTNB 2.46 mM

- a) Pesar 0.0243 g de ácido 5,5'-ditiobis dinitrobenzoico.
- b) Disolver en 25 mL de metanol.

ANEXO 8. Solución de TCA al 20%

- a) Pesar 1.1051g de ácido tricloro-acético.
- b) Disolver en 5 mL de agua destilada.

ANEXO 9. Solución de trabajo GSH 3 mM

- a) Pueden prepararse una solución inicial y el día del experimento se puede preparar la solución de trabajo; el volumen debe modificarse de acuerdo a la cantidad de muestras.
- b) La solución inicial 150 mM: Pesar 0.0461 g de GSH y disolver en 1 mL de solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 M
- c) Para la solución de trabajo mezclar 140 μ L de solución inicial GSH 150 mM y añadir 6.86 mL de solución amortiguadora de fosfatos de 0.1 M
- d) Los volúmenes deben ajustarse de acuerdo al número de muestras.

ANEXO 10. Solución de trabajo CDNB 2 mM

- a) Pueden prepararse una solución inicial y el día del experimento se prepara la solución de trabajo.
- b) La solución inicial 60 mM: Pesar 0.0244 g de CDNB y añadir 2 mL de etanol 100% puro.

- c) Para la solución de trabajo mezclar 300 μ L de solución inicial CDNB 60 mM con 8.7 mL de buffer de fosfatos 0.1M.

ANEXO 11. Solución amortiguadora de reacción 50 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA pH 8

- a) Pesar 0.788 g de Tris HCl.
- b) Pesar 0.01861 g de EDTA.
- c) Disolver en 500 mL de agua destilada.
- d) Ajustar el pH antes de aforar con agua desionizada.

ANEXO 12. Cocktail de GSH/GPX (42 mM GSH, 10 unidades de GPX/mL)

- a) Pesar 0.0129 g de glutatión reducido (GSH).
- b) Adicionar 50 μ L de glutatión reductasa.
- c) Aforar a 1 mL con solución amortiguadora.
- d) El cocktail no se debe almacenar

Anexo 13. NADPH 5 mM.

- a) Pesar 0.004167 g de NADPH en 1 mL de solución amortiguadora de reacción en la determinación de GPX.
- b) Se debe preparar inmediatamente antes de usarse
- c) La solución es estable por 5 días a 4 °C
- d) El NADPH es sumamente inestable consérvese a -20 °C en desecador.

ANEXO 14. Solución amortiguadora de trabajo TRIS, 0.025 M, pH 7.4

- a) Pesar 1.97 g TRIS_HCl.
- b) Pesar 333 mg de albúmina sérica bovina.
- c) Medir 3.3 mL de Tween 20 al 1.5 %
- d) Disolver en 500 mL de agua destilada y esterilizar a través de filtración (poro de 0.22 micras), almacenar a temperatura ambiente.