

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**"POTENCIAL QUIMIOPROTECTOR DE DIFERENTES
VARIEDADES DE FRIJOL NEGRO EN CÁNCER DE COLON
INDUCIDO QUÍMICAMENTE"**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ALMA CRISTINA PALOMINO SALINAS

DIRIGIDA POR

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2005.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

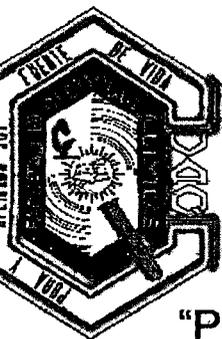
No. Adq. H. 69530

No. Título _____

Clas. TS

616.99447

P181p



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“POTENCIAL QUIMIOPROTECTOR DE DIFERENTES DE
DIFERENTES VARIETADES DE FRIJOL NEGRO EN CÁNCER
DE COLON INDUCIDO QUÍMICAMENTE”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

ALMA CRISTINA PALOMINO SALINAS

DIRIGIDA POR

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SINODALES

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO
DIRECTOR

Dra. MINERVA RAMOS GÓMEZ
SINODAL

Dra. SANDRA MENDOZA DÍAZ
SINODAL

M. en C. LETICIA DE LA ISLA HERRERA
SINODAL

A la Dra. Evita por su ayuda y consejos en la parte experimental de este trabajo. Por su amistad.

A la Dra. Sandra por sus consejos que ayudaron a que este trabajo quedara concluido.

A mis tíos Paty y Gustavo por siempre preocuparse por mí, por sus consejos, sus porras, risas. A mi tía por ser como una madre para mí. Gracias por darnos un angelito tan bello a la familia.

A mis padrinos Tere y Raymundo por siempre preocuparse por mí por sus porras.

A todos mis tíos y primos.

A mis amigas de la preparatoria, Mayí, Rosa Isela e Indira por su amistad a pesar de estar separadas.

A Mary Carmen y a Minerva por su amistad a lo largo de todo este camino, por sus consejos, apoyo, regaños, enseñanzas, echarme la mano cuando la necesitaba, por las noches de estudio que muchas veces eran muy divertidas, por abrirme las puertas de su casa, por aguantar mis momentos de histeria y de enojo. Gracias hermanas adoptivas.

A las baboshas (Cynthia, Flor, Susan, Josie e Isis), por sus ocurrencias que hacían más divertidas las clases y los laboratorios.

A los baboshos (Rodrigo, Javier, Oliver, Alejandro, Rodolfo e Iván)

A los muchachos de laboratorio; Brisia mamá, Brisia A., Alma, Berenice, Rosalba, Rogelio, Adriana, Monse, Karla, Rocío, Laura por su ayuda en este trabajo y por su amistad.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
1. Generalidades del Cáncer	3
1.1 Importancia del cáncer	3
1.2 Índices	3
2. Mecanismos Reguladores	4
2.1 Apoptosis y Proliferación celular	4
2.1.1 Proliferación celular	4
2.1.2 Apoptosis	5
2.1.2.1 Apoptosis y su relación con cáncer	7
3. Cáncer como patología	7
3.1 Generalidades	7
3.2 Genes supresores de tumores y oncogenes	8
3.2.1 Oncogenes	8
3.2.2 Genes supresores de tumores	9
3.3 Características del cáncer	10
3.4 Clasificación de tumores	11
3.5 Angiogénesis	12
3.6 Clasificación del cáncer	13
3.7 Etiología del cáncer	13
4. Cáncer de colon	14
4.1 Función del colon	14
4.2 Morfología del colon	14

4.3	Epidemiología y etiología del cáncer de colon	16
4.4	Patología del cáncer de colon	17
4.5	Genética molecular del cáncer de colon	19
5.	Alimentos Nutricionales	21
5.1	Alimentos Funcionales	21
5.2	Importancia de los metabolitos secundarios	22
5.3	Relación entre la dieta y el cáncer de colon	22
6.	Frijol	24
6.1	Generalidades del frijol	24
6.2	Composición del frijol	25
6.3	Propiedades nutraceuticas del frijol	25
6.4	Relación entre el frijol y el cáncer de colon	27
7.	Modelos Experimentales de Carcinogénesis	28
7.1	Generalidades	28
7.2	Tipos de carcinógenos	28
7.3	1,2-Dihidrocloruro de dimetilhidrazina (1,2-DM)	29
HIPÓTESIS		32
OBJETIVOS		33
<i>General</i>		33
Específicos		33
METODOLOGÍA		34
1.	Materiales	34
1.1	Químicos	34
1.2	Biológicos	34
2.	Métodos	34
2.1	Grupos de estudio	34
2.2	Composición de las dietas	34
2.3	1,2-Dihidrocloruro de dimetilhidrazina	35
2.4	Inducción del cáncer colorrectal con 1,2-DMH	36
2.5	Sacrificio	36
2.6	Análisis histológico	36

2.7 Análisis estadístico	37
RESULTADOS	38
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	59
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXO	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Oncogenes y neoplasias asociadas.	9
2	Genes supresores de tumores y neoplasias asociadas, a la alteración en la función que desempeñan.	10
3	Clasificación del cáncer.	13
4	Factores carcinogénicos que dan origen a un cáncer en cualquier parte del cuerpo.	14
5	Anomalías genéticas detectadas en células de cáncer colorrectal.	20
6	Metabolitos secundarios que proporcionan un beneficio al hombre.	23
7	Composición del frijol.	26
8	Clasificación de acuerdo a la estructura química de los carcinógenos colónicos.	29
9	Grupos experimentales.	35
10	Número de lesiones tipo I y tipo II encontradas.	42
11	Tamaño de las lesiones tipo I y tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	53
12	Análisis estadístico para las lesiones tipo I	53
13	Análisis estadístico para las lesiones tipo II	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Distribución del cáncer en México en 1995	4
2	Secuencia de los eventos morfológicos que ocurren durante la muerte celular por necrosis y apoptosis	6
3	Diferencia entre un tumor benigno y un tumor maligno	12
4	Anatomía del colon humano	15
5	Carcinoma del colon; aspectos macroscópico y propagación.	18
6	Secuencias de cambios genéticos que están asociados con displasias y neoplasias malignas del colon.	21
7	Metabolismo de la 1,2-DMH.	30
8	Curva de crecimiento de las ratas Sprague-Dawley en las que se indujo cáncer de colon con 1,2-DMH tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	39
9	Curva de sobrevivencia de las ratas Sprague Dawley en las que se indujo cáncer de colon con 1,2-DMH tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	41
10	Incidencia de lesiones tipo I inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	43
11	Incidencia de lesiones tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	44
12	Promedio de lesiones tipo I inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	45

13	Promedio de lesiones tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	46
14	Multiplicidad de lesiones tipo I inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades frijol cocido.	47
15	Multiplicidad de lesiones tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	48
16	Incidencia de lesiones tipo I en las tres zonas que conforman el colon en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	49
17	Incidencia de lesiones tipo II en las tres zonas que conforman el colon en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	50
18	Incidencia de lesiones tipo I encontradas por animal, inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	51
19	Incidencia de lesiones tipo II encontradas por animal, inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.	52

RESUMEN

En nuestro país el cáncer ocupa el 2º lugar de mortalidad. Esta enfermedad crónico degenerativa, se presenta cuando ocurren cambios genéticos en las características de la célula y alteran los procesos que controlan la proliferación y muerte celular. De los diferentes tipos de cáncer que existen, el cáncer de colon hoy en día es una enfermedad que ha generado altos índices de mortalidad. Por otro lado, se ha demostrado que la dieta es un factor importante que contribuye a prevenir este tipo de patología y dentro de los alimentos que se les ha dado gran importancia, está el frijol, el cual es una leguminosa que forma parte importante de la dieta del mexicano, sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios con variedades consumidas en nuestro país.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de diferentes variedades de frijol cocido para disminuir el desarrollo del cáncer de colon; estas variedades son frijol Negro 8075, Ayocote Morado, Ayocote Negro y Blanco Tlaxcala. El cáncer de colon fue inducido con 1,2-Dihidrocloruro de dimetilhidrazina (DMH) en ratas Sprague-Dawley macho. El frijol se incorporó a la dieta en base al consumo per cápita el cual fue 11 Kg al año. Los animales estuvieron consumiendo dicha dieta 4 semanas antes, 4 semanas durante y 9 semanas después del tratamiento con DMH. Las ratas fueron sacrificadas y se les extrajo el colon para evaluar la incidencia, multiplicidad y tamaño de las lesiones tipo I y tipo II encontradas.

No se observó diferencia significativa en cuanto a la ganancia de peso entre los diferentes grupos de tratamiento. Por otro lado, el grupo tratado con frijol Blanco Tlaxcala presentó mayor sobrevivencia de animales (90%) al finalizar el estudio.

Se encontró que los grupos tratados con frijol Negro 8075, Ayocote Morado y Ayocote Negro presentaron mayor incidencia de lesiones tipo I la (90%); mientras que el grupo control positivo (DMH) y el grupo tratado con frijol Blanco Tlaxcala tuvieron mayor incidencia de lesiones tipo II (100%). La multiplicidad para ambos grupos siguió el mismo curso.

Las lesiones tipo I tuvieron una mayor distribución en la zona proximal del colon y las Lesiones tipo II en la zona media y distal. El tamaño de las lesiones tipo I fue mayor (0.02cm^3) para los grupos tratados con diferentes variedades de frijol negro, mientras que el tamaño de las lesiones tipo II fue mayor (0.08cm^3) para el grupo control positivo (DMH) y el grupo tratado con frijol Blanco Tlaxcala.

En base a estos resultados se demuestra que el frijol disminuye la progresión del cáncer, ya que permite que inicie el proceso de carcinogenesis en su fase primaria pero inhibe su paso a una fase secundaria, esto se demuestra por el mayor número de Lesiones Tipo I, por lo tanto, el consumo per cápita de esta leguminosa produce una protección contra el desarrollo del cáncer de colon.

INTRODUCCIÓN

En los países en vías de desarrollo las principales causas de muerte son las enfermedades infecciosas, pero en los países desarrollados, las enfermedades degenerativas y el cáncer son las causas más frecuentes. En nuestro país el cáncer ya es considerado un problema de salud pública; ya que ocupa el 2º lugar de mortalidad. Por esta razón que se están realizando diversos estudios para encontrar estrategias que ayuden a disminuir estos índices.

Las células cancerosas pueden presentar cambios de todo tipo y de magnitud variable. Dentro de las alteraciones que pueden presentar estas células encontramos modificaciones en su forma y tamaño; cambios en su apariencia, alteraciones en la distribución de la cromatina nuclear, y en la forma y número de sus cromosomas, cambios bioquímicos y algunas otras alteraciones. Los tumores que pueden presentarse en cualquier cáncer pueden ser de dos tipos: tumores benignos y malignos, siendo esta última la principal causa de muerte en muchos cánceres.

El cáncer de colon es un padecimiento que se presenta generalmente en personas mayores de 50 años y sobre todo en mujeres, siendo poco común en hombres. Las causas del cáncer de colon no se tienen aún muy claras, pero se piensa que la ingestión de una dieta rica en grasas y bajo contenido de fibra puede ser un factor muy importante para que se desarrolle esta patología.

Por otro lado, la dieta juega un papel muy importante en la prevención de ciertos tipos de cáncer. Se ha demostrado que las dietas basadas en legumbres, verduras, frutas y sobre todo granos, muestran cierta protección contra el cáncer de colon.

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) es una planta originaria de América. Esta leguminosa ha sido considerada un alimento básico de la dieta del mexicano, debido a que es una buena fuente de proteínas y de carbohidratos, es rica en fibra tanto soluble como insoluble, en minerales y en vitaminas. Además de sus propiedades nutricias, el frijol tiene la capacidad de disminuir el riesgo de padecer algunas

enfermedades crónico degenerativas como el cáncer. Sin embargo, hasta el momento no existen estudios realizados con variedades de frijol cultivados en nuestro país y por lo tanto, es importante determinar la capacidad quimioprotectora de dichas variedades que nos permitan clasificarlas en base a sus propiedades anticarcinogénicas.

ANTECEDENTES

1. GENERALIDADES DEL CÁNCER

1.1 IMPORTANCIA DEL CÁNCER

En los países en vías de desarrollo las principales causas de muerte son las *enfermedades infecciosas*, en los países desarrollados, las *enfermedades degenerativas* y el *cáncer* son las causas más frecuentes de mortalidad (Rojas-Espinosa, 2001).

En los Estados Unidos, el *cáncer* es la segunda causa principal de muerte. La estimación indica que la mitad de los hombres y una tercera parte de las mujeres padecerán de *cáncer* durante su vida. En la actualidad, hay millones de personas que padecen *cáncer* o que han padecido la enfermedad. El riesgo de contraer la mayoría de los tipos de *cáncer* se puede reducir mediante cambios en el estilo de vida de la persona, por ejemplo, dejando de fumar o consumiendo alimentos más saludables. Mientras más rápido se diagnostique el *cáncer* y más rápido comience el tratamiento, mayores serán las probabilidades de que el paciente viva por muchos años (Sociedad Americana del *Cáncer*).

1.2 INCIDENCIA, PREVALENCIA Y MORTALIDAD

El *cáncer* constituye un problema de salud pública. En nuestro país fue la segunda causa de muerte en 1995, con 48,222 decesos y con un 11.2% del total de muertes. En el año 2000, se reportaron 73,299 casos nuevos de *cáncer* en México con predominio del sexo femenino (64.7%) (Figura 1) (Platt, 2000).

En 1999 en México, la causa de muerte por tumores malignos ocupó el segundo lugar presentado 23,813 decesos. Para el año 2000, el *cáncer* ocupó nuevamente el segundo lugar de mortalidad reportándose 24,109 defunciones con una tasa del 12%. El *cáncer* en el año 2001, nuevamente ocupó el 2º lugar de mortalidad reportándose 25,115 defunciones con una tasa del 13% (Secretaría de Salud)

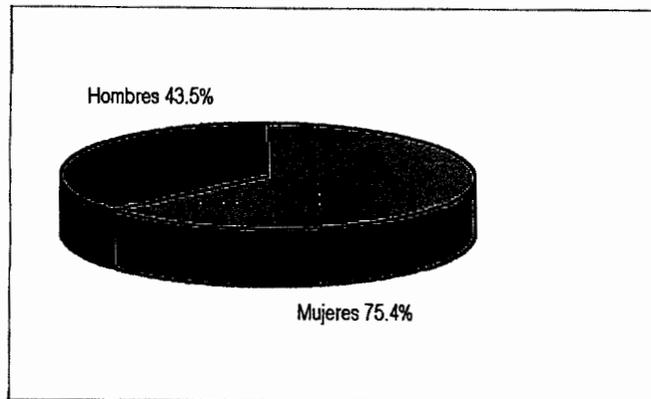


Figura 1. Distribución del cáncer en México en 2001 (SSA, 2004).

2. MECANISMOS REGULADORES

2.1 Proliferación Celular y apoptosis

Para que la célula mantenga sus características normales, los genes deben funcionar de manera ordenada y regulada. Si alguno de estos genes se altera en su estructura o función, ocurre su pronta detección y reparación, usualmente a través de proteínas codificadas por otros genes; así la célula se mantiene en orden. Algunas veces, estas alteraciones en los genes activos no son detectados y los genes afectados dejan de funcionar o funcionan de manera anormal, produciendo cantidades alteradas de proteínas normales o produciendo proteínas anormales sin actividad fisiológica definida. Este funcionamiento desordenado de los genes es lo que caracteriza a las células cancerosas. Los mecanismos fisiológicos que se ven afectados por este tipo de alteraciones en los genes son: (1) la proliferación celular y (2) la apoptosis (Rojas-Espinosa, 2001).

2.1.1 Proliferación Celular

Las células proliferan aumentando su contenido de moléculas y organelos (crecimiento en masa o tamaño), duplicando y segregando sus cromosomas para posteriormente dividirse en dos células hijas que son genéticamente iguales.

La proliferación celular tiene lugar de un modo controlado de acuerdo a las necesidades generales del organismo. Cada tipo de células se divide con una periodicidad óptima para el correcto mantenimiento y funcionamiento del organismo. Hay células que se dividen con gran frecuencia, como las que recubren la pared del intestino, y otras lo hacen muy esporádicamente o incluso nunca, como la mayoría de las células nerviosas. La proliferación celular es la base del desarrollo del organismo humano a partir del cigoto según un modelo de divisiones celulares en el que cada tipo celular se divide cuanto y cuando debe. Y es también la raíz del primero de los procesos que origina un cáncer: el crecimiento descontrolado de un grupo de células (Jean-Claude, 2000).

2.1.2 Apoptosis

La supervivencia de un organismo multicelular depende de un sofisticado balance entre la vida y la muerte de sus células. Esta última puede ocurrir mediante dos procesos esencialmente diferentes llamados: necrosis y apoptosis. El término de apoptosis describe una forma característica de muerte, gobernada por un programa genético común en varios tipos celulares. La apoptosis usualmente afecta a células individuales, más que a todas las células de un tejido. Actualmente, este proceso se considera como una medida fisiológica de remoción celular, en la cual las células muertas experimentan cambios sutiles en la fisicoquímica de sus membranas que conducen a su reconocimiento y fagocitosis por células normales adyacentes.

Existen básicamente dos procesos por los cuales las células activan su programa de muerte. La apoptosis implica la destrucción de las células que representan una amenaza para la integridad del organismo. Esto queda demostrado en las células que presentan daños en su ADN que pueden repercutir en el desarrollo embrionario, pues aumentan la producción de *p53*, potente inductor de la apoptosis.

Uno de los primeros cambios morfológicos que presentan las células al inicio del proceso apoptótico, consiste en una condensación del citoplasma y reducción del volumen celular acompañado de cambios en la estructura del núcleo. La cromatina se condensa y forma cúmulos densos adosados a la membrana; esto es seguido de invaginaciones de la membrana nuclear y termina con la fragmentación del núcleo en estructuras membranosas con cantidades variables de cromatina. De manera análoga, la membrana celular experimenta invaginaciones que terminan por fragmentar a la célula formando racimos de vesículas de tamaño variable que contienen orgánulos intactos que no se fusionen con los lisosomas. A estas vesículas se les denomina cuerpos apoptóticos, los cuales son rápidamente fagocitados por células vecinas. Por lo tanto, una de las consecuencias fisiológicas más relevantes de la muerte por apoptosis es que no se libera material intracelular al medio intersticial (Figura 2).

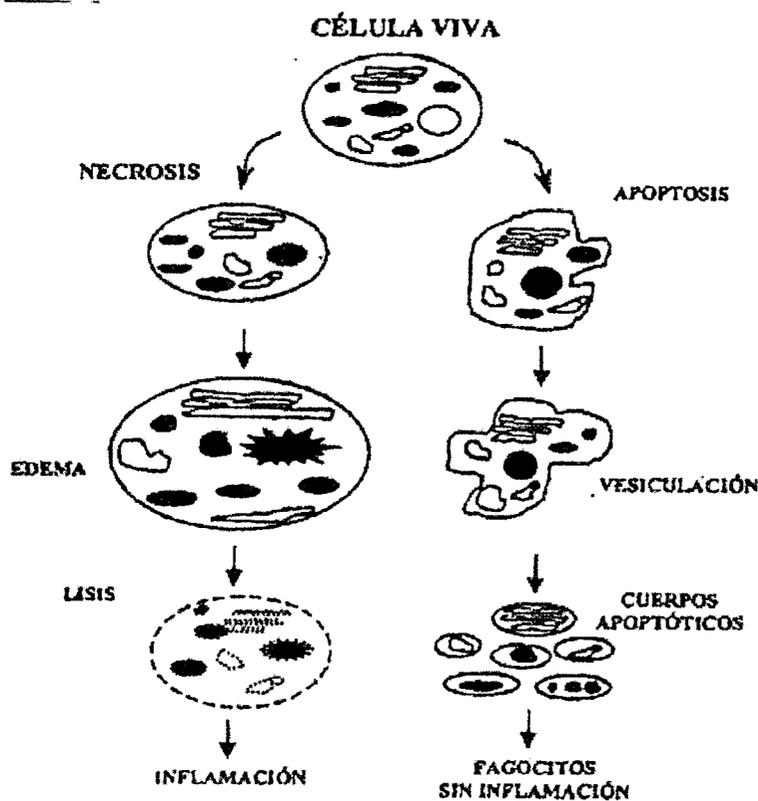


Figura 2. Secuencia de los eventos morfológicos que ocurren durante la muerte celular por necrosis y apoptosis (Ortega y col., 2001).

2.1.2.1. Apoptosis y su relación con el cáncer

Hoy en día se acepta a la apoptosis como un mecanismo clave en todas las facetas del cáncer, incluyendo hiperplasia, transformación neoplásica, expansión tumoral, neovascularización y metástasis. Dado que en muchos tumores malignos la apoptosis esta inhibida. Así mismo, el aumento en el número celular en el curso de las neoplasias se debe al incremento en la tasa mitótica y a una disminución en la tasa de deleción celular.

La mayoría de las células malignas muestran cambios en la expresión, mutación o deleción de oncogenes y antioncogenes como: *bcl-2*, *p53*, *c-myc* o *ras*. Otras, en ligando de Fas y en los receptores TNF, o bien cambios en la actividad de las caspazas, lo que modifica el programa genético de muerte (Ortega y col., 2001).

3. CÁNCER COMO PATOLOGÍA

3.1 GENERALIDADES

Las células cancerosas pueden exhibir cambios de todo tipo y de variable magnitud. Las alteraciones que pueden presentar este tipo de células incluyen modificaciones en su forma y tamaño, cambios en su apariencia (aparecen más blastoides, menos diferenciadas, frecuentemente con nucleolos), alteraciones en la distribución de la cromatina nuclear, alteraciones en la forma y número de sus cromosomas, cambios bioquímicos y algunas otras alteraciones. Todos estos cambios tienen una causa genética, aparecen cuando ocurren alteraciones en los genes que no son corregidas por los mecanismos de reparación del material genético (Damell y col., 1993).

3.2 ONCOGENES Y GENES SUPRESORES DE TUMORES

Dentro del conjunto de genes que forman el genoma de una célula, existen dos clases de genes relacionados con el cáncer: los oncogenes, también conocidos como genes inactivos o proto-oncogenes y los genes inhibidores de los oncogenes, también conocidos como anti-oncogenes o genes supresores de tumores (Rojas-Espinosa, 2001).

3.2.1 Oncogenes

Los proto-oncogenes son los genes celulares que controlan los procesos de proliferación y diferenciación celular. La ocurrencia de mutaciones en éstos pueden resultar en variantes alteradas u oncogenes que codifican para proteínas que desencadenan señales positivas de proliferación que mantienen a la célula estimulada para pasar de una mitosis a otra.

Los productos proteicos de los proto-oncogenes tienen diferentes funciones dentro de la célula. Ellos pueden ser factores de crecimiento como es el caso del Factor de crecimiento epitelial (EGF) y el Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) entre otros. También pueden funcionar como receptores de membrana como es el caso del EGF-R. Además, existen receptores intracelulares que responden a hormonas esteroideas.

Algunos proto-oncogenes son activados por eventos que cambian su expresión pero que mantienen la secuencia codificante inalterada. Otro mecanismo por el cual los oncogenes pueden ser activados es la translocación a una nueva localización cromosomal (Hernández y Ríos, 1999).

Los oncogenes y los anti-oncogenes forman parte del sistema de control genético que regula la fisiología celular; la actividad anormal de algunos de estos genes puede desplazar el equilibrio de la regulación hacia el crecimiento aberrante de las células dando origen al cáncer (Cuadro 1) (Weir y Stewart, 1999).

Cuadro 1. Neoplasias asociadas a oncogenes(Hernández y Ríos, 1999).

ONCOGEN	NEOPLASIA
<i>C-myc</i>	Leucemias, mama, estómago, pulmón y carcinomas de colon, neuroblastomas, glioblastomas
<i>N-myc</i>	Neuroblastomas, retinoblastomas, carcinoma de pulmón
<i>L-myc</i>	Carcinomas de pulmón
<i>erb-B</i>	Glioblastomas, carcinomas de células escamosas
<i>Erb-B2</i>	Mama, glándulas salivales, carcinoma de ovario
<i>int-2</i>	Mama y carcinomas de células escamosas
<i>Hst</i>	Mama y carcinomas de células escamosas
<i>PRAD-1</i>	Mama y carcinomas de células escamosas
<i>Abl</i>	Leucemia crónica de la línea celular mielógena K562
<i>Myb</i>	Carcinoma de colon y leucemias
<i>ets-1</i>	Linfoma
<i>Rash</i>	Carcinoma de vejiga
<i>Rask</i>	Pulmón, ovario y carcinoma de vejiga
<i>Rasn</i>	Línea celular de carcinoma de mama
<i>mdm-2</i>	Sarcomas

3.2.2 Genes supresores de tumores

Los genes supresores de tumores en el organismo sano controlan la proliferación celular (Ríos y Hernández, 2001). Codifican la síntesis de proteínas cuya función es la supresión o inhibición de la actividad de los oncogenes, por lo cual inhiben el crecimiento celular (Klug y Cummings, 2000).

Éstos, por lo tanto son reguladores negativos de crecimiento y cuando no están presentes o se encuentran inactivos a causa de mutaciones, las células dejan de crecer normalmente y adquieren propiedades proliferativas anormales, características de las células tumorales. En el conocimiento de los genes supresores se han dado algunos pasos importantes. Los estudios moleculares han identificado hasta la fecha más de 17 genes supresores de tumores implicados directamente con el cáncer humano (Cuadro 2).

Ellos codifican para una serie de proteínas localizadas en distintas regiones dentro de la célula, tanto en el citoplasma como en el núcleo (Ríos y Hernández, 2001).

Cuadro 2. Genes supresores de tumores y neoplasias asociadas (Ríos y Hernández, 2001).

GEN SUPRESOR	FUNCIÓN DE LA PROTEÍNA	NEOPLASIA
<i>APC</i>	Desconocida	Cáncer de colon y estómago
<i>DPC4</i>	Codifica para una molécula en una ruta de señalización que inhibe la división celular	Cáncer pancreático
<i>NF-1</i>	Codifica para una proteína que inhibe una proteína estimuladora	Cáncer del sistema nervioso periférico y leucemia mieloide
<i>NF-2</i>	Desconocida	Cáncer de cerebro
<i>RB</i>	Codifica para la proteína p53, uno de los principales controles del ciclo celular	Cáncer de hueso, vejiga, células pequeñas del pulmón y mama
<i>p53</i>	Codifica para la proteína p53, la cual puede detener la división celular e inducir a las células anormales a morir por apoptosis	Cáncer de colon, pulmón, cuello, cabeza, mama y otros
<i>BRCA1, BRCA2</i>	Desconocida	Cáncer de mama y ovario

3.3 Características del Cáncer

Las células cancerosas están definidas por dos propiedades hereditarias: ellas y su progenie (1) se reproducen a pesar de las restricciones normales e (2) invaden y colonizan territorios normalmente reservados para otras células.

Una célula anormal aislada que no prolifere más que sus vecinas normales, no produce ningún daño significativo, pero si su proliferación está fuera de control producirá un tumor o neoplasma, una masa de células anormales creciendo inexorablemente (Albert y col., 2000).

3.4 Clasificación de los tumores

➤ Tumor Benigno

Si las células neoplásicas permanecen agrupadas en una masa única, se dice que el tumor es benigno. Generalmente puede conseguirse una curación completa de este tipo de tumor extrayendo la masa quirúrgicamente. Los tumores benignos contienen células muy similares a las normales y se comportan como tales. Las moléculas de interacción superficial que unen las células mantienen a los tumores benignos, al igual que a las células normales, localizadas en tejidos adecuados (Figura 3). Sólo se transforman en problemas médicos graves si, por su tamaño, interfieren en las funciones normales o secretan cantidades excesivas de sustancias con actividad biológica, por ejemplo hormonas.

➤ Tumor Maligno

Un tumor se considera maligno cuando sus células tienen la capacidad de invadir el tejido circundante. Las células expresan algunas proteínas características tipo celular que les dio origen y una fracción importante de las células crece y se divide con mayor rapidez que las normales. Algunos tumores malignos permanecen localizados y encapsulados, por lo menos durante cierto tiempo (Figura 3).

➤ Metástasis

La capacidad invasora implica, generalmente, la habilidad de liberarse, entrar en el torrente sanguíneo o en los vasos linfáticos, y formar tumores secundarios o metástasis en otros lugares del cuerpo (Lodish y col., 2002).

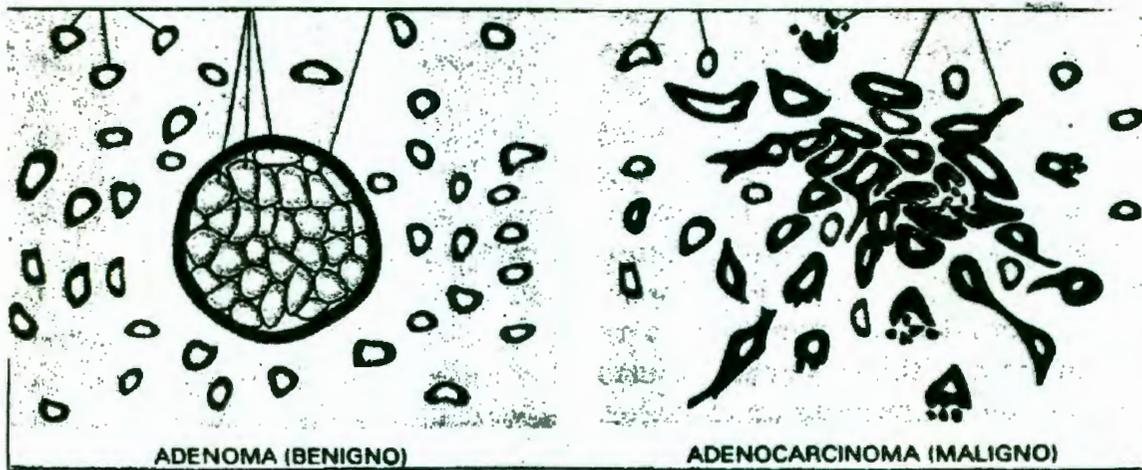


Figura 3. Diferencia entre un tumor benigno y un tumor maligno (Albert y col., 2000).

3.5 Angiogénesis

Los tumores, ya sean benignos o malignos, requieren el reclutamiento de nuevos vasos sanguíneos, para crecer y formar una gran masa. Sin irrigación sanguínea, un tumor puede crecer hasta formar una masa de unas 10^6 células, que representan casi una esfera de 2 mm de diámetro. En este punto, la división de las células del exterior de la masa tumoral se equilibra con la muerte de las centrales, debido al suministro inadecuado de nutrientes. Sin embargo, la mayoría de los tumores inducen la formación de nuevos vasos sanguíneos que invaden el tumor y lo nutren, proceso denominado angiogénesis. Si bien no se conocen los detalles de este complejo proceso, se pueden considerar los siguientes pasos; (1) la degradación de la lámina basal que rodea a un capilar cercano, (2) la división de las células endoteliales y (3) formación de una nueva membrana basal en torno del capilar recién elongado.

Muchos tumores producen factores de crecimiento que estimulan la angiogénesis; otros de alguna manera, inducen en las células circundantes la síntesis y secreción de esos factores. Los nuevos vasos sanguíneos nutren el tumor en crecimiento, lo que le permite aumentar su tamaño e incrementar así la probabilidad de que se

produzcan mutaciones dañinas adicionales. La presencia de un vaso sanguíneo adyacente también facilita el proceso de metástasis (Lodish y col., 2002).

3.6 Clasificación del Cáncer

Los cánceres pueden clasificarse de acuerdo con el tejido y con el tipo celular a partir de los que se originan (Cuadro 3) (Albert y col., 2000).

Cuadro 3. Clasificación del cáncer (Albert y col., 2000).

TIPO DE CÁNCER	TEJIDO DEL CUAL DERIVAN
Leucemia	Derivan de las células hematopoyéticas (células madres o mieloides)
Linfomas	Derivan de los ganglios linfáticos, timo y bazo
Sarcomas	Proceden del tejido conjuntivo o de células musculares
Carcinomas	Cánceres procedentes de células epiteliales
Adenomas	Cánceres que derivan de alguna glándula

Aproximadamente el 90% de los diferentes tipos de cáncer humano son carcinomas, quizás porque la mayor parte de la proliferación celular del cuerpo se produce en los epitelios, o quizás porque los tejidos epiteliales están expuestos más frecuentemente a las diversas formas de lesión física y química que favorecen el desarrollo del cáncer (Albert y col., 2000).

3.7 Etiología del Cáncer

El cáncer no parece originarse por una causa única sino por varias, algunas de ellas probablemente concurrentes. Todas ellas, sin embargo, inciden finalmente en la estructura y función de los genes. Considerados en forma global, los factores carcinogénicos pueden ser de naturaleza física, química o biológica, además de las mutaciones espontáneas que ocurren al azar como resultado del proceso de replicación del ADN (Cuadro 4) (Rojas-Espinosa, 2001).

Cuadro 4. Factores Carcinogénicos que pueden dar origen a un cáncer en cualquier parte del cuerpo (Rojas-Espinosa, 2001).

FACTORES CARCINOGENICOS	
Físicos	Radiaciones ultravioleta y radiaciones ionizantes
Químicos	Infinidad de sustancias naturales y artificiales: alquitrán, metilcolantreno, nicotina, algunos solventes, fármacos y algunos aditivos en alimentos.
Biológicos	Algunos virus como el virus del papiloma, el virus de la leucemia murina, el virus del sarcoma de Rous.
Mutaciones Espontáneas	Ocurridas al azar durante el proceso de replicación del material genético celular

4. CÁNCER DE COLON

4.1 Función del colon

La función principal del colon es la absorción del agua, sodio y otros minerales. Extrayendo el 90% del líquido del colon, convierte los 1000 a 2000 ml de quimo isotónico, que entran todos los días desde el íleon, en cerca de 200 a 250 ml de heces semisólidas (Ganong, 1998).

4.2 Morfología del colon

El intestino grueso desemboca en el colon. A poca distancia de la terminación del intestino se encuentra un área denominada ciego de cuyo extremo sobresale una porción del tamaño de un dedo meñique, llamada apéndice. Desde la unión de los dos segmentos del intestino, el colon ascendente, como su nombre lo indica, se extiende en dirección vertical por el lado derecho del abdomen hasta llegar a nivel del hígado. En ese lugar cambia de dirección en ángulo recto y se denomina colon transversal, el cual cruza la cavidad abdominal por debajo del hígado y estómago. Ya a la izquierda del abdomen, vuelve a doblarse en ángulo recto y a tomar

dirección descendente (colon descendente) hasta llegar al recto (Tortora y Anagnostakos, 2001). El diámetro del colón es mayor que el del intestino delgado. Su longitud es de unos 100 cm en el adulto vivo y 150 cm en la necropsia. Las fibras de la capa muscular externa se juntan en tres bandas longitudinales, las teniae coli. Debido a que estas bandas son más cortas que el resto del colon, la pared de éste forma evaginaciones (austros) entre las teniae. Las glándulas del colon son proyecciones cortas hacia adentro de la mucosa que secretan moco. Se encuentran ganglios linfáticos solitarios, especialmente en el ciego y en el apéndice (Figura 4) (Ganong, 1998).

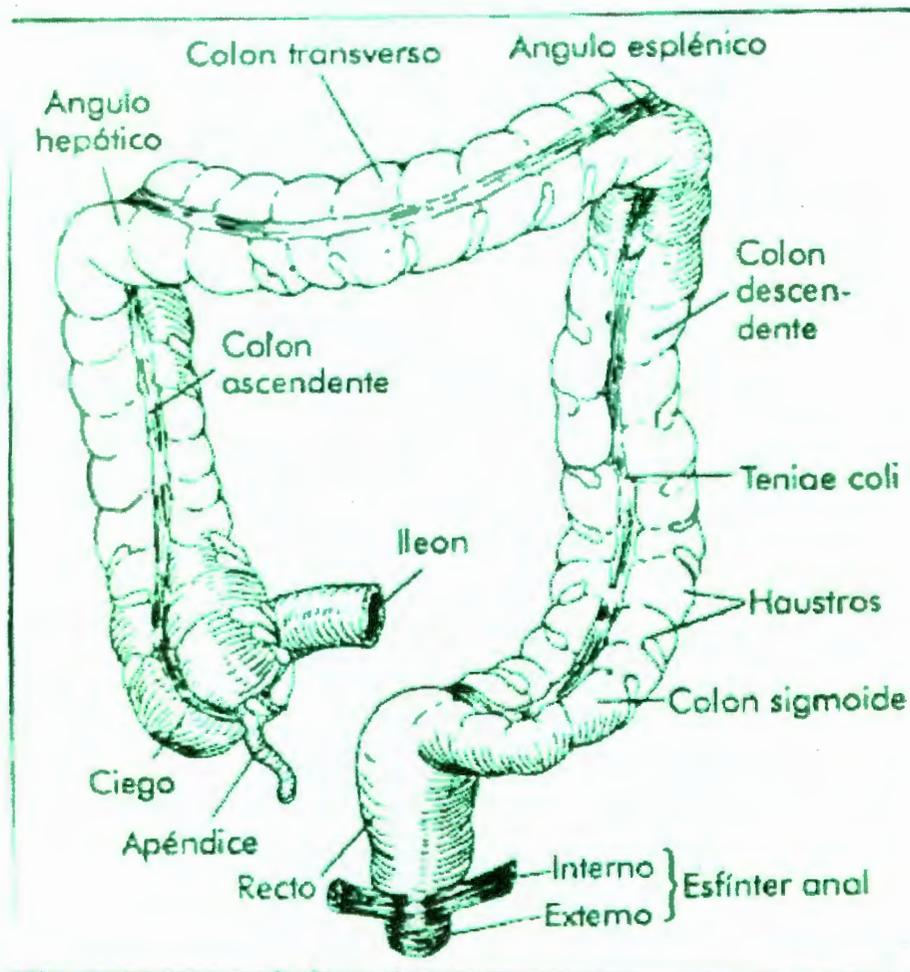


Figura 4. Anatomía del colon humano (Ganong, 1998).

4.3 Epidemiología y Etiología del cáncer de colon

Las neoplasias epiteliales malignas constituyen el 95% de las malignidades intestinales. La mayor parte de ellas se presentan en el colon y en el recto. Tomando en consideración la longitud del intestino delgado, su extensa superficie mucosa y la velocidad de su recambio celular, los carcinomas del intestino delgado, son notablemente poco comunes. Se cree que esto es debido al desplazamiento rápido del contenido líquido luminal a través del intestino delgado. El paso más lento de heces más sólidas en el colon permite un contacto más prolongado con carcinógenos de la dieta, causantes de la elevada incidencia de neoplasias en ese sitio.

Este cáncer es causante de más de 90% de las neoplasias malignas del intestino, y está en segundo lugar, sólo después del cáncer de pulmón, como causa de muertes por cáncer (más de 60,000 por año), cuando se consideran juntos ambos sexos. El carcinoma colorrectal es común en Norteamérica y Europa.

El cáncer de colon se presenta principalmente en individuos de edad avanzada; el 90% de los casos se observa en el grupo de mayores de 50 años. Las mujeres presentan una preponderancia de 2:1 (Chandrasoma y Taylor, 1999).

En el período comprendido entre 1980 a 1993, se informó que en México cerca de 17,000 muertes por carcinoma de colon y recto. Sólo en el último año de dicho período, se detectaron 2,361 nuevos casos y hubo 1,809 muertes. La tasa de mortalidad se ha duplicado desde 1980 a 1993 con 1.35 por cada 100,000 a 2.48 por cada 100,000 habitantes, respectivamente. En México existe un claro ascenso, con marcada diferencia entre los estados del norte de la República donde la tasa de mortalidad estandarizada oscila entre 1.11 y 1.7 por cada 100,000 habitantes (Durán y col., 2000). En 1997, se detectaron 3,381 casos de cáncer colorrectal (incluyendo conducto anal y ano), que representó el 3.9% de las neoplasias malignas. Actualmente, México ocupa el lugar 45 a nivel mundial en la tasa de mortalidad por cáncer colorrectal, la cual es de 3.1 y 3.2 por 100,000 habitantes en mujeres y hombres respectivamente (Mohar y col., 1997).

La causa del carcinoma colorrectal es desconocida. Se piensa que la elevada incidencia en países desarrollados se debe a la ingestión de una dieta rica en grasa animal y contenido bajo de fibra. Tal dieta produce heces reducidas, duras, con desplazamiento lento a través del colon, lo que permite a los agentes carcinógenos permanecer en contacto con la mucosa durante un periodo más prolongado (Chandrasoma y Taylor, 1999).

4.4 Patología del colon

La región rectosigmoide presenta cerca de 50% de todos los carcinomas del colon y el resto se distribuye en el colon. En el 5% de los casos hay carcinomas múltiples. Los carcinomas del colon ascendente del colon tienden a ser masas polipoides que se proyectan al interior de la luz. Los cánceres del colon descendente tienden a afectar la circunferencia total y a menudo constriñen el lumen del colon (anillo de servilleta o tienen apariencia de corazón de manzana).

Los carcinomas rectales son más comúnmente úlceras malignas con bordes elevados y evertidos. Microscópicamente, la mayor parte de los carcinomas del colon son adenocarcinomas de diferenciación variable. En la Figura 5 se muestra los diferentes tumores que se pueden presentar a lo largo del colon (Chandrasoma y Taylor, 1999).

Los síntomas en el carcinoma del colon son cualquier cambio en los hábitos intestinales, incluyendo estreñimiento y diarrea, así como hemorragia por el recto. La sangre tiene un color rojo brillante en los cánceres rectosigmoideos y se encuentra mezclada con heces y alterada en lesiones más proximales.

Los cánceres de colon descendente se presentan por lo común con obstrucción intestinal debido a que tienden a ser lesiones constrictivas en un segmento estrecho del colon, en el cual las heces son sólidas. En contraste, los carcinomas del colon ascendente se presentan pocas veces con obstrucción intestinal, ya que son masas polipoides en una parte más extensa del colon donde las heces son semisólidas. El carcinoma del colon del lado derecho se presenta con frecuencia con dolor abdominal, pérdida de peso, anemia y a menudo hay una masa abdominal palpable (Chandrasoma y Taylor, 1999).

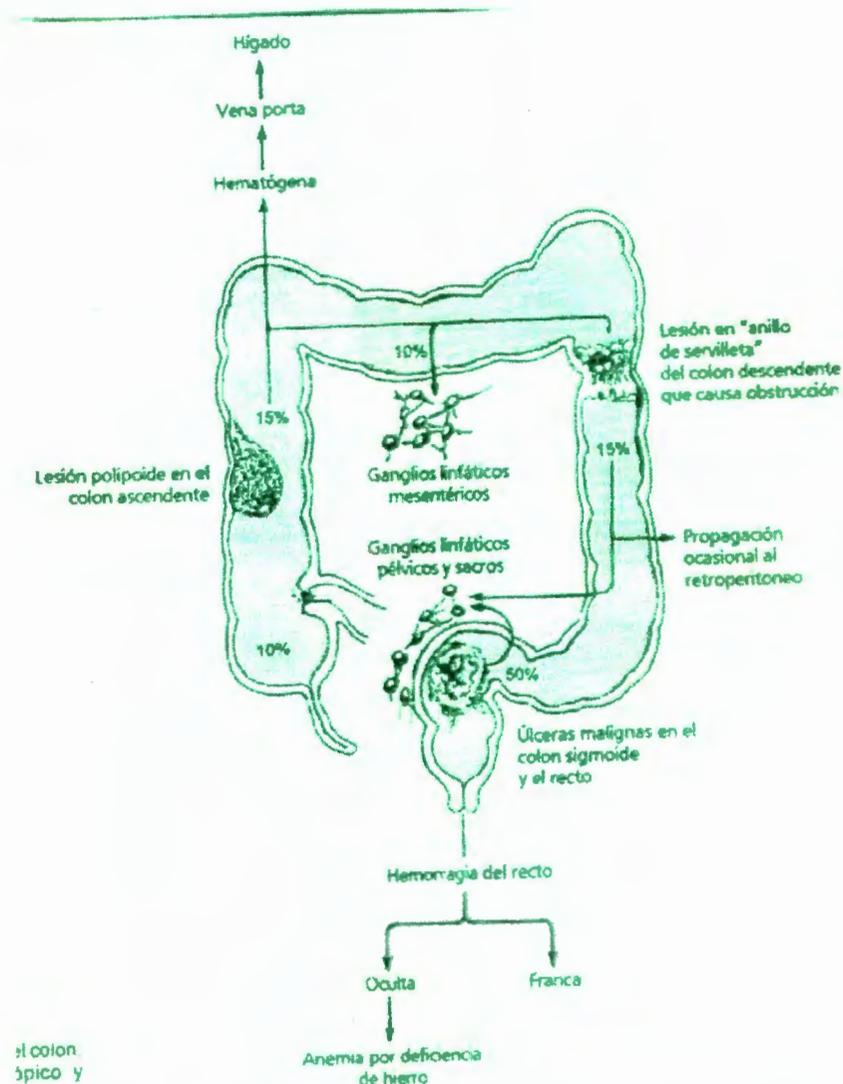


Figura 5. Carcinoma del colon; sitios, aspecto macroscópico y propagación (Chandrasoma y Taylor, 1999).

➤ Localización de los Adenocarcinomas

La localización de estos adenocarcinomas por orden de frecuencia es: en primer lugar en el recto (50%), seguido de sigma (20%), colon ascendente y ciego (17%), transverso (6%) y descendente (7%) (Cohen y col., 2000).

4.5 Genética molecular del Cáncer de colon

En la última década se ha producido un gran avance en el conocimiento de la biología molecular del cáncer, lo que ha permitido profundizar en los mecanismos que originan la enfermedad.

El cáncer de colon es el resultado de una progresión y acumulación de varias alteraciones genéticas. Se considera que son varios los genes, incluidos los oncogenes, genes supresores de tumores y genes de reparación del ADN, los que juegan un papel fundamental en la carcinogénesis colorrectal (Catalán y col., 2003). Se ha observado que el 75% de los cánceres de colon tienen mutaciones de inactivación en el gen supresor de tumores *p53*; el 50% tienen mutaciones puntuales en el proto-oncogén *ras* (normalmente una mutación específica de activación, en el codón 12 del gen *K-ras*); un pequeño porcentaje tienen amplificado el número de copias del proto-oncogén *myc*; y otro pequeño porcentaje tiene mutaciones en otros proto-oncogenes conocidos. Un indicio de la enfermedad puede ser una delección o una inactivación de un gen específico, el gen *APC* localizado en el brazo largo del cromosoma 5. Las mutaciones de *APC* han sido identificadas como una de las alteraciones centrales del cáncer de colon-rectal. La función normal de la proteína *APC* no se conoce, pero se ha visto que se une a la catenina β , lo cual sugiere que podría estar implicada en algún mecanismo de control relacionado con los lugares de anclaje del citoesqueleto de las uniones célula-célula. Otro enfoque en la investigación provocó también al descubrimiento de otros genes supresores de tumores. Como se ha indicado anteriormente, la pérdida de ambas copias de un gen supresor de tumores a menudo conduce a una pérdida de heterocigosis en la región cromosómica en la que reside el gen: en lugar de distintas variantes maternas y paterna sólo existe una versión de la secuencia cromosómica y algunas veces ninguna (Cuadro 5) (Albert y col., 2000).

Cuadro 5. Algunas anomalías genéticas detectadas en células de cáncer colorrectal (Albert y col., 2000).

GEN	CROMOSOMA	TUMORES CON MUTACIONES	CLASE
<i>K-ras</i>	12	≈50	Oncogén
<i>Neu</i>	17	2	Oncogén
<i>Myc</i>	8	2	Oncogén
<i>APC</i> (poliposis coli adenomatosa)	5	>70	Supresor de tumores
<i>DCC</i> (delecionado en carcinoma de colon)	18	>70	Supresor de tumores
<i>P53</i>	17	>70	Supresor de tumores
<i>HNPCC</i> (cáncer colorrectal hereditario no polipoide)	2	≈15	Supresor de tumores

Las mutaciones que inactivan el gen *APC* parecen ser una de las primeras alteraciones del cáncer de colon, o al menos, corresponden a una etapa muy temprana. Estas mutaciones pueden ser ya detectadas en pequeños pólipos benignos con la misma frecuencia elevada que en los tumores malignos de mayor tamaño. Su efecto parece ser simplemente el de incrementar la velocidad de proliferación de la célula en relación a la velocidad de pérdida de células, afectar la forma en que las células se diferencian o los detalles del patrón histológico que forman. Las mutaciones que activan al oncogén *ras* ocurren un poco más tarde; son raras en los pólipos pequeños pero son comunes en los mayores que muestran distorsiones en la diferenciación celular y en el patrón histológico. Cuando se hacen crecer en cultivo células malignas del carcinoma colorrectal que contienen mutaciones en el gen *ras*, muestran las características comunes de células transformadas, como la habilidad de proliferar sin anclaje al substrato. Si un gen *ras* activado es eliminado, las células revieren a no transformadas y reducen su velocidad de proliferación.

Las mutaciones en *DCC* y en *p53* se producen en etapas tardías del cáncer colorrectal. Son raras en pólipos pero comunes en tumores malignos que se desarrollan en ellos (Figura 6). La pérdida de *p53* parece liberar a las células mutantes de sus últimas restricciones celulares ya que; si se transfecta *p53* normal en las células de carcinoma colorrectal, se suprime su proliferación. A pesar de que las mutaciones en *APC*, *ras*, *DCC* y *p53* puede ser pasos limitantes cruciales en una gran proporción de cánceres colorrectales, estas mutaciones no siempre ocurren en la misma secuencia, y no son la única ruta de la enfermedad (Albert y col., 2000).

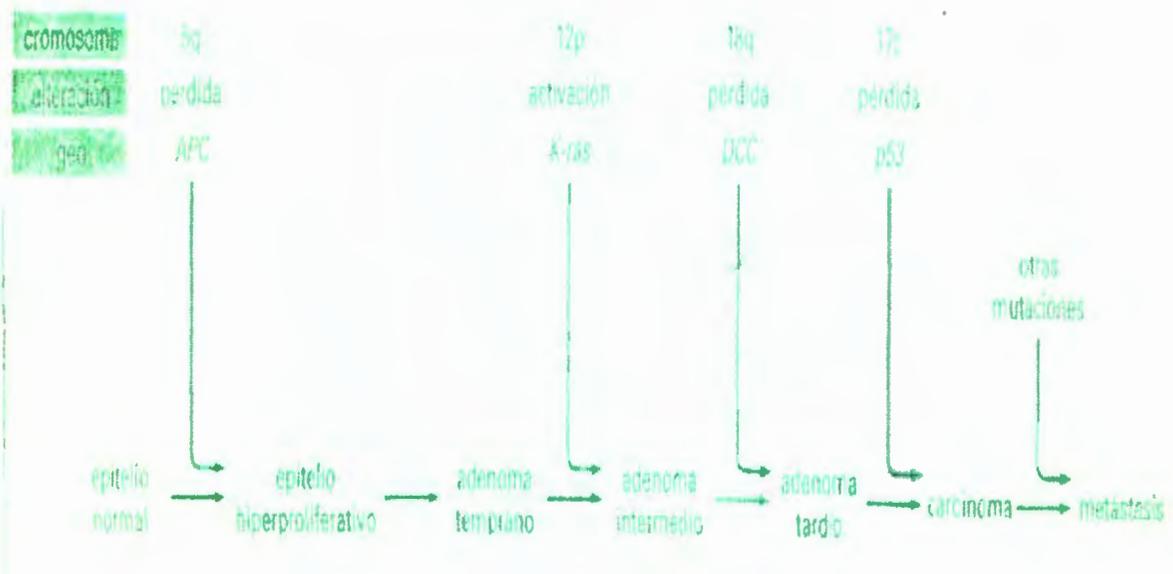


Figura 6. Secuencia de cambios genéticos asociados con displasias y neoplasias malignas del colon (Albert y col., 2000).

5. ALIMENTOS NUTRICIONALES

5.1 Alimentos nutricionales

Los alimentos funcionales se consideran generalmente como alimentos que contienen niveles importantes de componentes biológicamente activos que ofrecen beneficios para la salud o efectos fisiológicos deseables más allá de la nutrición básica. En la actualidad, se están descubriendo atributos funcionales en muchos

alimentos tradicionales, mientras que se desarrollan nuevos productos alimenticios para mejorar o incorporar componentes benéficos a los mismos (CLIA., 2000).

5.2 Metabolitos secundarios.

Se han identificado una serie de fitoquímicos protectores contra el cáncer en diversos alimentos (Cuadro 7). Estas sustancias benéficas inhiben varias acciones hormonales y procesos metabólicos que están asociados con el desarrollo del cáncer (CNN., 2001).

5.3 Relación entre la dieta y el cáncer de colon

La dieta óptima recomendada por la mayoría de las organizaciones en pro de la salud, es una dieta baja en calorías y alta en fibras, caracterizada por un consumo regular de vegetales, frutas, panes, arroz y pastas integrales. Una dieta basada en alimentos de origen vegetal es naturalmente baja en grasa, grasa saturada, colesterol y sodio y rica en potasio, fibra, las vitaminas antioxidantes y fitoquímicos. Las personas que consumen este tipo de dieta gozan de un menor riesgo de contraer enfermedades crónicas, tales como las enfermedades del corazón y el cáncer. Un gran número de estudios han revelado que el consumo regular de frutas y vegetales provee protección significativa contra el cáncer de mama, colon y de otros tipos.

Diferentes frutas y vegetales pueden proveer protección contra el cáncer de ciertas partes del cuerpo. Por ejemplo, el consumo de brócoli, col y la coliflor proveen protección contra el cáncer de colon. Se ha demostrado que el consumo regular de col disminuye el riesgo de cáncer de colon en un 60% a 70%, mientras que el consumo regular de cebollas y ajos disminuyen el riesgo de cáncer en el estómago y colon en un 50 a 60% (CNN., 2001)

Dentro de los granos, que se han encontrado que presentan cierto grado de protección frente al cáncer de colon se encuentra el garbanzo, ya que es una rica fuente en proteínas al igual que de caseína, y, además, de que es una importante fuente de energía (Potter, 1996).

**Cuadro 6. Compuestos fitoquímicos que proporcionan un beneficio al hombre
(CLIA., 2000).**

COMPONENTE	BENEFICIO POTENCIAL
CAROTENOIDES α-caroteno β-caroteno Luteína Licopeno Zeaxantina	Neutraliza los radicales libres Neutraliza radicales libres Ayuda a mantener una visión saludable Reduce riesgo de cáncer Ayuda a mantener una visión saludable
FIBRA DIETÉTICA Fibra Insoluble β-glucano Fibra soluble	Reduce riesgo de cáncer de colon o mama Reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares(CVD) Reduce el riesgo de CVD
ÁCIDOS GRASOS Ácidos grasos omega Ácido linoleico conjugado	Reduce el riesgo de CVD, mejorar funciones mentales y visuales Reduce el riesgo de cualquier cáncer
FLAVONOIDES Antocianidinas Catequinas Flavonoides Flavones	Neutralizan los radicales libres, reducen el riesgo de un cáncer
FENOLES Ácido cafeico	Actividades antioxidantes
FITOESTRÓGENOS Diadzeina Genisteina Isoflavones	Protege contra enfermedades del corazón, algunos tipos de cáncer, disminuyen los niveles de colesterol LDL
SAPONINAS	Puede disminuir el nivel de colesterol LDL, contienen enzimas anticancerígenas
SULFUROS Y TIOLES Sulfuro de dialil Trisulfuro de metil, alil	Disminuye el colesterol LDL, ,mantiene saludable el sistema inmunológico.

Se ha encontrado que alimentos como la espinaca, brócoli, lechuga, tomates y las naranjas, también presentan cierta protección contra el cáncer de colon, debido a que estos alimentos son ricos en un carotenoide conocido como luteína. Este carotenoide también lo podemos encontrar en el brócoli y en vegetales de hoja verde oscura. Se ha propuesto que el efecto que tiene la luteína sobre la carcinogénesis de colon, se debe a su capacidad antioxidante capaz de destruir los radicales libres, los cuales aceleran el envejecimiento y contribuyen a la formación de cáncer y de enfermedades cardiovasculares (Davis, 2000).

6. FRIJOL

6.1 Generalidades del frijol.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es una planta originaria de América, específicamente de las regiones mesoamericana (desde el norte de México hasta Costa Rica) y andina (del norte de Perú al noroeste de Argentina). Su uso con características domésticas data de hace siete mil años aproximadamente (Guzmán y Paredes, 1998).

En nuestro país, después del maíz que es consumido en grandes cantidades, el frijol es considerado como la principal fuente de proteína en el medio rural. El 70% de la producción nacional se obtiene de áreas temporales. Los principales estados productores se ubican en la Zona Noroeste, y su participación en el campo mexicano sigue siendo relevante, ocupando el segundo lugar dentro de los 30 principales cultivos del país. Su cultivo se realiza en los 32 estados de la República, sin embargo los estados de Zacatecas, Durango, Sinaloa, Chihuahua concentran el 63% de la superficie sembrada y el 65% de la producción nacional (SAGARPA, 2003).

En nuestro país existe una diversidad de variedades de frijol; dicha diversidad responde a la geografía del consumo del mismo.

La preferencia por las variedades depende de la zona geográfica. Por ejemplo, en la zona norte se prefieren las variedades bayo, pinto y azufrados. Mientras que en la zona centro del país se producen y consumen frijoles de todos los tipos, colores y tamaños, pero preferentemente flor de mayo y canario. En el sureste se siembra y prefieren los frijoles negros (López y Navarro, 1983); (Castellanos y col., 1997).

El comportamiento de la producción nacional de frijol ha tenido altibajas en los últimos cinco años, pero el consumo per cápita va en decadencia, pues de 18 kilos que consumía cada persona al año disminuyó a 11 kilos. Cada vez los mexicanos consumimos menos frijol, porque las amas de casa buscan comidas con el menor tiempo de preparación y precios más económicos (RAF, 2002)

6.2 Composición del frijol.

El frijol, además de ser una buena fuente de proteínas y carbohidratos, es rico en fibra dietética, tanto soluble como insoluble, y se le considera una buena fuente de vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B₆, y ácido fólico), así como algunos minerales (calcio, magnesio, hierro, fósforo, potasio y zinc) y de grasas no saturadas (Cuadro 7) (Guzmán y Paredes, 1998).

6.3 Propiedades Nutraceuticas del Frijol

Se ha señalado al frijol como un alimento nutraceutico no sólo por sus características nutricionales sino por el papel que algunos de sus componentes desempeñan en el beneficio de la salud. Por ejemplo, la fibra soluble del frijol es particularmente eficiente para disminuir los niveles de colesterol en la sangre, además se le ha relacionado con la prevención de algunos problemas cardiovasculares y en la reducción del cáncer de colon. El frijol también ayuda a mejorar la tolerancia a la glucosa y a reducir los requerimientos de insulina en pacientes diabéticos. El contenido de proteína ayuda a la formación, mantenimiento y reparación de tejidos y está involucrada en la síntesis de camitina.

Cuadro 7. Composición del frijol (Guzmán y Paredes, 1998).

COMPONENTE	COMPOSICIÓN (g/100g)
Proteína	16-33
Fibra dietética (%)	
Frijol crudo	
Fibra Insoluble	0.1 – 13.1
Fibra Soluble	3.3 – 7.6
Frijol cocinado	
Fibra Insoluble	13.4 – 22.9
Fibra Soluble	3.1 – 7.0
Ácidos Grasos (g/100g)	
Linoleico	21-28
Linolénico	37-54
Vitaminas (mg/100g)	
Ácido Fólico	0.17 – 0.59
Niacina	1.16 – 2.68
Riboflavina	0.14 – 0.27
Tiamina	0.9 – 1.2
Oligosacáridos (g/100g)	
Rafinosa	0.19 – 0.22
Estaquiosa	1.84 – 2.45
Ácido fítico(mg/g)	22 – 28
Taninos (mg cat. eq/mg)	9.6 – 131.4
Inhibidores de Tripsina(TIU7g)	13 - 29

Los ácidos grasos actúan como inmunoestimulantes y pueden sustituir a drogas para el tratamiento de problemas reumatoides. Las vitaminas ayudan a prevenir o mejorar la anemia megaloblástica y los oligosacáridos disminuyen el riesgo de padecer cualquier tipo de cáncer, ya que actúan como anticarcinogénicos. Componentes químicos como los polifenoles, que se encuentran en cantidades elevadas en la cascarilla del frijol, son señalados como posibles agentes para combatir el cáncer de colon y la arteriosclerosis (Guzmán y Paredes, 1998).

6.4 Relación entre el frijol y el cáncer de colon

El rol que juega la dieta en la etiología de ciertos tipos de cáncer está siendo reconocido y se le está poniendo cierta atención al hecho de que en la dieta hay presentes ciertos factores que presentan un poder protector. Las dietas basadas en plantas y, en particular sobre granos, legumbres, frutas y verduras tienen cierta asociación con la disminución de la incidencia de cáncer, como es el caso del cáncer de mama y de colon (Slavin, 1997).

Las personas en China que consumen regularmente frijol, soya o tofu tienen un 50% menos de probabilidades de contraer cáncer del estómago, colon, mama y pulmón, que aquellos que raramente u ocasionalmente consumen soya o productos de soya.

El frijol soya contiene altos niveles de ciertos componentes con demostrada actividad anticarcinogénica, incluyendo un alto contenido de isoflavonoides, tal como la genisteína. Estos flavonoides han demostrado su capacidad de inhibir el crecimiento de células cancerosas tanto de mama como de la próstata (CNN, 2001).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*), es una fuente rica de fibra dietética tanto soluble como insoluble (Hughes y Swanson, 1989). Diversos autores han revisado 25 estudios en animales experimentales en donde se relaciona el cáncer de colon con la fibra, encontrando que en 11 estudios la fibra juega un papel protector contra el cáncer de colon, en 8 estudios no se observó ningún efecto, sin embargo en 6 estudios se observó que la fibra puede aumentar la posibilidad de formación de tumores.

Los datos epidemiológicos disponibles con respecto al frijol común y las enfermedades son escasos, pero algunas investigaciones han reportado que la incidencia de cáncer de colon es menor en países con altos niveles de consumo de frijol común (especialmente en América Latina) y más altos en países de los Estados Unidos donde el consumo de frijol es muy bajo (Hughes y col., 1997).

Correa y col., (1981) reportó una correlación estadísticamente negativa (0.68) entre el consumo de frijol común y el cáncer de colon en 15 países donde el consumo de frijol es alto.

Hughes y col., (1997) demostraron que el consumo de frijoles pintos reduce de manera significativa la incidencia de tumores en ratas en las cuales se les indujo cáncer de colon con azoximetano.

Hangen y Bennik., (2002) demostraron que la incorporación de frijol negro en la dieta de ratas que fueron tratadas con azoximetano, produce una incidencia de tumores del 28% y en el grupo control positivo genera una incidencia del 61% y las ratas que fueron tratadas con frijol pinto también presentaron resultados similares, por lo cual ellos concluyen que el consumo de frijol puede disminuir el riesgo de padecer un cáncer de colon.

Debido a que México es uno de los países con mayor producción de frijol es importante evaluar la capacidad anticarcinogénica de las variedades de consumo por la población.

7. MODELOS EXPERIMENTALES DE CARCINOGENESIS

7.1 Generalidades

Los modelos experimentales en animales brindan una excelente oportunidad para el estudio de procesos tumorales y para efectuar experimentos con diversos factores del medio ambiente, que permiten estimar la etiología, el tratamiento y la prevención del cáncer de colon. Estos modelos reproducibles aportan la oportunidad de estudiar la enfermedad y permiten al investigador manipular ciertas variables como la dieta y algunos parámetros inmunológicos que son importantes en la etiología del cáncer de colon (Montenegro y col., 2003).

7.2 Tipo de Carcinógenos

Los tumores en animales producidos por carcinógenos deben seguir ciertos criterios en su utilización como modelos para su posterior aplicación en estudios epidemiológicos y quimioterapéuticos: aparición unilocular del tumor, periodo de incubación corto, bien definido y con una pequeña desviación tumoral, tumor

diagnosticable en el tiempo, biología tumoral paralela a su equivalente humano. Los carcinógenos químicos colónicos pueden clasificarse en siete grupos basándose en su estructura química, (Cuadro 8) (Piñols, 1995).

Cuadro 8. Clasificación de acuerdo a la estructura química de los carcinógenos colónicos (Piñols, 1995).

FAMILIA QUÍMICA	CARCINÓGENO
Hidracinas	1,1-Dimetilhidrazina(1,1-DMH)
	1,2-Dimetilhidrazina dihidrocloruro (1,2-DMH)
	Metilhidrazina(MH)
	Ácido fórmico 2-4-(5-nitro-2furil)-2-tiazolihidrazida(FAH)
	1-Metil-2-butilhidrazina dihidrocloruro(MBH)
	Trimetilhidrazina hidrocloruro
Compuestos azoxi	Azoximetano (AM)
	ONN-Metilazoxibutano (MAB)
	Metilazoximetanol (MAM)
	Metilazoximetanol glucósido, cicasina (MAMG)
Compuestos N-Nitroso	N-Metil-N´nitrosoguanidina (MNNG)
	N-Metilnitrosourea (NMU)
	N-Nitrosobis (2-hidroxiopropil) amina (BHP)
	N-Nitrosobis (2-oxopropil) amina (BOP)
Dextrano sulfato y polisacáridos relacionados	Asbestos
Aminas aromáticas y herocíclicas	3,2'-Dimetil-4-aminobifenil (DMAB)
	3,2'-Dimetil-4-aminobifenil (DMAB)
	2-amino-3-Metilmidazolquinolina
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	3-Metilcolantreno

7.3 Dihidrocloruro de Dimetilhidrazina (1,2DMH)

La 1,2-DMH es uno de los carcinógenos intestinales más ampliamente usados, que induce cáncer colorrectal en el 80 al 100% de los roedores entre 5 y 7 meses posteriores al inicio del tratamiento (Negrette y col., 2000). Druckey y col., (1967) pusieron de manifiesto que la 1,2-DMH era estructuralmente semejante al compuesto natural cicasina, describiendo que posee una específica y real

capacidad de producir tumores de colon en diversas especies de roedores. En la actualidad es un compuesto de síntesis para uso de laboratorio en cantidades limitadas (Piñols, 1995).

La 1-2-DMH es un procarcinógeno, ya que requiere de activación metabólica dentro del organismo para formar el carcinógeno activo. Dicha activación implica la oxidación a azometano, un gas a temperatura corporal, que aparece en el aire espirado de ratas tratadas. Una oxidación convierte el azometano en azoximetano, que entonces mediante un proceso de N-hidroxilación se convierte en metilazoximetanol por varios sistemas enzimáticos en el hígado. El metilazoximetanol es químicamente inestable a temperatura corporal e *in vitro* por lo que se descompone eventualmente mediante la acción de la alcohol deshidrogenasa en formaldehído, agua y nitrógeno. Durante esta descomposición se forma el agente alquilante metildiazonio, llamado carcinógeno final. Este último es una sustancia altamente reactiva que forma iones metil-carbonio, los cuales son los responsables de las metilaciones de macromoléculas tanto *in vivo* como *in vitro*, (Figura 7). La alteración de las propiedades de las macromoléculas críticas como DNA, RNA y proteínas, por alquilación y otras reacciones, es un paso esencial en la carcinogénesis química, la macromolécula que se ve alterada es el DNA de las células epiteliales del colon (Negrette y col., 1999).

La 1,2-DMH es captada por el hígado una hora después de la inyección subcutánea y tres hora después en las células epiteliales del colon.

El carcinógeno es excretado primariamente por el pulmón y riñones, los cuales eliminan el 50% de la dosis inyectada, mientras que la orina contiene el carcinógeno inalterado y los metabolitos: azometano, azoximetano y metilazoximetanol. El lugar primario de oxidación de la 1,2-DMH es el hígado, posteriormente es transportado vía torrente sanguíneo al colon y a otros tejidos. El colon contiene tipos celulares epiteliales capaces de activar dicho carcinógeno a través del citocromo P450, sin necesidad del metabolismo intermediario por hepatocitos. Además existe una reactivación del carcinógeno a través de la microflora normal por medio de la enzima β -glucuronidasa, así el carcinógeno que

fue conjugado en el hígado mediante la glucuronidación (haciéndolo más hidrosoluble para poder ser eliminado por la orina) es liberado a nivel de colon donde ejerce su acción (Piñols, 1995).

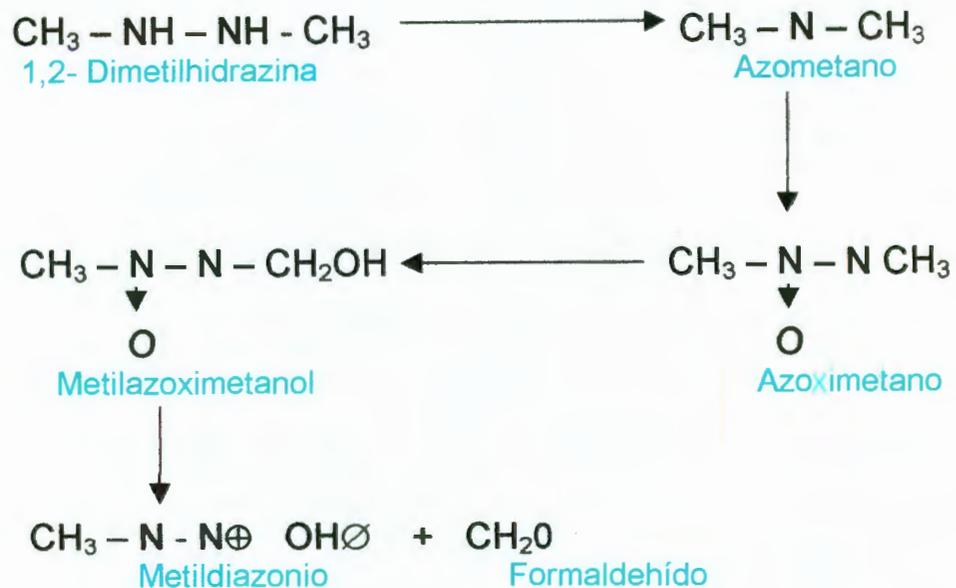


Figura 7. Metabolismo de la 1,2-Dihidrocloruro de dimetilhidrazina (Piñols, 1995).

La 1,2-DMH es un carcinógeno efectivo y selectivo del colon, debido a su actividad alquilante en los ácidos nucleicos del epitelio intestinal y a sus propiedades mutagénicas (Piñols, 1995). Debido a estas propiedades es considerado como uno de los carcinógenos más ampliamente utilizados en los estudios de quimioprotección.

En base a los antecedentes planteados, este estudio fue diseñado para determinar si el consumo de diferentes variedades de frijol cultivadas en nuestro país tienen la capacidad de disminuir el riesgo de desarrollar cáncer de colon. El considerar diferentes variedades esta determinada por las preferencias de consumo, la cual depende de las regiones geográficas e influencias culturales; siendo un factor importante a considerar la coloración del frijol, la cual esta dado por pigmentos relacionados con propiedades anticarcinogénicas.

HIPÓTESIS

El consumo de diferentes variedades de frijol negro disminuyen el desarrollo de cáncer de colon.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la capacidad de quimioprotección de diferentes variedades de frijol negro en cáncer de colon inducido con el carcinógeno dimetilhidrazina (DMH), en ratas Sprague-Dawley.

ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto del consumo de frijol sobre la ganancia de peso y sobrevivencia en animales tratados con tratados con diferentes variedades de frijol negro y DMH
- Evaluar el efecto de protección de diferentes variedades de frijol negro sobre la incidencia, multiplicidad, tamaño y distribución de las lesiones tipo I y tipo II en animales tratados con DMH.

METODOLOGÍA

1. MATERIALES

1.1 QUÍMICOS

El carcinógeno 1,2-Dihidrocloruro de dimetilhidrazina fue de la marca Sigma ®

1.2 BIOLÓGICOS

Se usaron ratas macho Sprague-Dawley de 4 semanas de edad de la misma línea genética, las cuales fueron compradas en el bioterio HARLAN. Los animales fueron aclimatados por una semana en cajas de acrílico y con agua y dieta *ad libitum*

Las variedades de frijol que se usaron en este experimento fueron donadas por el INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias), Campus Celaya.

2. MÉTODOS

2.1 GRUPOS DE ESTUDIO

Se trabajaron con un total de 66 ratas, las cuales fueron divididas en 5 grupos. En el Cuadro 9 se indican que variedades de frijol se usaron para cada grupo, así como el número de ratas.

Cuadro 9. Grupos de experimentación.

GRUPO DE EXPERIMENTACIÓN	NUMERO DE RATAS TRATADAS	TRATAMIENTO
Grupo 1	13	Frijol Negro 8075
Grupo 2	13	Frijol Ayocote Morado
Grupo 3	13	Frijol Ayocote Negro
Grupo 4	13	Frijol Blanco Tlaxcala
Grupo 5	14	Control

2.2 COMPOSICIÓN DE LAS DIETAS.

Para la concentración de frijol incorporado en la dieta, se consideró el consumo percapita que se tiene en México, el cual es de 11 kilos por año.

El frijol fue cocido a temperatura de ebullición en una olla con aislamiento térmico y temperatura controlada. Una vez cocidos los frijoles, éstos fueron secados en un horno de convección a 60°C durante toda la noche. Posteriormente fueron molidos en un molino pulvex. Al igual que el frijol, la croqueta fue molida para poder incorporar el frijol. La concentración final del frijol fue de 0.42g por Kg de peso del animal.

2.3 1,2-DIHIODROCLORURO DE DIMETILHIDRAZINA

Se preparó una solución de 1,2-DMH 0.07M en agua HPLC estéril que contenía 37 mg de EDTA por cada 100 ml como agente estabilizador y se ajustó el pH de la solución a 6.5 usando hidróxido de sodio. El compuesto fue preparado semanalmente previo a la inyección.

2.4 INDUCCIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL CON 1,2-DMH

Después de haber transcurrido 4 semanas de tratamiento con su respectivo frijol, se dio inicio el tratamiento con el carcinógeno. Cada uno de los grupos experimentales se trató por vía subcutánea con 1,2-DMH en una dosis de 21mg/Kg de peso corporal, una vez por semana durante 8 semanas.

2.5 SACRIFICIO

Los animales fueron sacrificadas a las 17 semanas después de la primera inyección del carcinógeno, mediante decapitación. Se practicó una incisión torácica abdominal media, para extraer el intestino grueso. Posteriormente se procedió a su apertura longitudinal por el borde antimesentérico y se realizó una limpieza suave de la superficie de la mucosa con solución fisiológica fría estéril, seguida de la fijación del intestino sobre un trozo de corcho mediante el uso de alfileres, manteniendo una temperatura de 4 °C, para evitar la descomposición del tejido.

2.6 ANÁLISIS MACROSCÓPICO

Una vez fijo el intestino sobre el corcho, se identificó su morfología con la finalidad de dividirlo en tres zonas: zona proximal, zona media y zona distal. Se analizó el tejido macroscópicamente y se detectaron lesiones, las cuales fueron medidas con un vernier con 0.1mm de graduación. Las variedades que se midieron fue el alto, ancho y largo de las lesiones para determinar el volumen de éstas.

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico para los datos de incidencia se realizó mediante la prueba de Tablas de Contingencia con una $P < 0.05$.

Para el volumen de las lesiones el análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza, empleando la prueba de Fisher LSD para la comparación de medias con una $P < 0.05$; empleando el programa Sigma

Para la multiplicidad de las lesiones el análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza, empleando la prueba de Dunn's para la comparación de medias con una $P < 0.05$; empleando el programa Sigma

Para el número de promedio de lesiones por animal el análisis estadístico mediante un análisis de varianza.

RESULTADOS

1.- Registro de la ganancia en peso de los grupos de estudio

Para evaluar la capacidad quimioprotectora de diferentes variedades de frijol negro en cáncer de colon, se incorporó en la dieta de los animales harina de frijol cocido 4 semanas antes, durante 8 semanas y 9 semanas después del tratamiento con el carcinógeno DMH.

En la figura 8 se muestra el incremento de peso expresado en gramos de los grupos de estudio utilizados, durante las 22 semanas del experimento. El registro del peso corporal se realizó semanalmente usando el promedio del peso corporal de cada grupo de estudio. El incremento en peso durante este período presentó un comportamiento similar entre todos los grupos de estudio, aún cuando el control positivo (DMH) mostró una ligera disminución a la semana 15 ésta no presenta diferencia estadística significativa.

Al inicio del experimento el peso inicial para los grupos de estudio fue el siguiente para el grupo Negro 8075 fue de 172.69 g, para el Ayocote Morado de 172.69 g, para el Ayocote Negro fue de 170.46 g, para el Blanco Tlaxcala de 141.60 g y para el control positivo fue de 177.71 g. Al final del estudio el peso final fue el siguiente: para el grupo Negro 8075 (367.56 g), Ayocote Morado (355.16 g), Ayocote Negro (375.05 g), Blanco Tlaxcala (370.64) y Control positivo (391.01 g).

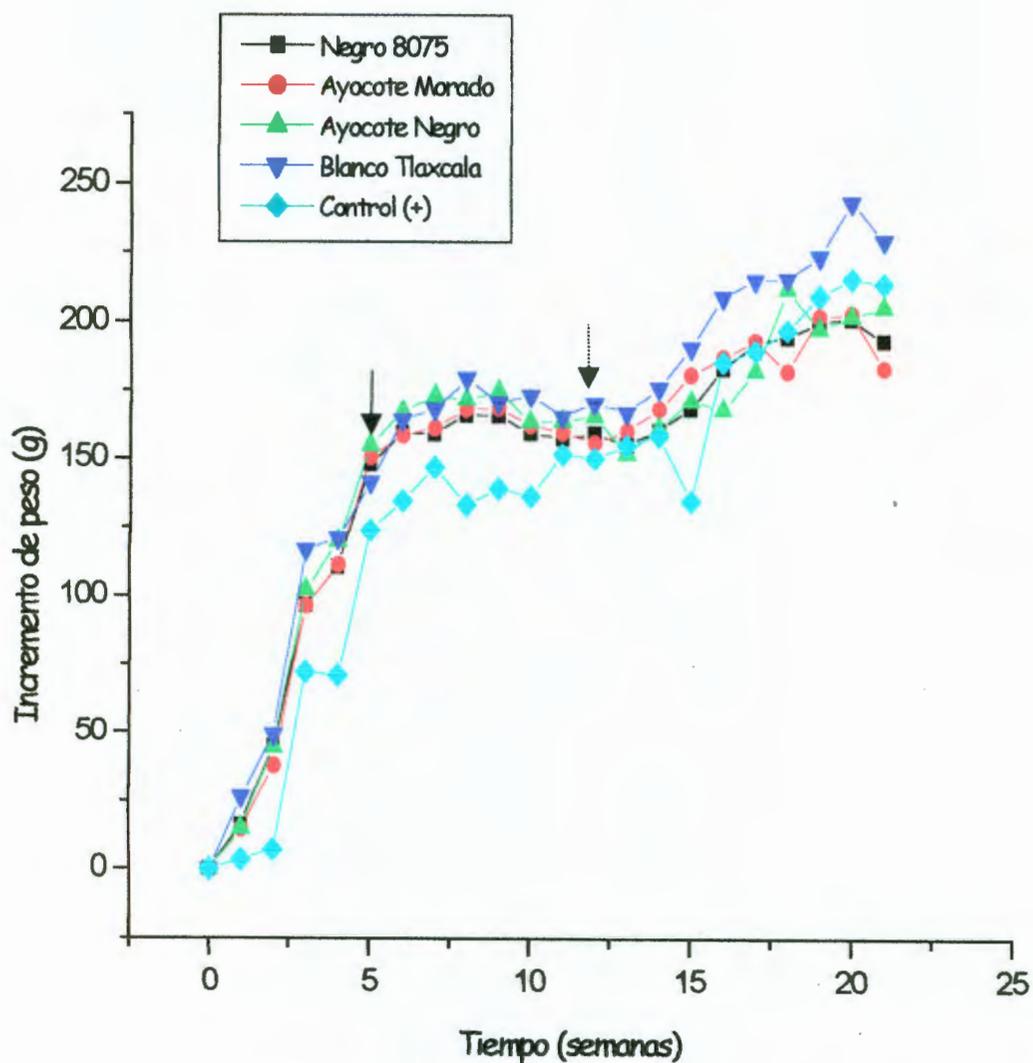


Figura 8. Incremento de peso de ratas Spague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido incorporado en la dieta y el carcinógeno de colon 1,2-DMH.

La flecha (↓) nos indica la primera administración del carcinógeno 1,2-DMH

La flecha (⋮) nos indica la última administración del carcinógeno 1,2-DMH.

2. Registro de la sobrevivencia en los grupos de estudio

Para evaluar la capacidad quimioprotectora de diferentes variedades de frijol negro durante un proceso carcinogénico se registró diariamente el número de muertos encontrados, durante el período en el que se indujo el cáncer de colon y después de la inducción.

En la figura 9 se presenta el porcentaje de sobrevivencia de las ratas tratadas con la 1,2-DMH y con diferentes variedades de frijol cocido desde el inicio hasta el final del experimento. El grupo de animales tratados con frijol Blanco Tlaxcala presentó mayor porcentaje de sobrevivencia (92%), seguido por los grupos de frijol Negro 8075, Ayocote Morado y Negro (88%). Los animales del grupo control positivo (58%) fueron los que presentaron menor sobrevivencia comparado con los otros grupos de estudio.

Al inicio del estudio, el grupo control positivo tenía 14 ratas y para el resto de los grupos de estudio el número de ratas fue de 13. Al final del estudio, el grupo control positivo quedó con 7 ratas, el grupo Negro 8075 con 11, el grupo Ayocote Morado con 10 al igual que el grupo Ayocote Negro y el grupo Blanco Tlaxcala con 12 ratas.

Todos los grupos de estudio presentaron descensos durante y después del tratamiento con el cancerígeno DMH, siendo más notorio después de la inducción, lo cual se pudo deber a la agresividad de dicho compuesto. Debido a la muerte tan prematura de estos animales no fue posible realizar la autopsia de los animales para extraer el colon y observar el número de tumores formados. Por lo tanto, estos animales no fueron tomados en cuenta para los estudios realizados.

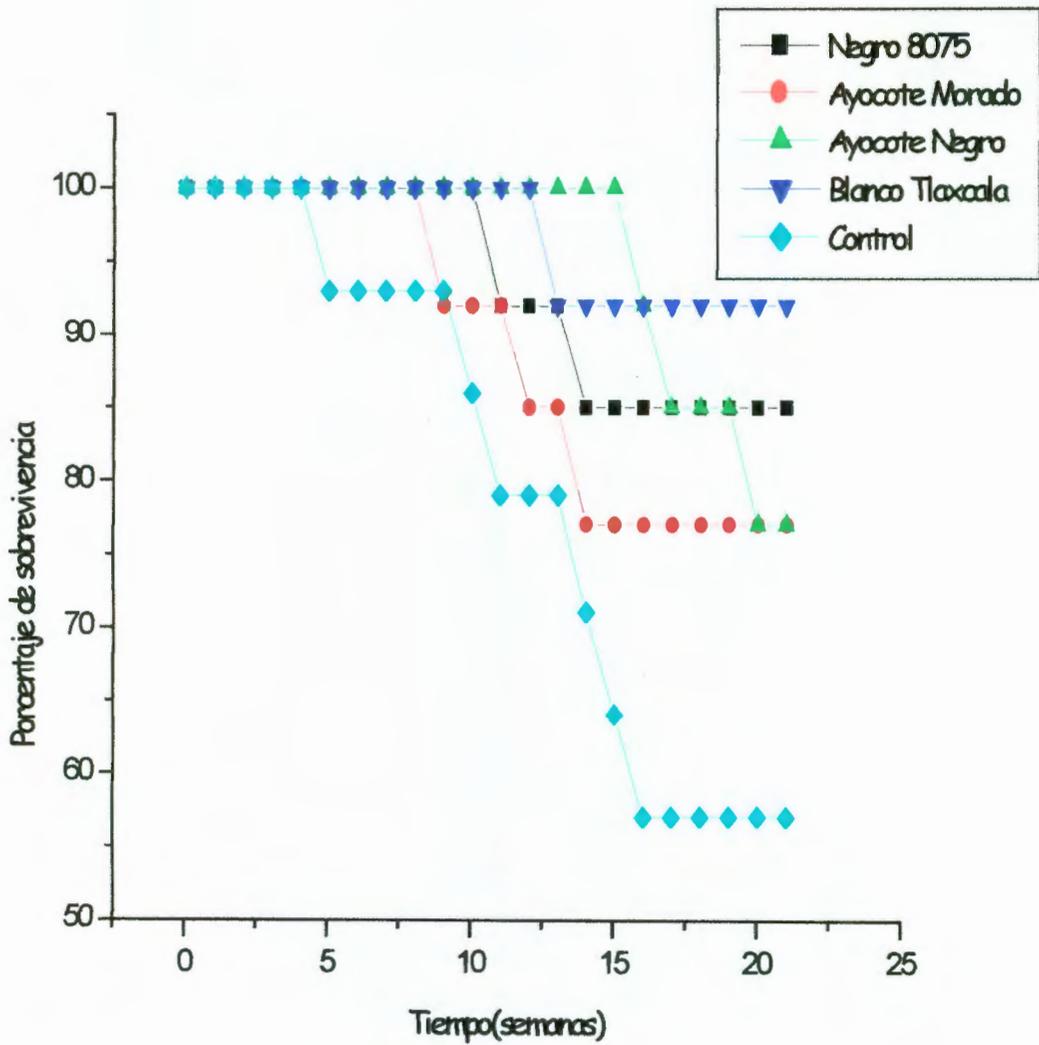


Figura 9. Gráfica de sobrevivencia de las ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido incorporado en la dieta y el carcinógeno de colon 1,2-DMH.

3.- Número de lesiones encontradas.

Las lesiones encontradas al realizar el estudio macroscópico fueron divididas en dos: lesiones tipo I y lesiones tipo II. Las lesiones tipo I son lesiones tumorales que presentan una superficie relativamente plan y localizada ligeramente por encima de la mucosa. Las lesiones tipo II son tumores que presentan un margen elevado en forma de meseta con un diámetro en su superficie menor que el de su unión a la mucosa.

En el cuadro 10 se muestra tanto el número de lesiones tipo I como el número de lesiones tipo II, así como el total de lesiones encontradas, en cada uno de los grupos de estudio. Como se puede observar los grupos que fueron tratados con frijol negro presentaron un mayor número de lesiones tipo I, en comparación con el grupo del frijol Blanco Tlaxcala y el grupo control positivo. Para el caso de las lesiones tipo II se encontró que este número fue muy similar para los 5 grupos de estudio.

Cuadro 10. Número de lesiones tipo I y tipo II, encontradas en ratas Sprague-Dawley tratadas con frijol cocido y con el carcinógeno 1,2-DMH.

Grupos de estudio	NÚMERO DE LESIONES ENCONTRADAS		
	lesión tipo I	lesión tipo II	Total
Grupo 1 (grupo control)	2	20	22
Grupo 2 (frijol Negro 8075)	20	11	22
Grupo 3 (frijol Ayocote Morado)	17	11	28
Grupo 4 (frijol Ayocote Negro)	18	14	32
Grupo 5 (frijol Blanco tlaxcala)	5	27	32

4.- Incidencia

La incidencia es el número de animales que presentaron lesiones tumorales del total de animales utilizados, lo cual no indica la efectividad que presenta el carcinógeno usado. En la figura 10 se muestra la incidencia de lesiones tipo I, en la cual se observa que para el grupo control la incidencia fue del 22% y para el grupo del frijol Blanco Tlaxcala fue del 33%, mientras que para el grupo del frijol Negro 8075 fue del 91% y para el Ayocote Morado y Negro la incidencia fue del 100%. Se encontró que no existe diferencia significativa entre los grupos de frijol negro, sin embargo, si existe diferencia significativa al compararlos contra el grupo control positivo y el grupo Blanco Tlaxcala, aunque entre ellos no exista.

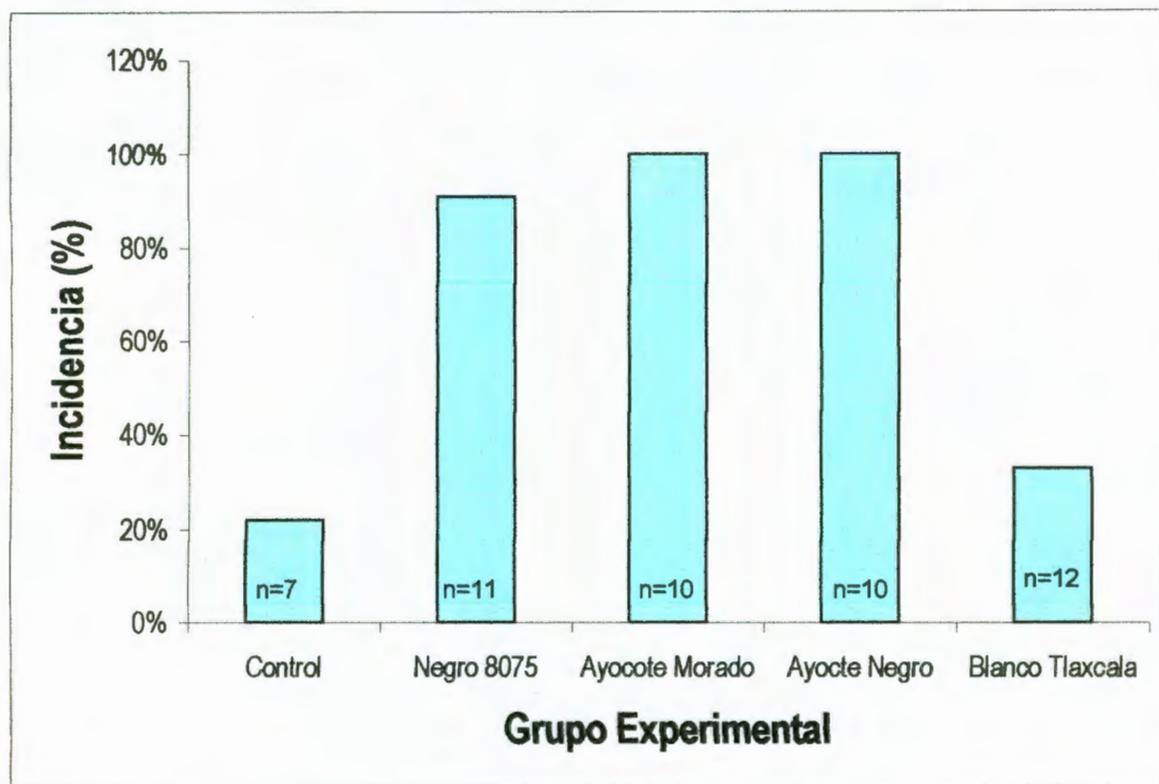


Figura 10. Incidencia de lesiones tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido. Las letras a y b indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

En la figura 11 se muestra la incidencia de lesiones tipo II, las cuales se encontró que el grupo que presentó una menor incidencia fue el grupo del frijol Negro 8075, la cual fue del 75%, seguido del ayocote morado con un 90%. El grupo control positivo, Ayocote Negro y Blanco Tlaxcala, presentaron una incidencia del 100%. Se observa que no se encontró diferencia significativa entre los cinco grupos de estudio.

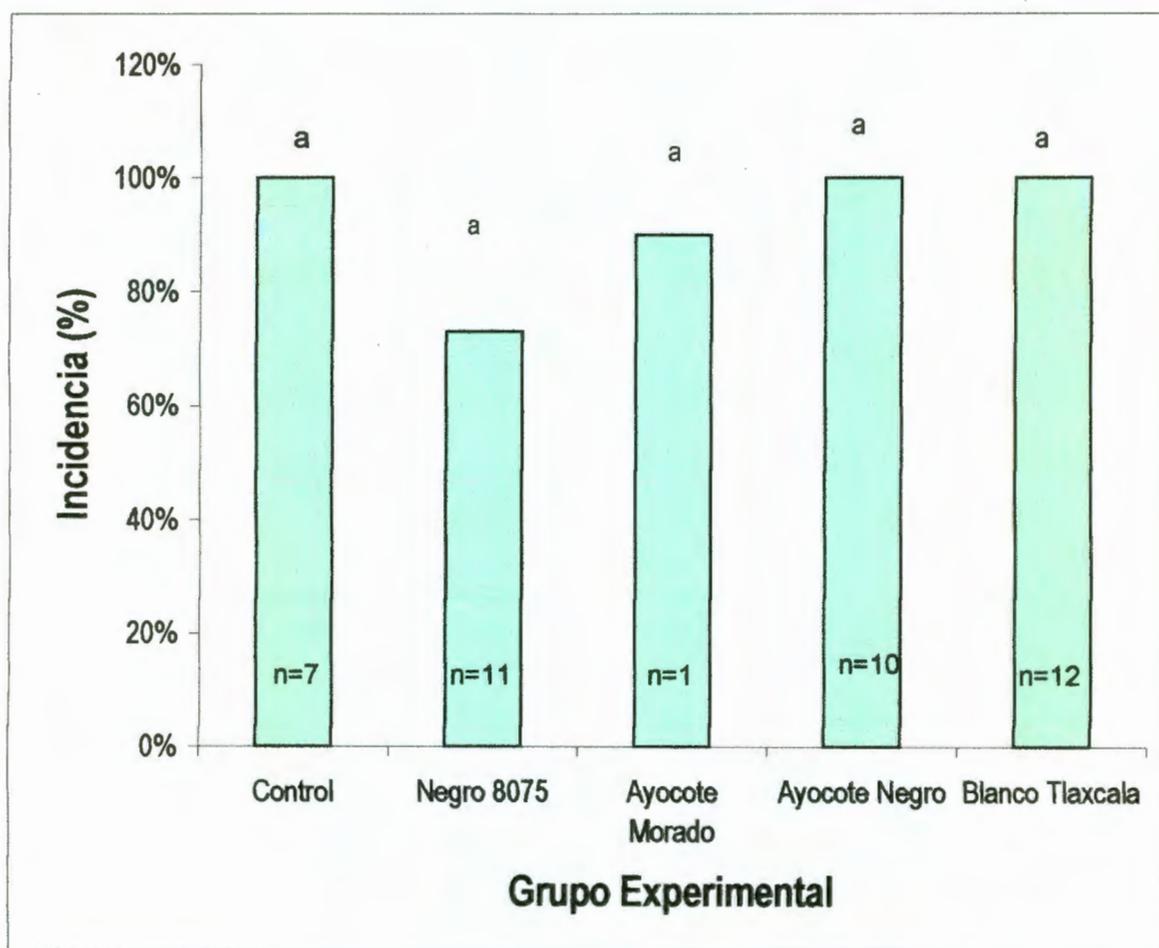


Figura 11. Incidencia de lesiones tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.

La letra a indica diferencia significativa ($P < 0.05$).

5.- PROMEDIO DE LESIONES

El promedio de lesiones tumorales, nos ayuda a evaluar de que manera se distribuyeron las lesiones inducidas con el carcinógeno DMH.

En la figura 12 se muestra el promedio de las lesiones tipo I, observándose que los grupos de frijol Negro 8075, Ayocote Morado y Ayocote Negro tuvieron un promedio a 1.5, mientras que, para el grupo Blanco Tlaxcala y control positivo tuvieron un promedio menor a 0.5. Se observó que no existe diferencia significativa entre el grupo control positivo y Blanco Tlaxcala, sin embargo, si muestran diferencia significativa con respecto a los grupos de frijol negro.

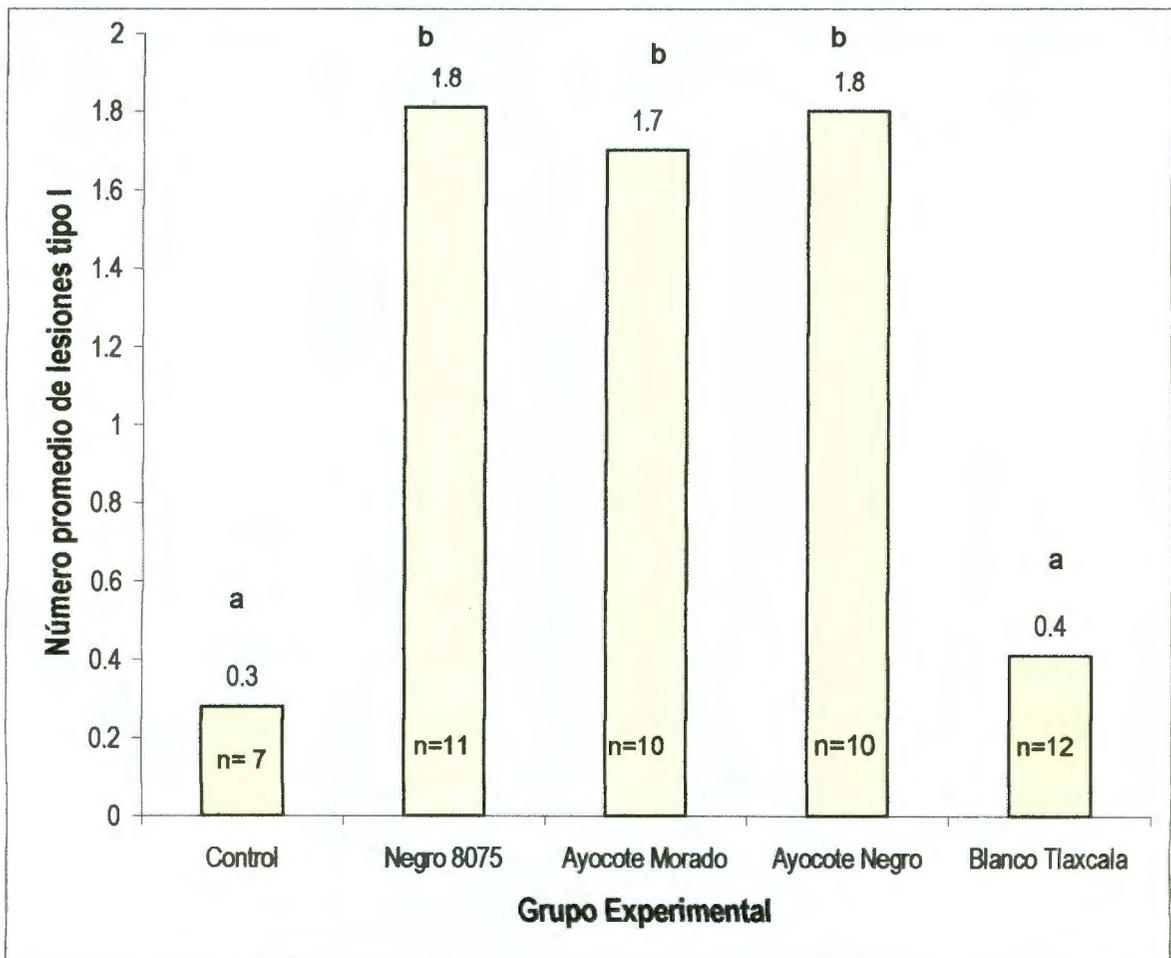


Figura 12. Promedio de lesiones tipo I inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol negro cocido.

Las letras a y b indican diferencia significativa $P < 0.05$

Para el caso de las lesiones tipo II (Figura 13), se encontró que el grupo control positivo y Blanco Tlaxcala tuvieron un promedio de lesiones tipo II mayor a 2 y los grupos de frijol negro tuvieron un promedio menor a 1.5. No se observó diferencia significativa entre los grupos de frijol negro, sin embargo, si se observa diferencia significativa, en comparación con el grupo control positivo y el grupo Blanco Tlaxcala.

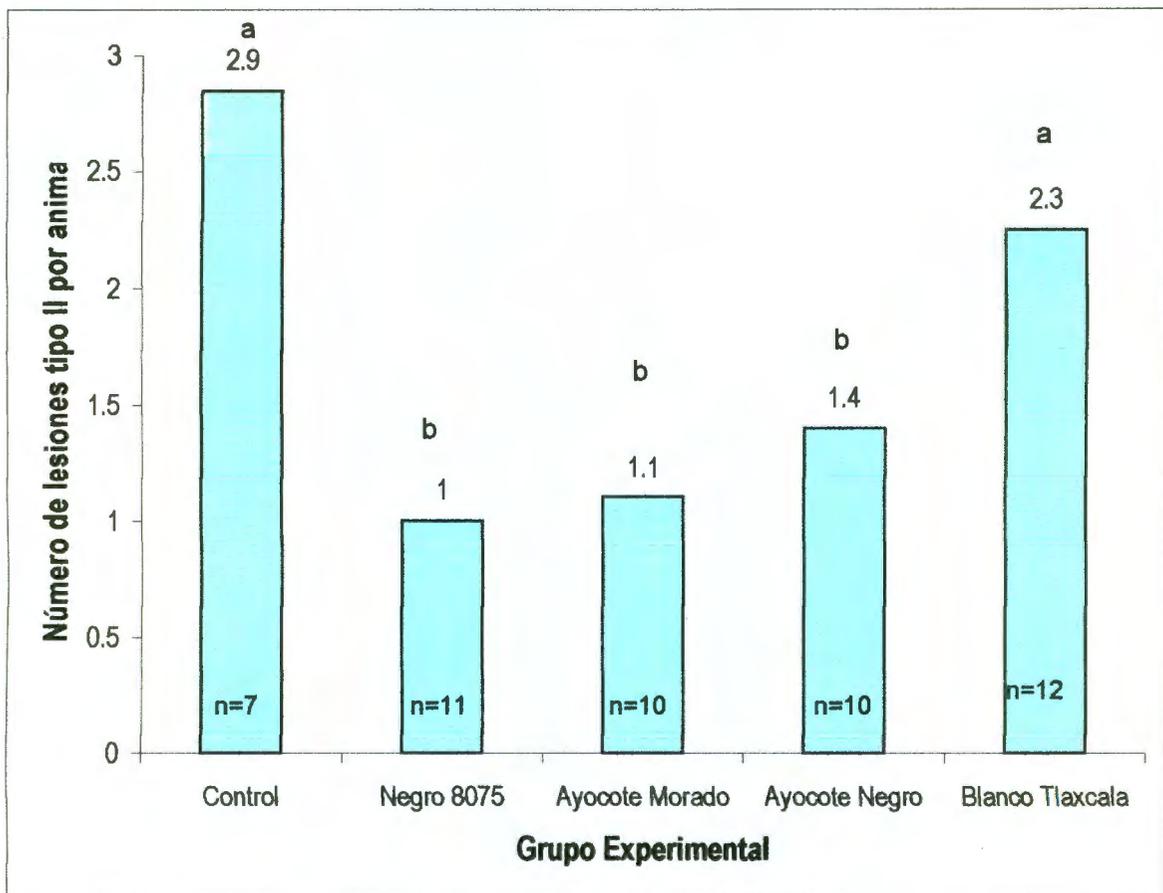


Figura 13. Promedio de lesiones tipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol negro cocido. Las letras a y b indican diferencia significativa $P < 0.05$.

6.- Multiplicidad

La multiplicidad es el número de lesiones encontradas entre el total de animales por grupo, lo cual nos ayuda a determinar que tan agresivo es el carcinógeno usado y así poder evaluar la protección brindada por el frijol.

En la figura 14 se muestra el número de lesiones por animal. La multiplicidad para lesiones tipo I, se encontró que para los grupos de frijol Negro 8075, Ayocote Morado y Ayocote Negro presentaron una mayor multiplicidad de lesiones que el grupo de frijol Blanco Tlaxcala y Control, la cual fue de 2 lesiones por animal, mientras que para el Control y Blanco Tlaxcala fue menor a una. No se encontró diferencia significativa entre los 5 grupos de estudio.

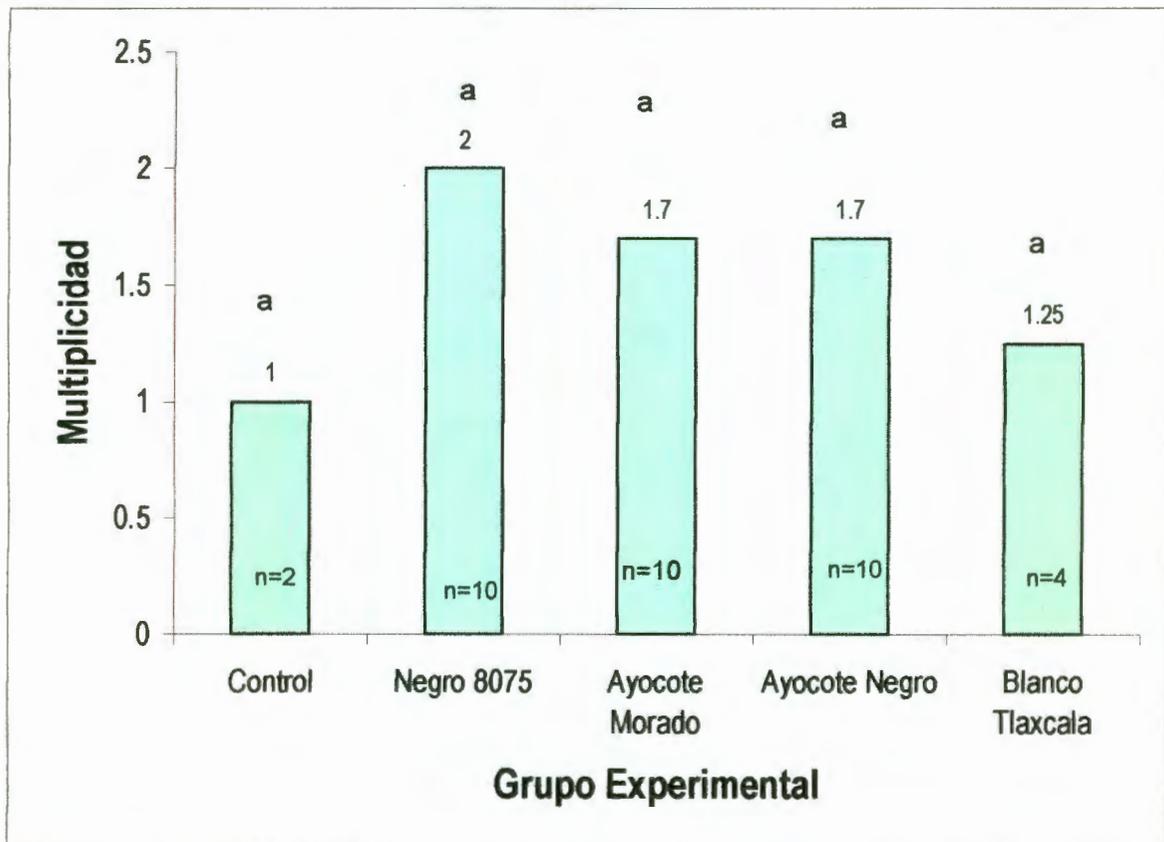


Figura 14. Multiplicidad de lesiones tipo I inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.

La letra a indica que no existe diferencia significativa ($P < 0.05$).

7.- Distribución de lesiones tipo I y tipo II

Es muy importante tomar en cuenta la distribución de las lesiones tumorales a lo largo del colon, ya que existen zonas que son más susceptibles a la formación de dichas lesiones. En la figura 16 se muestra la distribución de lesiones tipo I en las 3 zonas que conforman el colon. La mayor parte de estas lesiones están localizadas en la zona media y zona distal

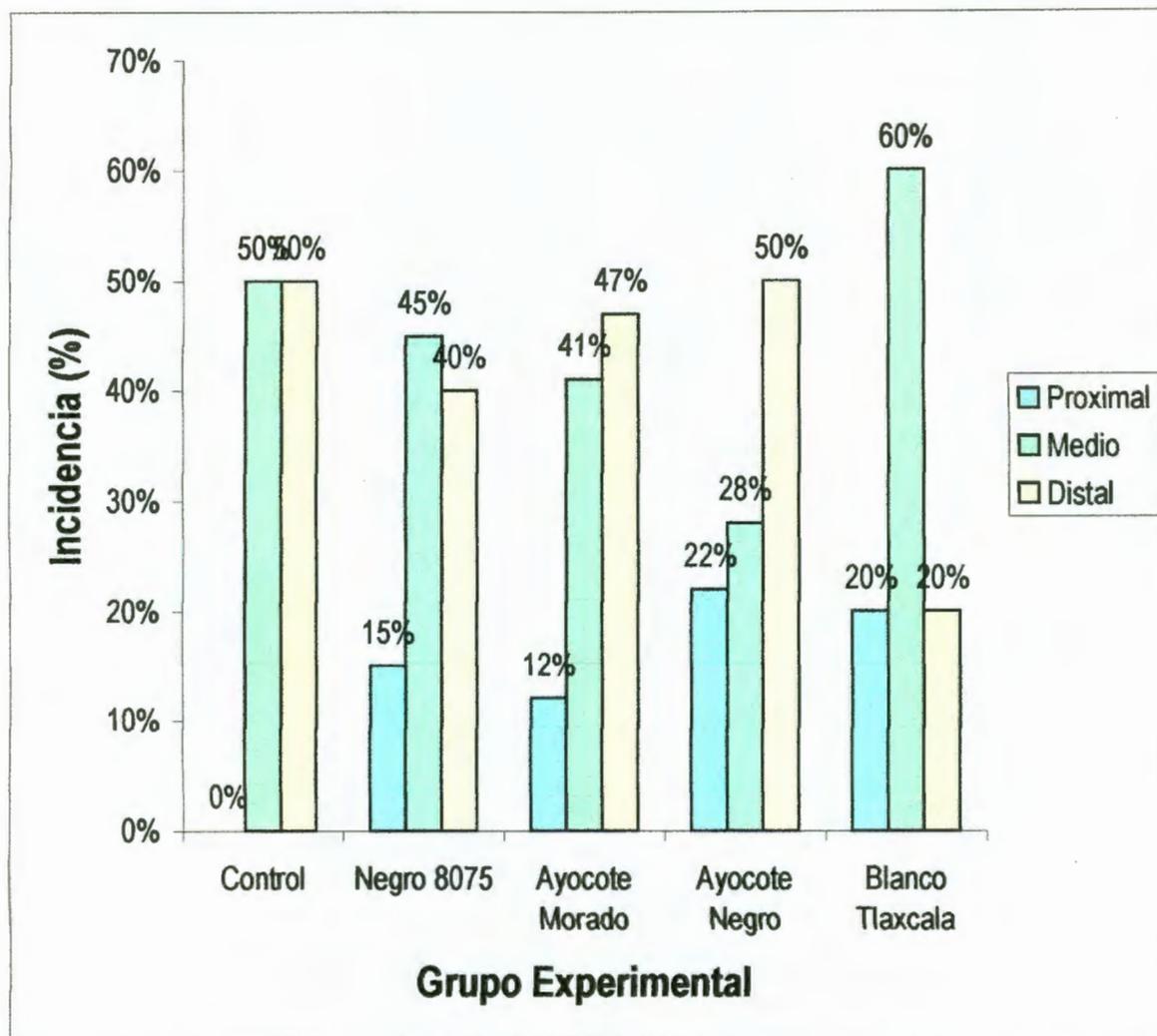


Figura 16. Incidencia de lesiones tipo I en las tres zonas que conforman el colon, en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido y con el carcinógeno 1,2-DMH

Para las lesiones tipo II (Figura 17) se observa una distribución uniforme entre las tres zonas del colon. Presentándose mayor cantidad de manera significativa en la zona proximal.

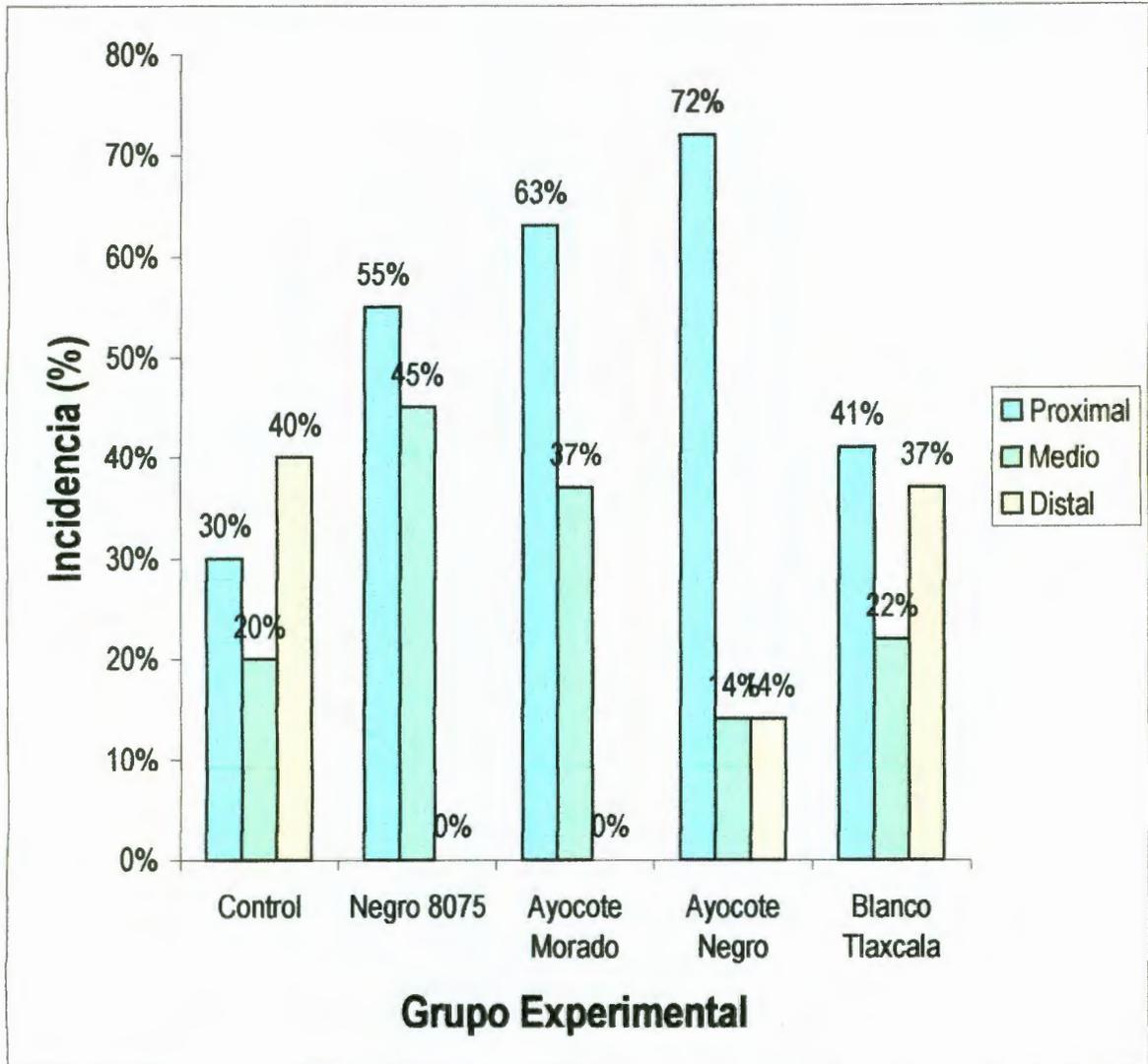


Figura 17. Incidencia de lesiones tipo I en las tres zonas que conforman el colon, en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido y con el carcinógeno 1,2-DMH

8.- Incidencia de lesiones tipo I por animal

El número máximo de lesiones tipo I observado por animal fue 4 y el mínimo fue 0, (Figura 18). Para el grupo Control el mayor número de ratas no presentaron lesiones al igual que el grupo Blanco Tlaxcala. Para el los grupos de frijol negro se encontró que la mayor parte presentaron una a dos lesiones por animal.

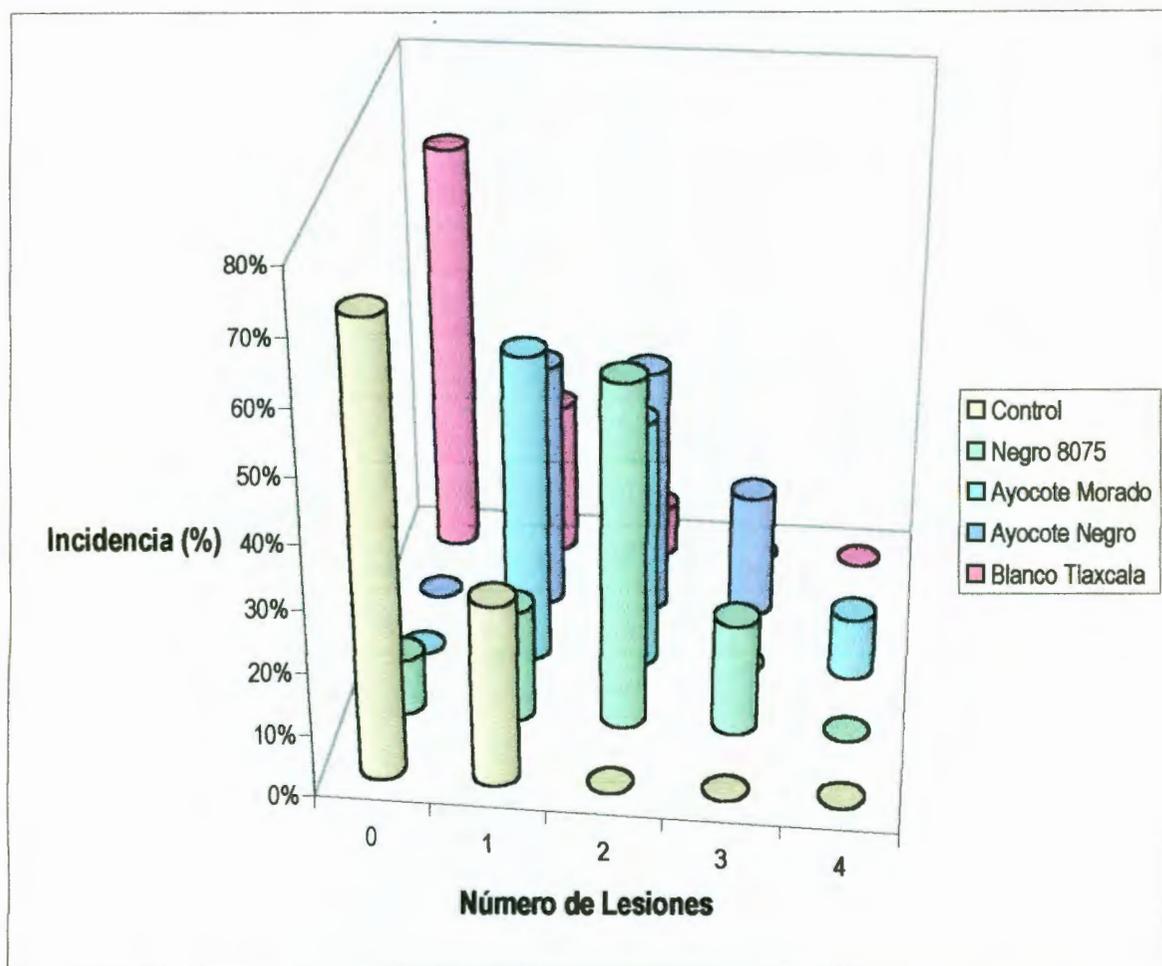


Figura 18. Incidencia de lesiones tipo I encontradas por animal, inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.

9.- Incidencia de lesiones tipo II por animal

El número máximo de lesiones tipo II observados por animal fue de 4 y el mínimo fue de cero, (Figura 19). El grupo Control presento 4 lesiones por animal. Para el grupo Blanco Tlaxcala el número máximo encontrado fue de 3 lesiones por animal. Y para los grupos de frijol Negro 8075, Ayocote Morado y Negro fue de una lesión por animal.

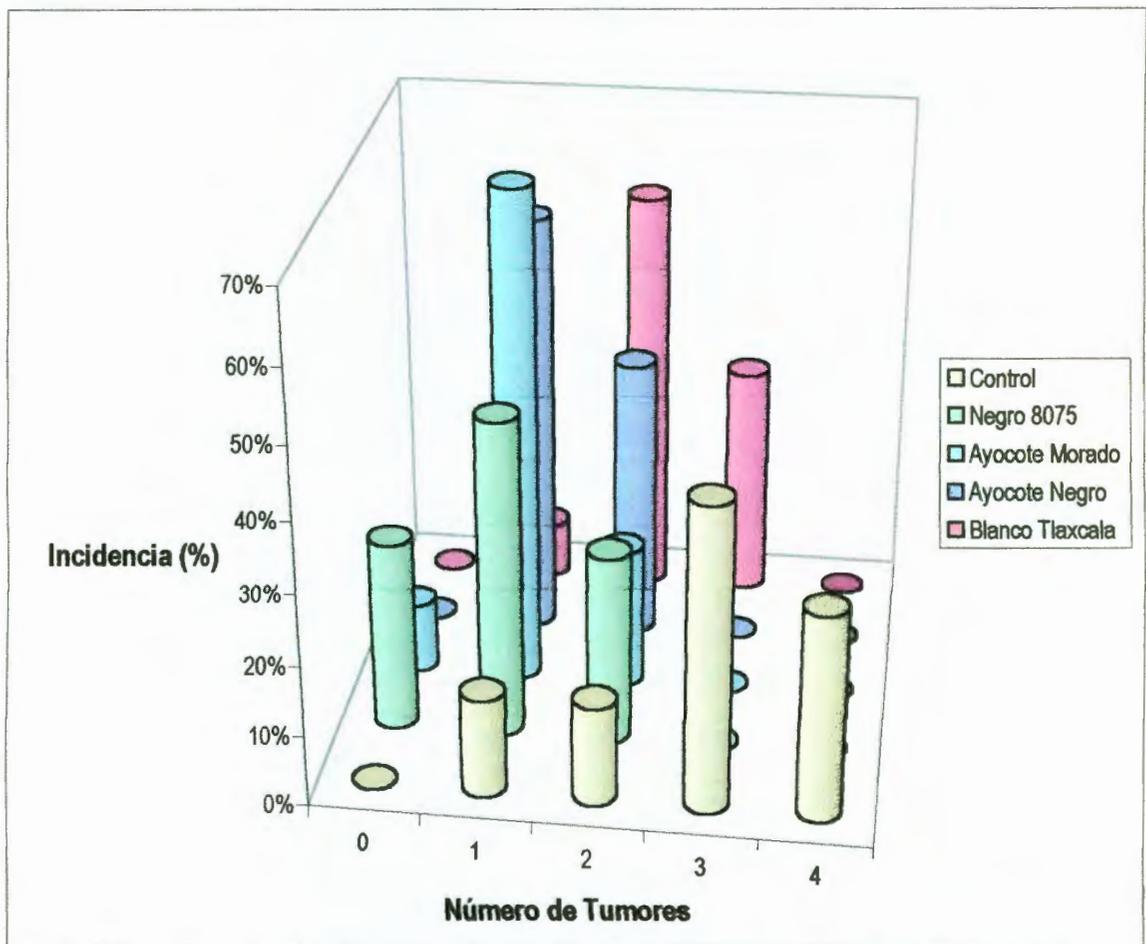


Figura 19. Incidencia de lesiones tipo II encontradas por animal, inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol cocido.

11.- Tamaño de Lesiones

En la tabla 10, se presenta el volumen expresado en cm^3 , tanto de las lesiones tipo I y tipo II encontradas en los animales tratados con el carcinógeno 1,2-DMH. Para poder determinar el volumen de dichas lesiones se midió el ancho, longitud y altura de cada lesión. El tamaño de las lesiones tipo I fue muy similar entre los grupos, sin embargo para las lesiones tipo II el Control positivo y el Blanco Tlaxcala presentan un valor mayor comparado, con los otros grupos y los animales tratados con el Negro 8075 muestran un tamaño menor

Cuadro 11. Volumen de las lesiones tipo I y yipo II inducidas con 1,2-DMH en ratas Sprague-Dawley tratadas con diferentes variedades de frijol.

TIPO DE FRÍJOL	VOLUMEN (cm^3)	
	LESIÓN TIPO I	LESIÓN TIPO II
Control Positivo	$0.0269\text{cm}^3 \pm 0.0012$	$0.0707\text{cm}^3 \pm 0.0105$
Negro 8075	$0.0194\text{cm}^3 \pm 0.0017$	$0.0353\text{cm}^3 \pm 0.0048$
Ayocote Morado	$0.0178\text{cm}^3 \pm 0.0021$	$0.0568\text{cm}^3 \pm 0.0089$
Ayocote Negro	$0.0181\text{cm}^3 \pm 0.0028$	$0.0414\text{cm}^3 \pm 0.0064$
Blanco Tlaxcala	$0.0166\text{cm}^3 \pm 0.0037$	$0.0836\text{cm}^3 \pm 0.0077$

En el cuadro 12 se muestra el análisis estadístico realizado para el volumen de la lesiones tipo I, no encontrándose diferencia significativa entre los 5 grupos de estudio.

Cuadro 12. Análisis estadístico para lesiones tipo I.

La letra a indica que no existe diferencia significativa ($P < 0.05$)

GRUPOS DE ESTUDIO	ANÁLISIS ESTADÍSTICO			
	N	Mean	SD	SEM
Grupo 1 (control positivo)	3	0.0270 a	0.002	0.0012
Grupo 2 (frijol Negro 8075)	20	0.0194 a	0.0078	0.0017
Grupo 3 (frijol Ayocote Morado)	16	0.0178 a	0.0084	0.0021
Grupo 4 (frijol Ayocote Negro)	16	0.0181 a	0.009	0.0023
Grupo 5 (frijol Blanco Tlaxcala)	4	0.0166 a	0.0073	0.0037

En el cuadro 13 se muestra el análisis estadístico realizado para el volumen de la lesiones tipo II, encontrándose diferencia significativa entre el Blanco Tlaxcala contra el Negro 8075, Blanco Tlaxcala contra Ayocote Negro, Blanco Tlaxcala contra el Ayocote Negro. El grupo control positivo presentó diferencia contra el Negro 8075 y el Ayocote Morado.

Cuadro 13. Análisis estadístico para lesiones tipo II.

Las letras a, b y c indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

GRUPOS DE ESTUDIO	ANÁLISIS ESTADÍSTICO			
	N	Mean	SD	SEM
Grupo 1 (control positivo)	19	0.0707 bc	0.0456	0.0105
Grupo 2 (frijol Negro 8075)	11	0.0353 a	0.0160	0.0048
Grupo 3 (frijol Ayocote Morado)	10	0.0568 a	0.0284	0.0089
Grupo 4 (frijol Ayocote Negro)	11	0.0414 ab	0.0211	0.0064
Grupo 5 (frijol Blanco Tlaxcala)	24	0.0836 c	0.0378	0.0077

DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la capacidad quimioprotectora de diferentes variedades de frijol cultivadas en nuestro país; y se determinó que durante todo el tiempo que duro el experimento el grupo control positivo tuvo un comportamiento similar con respecto al peso corporal en comparación con los grupos tratados con frijol cocido. De igual forma, en un estudio realizado por MolIntosh y col., (1998), se evaluó el efecto del frijol sobre el desarrollo de cáncer de colon durante 28 semanas, no observándose diferencia significativa en el peso corporal de los tres grupos de estudio.

Varias investigaciones han demostrado que el consumo de energía puede ser una variable importante que influye en la incidencia del cáncer; ratas alimentadas con dietas restringidas de energía tienen menores tumores que ratas alimentadas con una dieta de libre acceso de energía. El contenido de fibra en frijol esta relacionado con un incremento en la saciedad lo cual trae como consecuencia menor consumo de alimento y por lo tanto menor aporte energético produciendo a su vez menor incidencia de cáncer.

Hangen y Bennink, (2002) reportaron diferencia significativa entre los grupos que consumieron frijol negro y blanco en comparación con el grupo control, presentado menor ganancia de peso los grupos tratados con frijol, atribuyendo esto a un menor consumo de alimento.

Esta diferencia de comportamiento entre este último estudio y el realizado en nuestro laboratorio podría atribuirse a la composición de las dietas ya que ellos incorporaron 75% de frijol en el alimento y en nuestro caso sólo se utilizo 1.6%. El 75% de frijol en la dieta produce una menor grasa corporal atribuida a un control del apetito.

Los grupos de frijol negro tuvieron una mayor incidencia de lesiones iniciales o primarias del proceso carcinogénico mientras que el grupo control y el grupo Blanco Tlaxcala tuvieron mayor incidencia de lesiones secundarias de un proceso carcinogénico ya avanzado. En base a estos resultados se sugiere que la acción del frijol no consiste en inhibir el proceso de iniciación, si no que su acción es detener dicho proceso, permitiendo únicamente la formación de pequeñas lesiones tumorales, llamadas adenomas. Este efecto se pudo deber a la fibra dietética del frijol especialmente la fibra soluble, la cual se ha encontrado que tiene la capacidad de reducir el cáncer de colon, ya que esta fibra aumenta el volumen y la velocidad del tránsito de las heces, reduciendo la concentración y el tiempo de exposición a carcinógenos en el intestino.

Otro de los mecanismos propuestos por el cual la fibra dietética puede proteger al desarrollo del cáncer de colon son: (1) aumento de la materia fecal, (2) unión a sales biliares, (3) disminución del pH del colon, (4) modificación de la flora colónica y (4) fermentación de la flora bacteriana (Rubio, 2002). Estudios actuales del efecto fisiológico de la fibra demuestran que la máxima protección la genera el frijol cuando es rico en fibra insoluble principalmente celulosa.

Los grupos de frijol negro tuvieron una mayor multiplicidad de lesiones tipo I y menor multiplicidad de lesiones tipo II y para el grupo control positivo y el Blanco Tlaxcala la multiplicidad fue menor para las lesiones tipo I y mayor para las lesiones tipo II.

Estos datos concuerdan con los resultados observados en el trabajo realizado por Hangen y Bennink, (2002), donde encontraron que las ratas que consumieron frijol negro tuvieron menor incidencia de Adenocarcinomas que el grupo control y el grupo que consumió frijol pigmentado tuvo una incidencia intermedia. Esto también fue observado por Hughes y col., (1997) y por Kumar y col., (1990).

En este estudio se encontró que el frijol negro presentó mayor protección que el frijol blanco, lo cual puede deberse a la acción de los compuestos fenólicos presentes en la cascarilla del frijol como lo son las saponinas, antocianinas y flavonoides, los cuales se ha demostrado que poseen propiedades biológicas importantes como lo son las propiedades anticarcinogénicas, estos compuestos son más abundantes en el frijol negro que en el blanco ya que son los encargados de la coloración del frijol.

Para este estudio el colon fue dividido en 3 zonas: proximal, media y distal; con la finalidad de determinar en que parte del colon se desarrollaron más lesiones, encontrándose que la mayor cantidad de lesiones tipo I y tipo II se encuentran localizadas en la zona media y proximal, siendo menor en la zona distal. Este comportamiento se cree que se puede deber a la acción del butirato. Este ácido de cadena corta se forma en el colon durante la fermentación bacteriana de carbohidratos, tales como la fibra soluble, almidón resistente y oligosacaridos. El contenido y distribución de este ácido graso es dependiente de la microflora en el tracto gastrointestinal, altas concentraciones de almidón resistente produce elevados niveles de ácido butírico en la zona distal del colon. Dicho ácido inhibe el crecimiento, diferenciación e induce apoptosis en líneas celulares provenientes de cáncer de colon.

Por otro lado, en relación al tamaño de las lesiones tipo I y tipo II, no se encontró diferencia significativa entre el tamaño de las lesiones tipo I de los grupos con frijol con respecto al grupo control positivo; sin embargo, si se muestra diferencia en el tamaño de las lesiones tipo II, la cual se dio entre el grupo control positivo y frijol Blanco Tlaxcala con respecto a los grupos de frijol negro; lo cual se piensa que esta diferencia de comportamiento se pudo deber a las diferentes propiedades nutraceuticas del frijol, o bien, a la acción de la fibra soluble, las cuales de alguna manera pudieron inhibir el crecimiento de dichas lesiones.

El rol que juega la dieta en la etiología de ciertos canceres esta siendo reconocido y se esta poniendo cierto interés al hecho de que en la comida hay presentes

ciertos factores que poseen propiedades protectoras para diversas enfermedades como es el caso del cáncer (Davies y col., 1999).

Los frijoles tienen la capacidad de inhibir enfermedades coronarias, diabetes y obesidad y poco se conoce acerca de su capacidad para inhibir el desarrollo del cáncer, con estos estudios se ha demostrado que el frijol inhibe el desarrollo del cáncer inducido con DMH, dicha capacidad es dependiente de las variedades de esta leguminosa, mostrando mayor efecto los frijoles pigmentados.

CONCLUSIONES

- ✓ En ganancia de peso, no se observó diferencia estadísticamente significativa entre el grupo tratado con 1,2-DMH y los grupos tratados con frijol cocido y con 1,2-DMH.
- ✓ Los animales tratados con frijoles negros tuvieron una menor incidencia de lesiones tipo II y mayor incidencia de lesiones tipo I; mientras que el Frijol Blanco tuvo una menor incidencia de lesiones tipo I y mayor incidencia para las Lesiones tipo II.
- ✓ La multiplicidad para las lesiones tipo I fue mayor en los grupos de animales tratados con frijol negro y la multiplicidad de lesiones tipo II fue mayor para el grupo del frijol Blanco Tlaxcala y el grupo control positivo.
- ✓ En cuanto a número promedio de lesiones tipo I y tipo II por animal se observó el mismo comportamiento.
- ✓ El volumen de lesiones tipo I, fue mayor para los animales que fueron tratados con frijol negro, mientras que el volumen de las lesiones tipo II fue mayor para el grupo Control positivo y el grupo del frijol Blanco Tlaxcala.
- ✓ Las lesiones tipo I tuvieron un mayor incidencia en la zona media del colon, mientras que las lesiones tipo II tuvieron una mayor incidencia en la zona proximal del colon.
- ✓ Mediante este trabajo se corroboró que el frijol presenta cierta protección contra un cáncer de colon, siendo más notable esta protección en los frijoles negros que en el frijol blanco

✓ En base a estos resultados se puede llegar a considerar al frijol como un alimento que puede usarse como una alternativa para la prevención del cáncer de colón; sin embargo se requiere de estudios más específicos para identificar el o los componentes responsables de dicha protección.

BIBLIOGRAFÍA

Albert, B., Bray D., Lewis J., Rark M., Rodert K., Watson J. 2000. Biología Molecular de la célula. 3ª ed., Omega, México: 1345-1347, 1365, 1378-1382.

Castellanos, J.Z., Guzmán, M.H., Jiménez, A., Mejía, C., Muñoz, R.J.J., Acosta, G.J.A., Hoyos, G., López, S.E., González, E.D., Salinas, P.R., González, A.J., Muñoz, V.J.A., Fernández, H.P. y Cáceres, B. 1997. Preferential Habits of consumers of common bean in México: Arch Latinoam Nutr.: Vol. 47(2):163-167.

Catalán, V., Honorato, B., García, F., Bandrés, E., Zabalegui, N., Zárate, R., Salgado, E., Garcia Foncillas. 2003. Carcinogénesis colónica: proceso de transformación neoplásica. Rev. Med.: Vol. 47:15-19.

Chandrasoma, P. y Taylor O. 1999. Patología General. 3ª ed., Manual Moderno, México:652-655.

Cohen, A.M., Minsky, B.D. y Shlisky, R.L. 2000. Cáncer de colon en: Cáncer principios y práctica de oncología. 5ta. Ed., Editores DeVita, V., Hellaman, S. Y Rosenberg, S.A. Médica Panamericana, España:1144-1196.

CNN. 2001. Conferencia Nacional de Nutrición.

<http://www.andrews.edu/NFS/fitoquímicos.html>

CLIA. 2000. Consejo Latinoamericano de Información Alimentaria .

<http://www.clia.org.mx/artículo.php?id=38>

Correa, P. 1981. Epidemiological correlations between diet y Cancer frequency. Cancer.: Res. Vol. 41:3685-3690.

Darnell, J., Lodish, H., Baltimore D. 1993. *Biología Celular y Molecular*. 3ª Ed., Omega, Barcelona:1028-1029.

Davies, J.M., Bowey, A.E., Adlercreutz, H., Rowland, R.I. y Rumsby C.P. 1999. Effects of soy or rye supplementation of high-fat diets on colon tumour development in azoxymethane-treated rats. *Rev:Carcinogenesis.*: Vol: 20:927-931

Davis, J. 2000. Preventing Colon Cancer: What You Can Do. *Rev. Medical News.*:

Durán, O., González, a., Cisneros , F.J. y Hermsillo, M. 2000. Experiencia en el manejo del cáncer colorrectal en el Centro Médico Nacional de Occidente. *Cirujano General*:: Vol. 22(2):153-158

Ganong, W.F. 1998. *Fisiología Médica*. 16ª ed., Manual Moderno, México:461

Guzmán, M.S.H. y Paredes L, O. 1998. Functional Products of plant Indigenous to Latin America, quinoa, common beans and botanicals. In:*Functional Foods. Biochemical an Processing Aspectos*. G. Mazza, Technomic, Lancaster,: 239-328

Hangen, L. Y Bennik, M.R. 2002. Consumption of Black and Navy Beans(*Phaseolus vulgaris*) reduced Azoxymethane-induced Colon Cancer in rats. *Rev. Nutrition and Cancer.*: Vol. 44(1):60-65

Hernández, M.M. y Ríos, M.A. 1999. Oncogenes y Cáncer. *Rev. Cubana Oncol.* Vol. 15(2):131-139

Hughes, J., Chutima, G. y Wilson-Sanders S., 1997. Dry Beans Inhibit Azoxymethane-Induced Colon Carcinogenesis in F344 Rats. *Rev. Journal Nutrition.*: Vol. 127:2328-2333.

Hughes, J.S y Swanson, B.G. 1989. Soluble and insoluble dietary fiber in caged common bean(*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Rev. Food Microestruct.*: Vol. 8:15-23

Jean-Claude, Callen. 2000. *Biología Celular de las moléculas a los organismos.* 1ª Ed., Continental, México:395-396

Klug, S., y Cummings, M.R. 2000. *Conceptos de Genética.* 5ª Ed., Prentice Hall, México: 630-631.

Kumar, S.P., Roy, S.,J., Tokumo, K. Y Reddy, B.S. 1990. Effect of different levels of calorie restriction on azoxymethane induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *Rev.Cáncer.*: Vol. 50:5761-5766

López, I.R., y Navarro, S.J. 1983. *Origen y descripción Botánica.* 2ª ed., SARH, México:29-44

Lodish, H., Lawrence, Z.S., Matsudara, P., Baltimore, D., Darnell, J. 2002. *Biología Celular y Molecular.* 4ta. Ed., Medica Panamericana, Madrid: 1054-1057

Mohar, A., Frías, M., Súchel, L., Mora, T. Y G. de la Garza, J. 1997. Epidemiología descriptiva de cáncer en el instituto Nacional de Cancerología de México. *Salud Pública Mex.:* Vol. 39:253-258

Montenegro, M.A., Negrette, S., Lértora, W.J. y Catougnó, M.S. 2003. Focos de criptas displásicas inducidas con 1,2-dimetilhidrazina en intestino grueso de ratas tratadas con molibdeno y tungsteno. *Rev. Vet.:* Vol. 1:19-19

Negrette, S., Montenegro, M.A., Burna, A.N., Borda, J.T. 1999. Ocurrencia de queratoacantomas en ratas tratadas con 1,2-dimetilhidrazina. *Rev. Vet.:* Vol. 1y2:12-1

Negrette, S., Montenegro, M.A., Burna, A.N., Borda, J.T. 2000. Lesiones Neoplásicas Tempranas (LNT) y tumores del colon inducidos con 1,2-DMH en ratas. *Rev. Vet.:* Vol. 1:1-4

Ortega, C.C., Díaz, F.M., Avalos, R.A., Vergara, O.M., Rosales, T.A.M. 2001. La apoptosis y su importancia biomédica. *Gac Méd Méx.:* Vol. 137: 563-577

Piñols, C. 1995. Estudio de los cambios en la mucosa colónica de rata y cinética celular durante la carcinogenesis inducida con 1,2-dimetilhidracina. Barcelona, España. Universidad de Lleida. Tesis que para obtener el título de doctor en ciencias. 31-50, 86-95

Platt, G.J. 2000. <http://www.internet.uson.mx/webpers/platt/cáncer.htm>.

Potter, J.D. 1996. Cancer prevention: food and phytochemicals . In: Second International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Diseases. 15-18.

RAF. 2002. Reunión Agroalimentaria de Frijol.
<http://www.imagenzac.com.mx/2002/03/27/economia1.htm>

Ríos, M.A. y Hernández, M.M. 2001. Genes Supresores de Tumores y el Cáncer. *Rev. Cubana Oncol.:* Vol. 17(1):65-71.

Rojas-Espinosa. 2001. Inmunología. 2ª ed., Médica Panamericana, México:289-294.

Rubio, M.A. 2002. Implicaciones de la fibra en distintas patologías. *Rev. Nutrición Hospitalaria.* Sup:2:17-29.

SAGARPA. 2003. Secretaria de Agricultura y Ganadería y Recursos Pesqueros y de Alimentación.

<http://www.sagarpa.mx>

Secretaria de Salud, **2004.** <http://www.ssa.mx>

Secretaria de Salud, **2005.** <http://www.salug.gob.mx/estadísticas>

Secretaria de Salud, **2005.**

<http://www.sinais.gob.mx/mortalidad7mortalidad.htm3k>

Slavin, J., Jacobs, D., Marqueart, L 1997. Whole grain consumption and chronic disease: protective mechanisms. *Rev. Nutr Cancer.*: Vol. 27:14-21

Sociedad Americana del Cáncer. http://www.cancer.org/docrou/esp_o.htm

Tortora, G. y Anagnostakos N. 2001. Principios de Anatomía y Fisiología. 6ª ed., Oxford, México: 605-608.

Weir, M.D. y Stewart, J. 1999. Inmunología. 3ª. Ed., El Manual Moderno, México:227-229

ANEXO

Preparación de las dietas

Para la preparación de la dietas se tomó en cuenta el consumo per cápita:

$$11,000 \text{ g de frijol} \text{ ----- } 365 \text{ días}$$

$$x \text{ ----- } 1 \text{ día}$$

$$x = 30.13 \text{ g de frijol al día para una persona de } 70.0 \text{ Kg}$$

En base a esto se determinó la cantidad de frijol que consume una rata al día con la siguiente relación :

$$30 \text{ g de frijol} \text{ ----- } 70000 \text{ g peso de una persona}$$

$$x \text{ ----- } 300 \text{ g de peso de una rata}$$

Todas las dietas se prepararon semanalmente por grupo de experimentación y para poder determinar la cantidad de a incorporarse se utilizo el peso promedio de los animales.

Preparación del la 1,2-dimetilhidrazida

400 mg de 1,2-dimetilhidrazida fueron diluidos en 100 ml de agua tipo HPLC con 37mg de EDTA (como agente estabilizante) y 0.9% de NaCl, ajustando el pH a 6.5 con NaOH. Por cada 100 g de peso del animal se inyectan 0.525 ml de la solución.

21 mg/Kg de peso del animal

$$21 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ ----- } 100 \text{ g}$$

$$x_1 = 2.1 \text{ mg}$$

$$400 \text{ mg} \text{ ----- } 100 \text{ ml}$$

$$x_2 \text{ ----- } 1 \text{ ml}$$

$$x_2 = 4 \text{ mg}$$

$$4 \text{ mg} \text{ ----- } 1 \text{ ml}$$

$$2.1 \text{ mg} \text{ ----- } x_3$$

$$x_3 = 0.525 \text{ ml}$$