



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“CAPACIDAD PROTECTORA DEL CLADODIO DE NOPAL  
SOBRE CÁNCER DE COLON”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**MARÍA LUISA GONZÁLEZ AMARO**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2007.**

**BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

No. Adq. H71716

No. Título \_\_\_\_\_

Clas TS

616.994

G643c

\_\_\_\_\_



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“CAPACIDAD PROTECTORA DEL CLADODIO DE NOPAL  
SOBRE CÁNCER DE COLON”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**MARÍA LUISA GONZÁLEZ AMARO**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO**

**SINODALES**

**DRA. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO**  
DIRECTOR

---

**DRA. EVA GONZÁLEZ JASSO**  
SINODAL

---

**DRA. MINERVA RAMOS GÓMEZ**  
SINODAL

---

**Q. B. SERGIO PACHECO HERNÁNDEZ**  
SINODAL

---

## DEDICATORIA

*Esta tesis es una parte de mi vida, significa todo el esfuerzo y dedicación a lo largo de la carrera, la dedico a las personas más importantes que me apoyaron incondicionalmente "mis padres"*

## AGRADECIMIENTOS

*A mis padres*

*"El logro es, ante todo, el producto de la constante elevación de nuestras aspiraciones y expectativas"*

*A mis hermanos: Susana, Daniel, Edith, Ángel, Chuy, Tony y Ana, también a mis cuñados Lilia, Israel y Eduardo*

*"Para ser exitoso no tienes que hacer cosas extraordinarias. Haz cosas ordinarias, extraordinariamente bien"*

*A mi Travieso*

*"El que lucha un día es bueno, los que luchan muchos días son mejores, los que luchan toda la vida, esos, son imprescindibles"*

*A mis amigas: Marlen, Ariana, Gís, Caro, y Malena*

*"Después de escalar una montaña muy alta, descubrimos que hay muchas otras montañas por escalar"*

*A mis maestros: Dra. Eva, Dra. Rosalía, Dra. Minerva, Maestro Pacheco, entre otros*

*"Aquel que tiene un porqué para vivir puede enfrentar todos los cómo"*

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	i
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	iv
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	v
<b>RESUMEN</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. ANTECEDENTES</b>	2
II.1 Generalidades del cáncer	2
II.2 Cáncer de colon	3
II.2.1 Epidemiología y etiología de cáncer colorrectal	3
II.2.1.1 Factores causales del cáncer colorrectal	4
II.2.2 Anatomía, fisiología y morfología del colon	6
II.2.3 Patología del colon	7
II.2.3.1 Adenocarcinoma de colon	10
II.2.3.2 Localización de los adenocarcinomas	10
II.3 Carcinogénesis colónica experimental	11
II.3.1 Modelos experimentales de carcinogénesis colónica	11
II.3.2 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH)	11
II.3.2.1 Vía de administración y dosificación de la 1,2-DMH	12
II.3.2.2 Acción de la 1,2-DMH	12
II.3.2.3 Descripción de las lesiones inducidas con la 1,2-DMH	14
II.4 La dieta y cáncer de colon	14
II.5 Nopal	15
II.5.1 Generalidades del nopal	15
II.5.2 Composición química del nopal	17
II.5.3 Propiedades del nopal	18
II.5.4 Nopal y cáncer de colon	18
<b>III. HIPÓTESIS</b>	20
<b>IV. OBJETIVOS</b>	21

IV.1 General	21
IV.2 Específicos	21
<b>V. METODOLOGÍA</b>	<b>22</b>
V.1 Materiales	22
V.1.1 Químicos	22
V.1.2 Biológicos	22
V.2 Métodos	22
V.2.1 Determinación de la fibra soluble e insoluble de nopal	22
V.2.1.1 Extracción de fibra soluble e insoluble del nopal	22
V.2.1.2 Fibra dietética insoluble	22
V.2.1.3 Fibra dietética soluble	23
V.2.2 Grupos de estudio	23
V.2.3 Composición de la dieta	23
V.2.4 Elaboración de la harina de nopal	24
V.2.5 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato	24
V.2.6 Inducción del cáncer de colón con 1,2-DMH	24
V.2.7 Sacrificio y toma de muestra	24
V.2.8 Análisis Macroscópico	25
V.2.9 Determinación de pH en contenido cecal	25
V.2.10 Análisis estadístico	25
<b>VI. RESULTADOS</b>	<b>26</b>
VI.1 Contenido de fibra soluble e insoluble de cladodios de nopal	26
VI.2 Ganancia de peso de ratas tratadas con nopal y 1,2-DMH	26
VI.3 Índice de sobrevivencia de ratas tratadas con 1,2-DMH y nopal	27
VI.4 Clasificación de lesiones de ratas tratadas con 1,2-DMH y nopal	28
VI.5 Incidencia de lesiones de animales tratados con 1,2-DMH y nopal	30
VI.6 Número promedio de placas y pólipos de animales tratados con nopal y 1,2-DMH	31
VI.7 Multiplicidad de lesiones de animales tratados con nopal y 1,2-DMH	32

VI.8 Distribución de placas y pólipos en los animales tratados con nopal y 1,2-DMH	33
VI.9 Tamaño de pólipos de animales tratados con nopal y 1,2-DMH	34
VI.10 Determinación de pH del contenido cecal de animales tratados con nopal y 1,2-DMH	35
<b>VII. DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>42</b>
<b>X. ANEXO</b>	<b>49</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición nutricional en 100 g de nopal seco	17
2	Numero de lesiones tumorales encontradas en ratas Sprague-Dawley tratadas con nopal y con el carcinógeno 1,2-DMH	28
3	Valores de pH de contenido cecal de ratas Sprague-Dawley tratadas con nopal (0.58 g/Kg de peso) y el carcinógeno 1,2-DMH	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama del intestino grueso	6
2	Morfología del epitelio colónico normal	8
3	Desarrollo de tumor en el epitelio del colon	9
4	Localización de los adenocarcinomas por orden de frecuencia	11
5	Metabolismo de la 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato	13
6	Nopal <i>Opuntia ficus Indica cultivar redonda</i>	16
7	Ganancia de peso de ratas Sprague-Dawley tratadas con nopal (0.58 g/Kg de peso) incorporado en la dieta y el carcinógeno 1,2-DMH	27
8	Placa localizada en la zona distal del intestino grueso de una rata Sprague-Dawley tratada con 1,2-DMH	28
9	Pólipos localizados en la zona proximal del intestino grueso de rata Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH	29
10	Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre la Incidencia de placas y pólipos en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH	30
11	Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el promedio de placa y pólipo en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH	31
12	Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre la multiplicidad de placa y pólipo en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH	32
13	Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el porcentaje de distribución de placas en la zona proximal y distal del colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH	33
14	Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el porcentaje de distribución de pólipos en la zona proximal y distal del colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH	34

- 15 Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el volumen de pólipos en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH 35

## RESUMEN

El cáncer es la segunda causa de muerte en nuestro país. Dentro de las enfermedades neoplásicas el cáncer de colon se ha convertido en una importante causa de mortalidad y morbilidad. Por otro lado, se ha demostrado que la dieta es un factor importante que contribuye a prevenir este tipo de patologías. El nopal es una cactácea que contiene una elevada cantidad de fibra dietética que estimula la digestión y puede ayudar a prevenir enfermedades como el cáncer. Sin embargo, hasta el momento no se ha realizado ningún estudio que determine el efecto del nopal sobre la prevención de cáncer de colon. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad quimioprotectora de cladodios de nopal en cáncer de colon inducido con el carcinógeno 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH) en ratas Sprague-Dawley. El nopal molido se incorporó a la dieta de acuerdo al consumo *per cápita* (15 kg/año) en México. Los animales consumieron dicha dieta 4 semanas antes, 8 semanas durante y 9 semanas después del tratamiento con 1,2-DMH. Cada semana se registró la ganancia de peso y la sobrevivencia. A la semana 21, las ratas fueron sacrificadas y se les extrajo el colon para evaluar el número y características de las placas y pólipos. De acuerdo a los resultados, se observó diferencia estadística significativa en cuanto a la ganancia de peso entre el grupo DMH y Nopal-DMH, siendo mayor este parámetro en este último grupo. Por otro lado, el grupo tratado con nopal presentó mayor sobrevivencia de animales (100%), así como una disminución en la incidencia (83%), el número promedio (0.83) y la multiplicidad de pólipos (1.0) en comparación con el grupo DMH (83%, 90%, 1.5, 1.7, respectivamente). Los animales tratados con Nopal-DMH presentaron más lesiones tempranas (placas) que lesiones tardías (pólipos), las cuales tuvieron una mayor distribución en la zona distal y las lesiones tardías en la zona proximal. El volumen de placas y pólipos tuvieron un comportamiento similar entre el grupo DMH y el grupo Nopal-DMH. En base a estos resultados se demuestra que el nopal disminuye la progresión de esta patología, por lo tanto, el consumo *per cápita* de nopal produce una protección contra el desarrollo de cáncer de colon.

## I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de colon ha cobrado gran importancia en nuestro país ya que se ha incrementado paulatinamente su incidencia a lo largo de los años.

Al parecer, la mayor parte de los cánceres colorectales surge de tumores benignos llamados adenomas, los cuales forman una masa protuberante del tejido denominado pólipo. Se cree que estos pólipos adenomatosos son los precursores de una gran proporción de los cánceres colorectales.

Por otro lado, se ha reportado que una de las herramientas mas utilizadas como medio de control para el cáncer es la quimioprotección, la cual ha recibido enorme atención en los últimos años. El término quimioprotección se refiere al uso de agentes farmacológicos o naturales que se encuentran presentes en la dieta, estos compuestos inhiben el desarrollo de cáncer, ya sea por el bloqueo del daño al DNA, que inicia la carcinogénesis, o por la inhibición o reversión de la evolución de células pre-malignas en las cuales el daño ya ha ocurrido.

Debido a que los alimentos juegan un papel importante en la prevención del cáncer, la dieta tradicional mexicana ha sido usada por países como los Estados Unidos como un eje de estrategias preventivas para la salud, recomendando el consumo de alimentos netamente mexicanos, los cuales además de ser altamente nutritivos protegen contra ciertas enfermedades. En últimas fechas, en Estados Unidos se ha aumentado el consumo de alimentos mexicanos, tales como el nopal.

El nopal es una cactácea que se ha utilizado como alimento y remedio desde tiempos prehispánicos en México, contiene una elevada cantidad de fibra dietética que estimula la digestión y puede ayudar a prevenir enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer.

Aún cuando el nopal se ha recomendado ampliamente para la prevención de esta patología, hasta el momento no se ha realizado ningún estudio en el que se demuestre su capacidad quimioprotectora.

## II. ANTECEDENTES

### II.1 Generalidades del cáncer

Nuestro organismo está constituido por un conjunto de células que se dividen periódicamente y de forma regular con el fin de reemplazar a las ya envejecidas o muertas y mantener así la integridad y el correcto funcionamiento de los distintos órganos. Existe una serie de mecanismos de control que regula el proceso de división que indican a la célula cuando comenzar a dividirse. Cuando estos mecanismos de control se alteran en una célula, ésta y sus descendientes inician una división incontrolada que con el tiempo dará lugar a un tumor o nódulo (Cohen y col., 2000; Cotran y col., 2000).

Cuando las células que constituyen el tumor no poseen la capacidad de invadir y destruir otros órganos, hablamos de tumores benignos. Pero cuando estas células además de crecer sin control, sufren nuevas alteraciones y adquieren la facultad de invadir tejidos y órganos de alrededor (infiltración), y de trasladarse y proliferar en otras partes del organismo (metástasis) se denomina tumor maligno, que es a lo que llamamos cáncer.

El cáncer se clasifica de acuerdo con el tejido y el tipo celular del que se origina: carcinomas de las células epiteliales, sarcomas de las células musculares, linfomas de las células del sistema inmunitario, leucemias de las células hematopoyéticas y gliomas de las células del sistema nervioso central (Grunberger y Goff, 1987; Guyton y Hall, 2001). Recientemente, el cáncer se ha considerado como una anomalía genética en el ámbito celular este proceso neoplásico resulta de una serie de alteraciones genéticas, productos de la acumulación de varias mutaciones a lo largo del tiempo. Estas alteraciones afectan tanto a los genes que activan la división celular, como otros que vigilan y ordenan la eliminación de la células potencialmente cancerosas, llevando así a una interrupción en el mecanismo normal que controla la proliferación celular.

Una vez que existe una alteración en el DNA, la célula puede: 1) utilizar los mecanismos de reparación para regresar a la normalidad; 2) ser inducida a la muerte (apoptosis); 3) convertirse en una célula iniciada en la transformación.

La carcinogénesis es un proceso complejo, que involucra una gran cantidad de eventos que ocurren a nivel celular, molecular y morfológico, por lo que el proceso puede ser dividido en varias etapas: 1) iniciación con un cambio molecular heredable; 2) promoción para estimular la división celular en la región previamente expuesta donde un iniciador produjo un incremento a partir de una célula mutada (células premalignas); 3) conversión celular, convierte las células hasta entonces premalignas en malignas a través de un proceso multifocal en donde unas se transforman más rápido que otras; 4) progresión, se incluye varias etapas en el proceso de carcinogénesis: angiogénesis, invasión y metástasis, la célula de un tumor es capaz de debilitar la adhesión a sus vecinas originales, escapar del tejido de origen e invadir otros tejidos; 4) estimulación de la inducción de la formación de nuevos vasos sanguíneos, para la obtención de los nutrientes y el oxígeno necesario. La metástasis es la formación de un tumor secundario que se inicia cuando la célula cruza la lámina basal y el revestimiento endotelial del vaso, entrando así a la circulación sanguínea, a su salida puede alojarse en un nuevo ambiente donde sobrevive y prolifera (Bird, 1995; Díaz y col., 1998; Griffiths y col., 2000).

## II.2 Cáncer de Colon

### II.2.1 Epidemiología y etiología de cáncer colorrectal

En México, el cáncer de colon o colorrectal ocupa el segundo lugar dentro de los tumores que afectan al tubo digestivo. Según datos de la Secretaría de Salud, este tipo de cáncer es el tercero más frecuente y constituye la segunda causa oncológica de fallecimientos.

De acuerdo con información de la dependencia, en el 2005 se detectaron 17 mil nuevos casos entre la población mexicana, cifra que representa un crecimiento de 39 por ciento en tan sólo una década, ya que en 1995 el registro era de 10 mil personas afectadas por esta enfermedad, situación que la convirtió en la segunda

neoplasia maligna del tracto digestivo más frecuente en el país (Gariglio y Orozco, 2000; Barrera y col., 2003).

#### II.2.1.1 Factores causales del cáncer colorrectal

Las diferencias observadas en la incidencia del cáncer colorrectal entre distintas áreas geográficas, la evidencia del distinto riesgo generacional y la modificación de la incidencia en los emigrantes plantean una causalidad basada primordialmente en factores medioambientales (Díaz y col., 1998; Casimiro, 2002). Los factores asociados a los adenomas colorrectales y al cáncer colorrectal se pueden resumir en cuatro grupos:

##### 1. Factores endógenos:

a) Factores hereditarios. La herencia tiene escaso impacto en la incidencia poblacional (menos de un 5% de los casos de cáncer colorrectal) excepto en los casos de póliposis adenomatosa familiar (PAF) y cáncer de colon hereditario no póliposis (CCHNP), por su presentación antes de los 50 años y la indefectible conversión en cáncer colorrectal en el 100% ó 70% de los portadores genéticos respectivamente, ocasiona una importante pérdida de años potenciales de vida.

Los síndromes de poliposis familiar son un grupo de síndromes caracterizados por la aparición temprana de pólipos y un riesgo virtual del 100% de desarrollar cáncer de colon; representan un porcentaje muy pequeño de los casos de cáncer de colon (1-2%). El cáncer de colon hereditario no póliposis (CCHNP) es un trastorno de herencia autosómica dominante y se caracteriza por una alta susceptibilidad a cáncer colorrectal (80% a lo largo de la vida).

Existe un riesgo mayor de desarrollar cáncer de colon en aquellos pacientes que tienen un familiar de primer grado con cáncer de colon o adenomas. Se ha sugerido una herencia autosómica dominante y hábitos compartidos. Dependiendo de la edad de diagnóstico y el número de familiares afectados, el riesgo a lo largo de la vida de desarrollar un cáncer colorrectal puede aumentar de 1,8 a 8,0 veces (Thorogood y col., 1987).

b) Patología intestinal. Existe un riesgo aumentado de cáncer de colon en pacientes afectos de enfermedad inflamatoria intestinal, específicamente, los

pacientes con colitis ulcerosa presentan un riesgo elevado de cáncer colorrectal relacionado con la duración y extensión de la enfermedad.

## 2. Factores exógenos:

a) Dieta. La dieta está considerada como uno de los mayores factores etiológicos en el desarrollo de cáncer colorrectal. Sin embargo, determinar la relación entre la dieta y el cáncer es difícil debido al largo intervalo requerido para el proceso de la carcinogénesis y a los múltiples factores de confusión creados por las interacciones entre los diferentes constituyentes de la dieta. Los componentes de la dieta que han sido más investigados en relación al cáncer de colon son: las fibras, las frutas y verduras, el folato, las grasas y proteínas de origen animal y el calcio. Se piensa que la elevada incidencia de cáncer colorrectal en países desarrollados se debe a una dieta de tipo occidental con gran consumo de grasa animal e hidratos de carbono refinados, a la vez pobre en 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 (Cohen y col., 2000; Casimiro, 2002; Cowey y col., 2005).

b) Tabaco. Aunque el fumar se ha asociado consistentemente con el desarrollo de adenomas colorrectales, sólo recientemente se ha empezado a evidenciar la asociación con el cáncer colorrectal. En estudios recientes, se considera que el tabaco puede considerarse como factor de riesgo de cáncer de colon, pero con un intervalo de latencia muy largo (mayor de 30 años).

c) Alcohol. En relación al efecto del consumo de alcohol sobre el riesgo de cáncer de colon, se hipotetiza que, al igual que para el tabaco, el tiempo de latencia de este promotor del cáncer colorrectal sería largo (mayor de 20 años) y que su mecanismo de acción podría incluir un efecto antifolato.

d) Actividad física. De acuerdo a estudios realizados, se puede afirmar que la actividad física moderada es factor protector del cáncer colorrectal mientras que el sedentarismo, unido a otros factores de estilo de vida como el fumar o el elevado consumo de alcohol y una dieta alta en grasas y pobre en fibras, verduras y frutas, se relacionan claramente con un elevado riesgo de desarrollar cáncer de colon (Reddy y col., 1987).

3. Intervenciones médicas: tratamientos con antiinflamatorios no esteroideos y terapias hormonales.
4. Otros: colecistectomía, colitis ulcerativa y inflamación intestinal.

### II.2.2 Anatomía, fisiología y morfología del colon

El intestino grueso mide aproximadamente 1.5 m de longitud y 6.5 cm de diámetro, se extiende entre el íleon y el ano, que se une a la pared abdominal posterior por el mesocolon, que es una doble capa de peritoneo. Desde el punto de vista estructural, sus cuatro zonas principales son el ciego, colon, recto y conducto anal. El extremo abierto del ciego guarda continuidad con un largo conducto, el colon, que se divide en porciones ascendente, transverso, descendente y sigmoideo (Figura 1) (Guyton, 1999; Latarjet y Ruiz, 1999).

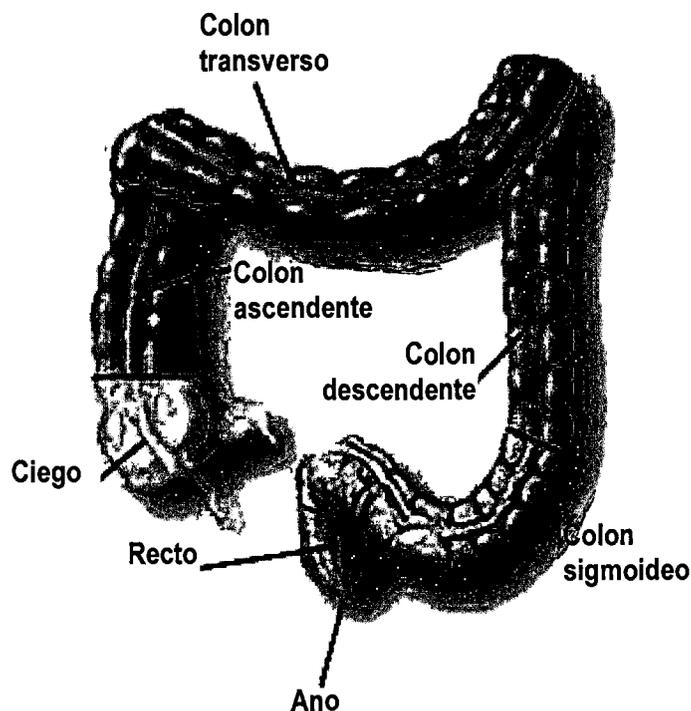


Figura 1. Diagrama del intestino grueso. Los segmentos anatómicos ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente y colon sigmoideo son estructuras móviles que están situadas libremente en la cavidad peritoneal (Forster, 2005).

La mucosa colónica está caracterizada por la presencia de múltiples criptas que la cubren con una capa de células epiteliales que se están autorenovando constantemente. Estas células surgen de células madre, que están localizadas en la base de las criptas hacia arriba al lumen colónico. El epitelio colónico humano se renueva cada 4 a 8 días. Cuando las células están aún en la parte inferior en medio de la cripta, experimentan rondas de replicación para suministrar suficiente población de células a la cripta entera.

El análisis histológico ha mostrado que en este compartimento proliferativo algunas células mueren por apoptosis. Se cree que esto sirve como un mecanismo de control para eliminar células que han sido dañadas en su DNA en la fase de replicación, alternativamente puede funcionar como parte del proceso de homeostasis para controlar el número total de células en la cripta.

Durante su migración, las células pierden su habilidad para dividirse y diferenciarse principalmente en el enterocito que se encuentra en la zona funcional. Una vez que llegan a la cima de la cripta, las células mueren por apoptosis, algunas veces por necrosis y son expulsadas en el flujo fecal o son localmente removidas por macrófagos intraepiteliales.

Para mantener la arquitectura del epitelio colónico, la velocidad de pérdida de células en la cima de la cripta y en la superficie intercriptal está estrechamente ligada con la producción en la base de la cripta (Figura 2).

### II.2.3 Patología del colon

Un evento temprano en el desarrollo del cáncer colorrectal es la anulación de la distinción normal entre el compartimento proliferativo y el funcional. La zona proliferativa se expande hacia la parte de arriba de la cripta colónica sin un aumento neto en el número de células, lo que se conoce como lesión "fase I" (Figura 3, parte B) que implica una pérdida del estado de diferenciación del epitelio.

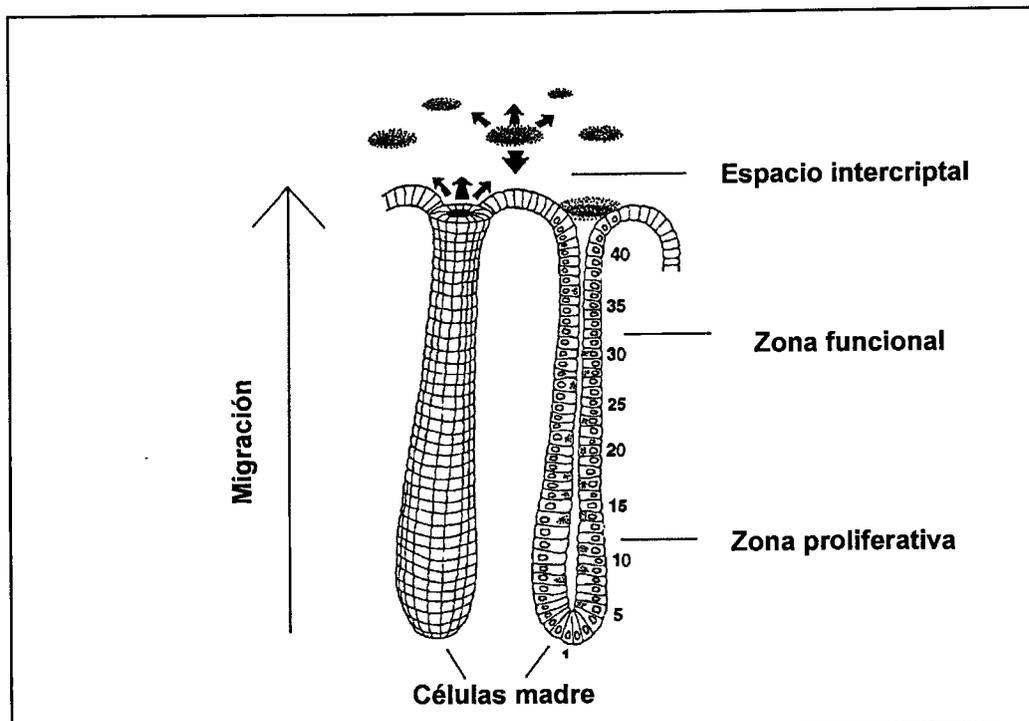


Figura 2. Morfología del epitelio colónico normal. El epitelio colónico está conformado por una zona proliferativa, zona funcional y un espacio intercriptal (Potten, 1998).

En la siguiente etapa, la velocidad de proliferación excede la muerte celular resultado en una acumulación de células epiteliales en la mucosa, como ocurre en la lesión "fase II" donde el tejido comienza a extenderse hacia el lumen (Figura 3, parte C), el resultado es la formación de tumor (Figura 3, parte D) (Grunberger y Goff, 1987; Bird, 1995).

Existe una secuencia de sucesos mutacionales en la progresión a cáncer de colon, donde el tejido pierde su organización en su progresión hacia el estado maligno. Cuando la división se realiza de forma incompleta, se produce una displasia (desarrollo anormal de un tejido).

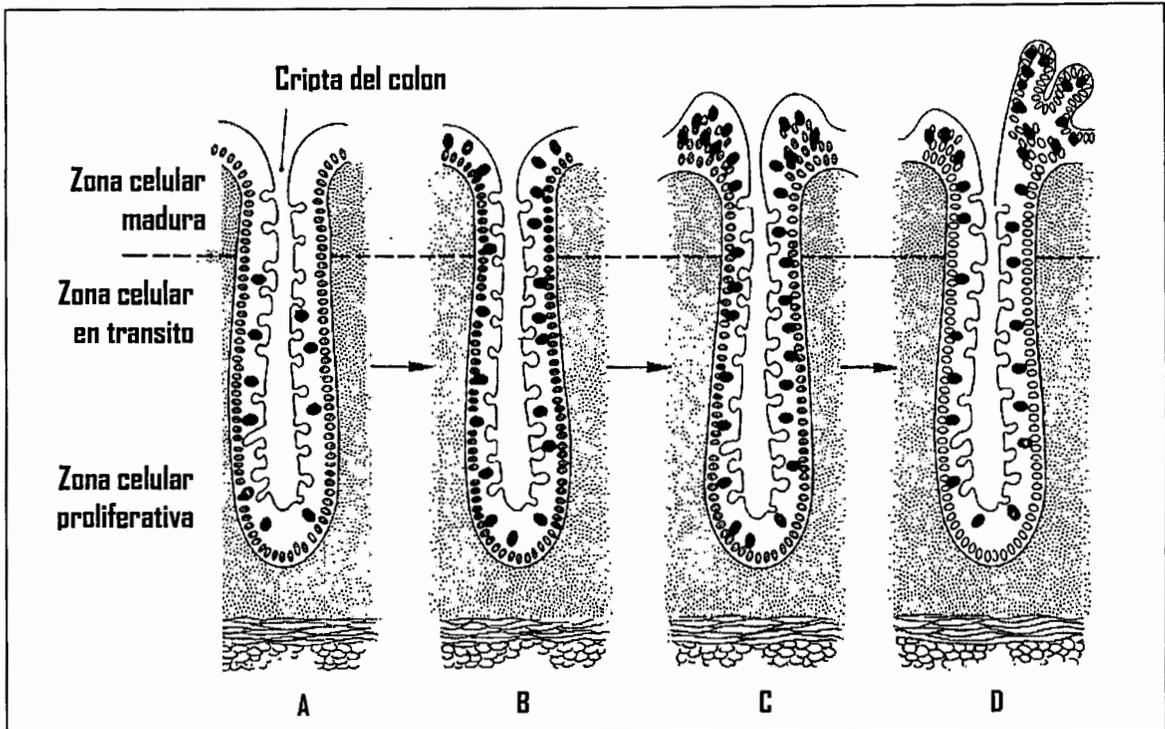


Figura 3. Desarrollo de tumor en el epitelio del colon. En la fase I (parte B) las células más superficiales muestran algunos signos de diferenciación. La formación de una lesión fase II (parte C) se debe a una excesiva proliferación, ya que se presenta una acumulación de células en la superficie de dicha cripta dando origen a la formación de tumor (parte D) (Lipkin, 1974).

Generalmente, la primera mutación afecta al gen *APC*, que es seguida de una proliferación celular incontrolada originando la formación de un adenoma (lesión tumoral benigna). Antes de que la lesión alcance un grado intermedio se registra una mutación en el gen *K-ras*. Previo a la formación del carcinoma (lesión maligna) se produce una nueva mutación en el gen *p53*. Finalmente, las células tumorales alcanzan los vasos sanguíneos y el sistema linfático (Hardy y col., 2000; Carretero y col., 2001).

En el cáncer de colon inducido experimentalmente, las células glandulares que se encuentran en proceso de migración hacia el exterior de la cripta parecen perder su control sobre la división celular normal y, por consecuencia, hay formación de

masas polipoideas con diversos grados de atipias hasta llegar al cáncer (Stemmermann y col., 1981; Bird, 1995).

#### II.2.3.1 Adenocarcinoma de colon

El tumor más frecuente en el intestino grueso es el adenocarcinoma; su incidencia global oscila entre el 75 y el 85 %. Histológicamente, se caracteriza por la formación de glándulas con mayor o menor grado de diferenciación. Los adenomas se dividen según el grado de diferenciación en adenocarcinomas bien diferenciados, moderadamente diferenciados y poco diferenciados. El grado de diferenciación de los adenomas se establece fundamentalmente en base a la arquitectura o la configuración tubular o el grado de polaridad nuclear, teniendo los siguientes tipos:

- a) Los adenomas bien diferenciados presentan túbulos simples o complejos con aspecto pseudocribiforme, las células suelen mantener cierta polaridad con los núcleos basales y son de tamaño uniforme.
- b) Los adenocarcinomas moderadamente diferenciados muestran túbulos simples, complejos o ligeramente irregulares, cuya polaridad nuclear se pierde o es diferencialmente identificable.
- c) Los adenocarcinomas poco diferenciados se caracterizan por la presencia de glándulas irregulares o ausencia de su formación, con pérdida nuclear.

Basándose en estos criterios, el 15–20% de los adenocarcinomas son bien diferenciados, el 60–70 % moderadamente diferenciados y el 15–20 % poco diferenciados (Piñols, 1995).

#### II.2.3.2 Localización de los adenocarcinomas

Localización de estos adenomas por orden de frecuencia es, en primer lugar, en el recto (50%), seguido del colon sigmoideo (20%), colon derecho y ciego (12%), ascendentes (5%), transversos (6%), y descendente (7%) (Figura 4) (Ma y col., 2002).

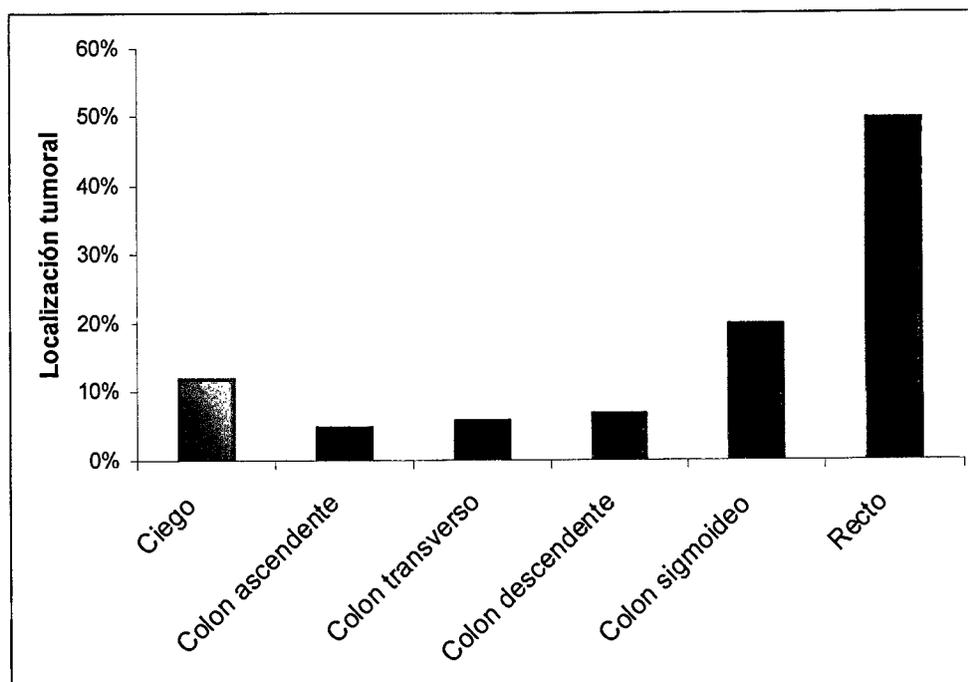


Figura 4. Localización de los adenocarcinomas por orden de frecuencia (Cohen y col., 2000).

### II.3 Carcinogénesis colónica experimental

#### II.3.1 Modelos experimentales de carcinogénesis colónica

Los modelos experimentales en animales ofrecen una excelente oportunidad para el estudio de procesos tumorales y permiten efectuar experimentos con diversos factores del medio ambiente, que permiten estudiar la etiología, el tratamiento y la prevención del cáncer de colon (Fiala, 1977; Cohen y col., 2000; Davidson y col., 2000).

#### II.3.2 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH)

La 1,2-DMH es uno de los carcinógenos químicos más usados por su efectividad que induce cáncer de colon en el 80 al 100 % de las ratas, entre cinco y siete meses posteriores al inicio del tratamiento, usando una concentración que va desde 10 a 21 mg/kg de peso corporal (Grunberger y Goff, 1987).

La 1,2-DMH es un carcinógeno efectivo y selectivo de colon, debido a su actividad alquilante en los ácidos nucleicos del epitelio intestinal y sus propiedades mutagénicas. Actúa modificando el genoma de la célula, ocasionando eventualmente alteraciones de fenotipo celular, tales como pérdida de diferenciación, invasividad o conducta proliferativa anormal (Maskens, 1976; Kann y col., 2003).

#### II.3.2.1 Vía de administración y dosificación de la 1,2-DMH

La 1,2-DMH se administra generalmente por vía subcutánea, en dosis que van desde 7 a 21 mg/Kg de peso de 12 a 20 semanas o 40 a 200 mg/Kg de peso en una única inyección.

También puede administrarse por vía oral, a la dosis de 21 mg/Kg de peso por 12 semanas.

El órgano de manifestación y la distribución tumoral depende de la dosis del carcinógeno. Se considera que la dosificación óptima para la inducción selectiva de tumores de colon es de 10 mg/Kg de peso durante 25 semanas. Este tipo de inducción idóneo de 180 a 240 días proporciona una tasa tumoral del 90%. El intervalo de tiempo de la primera inyección del carcinógeno y la aparición de tumores, es aproximadamente de 6 meses a dosis de 10 a 20 mg/Kg/semana (Maskens, 1976; Celik y col., 1983; Piñols, 1995).

#### II.3.2.2 Acción de la 1,2-DMH

El lugar primario de oxidación de la 1,2-DMH es el hígado, es principalmente oxidada y activada por varios sistemas enzimáticos de fase 1 (citocromo P450 y flavin-monooxigenasas) a azoximetano (AOM), el cual es posteriormente N-hidroxilado en Metilazoximetanol (MAOM). Este compuesto es glucuronidado, posteriormente es transportado vía torrente sanguíneo al colon y otros tejidos. El colon contiene tipos celulares epiteliales capaces de activar dicho carcinógeno a través del citocromo P450, sin necesidad del metabolismo intermediario por los hepatocitos. En el colon existe una reactivación del carcinógeno a través de la microflora normal por medio de la enzima Beta-glucuronidasa, así el carcinógeno

que fue conjugado en el hígado mediante la glucuronidación es liberado a nivel del colon donde ejerce su acción agente alquilante, el MAOM es un compuesto muy inestable y se descompone de manera espontánea en formaldehído e ión metildiazonio, el cual se cree es el último carcinógeno (carcinógeno final) debido a su capacidad de metilar macromoléculas (Figura 5). Un paso esencial en la carcinogénesis química es la alteración de las propiedades de las macromoléculas críticas como ADN y ARN y otras proteínas por la alquilación y otras reacciones (Fiala, 1977; Celik y col., 1983; Piñols, 1995).

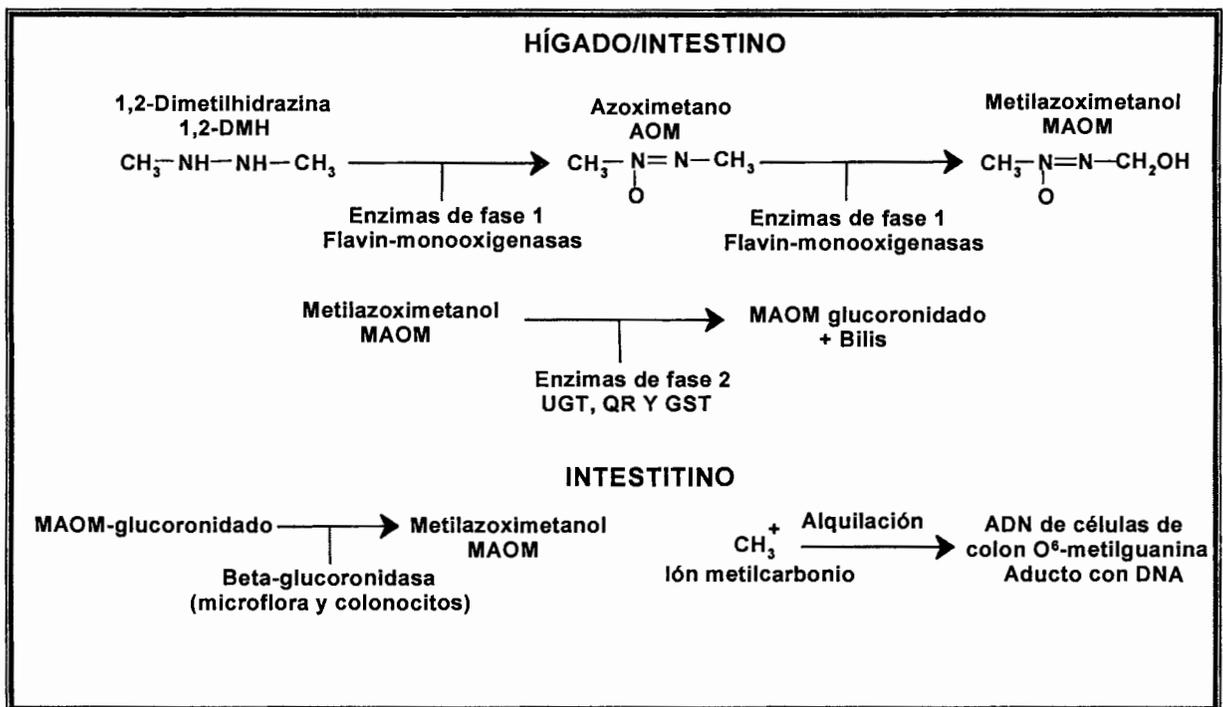


Figura 5. Bioactivación de la 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (Corpet, 2002).

También en el hígado los diferentes metabolitos de la 1,2-DMH pueden ser conjugados por enzimas de fase 2 de desintoxicación como la uridín difosfato glucuronisil-transferasa (UGT), la quinona reductasa (QR) y la glutatión S-transferasa (GST).

### II.3.2.3 Descripción de las lesiones inducidas con la 1,2-DMH

Los tumores inducidos con la 1,2-DMH pueden agruparse de la siguiente manera:

1) Tumores exofíticos. Son tumores usualmente polipoides protruyendo hacia la luz; presentan un margen elevado con cavitación central y una masa subyacente lobulada que, generalmente distiende la serosa subyacente. 2) Tumores endofíticos. Son tumores en forma de meseta o ulcerativos con tendencia ligera o nula a abultar hacia la luz. 3) Placas. Son lesiones con una superficie relativamente plana, ligeramente por encima del nivel de la mucosa.

## II.4 La dieta y cáncer de colon

Todo parece indicar, que este tipo de cáncer es una enfermedad inducida por carcinógenos y que la mayor o menor frecuencia de este tumor, por países, está influenciada de manera importante por la dieta.

El cáncer de colon presenta una mayor prevalencia en los países que tienen una dieta de tipo occidental (rica en carne, grasa animal e hidratos de carbono refinados y pobres en fibra) y no parece que las diferencias genéticas entre las poblaciones tengan una gran importancia en este aspecto. Además, el aumento de incidencia que se registra en varias áreas geográficas parece estar relacionado con un aumento de la prosperidad local que se acompaña de una occidentalización de la dieta.

El alto contenido en fibra de los alimentos se ha considerado tradicionalmente como protector frente al cáncer de colon gracias a múltiples estudios epidemiológicos.

Si los factores genéticos pueden desempeñar alguna función en la etiología del cáncer de colon, es indudable que los factores ambientales tienen una influencia sobrepuesta muy importante (Stemmermann y col., 1981; López y col., 1997).

La flora intestinal es esencial para el proceso de carcinogénesis, el exceso de consumo de carne se ha relacionado con el incremento en el metabolismo bacteriano de ciertas aminos en el colon. Las enzimas que se inducen por estos constituyentes dietéticos pueden ser la causa de la elaboración de compuestos

endógenos y exógenos dañinos. Se ha reportado que son comunes en los pacientes con este cáncer, los *clostridium*, que producen deshidrogenación de los núcleos esteroides de las sales biliares fecales. La mucosa del colon expuesta a la influencia de estos carcinógenos, sufre cambios de los mecanismos de control de la síntesis del ADN de sus células.

Por otro lado, se ha demostrado que en la dieta se encuentran una serie de alimentos con capacidad de prevenir y/o disminuir el riesgo de padecer el cáncer de colon, tales como el nopal (Park y col., 2000; Marchisone, 2005; Yoshida y col., 2005).

## II.5 Nopal

### II.5.1 Generalidades del nopal

El nopal es una planta silvestre que sobrevive en regiones desérticas y frías. No requiere de mucha agua para su cultivo, por lo que es una buena fuente de ingresos para muchos agricultores que no cuentan con los recursos necesarios. Se dice que tiene un papel ecológico importante, ya que detiene la degradación del suelo deforestado. El nopal se distribuye por toda América tropical y la región mediterránea. Existen alrededor de 150 especies americanas, propias de lugares cálidos y semidesérticos, que se caracterizan por los tallos carnosos formados por pencas o cladodios, en forma de paletas, cubiertos de pequeños agrupamientos de pelos rígidos llamados gloquidios y, por lo general, también de espinas (Figura 6). Las flores amarillas y rojas, de gran tamaño, dan lugar a frutos comestible conocido como tuna y xoconostle, la cual es una baya ovoide, cilíndrica, de diversos colores, umbilicada en el extremo superior (cicatriz floral), posee un pericarpio correoso, con numerosos colchones de ahuates distribuidos en tresbolillo, semillas de color variable (Granados y Castañeda, 1997).

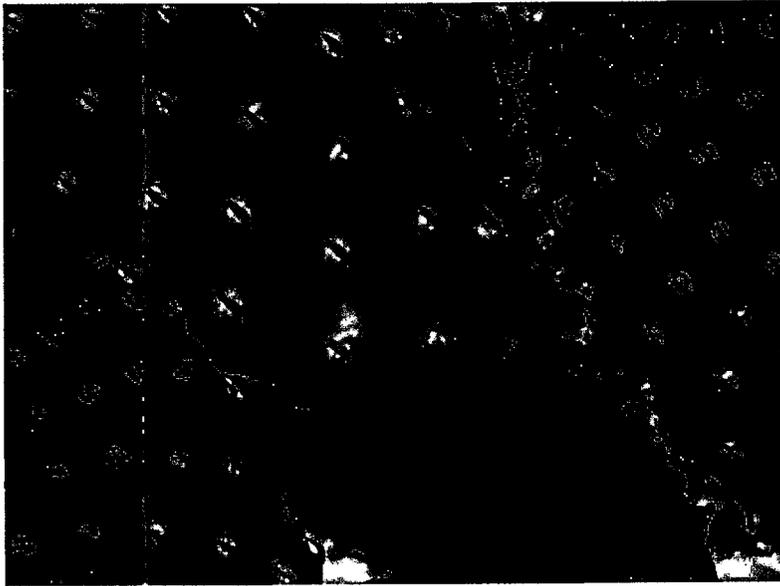


Figura 6. Nopal *Opuntia ficus indica* cultivar *redonda* (Huerta, 2006).

El nopal presenta características morfológicas y fisiológicas adaptadas a la escasa disponibilidad de agua, a las variaciones extremas de la temperatura y, en general, a las condiciones de las zonas áridas y semiáridas.

Los nopales silvestres tienen su centro de distribución en los estados de San Luis Potosí, Zacatecas y Aguascalientes, sin embargo, se ha extendido hacia el norte y sur de México. En estas nopaleras se aprovechan los brotes o nopalitos durante algunos meses, cuando las condiciones climáticas son propicias; sin embargo, existen especies que son preferidas por los pobladores de estas regiones. Así tenemos el nopal tapón (*Opuntia robusta*) y sus diferentes variedades, el nopal cardón (*O. streptacantha*), el nopal rastrero (*O. rastrera*), el nopal duraznillo (*O. leucotricha*) y el nopal chaveño (*O. hyptiacantha*).

Como cultivo, el nopal se encuentra en los estados de San Luis Potosí, Oaxaca, Jalisco, Puebla, Michoacán, Aguascalientes, Baja California, Distrito Federal, Zacatecas y Querétaro. En Querétaro, los municipios con mayor producción de nopal son Cadereyta, Colón, Peñamiller y Toliman (Cervantes, 2002).

En algunos países como México, el nopal se utiliza para el consumo humano o como forraje para los animales, incluso como cerca para dividir terrenos o

propiedades. En la industria alimentaria, el nopal se destaca como materia prima para la elaboración de jaleas, shampoo y, en tiempos recientes se le ha dado gran importancia a la función coadyuvante para el tratamiento de algunas enfermedades crónico degenerativas como la diabetes, hipercolesterolemia y algunos cánceres, entre estos el de colon (Stryer, 1990). El consumo *per cápita* de nopal que se tiene en México es de 15 kilos por año.

### II.5.2 Composición química del nopal

Dentro de la composición química del nopal, se encuentra alto contenido de agua, que está en el orden de 90-92.5 %. Entre los minerales que contiene, los principales son el calcio y el potasio, además de magnesio, silicio, sodio y pequeñas cantidades de fierro, aluminio, y magnesio, entre algunos otros (Cuadro1). El nopal contiene también, en varias proporciones, diferentes carbohidratos y componentes nitrogenados (Granados y col., 1997).

Cuadro 1. Composición química del nopal en 100 g de muestra seca (Bravo, 1978).

Concepto	Contenido
Porción Comestible	78.00 %
Energía	27.00 Kcal
Proteínas	1.70 g
Grasa	0.30 g
Carbohidratos	5.60 g
Calcio	93.00 mg
Hierro	1.60 mg
Tiamina	0.03 mg
Riboflavina	0.06 mg
Niacina	0.30 mg
Ácido Ascórbico	8.00 mg
Retinol	41.00 µg

### II.5.3 Propiedades del nopal

Se ha demostrado que el nopal, aparte de sus cualidades nutricionales, posee propiedades medicinales que ayudan a controlar diferentes desordenes fisiológicos. El nopal contiene fibra soluble e insoluble, las cuales pueden retrasar la absorción de la glucosa, siendo útil en el control de la glicemia en pacientes con diabetes (Fрати, 1988; Park y col., 2000). Las fibras insolubles que contiene el nopal producen una sensación de saciedad y ayudan a una buena digestión (Trejo y col., 1996).

Otro de los efectos producidos por la fibra contenida en el nopal es que atrapa a los ácidos biliares aumentando la excreción fecal de los mismos, lo cual reduce los niveles de colesterol total y triglicéridos en el plasma. Esto sugiere un efecto potencial hipocolesterolémico, ya que la mayor pérdida de ácidos biliares puede desviar al colesterol de la síntesis hepática de lipoproteínas a la síntesis de ácidos biliares de *novo*. Otro mecanismo mediante el cual las fibras hidrosolubles pueden tener un efecto hipocolestéremico involucra los productos de fermentación microbiana de la fibra dietética en el intestino grueso (Cárdenas, 1998; Juste, 2005).

Las fibras dietéticas insolubles del nopal absorben agua y aceleran el paso de los alimentos por el tracto digestivo, contribuyendo a regular el movimiento intestinal, las fibras solubles se caracterizan por formar geles y por su gran capacidad de captar agua, formando una masa gelatinosa que hace aumentar la viscosidad del contenido gastrointestinal, retrasando el vaciamiento gástrico y proporcionando mayor volumen y lubricación a las heces, además, la presencia de las fibras insolubles en el colon ayudan a diluir la concentración de cancerígenos que pudieran estar presentes (Kautenburger y col., 2005).

### II.5.4 Nopal y cáncer de colon

Se ha mencionado que la cantidad elevada de fibra soluble e insoluble de nopal podría proteger contra el cáncer de colon. Desde los trabajos de Burkitt, en los

inicios de la década de los setenta, se propuso un posible papel protector de la fibra dietética sobre el desarrollo de cáncer de colon, al observar la escasa incidencia de esta neoplasia entre la población africana y el elevado contenido de fibra de su dieta tradicional.

Son varios los mecanismos propuestos por los cuales la fibra dietética puede proteger al colon del desarrollo de un cáncer colorrectal. La hipótesis inicial sería que la fibra, al incrementar el bolo intestinal y acelerar el tránsito, evitaría un menor contacto de potenciales agentes carcinogénicos con la mucosa del colon. Otra opción es que la fibra interaccione con diferentes mutágenos y los elimine, aunque esta acción dependería del tipo y cantidad de fibra que se consume. Más demostrada es la acción de la fibra sobre los ácidos biliares. La unión con las sales biliares evitaría su degradación y desconjugación en el colon, evitando la transformación de ácidos biliares primarios en secundarios. En este sentido, cuando la fibra dietética disminuye el pH fecal, por debajo de 6.5, se produce una inhibición de las enzimas bacterianas implicadas en el metabolismo de las sales biliares (7- $\alpha$ -deshidroxilasa) o bien de aquellas enzimas implicadas en el metabolismo de carcinógenos ( $\beta$ -glucuronidasa, nitrorreductasa o azoreductasas) (Burkitt y col., 1974; Smith y col., 1981; Reddy y col., 1987; Hong y col., 2004).

Estudios *in vitro* han demostrado que el ácido butírico, ácido propiónico y ácido valérico, ácidos grasos de cadena corta derivados de la fermentación de la fibra dietética en el colon, bloquean la proliferación de células tumorales derivadas de cáncer de colon, se cree que el ácido butírico es el principal componente protector de las dietas ricas en fibra en la carcinogénesis colónica. De los tres ácidos se ha observado que el ácido butírico es el que tiene los efectos más importantes sobre las células epiteliales colónicas, tanto *in vitro* como *in vivo*, por lo que actualmente se le reconoce como el principal componente protector de las dietas ricas en fibra frente a la carcinogénesis colónica (Jeon y col., 2005; Kautenburger y col., 2005; Johnson y col., 2006).

En base a todo lo anteriormente planteado y a su alto contenido de fibra, el nopal resulta prometedor para la prevención de cáncer de colon.

### **III. HIPÓTESIS**

Los cladodios de nopal incluido en la dieta a una concentración de 0.58 g/Kg de peso tienen la capacidad de disminuir el desarrollo de cáncer de colon inducido con el carcinógeno 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH) en ratas Sprague-Dawley.

## IV. OBJETIVOS

### IV.1 General

Evaluar el efecto del cladodio de nopal incluido en la dieta sobre la protección del cáncer de colon en ratas inducidas con el carcinógeno 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH) en ratas Sprague-Dawley.

### IV.2 Específicos

- Cuantificar el contenido de fibra soluble e insoluble de cladodios de nopal.
- Evaluar el efecto del consumo de cladodios de nopal sobre la ganancia de peso y supervivencia en animales tratados con el carcinógeno 1,2-DMH.
- Determinar la incidencia, multiplicidad y número promedio de lesiones y tumores de animales tratados con el carcinógeno 1,2-DMH.

## V. METODOLOGÍA

### V.1 Materiales

#### V.1.1 Químicos

El carcinógeno 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato fue de marca Sigma<sup>R</sup>.

#### V.1.2 Biológicos

Se usaron ratas macho Sprague-Dawley de 4 semanas de edad, las cuales fueron adquiridas en el bioterio Harlan de México, Los animales se aclimataron por una semana en cajas de acrílico y se mantuvieron con agua y dieta *ad libitum*.

El nopal que fue usado en este experimento se adquirió en el huerto nopalero de Cerritos, municipio de Tequisquiapan, Qro.

### V.2 Métodos

#### V.2.1 Determinación de la fibra soluble e insoluble de nopal

##### V.2.1.1 Extracción de fibra soluble e insoluble del nopal

Se pesó por duplicado 1 g de harina de nopal seca y previamente desgrasada, se adicionó 50 ml del buffer de fosfatos pH 6.0, y 0.1 ml de alfa amilasa, se colocó la mezcla en baño de agua hirviendo durante 15 min se enfrió y ajustó el pH a 7.5, se agregó 5 mg de proteasa y se incubó 30 min a 60 °C con agitación continua. Se enfrió a temperatura ambiente, ajustando el pH entre 4.0 y 4.6, se adicionó 0.3 ml de amiloglucosidasa y se incubó durante 30 min a 60 °C con agitación continúa.

##### V.2.1.2 Fibra dietética insoluble

Se filtró y lavó el residuo dos veces con 10 ml de agua a 70 °C, se guardó el filtrado y el agua de lavado; posteriormente, se adicionó 298 ml de alcohol etílico al 95% a 60 °C y se dejó toda la noche para precipitar a temperatura ambiente para la determinación de fibra dietética soluble. El residuo obtenido después de la filtración

se lavó dos veces con porciones de 15 ml de etanol al 95%, dos veces con 15 ml de acetona. Se secó el residuo y se separó del papel filtro.

#### V.2.1.3 Fibra dietética soluble

Del precipitado obtenido de la sección anterior, se decantó el sobrenadante para concentrar el precipitado y se transfirió a un tubo falcón, se centrifugó por 30 minutos a 9500 rpm. Se resuspendió respectivamente en 30 ml de alcohol al 78%, se centrifugó por 30 min y el residuo se lavo con 30 ml de alcohol al 78%. Se decantó el sobrenadante y finalmente se resuspendió en 30 ml de acetona utilizando un vortex y se centrífugo por 30 a 9500 rpm. El sobrenadante se decantó, se recupero la pastilla la cual se seco a 37 °C por una hora. Se transfirió a un desecador hasta ser usada.

#### V.2.2 Grupos de estudio

Se trabajó con un total de 33 ratas, las cuales se dividieron en tres grupos. El primer grupo estuvo constituido de 8 animales los cuales fueron utilizados como control negativo, en el segundo grupo fueron 12 animales que se utilizaron como control positivo (DMH) y el tercer grupo estuvo formado por 13 animales que se trataron con nopal y 1,2-DMH (Nopal-DMH).

#### V.2.3 Composición de la dieta

Para la concentración de cladodio de nopal incorporado en la dieta, se consideró el consumo *per cápita* que se tiene en México, el cual es de 15 kilos por año.

El nopal (70-80 g de peso del cladodio) fue secado al vacío y molido, obteniendo harina de nopal la cual fue incorporada a las croquetas previamente molidas. La concentración final del nopal fue de 0.58 g/Kg de peso corporal.

#### V.2.4 Elaboración de la harina de nopal

Se cortó el cladodio de nopal (70-80 g de peso del cladodio) en seguida se limpió, después fue lavado y desinfectado. El nopal fue cortado en capas delgadas, las cuales fueron secadas a 60 °C por 48 hrs y finalmente pulverizadas.

#### V.2.5 1,2-Dihidrocloreuro 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.

#### V.2.6 Inducción del cáncer de colón con 1,2-DMH

Después de haber trascurrido 4 semanas de tratamiento con el nopal, se inicio el tratamiento con el carcinógeno. Los grupos positivo y Nopal-DMH se trataron por vía subcutánea con 1,2-DMH en una dosis de 21 mg/Kg de peso corporal, una vez por semana durante 8 semanas.

#### V.2.7 Sacrificio y toma de muestra

Los animales se sacrificaron después de 21 semanas de tratamiento. Se practicó una incisión torácica abdominal media, para extraer el intestino grueso. Posteriormente, se procedió a su apertura longitudinal por el borde antimesentérico. Se colectó el contenido cecal, se realizó una limpieza suave de la superficie de la mucosa del intestino con solución fisiológica fría estéril, seguida de la fijación del intestino sobre un trozo de corcho mediante el uso de alfileres, para su análisis macroscópico, manteniendo una temperatura de 4°C para evitar la descomposición del tejido.

#### V.2.8 Análisis macroscópico

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

#### V.2.9 Determinación de pH en contenido cecal

Se colectó el contenido cecal, enseguida se introdujo una tira reactiva para pH, que permitió obtener el pH de estas muestras.

#### V.2.10 Análisis estadístico

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

Para la multiplicidad y numero promedio de placas y pólipos el análisis estadístico se realizó por ANOVA y se aplicó la prueba de Dunnet y Tukey-Kramer para la comparación de medias.

## VI. RESULTADOS

### VI.1 Contenido de fibra soluble e insoluble de cladodios de nopal

En este estudio se encontró que el nopal (70-80 g de peso del cladodio) deshidratado contiene una concentración de la fracción soluble del 24% y un 30% de fracción insoluble.

### VI.2 Ganancia de peso de ratas tratadas con nopal y 1,2-DMH

Para evaluar el efecto del cladodio de nopal incluido en la dieta sobre la protección del cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley inducidas con el carcinógeno 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH), se incorporó en la dieta de los animales harina de nopal (0.58 g/Kg de peso) deshidratado 4 semanas antes, 8 semanas durante y 9 semanas después del tratamiento con el carcinógeno.

En la Figura 7 se muestra la ganancia de peso expresado en gramos de cada uno de los grupos de estudio utilizados durante las 21 semanas del experimento. El registro de peso corporal se realizó semanalmente usando el promedio de peso corporal de los grupos de estudio. El incremento de peso antes de la administración de la 1,2-DMH presento un comportamiento similar entre todos los grupos de estudio.

A partir de la semana 15 (dos semanas después de la inducción de la 1,2-DMH) se presentó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) del peso corporal de los animales tratados con 1,2-DMH, comparando con el grupo Nopal-DMH.

Al término del estudio, el peso corporal fue el siguiente: el grupo control negativo de  $417.1 \pm 9.5$  g, para el grupo Nopal-DMH de  $431.3 \pm 8.4$  g y para el grupo DMH (control positivo) fue de  $356.8 \pm 15.2$  g.

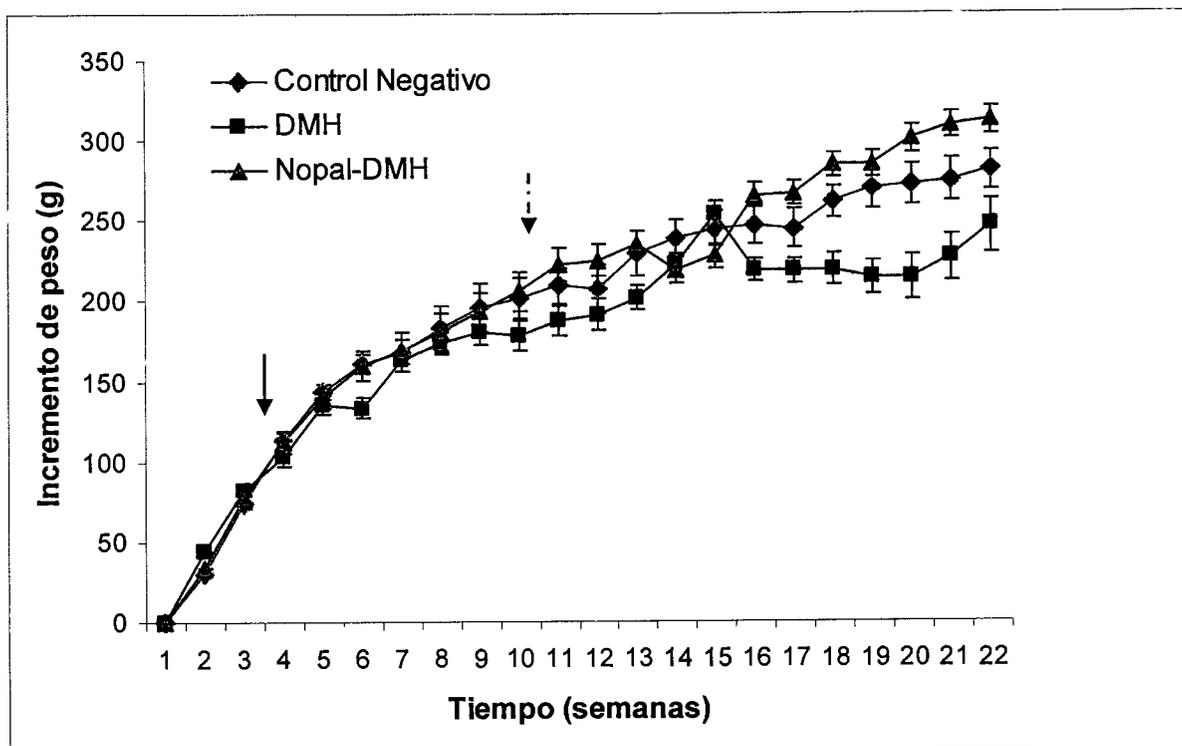


Figura 7. Ganancia de peso de ratas Sprague-Dawley tratadas con nopal (0.58 g/Kg de peso) incorporado en la dieta y el carcinógeno 1,2-DMH. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Grupo control negativo (n=5), grupo DMH (n=10) y el grupo Nopal-DMH (n=12).

La flecha ( $\downarrow$ ) indica la primera administración del carcinógeno 1,2-DMH.

La flecha ( $\nabla$ ) indica la última administración del carcinógeno 1,2-DMH.

### VI. 3 Índice de sobrevivencia de ratas tratadas con 1,2-DMH y nopal

Para evaluar el efecto del cladodio de nopal sobre la mortalidad de los animales de estudio, se registró diariamente el número de muertes de cada uno de los tratamientos.

El grupo de animales tratados con nopal presentó mayor porcentaje de sobrevivencia (100%), comparado con el control positivo que presentó una menor sobrevivencia (83%); en la semana 21 se registraron 2 muertes en este grupo, el cual estaba conformado por 12 animales. Utilizando la prueba de Tablas de Contingencia no se encontró diferencia estadística significativa ( $p=0.159$ ) entre estos grupos de estudio.

#### VI. 4 Clasificación de lesiones de ratas tratadas con 1,2-DMH y nopal

En el análisis macroscópico del intestino grueso se observaron lesiones con diferentes características en cuanto a tamaño, aspecto de la mucosa y elevación, las cuales nos permitió definir las y clasificarlas en placa y pólipo.

En el Cuadro 2 se observa el número de tumor exofítico y endofítico, así como el número de placas encontradas en cada uno de los grupos de estudio.

Cuadro 2. Número de lesiones tumorales encontradas en ratas Sprague-Dawley tratadas con nopal y el carcinógeno 1,2-DMH.

Grupo Experimental	No. De Ratas	Número de lesiones tumorales		
		Tumor Exofítico	Tumor Endofítico	Placa
Control	5	0	2	2
DMH	10	2	13	4
Nopal-DMH	12	1	9	9

Utilizando la prueba Tablas de contingencia, no se presentó diferencia estadística significativa entre estos grupos de estudio con una  $P=0.47$ .

Las placas presentaron una superficie relativamente plana, ligeramente por encima del nivel de la mucosa (Figura 8). El volumen de esta placa osciló entre 0.2 a 4.5  $\text{cm}^3$ .



Figura 8. Placa localizada en la zona distal del intestino grueso de una rata Sprague-Dawley tratada con 1,2-DMH. En la parte central de la figura se observa una placa, ésta tiene una superficie plana que se encuentra ligeramente por encima de la mucosa.

Dentro de los pólipos encontramos a los denominados endofíticos y exofíticos. Los pólipos endofíticos presentaron un margen elevado en forma de meseta, con un diámetro en su superficie menor que el de la unión a la mucosa (Figura 9a). El volumen de estas lesiones osciló entre 10.0 y 180.5 cm<sup>3</sup>.

En la Figura 9b se observa un pólipo exofítico, los cuales son tumores usualmente polipoides protruyendo hacia la luz, que presentan un margen elevado con cavitación central y una masa subyacente lobulada que generalmente distiende la serosa subyacente.

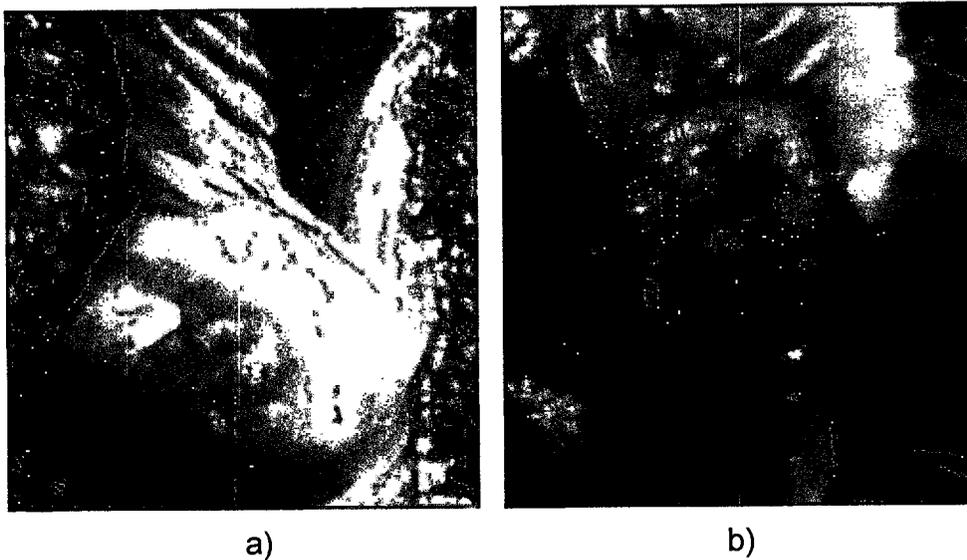


Figura 9. Pólipos localizados en la zona proximal del intestino grueso de rata Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH. La figura a) muestra un pólipo endofítico, es un pólipo en forma de meseta o ulcerativo con tendencia ligera o nula a abultar hacia la luz. En la figura b) se observa un pólipo exofítico, son tumores usualmente polipoides protruyendo hacia la luz, que presentan un margen elevado con cavitación central y una masa subyacente lobulada que generalmente distiende la serosa subyacente.

### VI.5 Incidencia de lesiones de animales tratados con 1,2-DMH y nopal

La incidencia es el porcentaje de animales que presentaron placas o pólipos del total de animales en cada grupo.

En la Figura 10 se observa que el grupo Nopal-DMH presenta una mayor incidencia de placa (58%), comparado con el grupo positivo (30%).

En cuanto al número de pólipos, el grupo DMH presentó una incidencia del 90%; mientras que la incorporación de nopal en la dieta la disminuyó en un 7% este parámetro. Esto nos indica que el tratamiento con nopal disminuye el número de animales que presentaron estas lesiones. Sin embargo no hay diferencia estadística significativa entre estos grupos aplicando la prueba de Tablas de contingencia.

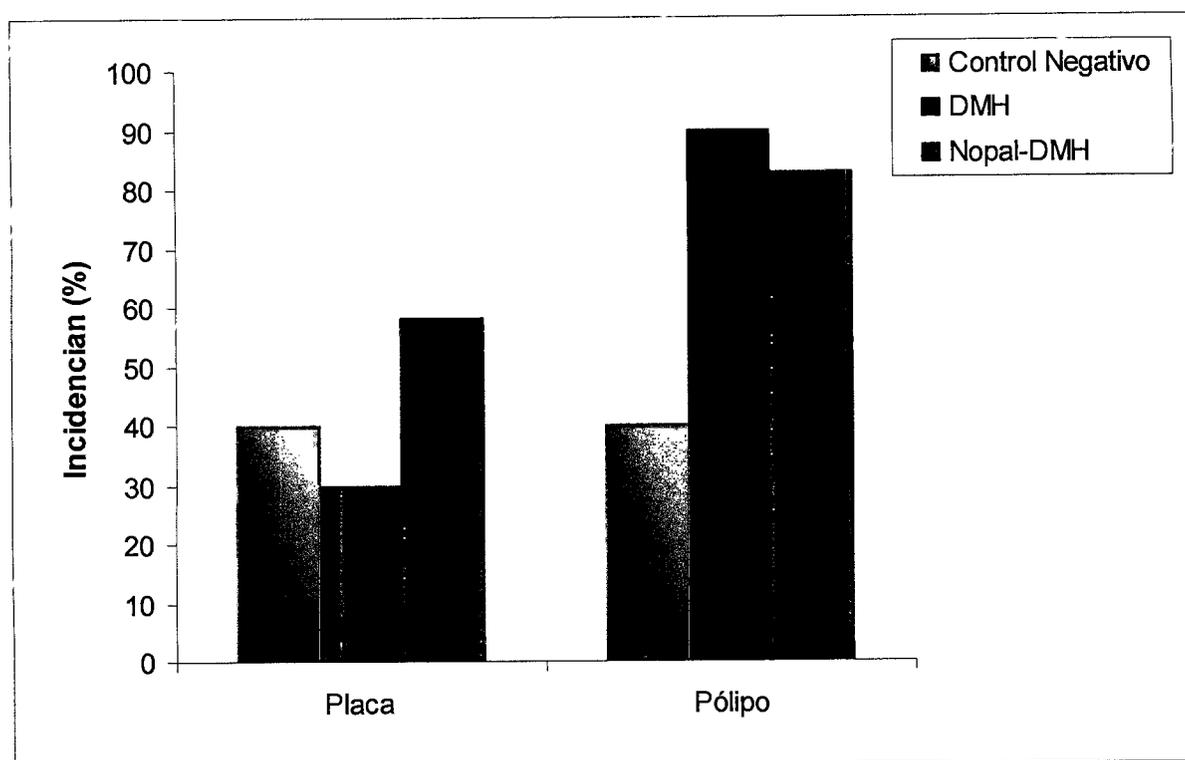


Figura 10. Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre la Incidencia de placas y pólipos en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH.

## VI.6 Número promedio de placas y pólipos de animales tratados con nopal y 1,2-DMH

El número promedio de lesiones es el promedio de placa o pólipo por rata del total de animales en el grupo de estudio, este parámetro nos permite evaluar el efecto del tratamiento por grupo, ya que se consideran todos los animales que participan en dichos tratamientos. En la Figura 11 se muestra el número promedio de placas y pólipos, observándose que en el grupo Nopal-DMH el número promedio de placa fue de 0.83, mientras que en el control positivo tuvo un promedio de 0.40, estos resultados no muestran diferencia estadística significativa. El número promedio de pólipos por rata fue de 1.5 para el control positivo, mientras que, para el grupo Nopal-DMH fue de 0.83, sin embargo, no muestra diferencia estadística significativa entre estos grupos.

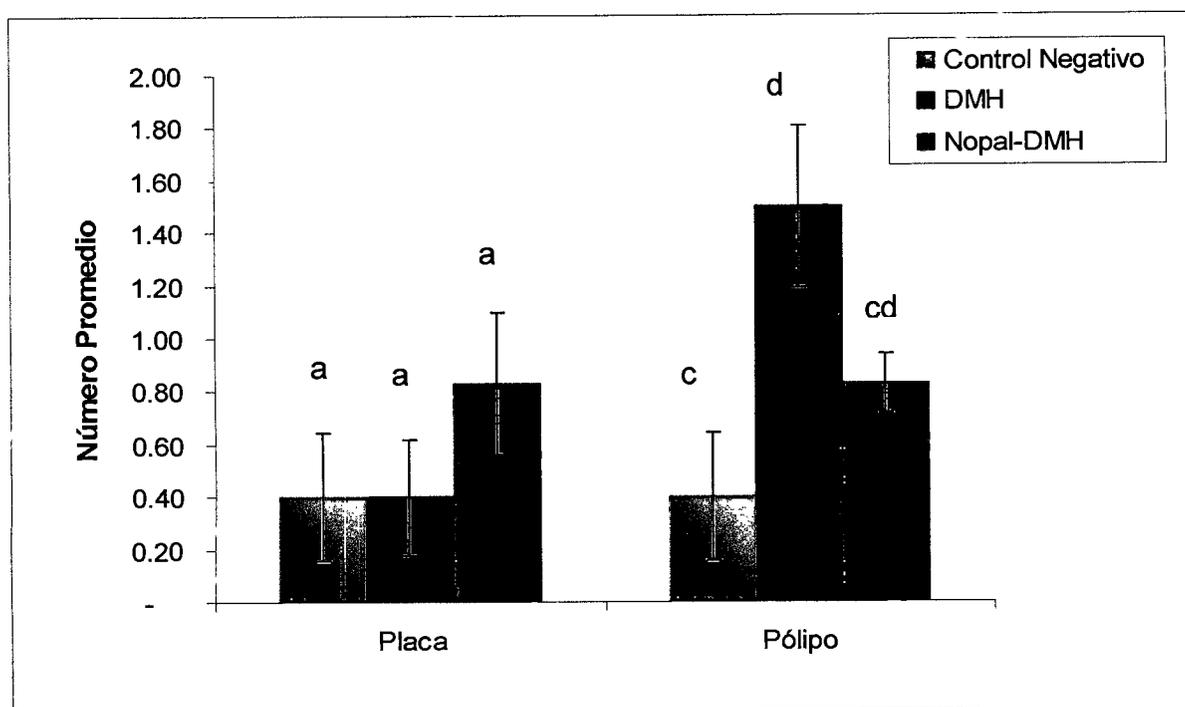


Figura 11. Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el promedio de placa y pólipo en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Grupo control negativo (n=5), grupo DMH (n=10) y el grupo Nopal-DMH (n=12). Las letras a y b indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) para las placas, mediante la prueba de Tukey-Kramer HSD, c y d indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) para los pólipos, mediante la prueba de Tukey-Kramer HSD.

### VI.7 Multiplicidad de lesiones de animales tratados con nopal y 1,2-DMH

La multiplicidad de placa y pólipo es el número de placas o pólipos encontrados entre el total de los animales con placas y pólipos, este parámetro nos ayuda a evaluar el efecto del cladodio de nopal solamente sobre los animales que presentaron lesiones.

En la Figura 12 se muestra la multiplicidad de placa y pólipo para cada uno de los grupos de estudio. La multiplicidad de placa para el control positivo fue de 1.33 y para el grupo Nopal-DMH de 1.37. En el grupo control positivo la multiplicidad de pólipo fue mayor (1.7) comparado con el grupo Nopal-DMH (1.0), presentando diferencia estadística significativa entre estos grupos de estudio.

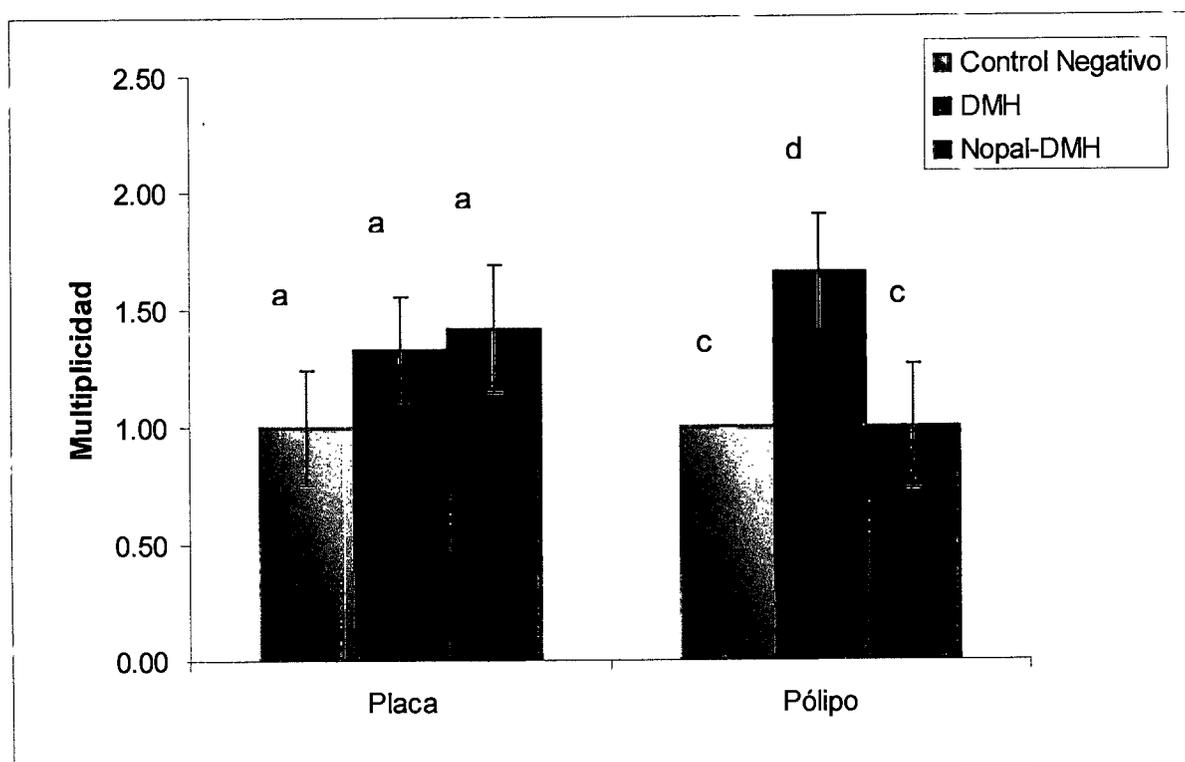


Figura 12. Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre la multiplicidad de placa y pólipo en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Grupo control negativo (n=5), grupo DMH (n=10) y el grupo Nopal-DMH (n=12). Las letras a y b indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) para las placas, mediante la prueba de Tukey-Kramer HSD, c y d indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) para los pólipos, mediante la prueba de Tukey-Kramer HSD.

## VI.8 Distribución de placas y pólipos en los animales tratados con nopal y 1,2-DMH

A lo largo del colon existen zonas que son más susceptibles a la formación de placas y pólipos, por lo tanto es importante tomar en cuenta la distribución de estas lesiones tumorales. Para evaluar el desarrollo de placas y pólipos a lo largo del colon, éste se dividió en dos zonas: proximal y distal.

En la Figura 13 se observa que la mayor parte de placas están localizadas en la zona distal, donde el control positivo presenta una incidencia del 75% y el grupo Nopal-DMH del 82%. Utilizando la prueba de Tablas de Contingencia, no se presentó diferencia estadística significativa entre estos grupos de estudio con una  $P=0.721$ .

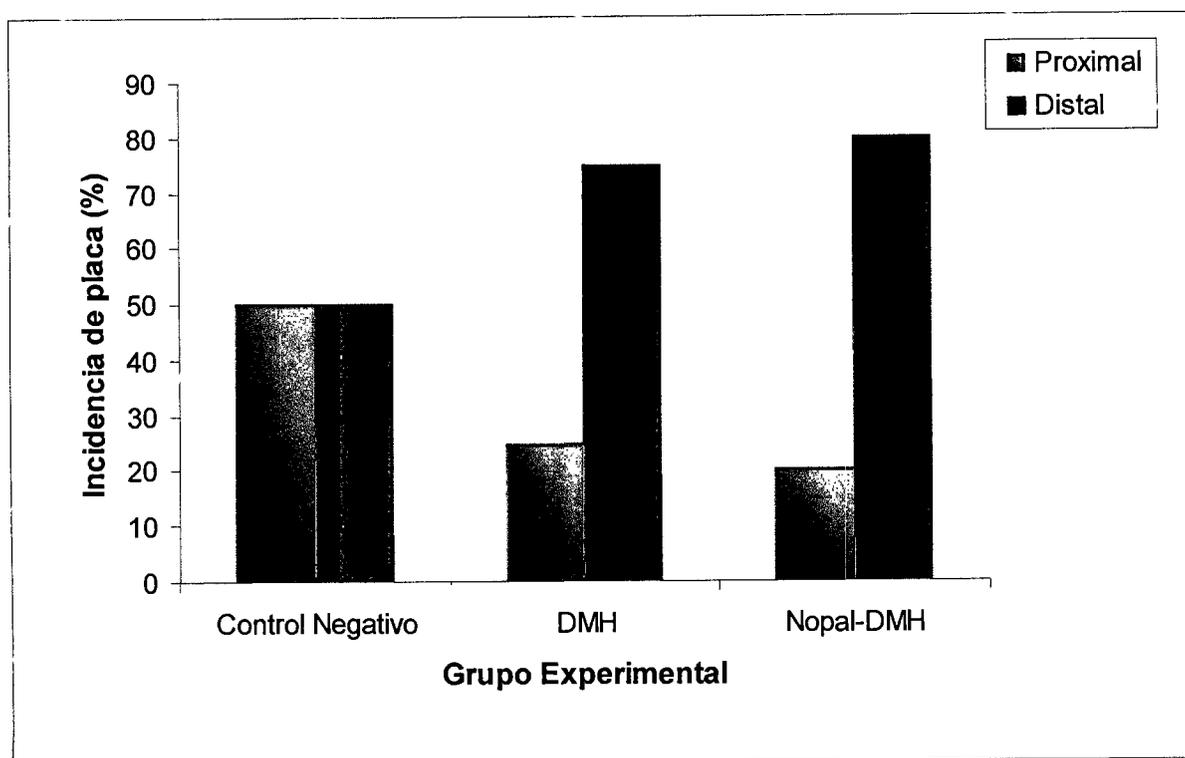


Figura 13. Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el porcentaje de distribución de placas en la zona proximal y distal del colon de ratas Sprague-Dawley tratadas el carcinógeno 1,2-DMH.

En la Figura 14 se observa la distribución de pólipos en la zona proximal y distal del colon. El efecto de inhibición producido por el nopal se observó en la región distal, ya que en esta zona no se presentó ningún pólipo comparado con el grupo tratado con 1,2-DMH (control positivo), el cual mostró un 40% de pólipos en esta región y 60 % en la zona proximal, presentando una diferencia estadística significativa ( $P = 0.046$ ) entre estos grupos de estudio, utilizando la prueba de Tablas de Contingencia.

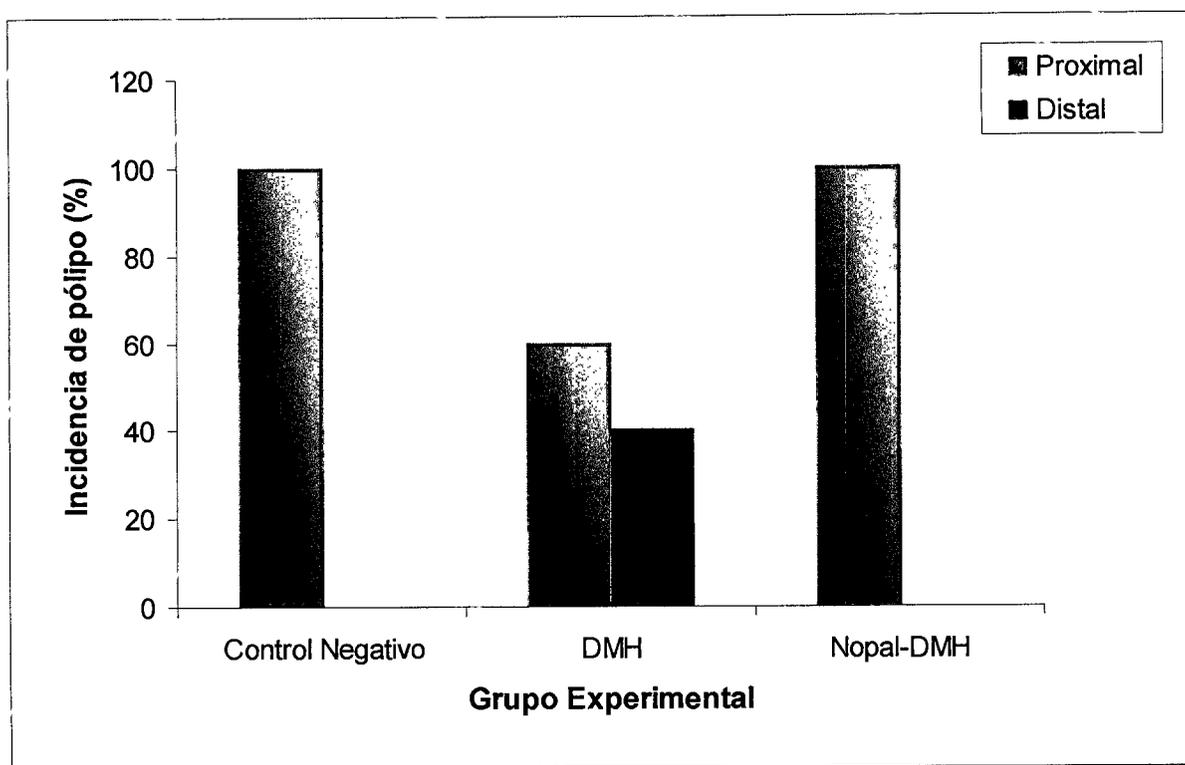


Figura 14. Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el porcentaje de distribución de pólipos en la zona proximal y distal del colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH.

#### VI.9 Tamaño de pólipos de animales tratados con nopal y 1,2-DMH

Se registró el volumen en  $\text{cm}^3$  de pólipos encontrados para cada uno de los grupos de estudio. Para poder determinar el volumen de pólipos se midió el ancho, longitud y altura de cada lesión tumoral.

En la Figura 15 se muestra el volumen de pólipos en  $\text{cm}^3$  (agrupado en intervalos). El tamaño de pólipos fue muy similar entre el grupo Nopal-DMH y el grupo DMH en todos los intervalos a diferencia del último intervalo ( $>200$ ), en el cual el grupo DMH fue el único que presentó pólipo en este intervalo. Utilizando la prueba de tablas de Contingencia, no se encontró diferencia estadística significativa ( $p = 0.689$ ) entre estos grupos de estudio.

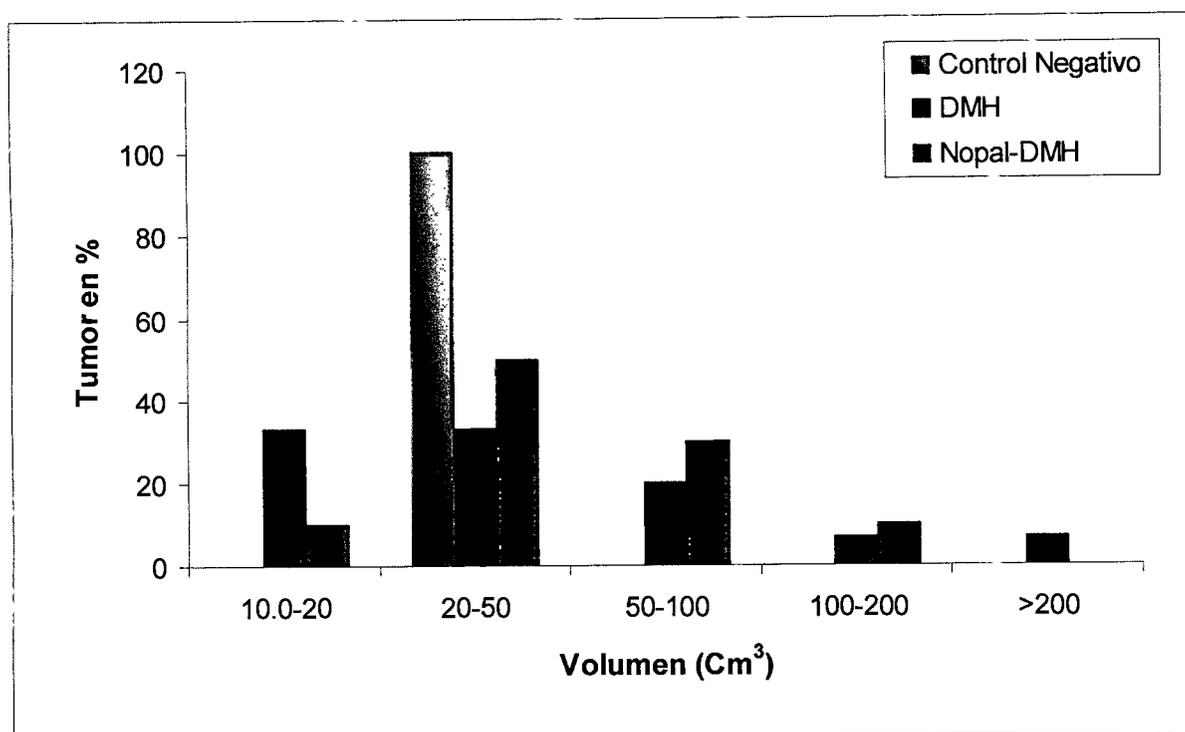


Figura 15. Efecto del tratamiento con nopal (0.58 g/kg de peso) sobre el volumen de pólipos en el colon de ratas Sprague-Dawley tratadas con el carcinógeno 1,2-DMH.

#### VI.10 Determinación de pH del contenido cecal de animales tratados con nopal y 1,2-DMH

Los ambientes alcalinos en las heces permiten altas concentraciones de ácidos biliares libres y de otros agentes potencialmente carcinogénicos. El pH básico puede afectar la solubilidad de los ácidos biliares y de los carcinógenos y hacerlos más dañinos para el DNA de las células de la mucosa colónica (Andoh y col., 2003; Lupton, 2004).

En el cáncer colorectal se encuentra frecuentemente valores altos de pH en heces. El mecanismo de acción de la fibra soluble, en mayor proporción que la insoluble, está relacionada con el pH cecal, por lo tanto, este parámetro es muy importante ya que nos permite evaluar el efecto de la fibra del cladodio de nopal incluido en la dieta durante este proceso carcinogénico.

En el Cuadro 3 se muestra el pH del contenido cecal para cada una de los grupos de estudio, observándose que el pH cecal presentó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo nopal-DMH ( $8.4 \pm 0.06$ ), con respecto al control positivo (pH  $8.9 \pm 0.08$ ).

Cuadro 3. Valores de pH de contenido cecal de ratas Sprague-Dawley tratadas con nopal (0.58 g/Kg de peso) y el carcinógeno 1,2-DMH.

<b>Grupo Experimental</b>	<b>pH cecal</b>
Control	$7.4 \pm 0.12$ a
DMH	$8.9 \pm 0.08$ b
Nopal-DMH	$8.4 \pm 0.06$ c

Las letra a, b y c indica diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), empleando la prueba de Dunnett.

## VII. DISCUSIÓN

El cáncer de colon es una de las neoplasias más comunes en los países del primer mundo. El desarrollo de esta patología es el resultado de asociación poco definida entre factores ambientales y genéticos. Se ha estimado que el 35% de todos los cánceres son atribuibles a la dieta y que del 50-79% del cáncer de colon puede prevenirse con una alimentación adecuada (AGA, 2000).

En los últimos años se ha insistido en aumentar la cantidad de fibra en nuestra dieta. Sin embargo, las fuentes de fibra son muy diversas, por lo que no siempre resultan efectivos para el efecto esperado. Los efectos fisiológicos de la fibra, tales como el incremento en el peso, su efecto de saciedad y su efecto variable en el riesgo de cáncer de colon, y su disminución en la disponibilidad biológica de nutrimentos, depende de gran medida de las propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética; por ello el conocimiento de estas propiedades nos permite anticipar, con una precisión aceptable, su efecto en el organismo (Park y col., 2000; García y col., 2001).

El nopal es una cactácea que contiene una elevada cantidad de fibra soluble e insoluble. En este estudio se encontró que el nopal (70-80 g de peso del cladodio) deshidratado contiene una concentración de la fracción soluble del 24% y un 30% de fracción insoluble. Los valores reportados por otros autores varían con los determinados en este estudio, ya que la composición química del nopal depende de varios factores tanto genéticos como ambientales (Rosado y Díaz, 1995; Granados y col., 1997).

En el presente estudio se evaluó la capacidad quimioprotectora de cladodios de nopal sobre la ganancia de peso y sobrevivencia. Se observó que antes de la administración de la 1,2-DMH, el incremento de peso presentó un comportamiento similar entre todos los grupos de estudio, sin embargo, a partir de la semana 15 (2 semanas después del tratamiento con 1,2-DMH) se presentó una disminución del

peso corporal únicamente en los animales tratados con 1,2-DMH (control positivo). El grupo de animales tratados con nopal presentó mayor porcentaje de sobrevivencia comparado con el control positivo.

Diferentes estudios epidemiológicos han constatado que la obesidad se asocia con una menor ingesta de fibra dietética (Ludwig y col., 1999; Kromhout y col., 2001). Un estudio realizado por Bueno y col. (1981) demostró que la adición de fibras con una alta capacidad de retención de agua, producían un retraso en el vaciamiento gástrico, lo cual puede prolongar el efecto de saciedad y, por lo tanto, disminuir el peso corporal. Sin embargo, los resultados obtenidos demuestran que, a diferencia de lo esperado, el nopal consumido (0.58 g/kg de peso) no tiene la propiedad de disminuir el peso corporal en ratas en la concentración utilizada en este experimento. Una posible explicación para la ganancia de peso de los animales tratados con nopal podría ser atribuida a que los animales presentaron menos daño en el intestino comparado con el grupo DMH y, por lo tanto, mejor absorción de nutrientes.

Los animales tratados con Nopal-DMH presentaron más lesiones tempranas (placas) que lesiones tardías (pólipos). En base a estos resultados se sugiere que la acción de cladodio de nopal 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 (placas), cuya incidencia fue mayor en el grupo Nopal-DMH.

Estudios realizados por otros investigadores han demostrado un efecto protector elevado o moderado de la fibra dietética o alimentos ricos en fibra contra el cáncer de colon (Okazaki y col., 2002; Jonson y col., 2006). Esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que la incorporación de nopal en la dieta disminuyó la incidencia, el número promedio y la multiplicidad de pólipos en comparación con el control positivo.

La protección del nopal pudiera estar relacionada con su contenido de fibra. Se ha propuesto que los mecanismos por los que la fibra dietética puede proteger contra el cáncer de colon son; a) la fibra, al incrementar el bolo intestinal y acelerar el tránsito, evita un menor contacto de agentes carcinogénicos con la mucosa colónica; b) la fibra se une a diferentes mutágenos y los elimina (Smith y col., 1981), aunque esta acción dependería del tipo y cantidad de fibra que se consuma, c) la acción de la fibra sobre los ácidos biliares, la unión con las sales biliares evita su degradación y desconjugación en el colon, disminuyendo la transformación de ácidos biliares primarios en secundarios (Germany, 2003); d) aumento de la microflora intestinal, la cual da lugar a la producción de ácidos grasos de cadena corta, con lo que disminuye el pH cecal y, por consiguiente, se produce una inhibición de las enzimas bacterianas implicadas en el metabolismo de las sales biliares (7- $\alpha$ -deshidroxilasa) o bien de aquellas enzimas implicadas en el metabolismo de carcinógenos ( $\beta$ -glucoronidasa, nitrorreductasa o azoreductasas) (Walke y col., 1986; Reddy y col., 1992; Lupton, 2004).

La formación de butirato tras la fermentación de la fibra soluble está implicada en la apoptosis celular, en la inhibición de la desacetilación de las histonas y favoreciendo el acceso del ADN a controlar factores de la expresión de diferentes genes implicados en la carcinogénesis (Toscani y col., 1988; Hague y col., 1993).

Para este estudio, el colon fue dividido en 2 zonas: la proximal y la distal; con la finalidad de determinar en que parte del colon se desarrollaron mas lesiones, la mayor cantidad de placas se encuentran localizadas en la zona distal mientras que la mayor cantidad de pólipos se encuentran localizados en la zona proximal. Este comportamiento posiblemente se debe a la acción del butirato ya que en este estudio se encontró que el pH cecal presentó una disminución estadísticamente significativa en el grupo Nopal-DMH, con respecto al grupo DMH. Esto concuerda con los resultados obtenidos en un estudio realizado con ratas en el que una dieta rica en fibra soluble e insoluble redujo el pH cecal (Okazaki y col., 2002; Jeon y col., 2005; Johnson y col., 2006). Esto sugiere que la fermentación por la flora

bacteriana colónica de fibra, especialmente la soluble, contenida en el nopal provoca un aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta, especialmente de butirato, el cual reduce el pH cecal y, por lo tanto, el ambiente no permiten altas concentraciones de ácidos biliares y de otros agentes potencialmente carcinógenos (Walke, 1986; Andoh y col., 2003; Lupton, 2004).

Estudios *in vitro* como *in vivo* han demostrado que el ácido butírico, un ácido graso de cadena corta derivado de la fermentación de la fibra dietética en el colon, tiene los efectos más importantes sobre las células epiteliales colónicas. El butirato bloquea la proliferación celular neoplásica al modificar la expresión de algunos de estos genes implicados en el proceso de transmisión de señales (Sonoyama y col., 2003; Marchisone, 2005).

## **VIII. CONCLUSIONES**

El consumo de nopal a una concentración de 0.58 g/kg de peso disminuye el desarrollo del cáncer de colon en ratas tratadas con 1,2-DMH y esto correlaciona con un decremento en el pH cecal, dicho efecto podría ser atribuido al proceso de fermentación de la fibra contenida en el cladodio de nopal.

El nopal es una fuente importante de compuestos que pueden producir efectos benéficos a la salud.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J. D. 1996.** Biología Molecular de la Célula. 3ra. ed., Ediciones Omega, España: 1345-1383.
- Andoh, A., Tsujikawa, T., Fujiyama, Y. 2003.** Role of dietary fiber and short-chain fatty acids in the colon. Medical Science. Vol. 9: 347-58.
- Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D., Seidman, J. G., Smith, J. A., Struhl, K. 1995.** Short Protocols in Molecular Biology. 2da ed., John Wiley and Sons, New York: 11.26-11.27.
- Barrera, H., Martínez, S., Ortiz, R. 2003.** Diagnostico molecular del cáncer. Revista de Investigación Clínica. Vol. 55: 124-135.
- Bird, R. 1995.** Role of aberrant crypt foci in understandig the pathogenesis of colon cancer. Cancer Letters. Vol. 93: 50-70.
- Bohinski, R. 1991.** Bioquímica. 2da. ed., Adison-Wesley Iberoamericana, México: 117-122.
- Bueno, L., Praddaude, F., Fioramanti, J., Buckebusch, Y. 1981.** Effect of dietary fiber on gastrointestinal motility and jejunal transit time in dogs. Gastroenterology. Vol. 80: 701-707.
- Burkitt, D. P., Walter, G. R., Painter, N. S. 1974.** Dietary fiber and disease. Clinic Nutrition. Vol. 229: 1068-1072.
- Bravo, H. 1978.** Las Cactáceas de México. Vol. 1: 13-15.
- Cárdenas, M. 1998.** Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (*Opuntia ficus indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas. Revista de Nutrición. Vol. 48: 316-320.
- Carretero, J., Delgado, P. E., Herrerías, J. M. 2001.** Oncogenes y cáncer colorrectal. Revista de Gastroenterología. Vol. 3: 181-198.
- Casimiro, C. 2002.** Factores etiopatogénicos en el cáncer colorrectal. Revista de Nutrición Hospitalaria. Vol. 3: 128-138.
- Celik, C., Lewis, D. A., Mittleman, A. 1983.** Induction of colon mucosal betaglucuronidase production as a mechanism for 1, 2-dimethylhydrazine colon carcinogenesis. Journal of Surgical Oncology. Vol. 24: 209-212.

- Cervantes, R., 2002.** Los nopales *Opuntia spp.* como recurso. Recursos Naturales. Vol. 23: 12-18.
- Cohen, A. M., Minsky, B. D., Shilsky, R. L. 2000.** Cáncer de colon. 5ta. ed., Médica Panamericana, España: 114-1197.
- Corpet, D. E., Taché, S. 2002.** Most effective colon cancer chemopreventive agents In rats: a systematic review of aberrant crypt foci and tumor data, ranked by potency. Nutrition Cancer. Vol. 43: 1-21.
- Cotran, R. S., Kumar, V., Collins, T. 2000.** Patología estructural y funcional. 3ra. ed., McGrawHill- Interamericana, México: 277-347.
- Cowey, S. L., Quast, M., Belalcazar, L. M., Wei, J., Deng, X., Given, R., Singh, P. 2005.** Abdominal obesity, insulin resistance, and colon carcinogenesis are increased in mutant mice lacking gastrin gene expression. Neuroscience and Cell Biology Cancer. Vol. 15: 43-53.
- Davidson, L. A., Aymond, C. M., Juang, Y. H., Turner, N. D., Lupton, J., Durán, O., González, A., Cisneros, F. J., Hermosillo, M. 2000.** Experiencia en el manejo del cáncer colorectal en el Centro Médico Nacional de Occidente. Cirujano General. Vol. 22: 153-158.
- Díaz, T., Faxas, M., Arango, M. 1998.** Factores etiopatogénicos y moleculares en la génesis del cáncer. Revista Cubana Oncología. Vol. 14: 42-50.
- Fiala, E. S. 1977.** Investigations into the metabolism and mode of action of the colon carcinogens 1,2-Dimethylhydrazine and azoxymethane. Clinical Cancer Research. Vol. 40: 2436-2445.
- Forster, P. 2005.** [www.pforster.ch/ydisp/AF%205\\_24.htm](http://www.pforster.ch/ydisp/AF%205_24.htm)
- Fрати, M. 1988.** Efecto de diferentes dosis de nopal (*Opuntia streptacantha lemaire*) en la prueba de tolerancia a la glucosa en individuos sanos. Investigación Médica. Vol. 19: 143-146.
- García, C., Suárez, M., Romero, H. 2001.** ¿Por qué se recomienda la fibra en la dieta? Revista Hospitalaria. Vol. 1: 98-99.
- Gariglio, P., Orozco, E. 2000.** Genética y Biomedicina Molecular. 1ra. ed., Limusa, México: 18-198.

- Germany, J. 2003.** Butyrate is only one of several growth inhibitors produced during gut flora-mediated fermentation of dietary fiber sources. Department of Nutritional Toxicology. Vol. 90: 1057-70.
- Granados, D., Castañeda, D. 1997.** Genética y composición química del nopal. 1ra. ed., Trillas. México: 12-25.
- Griffiths, R., Meltzer, S. J., Jankowski, J. A. 2000.** ABC of colorectal cancer. Clinical Cancer Research. Vol. 321: 885-889.
- Griffiths, A. J., Gelbart, W., Miller, J., Lewontin, R. 2000.** Genética Moderna. 1ra. ed., McGrawHill, España: 465-498.
- Grunberger, D., Goff, S. 1987.** Mechanisms of cellular transformation by carcinogenic agents. 1ra. ed., Pergamon Press, New York: 1-25, 39-57.
- Gunter, M. J., Leitzmann, M. F. 2006.** Obesity and colorectal cancer: epidemiology, mechanisms and candidate genes. Nutritional Epidemiology Branch. Vol. 3: 145-156.
- Guyton, A. C. 1999.** Tratado de Fisiología Médica. 9ª. ed., McGraw-Hill, México: 1063-1076.
- Guyton, A., Hall, D. 2001.** Tratado de fisiología médica. 10ª. ed., Mc-Graw Hill Interamericana, México: 916-919.
- Hague, A., Manning, A. M., Hanlon, K. A., Huschtscha, L. I., Hart, D., Paraskeva, C. 1993.** Sodium butyrate induces apoptosis in human colonic tumor cell lines in a p53-independent pathway-implications for the possible role of dietary fiber in the prevention of large bowel cancer. Journal of Cancer. Vol. 55: 498-505.
- Hardy, R., Meltzer, S. J., Jankowski, J. A. 2000.** ABC of colorectal cancer: molecular basis for risk factors. Clinical Review. Vol. 321: 885-889.
- Homburgen, F. 1991.** Modification of tumor development in rodents. 1ra. ed., KARGER, New York: 7-8.
- Hong, F. U., Ying, Q., Shan, J. 2004.** Effect of short-chain fatty acids on the proliferation and differentiation of the human colonic adenocarcinoma cell line Caco-2. Journal of Digestive Diseases. Vol. 5: 115-117.
- Huerta, P. R. 2006.** [www.geocities.com/acupuntos/libro/nopal.htm](http://www.geocities.com/acupuntos/libro/nopal.htm).
- INEGI. 2002.** Base de datos y estadística demográfica 2003.

- Jeon, B. S., Park, J. W., Kim, B. K., Kim, H. K., Jung, T. S., Hahm, J. R., Kim, D. R., Cho, Y. S., Cha, J. Y. 2005.** Fermented mushroom milk-supplemented dietary fibre prevents the onset of obesity and hypertriglyceridaemia in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Diabetes Obesity Metabolism*. Vol. 6: 709-715.
- Johnson, S. K., Chua, V., Hall, R. S., Baxter, A. L. 2006.** Lupin kernel fiber foods improve bowel function and beneficially modify some putative faecal risk factors for colon cancer in men. *Journal of Nutr.* Vol. 2: 372-378.
- Juste, C. 2005.** Dietary fatty acids, intestinal microbiota and cancer. *Bull Cancer*. Vol. 92: 708-721.
- Kanna, P. S., Mahendrakumar, C. B., Chakraborty, T., Hemalatha, P., Banerjee, P., Chatterjee, M. 2003.** Effect of vanadium on colonic aberrant crypt foci induced in rats by 1,2-Dimethylhydrazine. *World Gastroenterol.* Vol. 9: 1020-1026.
- Kautenburger, T., Beyer-Sehlmeyer, G., Festag, G., Haag, N., Kuhler, S., Kuchler, A., Weise, A., Marian, B., Peters, W. H., Liehr, T., Claussen, U., Pool-Zobel, B. L. 2005.** The gut fermentation product butyrate, a chemopreventive agent, suppresses glutathione S-transferase theta (hGSTT1) and cell growth more in human colon adenoma (LT97) than tumor (HT29) cells. *Journal of Cancer Research Clinic Oncology*. Vol. 131: 692-700.
- Kinzler, K. W., Vogelstein, B. 1997.** Cancer-susceptibility genes. *Nature*. Vol. 386: 761-763.
- Latarjet, M., Ruiz, L. 1999.** *Anatomía Humana*. 3<sup>a</sup>. ed., Editorial Médica Panamerica, México: 1581-1584.
- Lehninger, A. 1995.** *Bioquímica*. 2<sup>a</sup>. ed., Omega, España: 825-833.
- Lipkin, M. 1974.** Phase 1 and phase 2 proliferative lesions of colonic epithelial cells in disease leading to colonic cancer. *Cancer*. Vol. 34: 878-888.
- López, G., Ros, G., Rincón, F., Martínez, C., Ortuño, J., Periago, M. 1997.** Propiedades funcionales de la fibra dietética. 8 *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Vol. 47: 203-207.
- Lupton, J. R. 2004.** Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. *Faculty of Nutrition*. Vol. 2: 479-82.

**Ma, Q. Y., Williamson, K. E., Rowlands, B. J. 2002.** Variability of cell proliferation in the proximal and distal colon of normal rats and rats with dimethylhydrazine induced carcinogenesis. *Gastroenterol.* Vol. 8: 847-852.

**Marchisone, S. 2005.** Papel de la fibra dietaria en la motilidad colónica. *MedUNAB.* Vol. 8: 46-47.

**Maskens, A. P. 1976.** Histogenesis and growth pattern of 1,2-Dimethylhydrazine induced rat colon adenocarcinoma. *Journal of Cancer Research.* Vol. 36: 1585-1592.

**Nagorni, A. 2002.** Genetics of colorectal cancer. *Medical And Biology.* Vol. 9: 142-149.

**Okazaki, H., Nishimune, T., Matsuzaki, H., Miura, T., Morita, S., Yanagimoto, Y., Yamagishi, H., Yamada, K., Ikegami, S. 2002.** Increased incidence rate of colorectal tumors due to the intake of a soluble dietary fiber in rat chemical carcinogenesis can be suppressed by substituting partially an insoluble dietary fiber for the soluble one. *Laboratory of Food Hygiene.* Vol. 100: 388-394.

**Park, S. K., Joo, J. S., Kim, D. H., Kim, Y. E., Kang, D., Yoo, K. Y. 2000.** Association of serum lipids and glucose with the risk of colorectal adenomatous polyp in men: a case-control study in Korea. *Department of Preventive Medicine.* Vol. 15: 690-695.

**Piñols, C. 1995.** Estudios de los cambios en la mucosa colónica de rata y cinética celular durante la carcinogénesis experimental inducida con 1, 2-Dimetilhidracina. España. Universidad de Lleida. Tesis para obtener el título de doctor en ciencias: 86-95.

**Peytavi, C. C. 2000.** Factores etiopatogénicos en cáncer colorrectal. Aspectos nutricionales y de estilo de vida. *Nutrición Hospitalaria.* Vol. 17: 128-137.

**Potten, C. S. 1998.** Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Biology Science.* Vol. 35: 821-830.

**Reddy, B. S., Sharma, C., Simi, B., Engle, A., Laakso, K., Puska, P. 1987.** Metabolic epidemiology of colon cancer: effect of dietary fiber on faecal mutagens and bile acids in healthy subjects. *Journal of Cancer Research.* Vol. 47: 644-648.

- Reddy, B. S., Engle, A., Simi. B., Goldman, M. 1992.** Effect of dietary fiber on colonic bacterial enzymes and bile acids in relation to colon cancer. *Gastroenterology*. Vol. 102: 1475-1482.
- Rosado, L., Díaz, M. 1995.** Physicochemical properties related to gastrointestinal effects of six dietary fibers. *Clinical Review*. Vol. 47: 283-289.
- Shinohara, N., Koyanagi, T. 2002.** Signal transduction in carcinogenesis and progression of bladder cancer: Molecular target for treatment. *Urological Research*. Vol. 30: 273-281.
- Shiyi, Ou., Kin-Chor, K., Yan, L., Liang, F. 2001.** In vitro study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose. *Journal of Agriculture Food Chemical*. Vol. 49: 1026-1029.
- Slattery, M. L. 2000.** Diet, lifestyle, and colon cancer. *Gastroenterology*. Vol. 11: 1426-1430.
- Smith, B. P., Hanse, D., Reddy, B. S. 1981.** Carcinogenic binding to various types of dietary fiber. *Journal of National Cancer*. Vol. 67: 495-497.
- Sonoyama, K., Pholnukulkit, P., Toyoda, M., Rutatip, S., Kasai, T. 2003.** Upregulation of active gene by butyrate in human colon cancer cell lines. *Bioscience*. Vol. 6: 989-995.
- Stemmermann, G. N., Nomura, A. M., Heilbrun, L. K., Pollack, E. S., Kagan, A. 1981.** Serum cholesterol and colon cancer incidence in Hawaiian Japanese men. *Journal of Cancer Institute*. Vol. 6: 1179-1182.
- Stryer, L. 1990.** *Bioquímica*. 3ª. ed., Reverté, Barcelona: 647-648.
- Thorogood, M., Carter R., Benfield, L., McPherson, K., Mann, J. I. 1987.** Plasma lipids and lipoprotein cholesterol concentrations in people with different diets in Britain. *Clinical Research*. Vol. 8: 351-353.
- Toscani, A., Soprano, D. R., Soprano, K. J. 1988.** Molecular analysis of sodium butyrate-induced growth arrest. *Oncogenes Research*. Vol. 3: 223-228.
- Trejo, G. A., Ortiz, G. G., Puebla, P. A., Guisar, C. D., Munguia, M. R., Mejía, A. S., Edmundo, C. 1996.** A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *Journal of Ethnopharmacol*. Vol. 55: 159-163.

**Walke, A. R., Walker, B. F., Walker, A. J. 1986.** Faecal pH, dietary fiber intake and proneness to colon cancer in four south African populations. *Journal of Cancer*. Vol. 53: 489-495.

**Yoshida, Y., Yokoi, W., Ohishi, K., Ito, M., Naito, E., Sawada, H. 2005.** Effects of the cell wall of *Kluyveromyces* YIT 8292 on the plasma cholesterol and fecal sterol excretion in rats fed on a high-cholesterol diet. *Biotechnology Biochemical*. Vol. 4: 714-723.

## X. ANEXO

### ➤ Preparación de la dieta

Para la preparación de la dieta se tomo en cuenta el consumo *per cápita*:

14,796 g de Nopal..... 365 días

X ..... 1 día

X= 40.53 g de Nopal al día para una persona de 70 Kg

En base a estos datos se determino la cantidad de nopal que consumirá una rata al día, relacionado tendremos que:

40.53 g de nopal ..... 70000 g de una persona

X ..... 300 g de peso de una rata

X = 0.1737

La dieta se preparo diariamente y para determinar la cantidad de nopal que se incorporo a la croqueta molida se utilizo el peso promedio de los animales.

### ➤ Preparación de la 1,2-Dimetilhidracina dihidroclorato (1,2-DMH)

Se pesaron 400 mg de 1,2-DMH que fueron diluidos en 100 ml de agua tipo HPLC con 37 mg 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 inyectaron 0.525 ml de la solución.