



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN BOTÁNICA**

**EFFECTO ANTIDIABÉTICO DE LOS POLISACÁRIDOS  
DEL FRUTO DE XOCONOSTLE (*Opuntia matudae*)  
EN RATAS**

**AYNE OLIVA CALVO ARRIAGA**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2011**

La presente tesis, titulada: **Efecto antidiabético de los polisacáridos del fruto de xoconostle (*Opuntia matudae*) en ratas**, realizada por la alumna **Ayne Oliva Calvo Arriaga**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS  
BOTÁNICA**

**CONSEJO PARTICULAR**

**CONSEJERA:**



**DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA**

**ASESORA:**



**DRA. ROSARIO ÁLVAREZ ARMENTA**

**ASESORA:**



**DRA. MARITZA LÓPEZ HERRERA**

**ASESOR:**



**DR. JOSÉ RODOLFO GARCÍA NAVA**

Montecillo, Texcoco, México, 21 de julio de 2011.

# **EFFECTO ANTIDIABÉTICO DE LOS POLISACÁRIDOS DEL FRUTO DE XOCONOSTLE (*Opuntia matudae*) EN RATAS**

**Ayne Oliva Calvo Arriaga, M.C.**

**Colegio de Postgraduados, 2011**

La diabetes mellitus afecta a más de 220 millones de personas en el mundo y es una de las causas principales de muerte. Existe evidencia de que los frutos ácidos de *Opuntia joconostle* y *O. matudae*, denominados xoconostle, disminuyen la glucemia e incrementan la concentración sérica de insulina en individuos diabéticos. El presente estudio fue propuesto para dilucidar si esos efectos y otros relacionados con el metabolismo energético, como la disminución de colesterol y triglicéridos en la sangre, se deben a los mucílagos, pectinas o hemicelulosas de xoconostle, a todos ellos o a ninguno de ellos. La hipótesis es que estos polisacáridos ocasionan disminución de las concentraciones séricas de glucosa, colesterol y triglicéridos, e incremento de la secreción de insulina, cuando se administran aislados o mezclados. Se usaron ratas Wistar como modelo animal. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 2x5 y medidas repetidas: hubo dos niveles de estado de salud (ratas sanas y diabéticas por efecto de estreptozotocina) y cinco niveles de tipo de polisacárido (agua, mucílagos, pectinas, hemicelulosas y mezcla de los tres grupos de polisacáridos). Los polisacáridos (100 mg/kg d) se administraron durante ocho semanas vía intragástrica. Durante las primeras cuatro semanas se midió el consumo de agua y alimento, la masa corporal, y las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, triglicéridos e insulina. Después de ocho semanas se hicieron observaciones en cortes histológicos de corazón, hígado, riñón y piel, en busca de lesiones tisulares. Los mucílagos tuvieron efecto insulinosecretor en las ratas diabéticas. Las pectinas disminuyeron la trigliceridemia en las ratas diabéticas hipertrigliceridémicas e incrementaron la insulina de ratas diabéticas. Las hemicelulosas separadas y mezcladas con los otros polisacáridos disminuyeron la glucemia de ratas sanas. El efecto de los polisacáridos varía en función del estado de salud y es diferente en individuos con estado de salud similar.

Palabras clave: dislipidemia, fibra alimentaria, glucemia, insulina.

**ANTIDIABETIC EFFECT OF XOCONOSTLE (*Opuntia matudae*) FRUIT  
POLYSACCHARIDES IN RATS  
Ayne Oliva Calvo Arriaga, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2011**

Diabetes mellitus affects more than 220 million people all over the world and it is one of the main causes of death. There is evidence that acid fruits of sour prickly pear of *Opuntia joconostle* and *O. matudae*, known as xoconostle, diminish glycemia and rises serum insulin concentrations in diabetics. This work was projected to assess if those effects and others such as reduction of blood cholesterol and triglycerides, are due to mucilages, pectins and hemicelluloses of xoconostle, to all or none of them. The hypothesis is that these polysaccharides diminish serum glucose, cholesterol and triglycerides, and increase insulin secretion when administered separated or mixed to Wistar rats used as animal model. A completely randomized (2x5 factorial arrangement) design with repeated measures was used. There were two health state levels (healthy rats and streptozotocin induced diabetic rats) and five levels for polysaccharide type (water, mucilage, pectin, hemicelluloses, and a mix of the three polysaccharides). Polysaccharides (100 mg/kg d) were administered intragastrically during eight weeks. Water and food consumption, body weight, glucose, cholesterol, triglycerides and insulin blood concentrations were measured the first four weeks. After eight weeks, histological slices of heart, liver, kidney and skin were observed to seek tissue injury. Mucilage rose insulin concentration in diabetic rats. Pectins diminished serum triglycerides in hypertriglyceridemic diabetic rats and increased serum insulin in diabetic rats. Hemicelluloses alone and mixed with the other polysaccharides diminished glycemia in healthy rats. Polysaccharides effects depend on the rat's health state and it is different on rats with similar health state.

Key words: dietary fiber, dyslipidemia, glycemia, insulin.

Dedico esta tesis a:

Mis queridos padres, Isabel y Venancio,  
porque son quienes más se alegran con mis logros.

Mis hermanas, Briana y Aline,  
porque a veces peleamos pero me apoyan siempre.

¡Los quiero mucho!

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Cecilia Beatriz Peña Valdivia por confiar en mí para realizar este proyecto; por su orientación, acompañamiento y paciencia.

A la Dra. Bertha Irene Juárez Flores por acogerme con tanta afabilidad y por su disposición para instruirme en el manejo del modelo animal.

A la Dra. Rosario Álvarez Armenta, la Dra. Maritza López Herrera y el Dr. José Rodolfo García Nava por sus valiosas contribuciones a la mejora de este trabajo.

Al Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera por su hospitalidad durante mi estancia en el Instituto de Investigación en Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

A la Q.F.B. Esperanza de la Cruz Mendoza, de la Facultad de Medicina de la UASLP, y al Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle, del Hospital Central de San Luis Potosí, por su apoyo en la cuantificación de insulina sérica y el análisis de los cortes histológicos, respectivamente.

A la Dra. Erika García Chávez y el Dr. Juan Manuel Pinos Rodríguez por las facilidades otorgadas para el desarrollo de mi trabajo.

A la Q.F.B. Josefina Acosta, la Quim. María del Socorro Jasso Espino y la M.C. Ana Bertha Galicia por su ayuda en el trabajo de laboratorio.

Al pueblo de México, que ha costado gran parte de mi formación académica mediante sus impuestos.

Este trabajo de investigación fue financiado por el Fondo de Apoyo a la Investigación (2010) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

## CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
II. 1. DIABETES.....	4
Definición .....	4
Problemática .....	4
Tratamiento.....	6
II. 2. FIBRA ALIMENTARIA .....	7
Definición y clasificación .....	7
Efectos fisiológicos de la fibra alimentaria .....	8
Alimentos ricos en fibra alimentaria .....	9
<i>Opuntia</i> spp. como fuente de fibra alimentaria.....	9
Uso de <i>Opuntia</i> spp. como hipoglucemiante.....	12
CAPÍTULO III.MATERIALES Y MÉTODOS .....	15
Polisacáridos.....	15
Modelo animal.....	15
Inducción del estado diabético.....	17
Diseño experimental .....	17
Tratamientos .....	18
III.1. VARIABLES EVALUADAS .....	19
Variables bioquímicas.....	19
Lesión tisular y celular .....	21
III.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	23
CAPÍTULO IV.RESULTADOS .....	24
Consumo de agua.....	24
Consumo de alimento .....	26
Masa corporal .....	29
IV.1. VARIABLES BIOQUÍMICAS.....	31

Glucosa.....	31
Colesterol.....	33
Triglicéridos.....	36
Insulina.....	38
IV.2. LESIÓN CELULAR.....	40
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN .....	42
CAPÍTULO VI.CONCLUSIONES .....	61
CAPÍTULO VII.RECOMENDACIONES PARA ESTUDIOS SIMILARES .....	62
LITERATURA CITADA.....	63
ANEXOS .....	72
GLOSARIO.....	78

## LISTA DE CUADROS

### CAPÍTULO II

Cuadro 2. 1. Algunas complicaciones crónicas de la diabetes mellitus tipo 2.....	5
Cuadro 2. 2. Contenido de fibra soluble e insoluble de algunos alimentos. ....	10
Cuadro 2. 3. Algunas investigaciones de los efectos benéficos del consumo de <i>Opuntia</i> spp. ....	13

### CAPÍTULO IV

Cuadro 4. 1. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) del consumo de agua (ml/semana) por ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). ....	26
Cuadro 4. 2. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) del consumo de alimento (g/semana) por ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). ....	27
Cuadro 4. 3. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) de la masa corporal (g) de ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). ....	31
Cuadro 4. 4. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) de la glucemia (mg/dl) basal de ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). ....	33
Cuadro 4. 5. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) de la concentración sérica de colesterol (mg/dl) de ratas sanas y diabéticas antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ).....	35

Cuadro 4. 6. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) de la concentración de triglicéridos séricos (mg/dl) de ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ).....	38
Cuadro 4. 7. Comparación (pruebas de <i>t</i> ) de la concentración de insulina sérica ( $\mu$ UI/ml) de ratas sanas y diabéticas antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ).....	40
Cuadro 4. 8. Presencia de esteatosis hepática microvesicular (%) en ratas sanas y diabéticas después de ocho semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). N = 3. ....	41
Cuadro 4. 9. Frecuencia de lesiones en el hígado, corazón, riñones y piel de ratas sanas y diabéticas, después de ocho semanas de la administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). N = 3 .....	41

## CAPÍTULO V

Cuadro 5. 1. Condiciones de experimentación del presente estudio y el de Paiz <i>et al.</i> (2010). ....	52
--	----

## ANEXOS

Cuadro A- 1. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de agua (mL/semana) por ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). ....	72
Cuadro A- 2. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de agua (mL/semana) por ratas	

	diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	72
Cuadro A- 3.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de alimento (g/semana) por ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	73
Cuadro A- 4.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de alimento (g/semana) por ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	73
Cuadro A- 5.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la masa corporal (g) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	74
Cuadro A- 6.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la masa corporal (g) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	74
Cuadro A- 7.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la glucemia (mg/dl) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	75
Cuadro A- 8.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la glucemia (mg/dl) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	75
Cuadro A- 9.	Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del colesterol sérico (mg/dl) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	76

Cuadro A- 10. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del colesterol sérico (mg/dl) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	76
Cuadro A- 11. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de los triglicéridos séricos (mg/dl) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	77
Cuadro A- 12. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de los triglicéridos séricos (mg/dl) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle ( <i>Opuntia matudae</i> ). .....	77

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO III

- Figura 3. 1. Extracción de polisacáridos (mucílagos, pectinas y hemicelulosas) de frutos de xoconostle (Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2006). ..... 16
- Figura 3. 2. Tratamientos para la evaluación del efecto de polisacáridos estructurales de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*) en ratas sanas y diabéticas durante ocho semanas. Entre paréntesis se indica el número de unidades experimentales de cada tratamiento... 18
- Figura 3. 3. Administración de los polisacáridos mediante una cánula esofágica. .... 19

### CAPÍTULO IV

- Figura 4. 1. Consumo de agua por ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.... 25
- Figura 4. 2. Consumo de alimento por ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.... 28
- Figura 4. 3. Masa corporal de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.... 30
- Figura 4. 4. Glucemia de ayuno de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.... 32
- Figura 4. 5. Concentración de colesterol sérico de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6. .... 34

- Figura 4. 6. Concentración de triglicéridos séricos de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6..... 37
- Figura 4. 7. Insulina sérica de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.... 39

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica caracterizada por hiperglucemia, en función de su etiología se reconocen cuatro tipos: 1) DM1 o insulino dependiente, 2) DM2 o no insulino dependiente, 3) gestacional y 4) un grupo que incluye otros tipos específicos (OPS, 2009). En el año 2010 había más de 220 millones de personas con DM en el mundo y 90 % de ellas padecía DM2 (OMS, 2010). Desde el punto de vista fisiopatológico, la DM se subdivide en predominantemente insulino resistente, asociada al exceso de masa corporal, y predominantemente deficiente en la producción de insulina, asociada a la pérdida inexplicable de masa corporal (OPS, 2009).

En 2009, en México la prevalencia de DM era 10.1 % en la población con edades entre 20 y 79 años, equivalente a 6.8 millones de mexicanos diabéticos (IDF, 2010). En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (Olaiz-Fernández *et al.*, 2006) se calculó que entre la población mayor de 20 años de edad había 30 % con obesidad y 31 % con hipertensión arterial. Esta información es relevante, ya que ambos factores, entre otros, pueden influir en el desarrollo de DM2. Además, el costo social y económico de la enfermedad es alto y disminuye drásticamente la calidad de vida de los pacientes. Entre las complicaciones crónicas de la DM están alteraciones micro y macro vasculares, que pueden conducir a retinopatía diabética (que genera ceguera), falla renal y amputación de las extremidades inferiores. Alrededor de 50 % de los diabéticos muere por enfermedad cardiovascular. En México 11 % de las muertes masculinas y 20 % de las femeninas son atribuibles a la DM (IDF, 2010).

El tratamiento de la enfermedad depende de su estadio y puede ser: a) no farmacológico, que consiste en modificaciones al estilo de vida, b) farmacológico, que se clasifica en aplicación de hipoglucemiantes orales o insulino terapia (OPS, 2009) o c) una combinación de los dos anteriores. El tratamiento farmacológico representa un costo elevado para el sector salud, en México equivale a 566 dólares al año por paciente (IDF, 2010). El panorama se complica debido a que existen

contraindicaciones y efectos secundarios de los hipoglucemiantes orales. Lo anterior es justificación para el desarrollo de investigación de tratamientos alternativos y métodos para controlar el avance de la DM y sus complicaciones; entre los que destaca la identificación y uso de plantas medicinales. En México es común el uso de *Opuntia* spp. con ese fin, por lo que este género ha sido la base de diversas investigaciones. En la mayoría de los estudios se han incluido los cladodios (Ibañez-Camacho y Román-Ramos, 1979; Frati-Munari *et al.*, 1988; Frati-Munari *et al.*, 1992; Bwititi *et al.*, 2001; Laurenz *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2008); sin embargo, se ha demostrado que los frutos de especies de *Opuntia* de tuna ácida conocidos como xoconostle (*O. joconostle* y *O. matudae*), también producen efectos benéficos, entre los que destaca disminución de la glucemia de individuos diabéticos y la trigliceridemia de individuos no diabéticos, e incremento en la insulinemia de ambos tipos de individuos (Pimienta-Barrios *et al.*, 2008; Paiz *et al.*, 2010).

Los polisacáridos indigeribles por los humanos, que conforman la fibra de los alimentos, han sido asociados con la disminución de la hiperglucemia, hipercolesterolemia y los factores de riesgo de cáncer en colon (Serrano y Goni, 2004). Así, se ha propuesto que los efectos del xoconostle podrían deberse a su contenido elevado de fibra. Al respecto, Álvarez y Peña-Valdivia (2009) demostraron que la materia seca de los frutos de *O. matudae* contiene 36 % de fibra, de ella 18.5 % es fibra soluble y 17.5 % fibra insoluble de algunos de los efectos señalados (Pimienta-Barrios *et al.*, 2008).

El presente estudio fue propuesto para: 1) Dilucidar si los efectos del consumo de xoconostle, relacionados con la diabetes (glucemia, colesterolemia, trigliceridemia e insulinemia), se deben a su contenido de mucílagos, pectinas, hemicelulosas, a todos ellos o a ninguno de ellos. 2) Conocer el efecto de los mucílagos, pectinas y hemicelulosas de xoconostle (*O. matudae*), al administrarse aislados y mezclados, en la anatomía patológica del hígado, corazón, riñones y piel. Para alcanzar estos objetivos se utilizó un modelo animal, al que se administraron, por separado y mezclados, los grupos de polisacáridos extraídos de frutos de *O. matudae*.

La hipótesis es que el consumo de los mucílagos, pectinas y hemicelulosas de *O. matudae* ocasionan: 1) disminución de la glucemia, colesterolemia y trigliceridemia en animales diabéticos, 2) incremento en la secreción de insulina en animales diabéticos, 3) disminución de la susceptibilidad del hígado, corazón, riñones y piel a los daños ocasionados por la diabetes mellitus.

## **CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **II. 1. DIABETES**

#### **Definición**

La diabetes es una enfermedad crónica que ocurre cuando el páncreas produce insulina insuficiente o el individuo la utiliza ineficientemente. Lo anterior da lugar a una condición de hiperglucemia crónica; es decir, incremento de la concentración de glucosa en la sangre, arriba de los niveles normales (OMS, 2010). Por su etiología y manifestación clínica esta enfermedad es clasificada en cuatro tipos: 1) DM1 o diabetes insulino dependiente, 2) DM2 o diabetes no insulino dependiente, 3) diabetes gestacional y 4) un grupo que engloba causas específicas (IDF, 2009), como pancreatometomía, glucagonoma, inducción por fármacos y otras (WHO, 1999). La diabetes tipo 2 es la más frecuente mundialmente, pues se calcula que incluye 90 % de los casos (OMS, 2010). Este tipo, a menudo se asocia con la obesidad e inactividad física. Otros factores que incrementan el riesgo de padecer diabetes y sus complicaciones son: la edad, ya que es más común en personas mayores de 40 años, los antecedentes familiares de diabetes, la hipertensión arterial y hábitos nocivos como el consumo de alcohol y tabaco (IDF, 2010).

#### **Problemática**

La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades no transmisibles más comunes y una de las principales causas de muerte en el mundo; más de 6 % de las muertes ocurridas en 2007 son atribuibles a ella (IDF, 2010). Las complicaciones de este padecimiento se clasifican en agudas y crónicas. Las primeras incluyen la hipoglucemia e hiperglucemia severas, y las complicaciones crónicas incluyen las oftalmológicas, renales, neurológicas, entre otras (Cuadro 2.1). Las complicaciones tienen en común que disminuyen la calidad de vida del paciente y algunas son discapacitantes. Otras alteraciones relacionadas con la DM2 son la hipertensión arterial y las dislipidemias (OPS, 2009; ADA, 2007).

**Cuadro 2. 1. Algunas complicaciones crónicas de la diabetes mellitus tipo 2.**

Complicaciones	Ejemplos	Prevalencia y severidad
Oftalmológicas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Retinopatía diabética</li><li>• Catarata</li><li>• Glaucoma</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Entre 20 y 80 % de los pacientes diabéticos las padecen.</li><li>• La diabetes es la segunda causa de ceguera a nivel mundial.</li></ul>
Renales	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nefropatía incipiente</li><li>• Nefropatía clínica</li><li>• Insuficiencia renal crónica avanzada</li><li>• Falla renal terminal</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Entre 10 y 25 % de los pacientes diabéticos las padecen al momento del diagnóstico.</li></ul>
Neurológicas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Neuropatía periférica (dolor, pérdida de la sensibilidad).</li><li>• Neuropatía autonómica: cardiovascular (taquicardia, infarto del miocardio, muerte súbita), gastrointestinal (diarrea, incontinencia esfinteriana, constipación), genitourinaria (disfunción sexual, eyaculación retrógrada, incontinencia) y otras (intolerancia al calor, sudoración gustatoria facial).</li><li>• Plexopatía (dolor, debilidad muscular, pérdida de peso).</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• La neuropatía es la complicación más frecuente y precoz de la diabetes y la que se diagnostica más tardíamente.</li></ul>
Pie diabético	<ul style="list-style-type: none"><li>• Varios grados de severidad, desde úlcera superficial hasta gangrena extensa.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Es el principal factor para la amputación de la extremidad.</li></ul>

Fuente: OPS (2009).

Se ha calculado que en el año 2030, 4.4 % de la población mundial de todas las edades padecerá DM2, porcentaje equivalente a aproximadamente 366 millones de personas. Este cálculo se realizó sin considerar el incremento en la prevalencia de la obesidad, que es uno de los factores de riesgo más importantes para esta enfermedad, por lo que es probable que la cifra real sea mayor (Wild *et al.*, 2004).

En México, 10.1 % de la población con edades entre 20 y 79 años, aproximadamente 6.8 millones de mexicanos, padece diabetes, y se gasta 566 dólares anuales por cada uno (IDF, 2010); así, esta enfermedad repercute negativamente en la economía, ya que además de afectar principalmente individuos en edades productivas, representa costos elevados para el sector salud y contribuye a la acentuación de la pobreza (Córdova *et al.*, 2008).

### **Tratamiento**

El tratamiento de la diabetes es clasificado en: a) farmacológico, b) no farmacológico y c) mixto, es decir, una combinación de los dos anteriores. El primero incluye administración de antidiabéticos orales e insulinoterapia. Los antidiabéticos orales más utilizados en Latinoamérica son las biguanidas (metformina), sulfonilureas, meglitinidas, tiazolidinedionas e inhibidores de alfa-glucosidasas; algunos de ellos inhiben la gluconeogénesis mientras que otros tienen efecto principal como secretagogos de insulina o sensibilizadores a ésta, pero todos pueden tener efectos secundarios negativos y contraindicaciones (OPS, 2010). En oposición al consumo de antidiabéticos orales, el uso de insulina es considerado el tratamiento más adecuado, y se ha señalado que debería ser utilizada por más del 80 % de los pacientes diabéticos. Sin embargo, creencias erróneas sobre las consecuencias del uso de insulina, como que causa ceguera e incremento de peso, que se debe aplicar sólo a los pacientes en estado grave, entre otros mitos, han ocasionado que en México sólo 10 % de los pacientes la utilice. El uso de insulina no se recomienda a pacientes con diabetes en etapa inicial, pues generalmente pueden controlar la enfermedad con tratamiento no farmacológico (Secretaría de Salud, 2009).

El tratamiento no farmacológico para DM2 comprende tres aspectos: un plan de alimentación, ejercicio físico y hábitos saludables. Se ha documentado que este tipo de tratamiento controla simultáneamente la mayoría de los problemas metabólicos de las personas diabéticas, como hiperglucemia, resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia e hipertensión arterial, por lo que se recomienda que este tratamiento sea uno de los primeros objetivos de los pacientes con sobrepeso. En lo que respecta al plan de alimentación, es recomendable, entre otras cosas, el consumo de alimentos ricos en fibra alimentaria (Cuadro 2.2), ya que mejoran el control glucémico y reducen la hiperinsulinemia (Serrano y Goni, 2004; OPS, 2009).

## **II. 2. FIBRA ALIMENTARIA**

### **Definición y clasificación**

La fibra alimentaria es el conjunto de polisacáridos no digeribles por las enzimas del tracto digestivo de los humanos y lignina provenientes de los tejidos vegetales. Se ha demostrado que algunos de esos polisacáridos presentan efectos benéficos en humanos y se les denomina fibra funcional (Food and Nutrition Board, 2005). La fibra alimentaria es clasificada en poco o muy fermentable por su susceptibilidad de ser fermentada en un sistema *in vitro*, con una mezcla enzimática que representa las enzimas alimentarias humanas. Entre los tipos de fibra poco fermentables se encuentran la celulosa, algunos tipos de hemicelulosa, lignina, almidones resistentes a la hidrólisis, cutina, suberina y otras ceras. Los  $\beta$ -glucanos, pectinas, gomas, mucílagos, oligosacáridos e inulina son tipos de fibra muy fermentable. Generalmente la fibra muy fermentable es soluble en agua, mientras que la poco fermentable es insoluble (Tunland y Meyer, 2002; Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2006). Otras características que permiten diferenciar los tipos de fibra son la capacidad para formar geles (pectinas) o soluciones viscosas (mucílagos, gomas), retener agua (celulosa), absorber ácidos biliares y ser fermentados por la flora del colon (Tunland y Meyer, 2002).

## **Efectos fisiológicos de la fibra alimentaria**

Los efectos fisiológicos de la fibra alimentaria son diversos y dependen de varios factores, como el tipo de fibra, es decir, sus características bioquímicas, físicas y reológicas, la cantidad consumida, la interacción entre los diferentes tipos de fibra y entre los otros componentes de los alimentos, y del perfil fisiológico del individuo, entre otros (Brownlee, 2011). Tunland y Meyer (2002) destacan la importancia de la interacción de la fermentación de la fibra con el contenido del colon, y afirman que los efectos fisiológicos más importantes dependen de esa interacción.

De acuerdo con la Academia Nacional de Ciencias (Food and Nutrition Board, 2005) de los Estados Unidos de América, existen tres beneficios de la fibra que han sido comprobados científicamente por numerosos estudios: acelera el paso de las heces por el intestino, normaliza el perfil lipídico en la sangre y atenúa la respuesta glucémica. Los mecanismos de acción que conducen a estos efectos se conocen parcialmente y se sabe que dependen de cada tipo de fibra.

En general, las fibras viscosas, como las pectinas y gomas, disminuyen la tasa de vaciamiento gástrico, lo que retrasa la digestión y absorción de nutrientes y a su vez ocasiona que el incremento de la glucosa postprandial sea menor, y una sensación de saciedad que puede contribuir a la pérdida de peso. Además, en la mayoría de los casos, las fibras viscosas son completamente fermentables por la microflora del colon. En este proceso se produce: 1) dióxido de carbono, metano, hidrógeno, ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como acetato, propionato y butirato, y 2) incremento de la masa bacteriana. Los AGCC son particularmente importantes ya que pueden ser metabolizados en el hígado y proveer energía; además, hay evidencias de que promueven inhibición del crecimiento de patógenos, e incremento de la absorción de minerales, producción de vitaminas, regulación de la glucemia, lipidemia, uremia y el balance de nitrógeno, e incluso apoptosis de células cancerosas. El incremento de la masa microbiana contribuye directamente a la masa de las heces, ya que constituye aproximadamente 50 % de los sólidos de éstas e incrementa su retención de agua. Esto ocasiona, a su vez, la disminución del tiempo

de tránsito de las heces (Tungland y Meyer, 2002; Food and Nutrition Board, 2005; Anderson *et al.*, 2010; Brownlee, 2011).

Las fibras poco fermentables, como la celulosa, también contribuyen a mejorar el proceso de evacuación de las heces, incrementan la masa fecal y disminuyen su tiempo de tránsito intestinal. El efecto de este tipo de fibras en otros procesos fisiológicos es escaso o nulo, por lo que es común que se les use como placebo en estudios relacionados con los efectos fisiológicos de distintos tipos de fibra (Tungland y Meyer, 2002; Anderson *et al.*, 2010; Brownlee, 2011).

### **Alimentos ricos en fibra alimentaria**

La fibra alimentaria se encuentra de manera natural sólo en alimentos de origen vegetal, como en cereales (centeno, cebada y avena), leguminosas (frijol, soya y lentejas) y frutas y verduras (arándano, manzana, cítricos, brócoli, zanahoria, nopalitos y xoconostle, entre otras) (Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2006; Rayas y Romero, 2008; Álvarez y Peña-Valdivia, 2009). El cuadro 2.2 muestra el contenido de fibra soluble e insoluble de algunos alimentos.

### ***Opuntia* spp. como fuente de fibra alimentaria**

El género *Opuntia* es ampliamente conocido por su producción de mucílago, pectinas y otros tipos de fibra alimentaria; diversos autores han cuantificado los componentes de la fibra en cladodios jóvenes y maduros, y frutos dulces (tunas) y ácidos (xoconostles) de distintas especies y variantes (Sáenz, 1997; Goycoolea y Cárdenas, 2003; Sáenz *et al.*, 2004; Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2006; Sáenz, 2006; Álvarez y Peña-Valdivia, 2009). En relación con los frutos de xoconostle se ha determinado que la materia seca de frutos maduros contiene 18.5 y 17.5 % de fibra soluble e insoluble, respectivamente. La fibra soluble agrupa 7.5 % de mucílagos, 8.0 % de pectina y 3.0 % de hemicelulosas débilmente unidas; la fibra insoluble engloba 15.5 % de celulosa y 2 % de hemicelulosas fuertemente unidas (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009).

**Cuadro 2. 2. Contenido de fibra soluble e insoluble de algunos alimentos.**

Alimento	Fibra alimentaria			
	Soluble (% biomasa seca)	Insoluble	Soluble (% biomasa húmeda)	Insoluble
Acelgas hervidas	7.5	40.1	0.56	3.01
Alfalfa (hojas)	6.2	42.7	0.93	6.41
All Bran	3.1	25.0	2.95	23.75
Apio crudo	6.3	30.4	0.33	1.58
Brócoli hervido	2.9	3.2	0.35	0.38
Cacahuates	4.3	2.5	4.14	2.41
Cebolla cruda	1.6	0.7	0.95	0.40
Chicharos hervidos	3.2	26.8	0.95	8.09
Col de Bruselas	6.2	15.3	0.72	1.79
Coliflor	6.2	4.2	0.61	0.42
Duraznos crudos	1.5	1.2	0.24	0.19
Espinacas hervidas	12.4	39.5	1.51	4.82
Frijoles con caldillo	11.8	14.1	2.31	2.78
Garbanzo hervido	5.0	42.1	1.52	12.76
Germen de trigo	13.7	12.3	12.77	11.46
Granola	3.5	6.8	3.36	6.49
Guayaba cruda	8.9	26.9	1.93	5.84
Hongos frescos	1.7	3.9	0.19	0.43
Huazontles hervidos	5.5	60.3	1.05	11.52
Lechuga china	2.5	31.1	0.28	3.42
Manzana con cáscara	3.3	11.9	0.50	1.79
Nopales cocidos	23.9	27.6	1.31	1.52
Pan blanco	2.3	0.7	1.71	0.53
Pan integral	5.9	2.6	4.18	1.82
Papas cocidas con piel	4.4	8.9	0.87	1.75
Pepinos sin cáscara	5.5	15.8	0.24	0.68
Pera cruda	5.0	11.9	0.89	2.11
Semillas de calabaza	7.2	31.0	6.95	29.92
Tejocotes cocidos sin piel	17.6	15.9	4.03	3.64
Tortilla de harina de trigo	2.0	3.5	1.44	2.52
Tortilla de maíz blanco	5.5	13.2	3.19	7.66
Uva pasa	2.1	1.0	1.67	0.76
Xoconostle	18.5	17.0	0.19	0.17
Zanahoria hervida sin piel	18.8	14.3	2.35	1.78

Fuente: Miranda-Román (2006) y Álvarez y Peña-Valdivia (2009).

Existen alimentos con mayor riqueza de fibra que los nopalitos y xoconostles; sin embargo, ambos destacan porque en México, además de consumirse como alimentos, son usados en medicina tradicional. Entre los beneficios a la salud están sus propiedades diuréticas, analgésicas, cardiotónicas, laxantes, desparasitantes y antidiabéticas (Ibañez-Camacho, 1978; Ibañez-Camacho y Román-Ramos, 1979; Hegwood, 1990; Pimienta-Barrios *et al.*, 2008). En la composición química del xoconostle (*O. matudae*) destaca su contenido de mucílago (7.5 % de la biomasa seca) y humedad (96 %) (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009). El mucílago ha sido reconocido como un grupo de polisacáridos con usos potenciales diversos (medicinal, como espesante en alimentos y agente clarificante de agua) (Sáenz, 1997; Goycoolea y Cárdenas, 2003; Sáenz *et al.*, 2004; Sáenz, 2006), y el contenido elevado de agua propicia consumir mayor cantidad de xoconostle para obtener un aporte de fibra equivalente al de otras fuentes con humedad menor, como garbanzos o tejocotes.

Es probable que la interacción entre los componentes químicos de los xoconostles sea la causante de sus efectos benéficos. Por lo anterior, se ha considerado necesario evaluar los efectos de los integrantes aislados de la fibra alimentaria, ya que constituye una matriz compleja (Somerville *et al.*, 2004). La extracción de la fibra puede ser con disolventes acuosos o mediante hidrólisis enzimática. Los componentes de la fibra extraídos con procedimientos diferentes podrían modificar su efecto en la fisiología del consumidor. Por lo anterior, es necesario demostrar que la fibra aislada conserva sus propiedades benéficas en la salud, para que sea clasificada como fibra funcional (Food and Nutrition Board, 2005). La fibra aislada puede ser agregada a los alimentos de origen animal, como los lácteos; además, algunos tipos de polisacáridos de la fibra han sido usados como agentes emulsificantes o espesantes (Goycoolea y Cárdenas, 2003; Sáenz *et al.*, 2004; Ramírez-Santiago *et al.*, 2010). No obstante, debe insistirse en que su efecto en la salud depende de la relación entre los demás componentes del alimento, o la nueva matriz en la que sean incluidos, su concentración, entre otros factores.

### **Uso de *Opuntia* spp. como hipoglucemiante**

Actualmente, los estudios acerca de los efectos benéficos del consumo de cladodios y frutos de algunas especies de *Opuntia* sobre la diabetes son numerosos. El Cuadro 2.3 muestra ejemplos de esas investigaciones. Las especies más estudiadas son *O. streptacantha* y *O. ficus indica*; no obstante, el género *Opuntia* comprende casi 300 especies (Scheinvar 1995) y algunas de ellas tienen numerosas variantes, es el caso de *O. ficus indica*. Por otra parte, en la mayoría de los estudios se han utilizado los cladodios y en unos cuantos casos los frutos.

Pimienta-Barrios *et al.*, (2008) evaluaron el efecto de la ingestión del fruto de *O. joconostle* por humanos sanos y con diabetes tipo 2. En el primer caso el consumo de xoconostle disminuyó significativamente el colesterol y los triglicéridos séricos y aumentó la glucosa e insulina séricas. Mientras que en los diabéticos disminuyó la concentración de glucosa y aumentó la de insulina. Los autores concluyeron que la ingestión del fruto de *O. joconostle* puede ayudar a controlar la glucemia en personas diabéticas y a prevenir estados de hiperglucemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia en personas sanas.

Paiz *et al.*, (2010) evaluaron el efecto antidiabético de tres extractos acuosos de *O. joconostle*: 1) de frutos, 2) de cladodios y 3) una mezcla de los dos anteriores. Los extractos fueron administrados a ratas sanas y con diabetes inducida por estreptozotocina. La diabetes fue inducida por estreptozotocina inyectada intraperitonealmente. Los resultados mostraron que el extracto de los frutos disminuyó significativamente la glucemia de las ratas sanas y las diabéticas, y tuvo efecto hipotriglicéridémico sólo en las primeras. Los autores proponen que el consumo de los frutos de *O. joconostle* a largo plazo podría ayudar a prevenir y controlar las complicaciones de la DM2 en humanos.

**Cuadro 2. 3. Algunas investigaciones de los efectos benéficos del consumo de *Opuntia* spp.**

Especie	Órgano utilizado	Modelo experimental	Variables evaluadas	Fuente
<i>O. streptacantha</i>	Cladodios (licuado, licuado filtrado, extracto acuoso y extracto acuoso dialisado)	Conejos Nueva Zelanda pancreatectomizados y no pancreatectomizados	GLU postprandial y CTG.	Ibañez-Camacho y Román-Ramos, 1979
<i>O. streptacantha</i>	Cladodios (licuado filtrado y extracto con NaHCO <sub>3</sub> )	Conejos Nueva Zelanda	GLU y TRI	Meckes-Lozoya e Ibañez-Camacho, 1983
<i>O. streptacantha</i>	Cladodios asados	Humanos con diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	GLU e insulina postprandial	Fрати-Munari <i>et al.</i> , 1988
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodios deshidratados	Humanos con y sin DM2	GLU postprandial	Fрати-Munari <i>et al.</i> , 1989
<i>O. streptacantha</i>	Cladodios	Humanos sanos	GLU e insulina postprandial	Fрати <i>et al.</i> , 1991
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodios deshidratados	Humanos con y sin DM2	GLU, CHOL Y TRI	Fрати-Munari <i>et al.</i> , 1992
<i>O. streptacantha</i>	Cladodios (extracto acuoso)	Conejos Nueva Zelanda	CTG	Román-Ramos <i>et al.</i> , 1995
<i>O. fuliginosa</i>	Frutos	Ratas Wistar diabéticas (STZ) y no diabéticas	GLU y HbA <sub>1c</sub>	Trejo-González <i>et al.</i> , 1996

Continuación Cuadro 2.3...

<i>O. streptacantha</i>	Cladodios (extracto acuoso dialisado)	Humanos con DM2	GLU postprandial	Castañeda-Andrade <i>et al.</i> , 1997
<i>O. megacantha</i>	Cladodios (extracto etanólico filtrado y evaporado)	Ratas Sprague-Dawley diabéticas (STZ) y no diabéticas	Consumo de agua, contenido de Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup> en orina, aldosterona y AVP sanguíneas, tasa de filtración glomerular.	Bwititi <i>et al.</i> , 2001
<i>O. lindheimeri</i>	Cladodios (extracto)	Puercos diabéticos (STZ) y no diabéticos.	GLU	Laurenz <i>et al.</i> , 2003.
<i>O. joconostle</i>	Frutos	Humanos con y sin DM2	CTG, CHOL, TRI e insulina postprandial.	Pimienta-Barrios <i>et al.</i> , 2008.
<i>O. monacantha</i>	Cladodios (extracto acuoso precipitado con etanol)	Ratas Kunming diabéticas (STZ) y no diabéticas	Consumo de agua y alimento, masa corporal, GLU, CHOL, TRI y HDL.	Yang <i>et al.</i> , 2008
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodios (extractos con varios solventes)	Ratones ICR diabéticos (STZ) y no diabéticos	GLU basal	Luo <i>et al.</i> , 2010.
<i>O. joconostle</i>	Frutos y cladodios (extractos acuosos)	Ratas Wistar diabéticas (STZ) y no diabéticas	GLU, CHOL, TRI y HDL postprandial.	Paiz <i>et al.</i> , 2010.

GLU = glucosa sérica; TRI = triglicéridos séricos; HDL = lipoproteína de alta densidad; CHOL = colesterol sérico; HbA1C = hemoglobina glucosilada; STZ = estreptozotocina

## CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

### Polisacáridos

Frutos de *O. matudae* fueron adquiridos en San Martín de las Pirámides, Estado de México, durante los meses de mayo a septiembre de 2009. Se seleccionaron frutos con la profundidad menor del receptáculo (< 2 mm). Este criterio de selección se debe a que la profundidad del receptáculo es inversamente proporcional a la madurez y contenido de mucílagos y pectinas (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009).

Durante la primera semana después de la cosecha de los xoconostles, su pericarpio fue liofilizado y se aislaron los mucílagos, pectinas y hemicelulosas débil y fuertemente unidas, con la metodología propuesta por Peña-Valdivia y Sánchez Urdaneta (2006) (Figura 3.1). Sin embargo, debido a que el rendimiento de ambos grupos de hemicelulosas fue bajo (< 6 %), se decidió mezclarlas, y el conjunto representó al grupo de hemicelulosas. Los polisacáridos liofilizados se almacenaron en frascos de vidrio en un lugar fresco y seco hasta su utilización, doce semanas después.

### Modelo animal

Sesenta y cuatro ratas macho, de la cepa Wistar, fueron adquiridas en el bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Las ratas fueron adquiridas en cuatro lotes y antes de cada ensayo fueron aclimatadas, en promedio durante una semana, (Liu *et al.*, 2006; Ugochukwu y Figgers, 2007) a las condiciones del laboratorio, es decir,  $24 \pm 2$  °C y un ciclo invertido de 12 h de luz por 12 h de oscuridad (Babu *et al.*, 2006). Una de las ratas fue retirada del experimento porque presentó distonía del músculo esternocleidomastoideo. Otras tres murieron por causa de la diabetes, durante la primera semana después de habérselas inducido. Las 60 ratas restantes correspondieron al estado adulto (8-9 semanas), con masa promedio de  $308 \pm 27.4$  g. Los animales permanecieron en cajas de policarbonato individuales con lecho de aserrín, renovado cada tercer día.

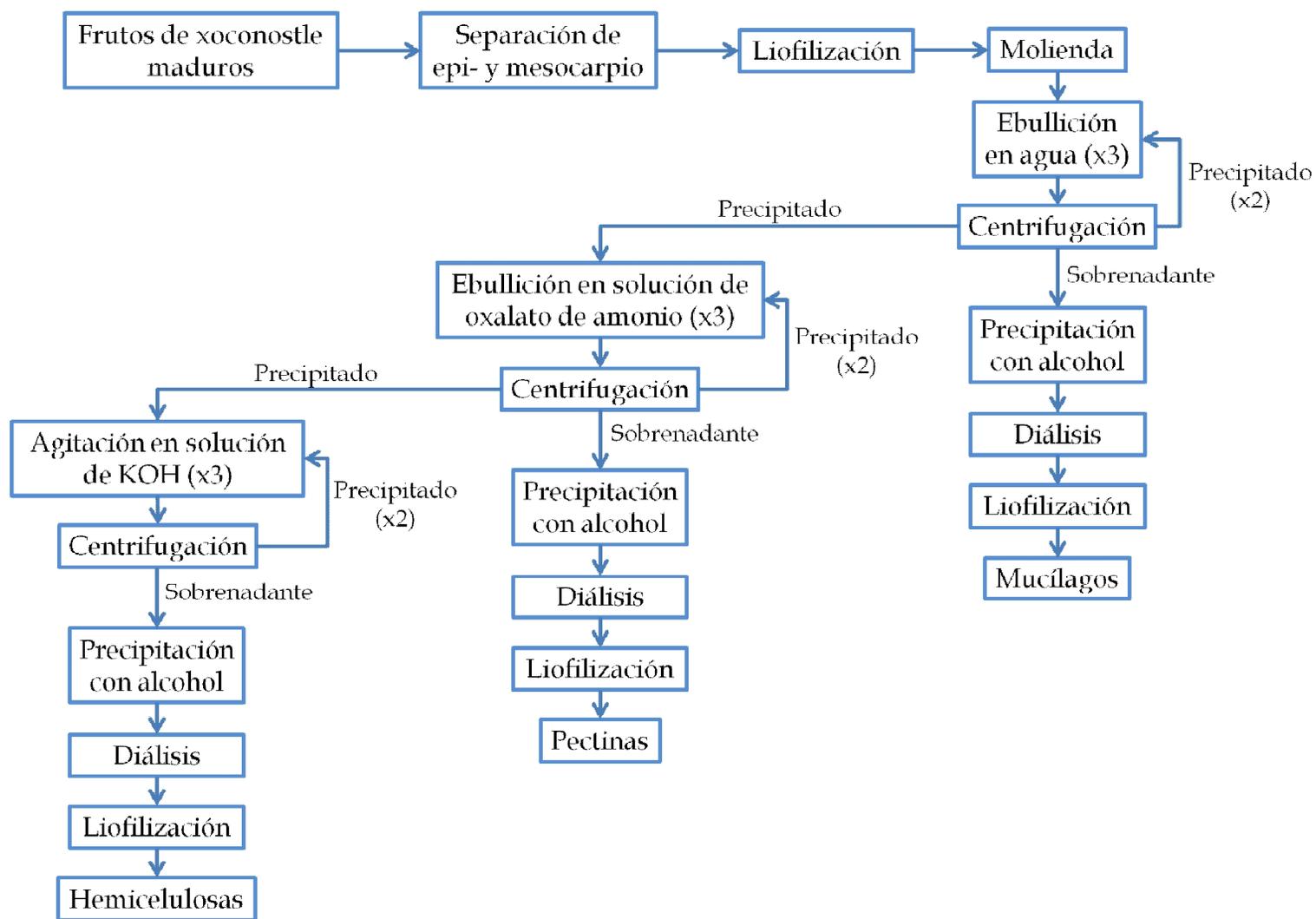


Figura 3. 1. Extracción de polisacáridos (mucílagos, pectinas y hemicelulosas) de frutos de xoconostle (Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2006).

Diariamente, a los animales se les proporcionó agua purificada *ad libitum* y  $20 \pm 0.1$  g de alimento balanceado (Laboratory Rodent Diet 5001, PMI Nutrition International, EE.UU.), con un aporte de energía metabolizable de 3.02 kcal/g, del que 58 % corresponde a carbohidratos, 28.5 % a proteínas y 13.5 % a lípidos (Paiz *et al.*, 2010).

### **Inducción del estado diabético**

El estado diabético se indujo a 33 ratas mediante una inyección intraperitoneal de 45 mg de estreptozotocina (S0130 Streptozotocin, Sigma-Aldrich, USA) por kilogramo de peso (Junod *et al.*, 1969; Jia *et al.*, 2009). Justo antes de su utilización, el fármaco se diluyó con solución 0.01 M de citrato trisódico con pH 4.5. La solución de estreptozotocina se preparó en concentraciones adecuadas para que cada rata recibiera una inyección de  $0.5 \pm 0.2$  ml de la solución. El estado diabético se confirmó una semana después mediante la medición de la glucemia de ayuno (12 h) con un glucómetro portátil (ELITE, Bayer Health Care, España); 30 de las 33 ratas que recibieron la inyección sobrevivieron en este periodo. La muestra de sangre se obtuvo por punción de una vena caudal con aguja de calibre 21Gx32 mm y la segunda gota se colocó en un glucómetro portátil. Las ratas con concentración de glucosa sérica igual o mayor a 200 mg/dl fueron consideradas diabéticas (Ugochukwu y Figgers, 2007; Yao *et al.*, 2009). Después de la primera aplicación de estreptozotocina veinte ratas (67 %) alcanzaron y mantuvieron el estado diabético. Las diez ratas restantes recibieron una segunda dosis del fármaco y el estado diabético se produjo en seis de ellas. Las otras cuatro ratas manifestaron la enfermedad después de una tercera dosis.

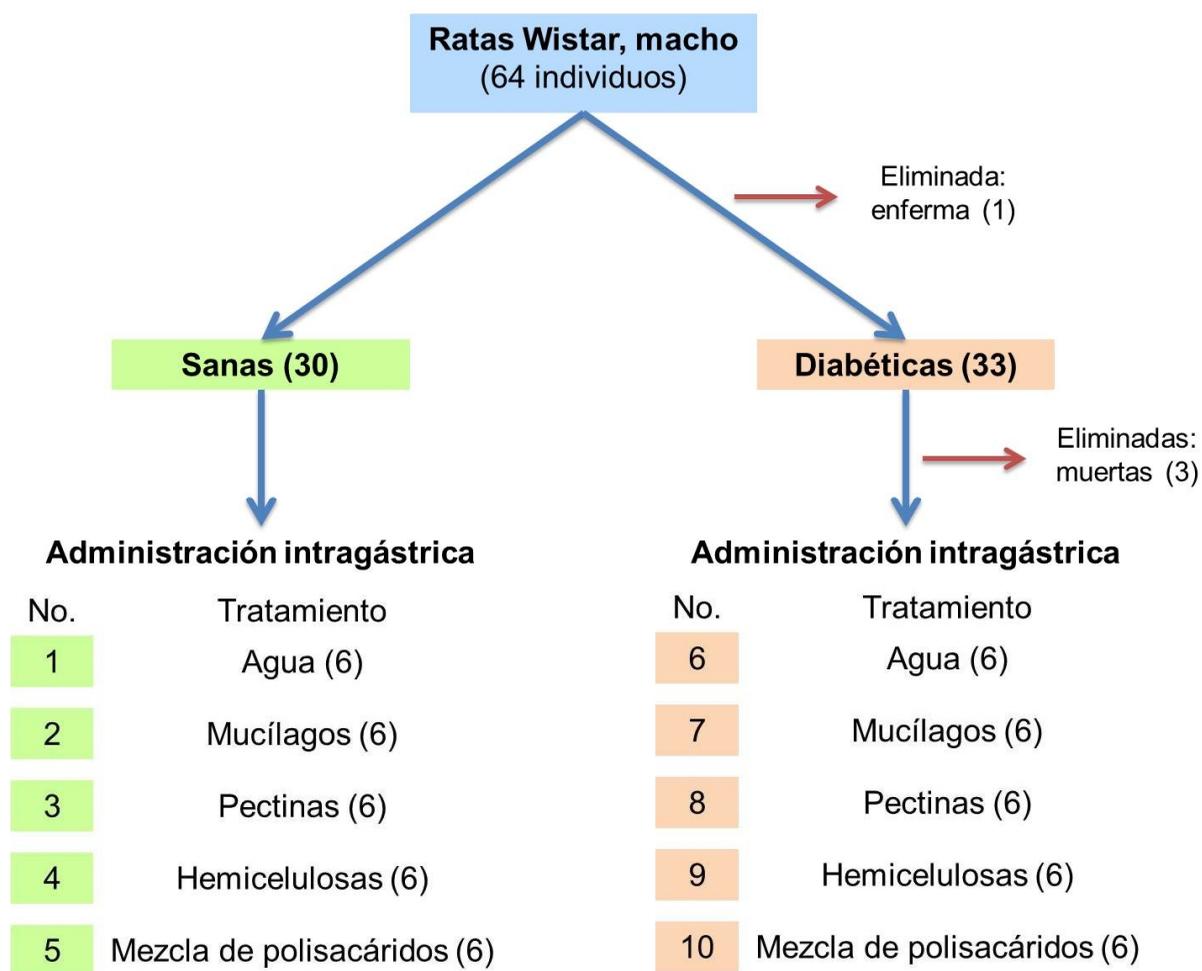
### **Diseño experimental**

Se usó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x5 y medidas repetidas. Un factor fue el estado de salud y tuvo dos niveles: ratas diabéticas y no diabéticas. El segundo factor fue el tipo de polisacárido administrado y tuvo cinco niveles: agua destilada (control), mucílago, pectina, hemicelulosas y la mezcla de los

tres anteriores en proporción 2:2:1. Cada tratamiento tuvo seis repeticiones y cada repetición estuvo representada por una rata (unidad experimental) (Figura 3.2).

### Tratamientos

Se prepararon soluciones-dispersiones al 2 % (p/v) de los polisacáridos con agua destilada. Éstas fueron administradas a los animales en dosis de 100 mg de polisacáridos por kg de masa corporal, de este modo cada rata recibió diariamente de 1 a 1.6 mL de solución. Los polisacáridos fueron administrados con una cánula esofágica (Figura 3.3), diariamente entre las 7 y 9 h, durante ocho semanas.



**Figura 3. 2. Tratamientos para la evaluación del efecto de polisacáridos estructurales de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*) en ratas sanas y diabéticas durante ocho semanas. Entre paréntesis se indica el número de unidades experimentales de cada tratamiento.**



**Figura 3. 3. Administración de los polisacáridos mediante una cánula esofágica.**

### **III.1. VARIABLES EVALUADAS**

**Consumo de agua.** El volumen de agua fue cuantificado diariamente entre las 9 y 10 h. Los depósitos se aforaron a 240 ml cada cuarto día para las ratas sanas y cada tercer día para las ratas diabéticas, ya que éstas consumían el agua más rápidamente.

**Consumo de alimento.** El alimento no consumido fue cuantificado diariamente entre las 9 y 10 h.

**Masa corporal.** Cada individuo fue pesado semanalmente a partir del inicio del estudio.

#### **Variables bioquímicas**

Semanalmente, a partir de la administración de los polisacáridos, se obtuvieron muestras de sangre de cada rata, después de 12 h de ayuno. Se localizó e inmovilizó

alguna de las venas caudales, después de limpiar la superficie del tejido con solución fisiológica, y se puncionó con una aguja de calibre 21Gx32 mm con una inclinación de 10° sobre la cola.

Las muestras de sangre (600 µl) se recolectaron por goteo en tubos con gel separador de suero (SST, BD Microtainer; Becton, Dickinson and Company, USA). Veinte a treinta minutos después de su obtención fueron centrifugadas (1000 x g) 15 min, los sueros se colocaron en tubos (con tapa y etiquetados), se almacenaron a -20 °C (Ennouriet *al.*, 2006) hasta finalizar la cuarta semana de administración de los polisacáridos y se analizaron como se menciona a continuación.

Las concentraciones séricas de glucosa, colesterol y triglicéridos fueron cuantificadas por métodos colorimétricos en las cinco muestras de cada rata. La concentración de insulina sérica fue cuantificada la primera y última semana en todos los tratamientos.

**Glucosa.** Para conocer la concentración de glucosa se utilizó un kit comercial (Glucosa GOD FS\*, DiaSys, Alemania), que cuantifica la concentración de glucosa mediante su oxidación catalizada con la glucosa oxidasa. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liberado de esa reacción se combina con fenol y 4-aminoantipirina, presentes en el medio. La presencia de peroxidasa y su acción catalítica genera quinoneimina (reacción de Trinder); esta última es el indicador colorimétrico (Trinder, 1969).

**Colesterol.** Para cuantificar la concentración de colesterol se utilizó un kit comercial (Colesterol FS\*, DiaSys, Alemania). La cuantificación se basa en la hidrólisis y oxidación enzimática posterior de los esteres de colesterol. Uno de los productos de esta reacción es H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el que da lugar a la quinoneimina por la reacción de Trinder.

**Triglicéridos.** Para conocer la concentración de triglicéridos fue utilizado un kit comercial (Triglicéridos FS\*, DiaSys, Alemania). La hidrólisis enzimática de los triglicéridos es catalizada por la lipoproteína-lipasa, continúa con la fosforilación del glicerol catalizada por la gliceroquinasa y la oxidación enzimática del glicerol-3-

fosfato. Uno de los productos de esta reacción es  $H_2O_2$ , que es un sustrato para la formación de quinoneimina por la reacción de Trinder.

**Insulina.** La insulina fue cuantificada por quimioluminiscencia. El método está basado en el principio de emisión luminosa mediante una reacción enzimática. Fue utilizado un sistema de inmunoensayo (IMMULITE 1000, Siemens, España). Este análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Hormonas de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (De la Cruz-Mendoza *et al.*, 2007).

El equipo utilizado para medir la absorbancia de los medios de reacción de la cuantificación de glucosa, colesterol y triglicéridos fue un espectrofotómetro (8453 UV-visible Spectrophotometer, Agilent, USA).

### **Lesión tisular y celular**

**Extracción de los órganos.** Al finalizar las ocho semanas las ratas fueron sacrificadas. Se les aplicó una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (4 ml/kg de peso) y cuando estuvieron anestesiadas fueron colocadas en decúbito supino, con las extremidades sujetas sobre una rejilla metálica. Se vigiló que el corazón no dejara de latir y en los casos en que eso ocurrió se hicieron compresiones repetidas sobre el tórax hasta que se percibieron los latidos nuevamente. La zona ventral fue lavada con solución fisiológica y se afeitó un área de 3 cm<sup>2</sup> aproximadamente. Con ayuda de tijeras se abrió a la rata por la línea media ventral y se cortó el músculo diafragmático y las costillas. Se usaron pinzas para separar la piel, el músculo y las costillas hasta dejar expuestas las cavidades abdominal y torácica. Se sujetó el corazón entre los dedos pulgar e índice y se puncionó el ventrículo izquierdo con una aguja hipodérmica de calibre 22Gx32 mm, con punta roma, se llevó a la aorta, se pinzó por la parte media y se hizo un corte en la aurícula derecha. A la aguja inmovilizada se le conectó una jeringa (10 ml) con solución de NaCl al 8.5 % que se perfundió. Esta operación se realizó cinco veces y se repitió otras cinco con una solución de paraformaldehído al 10 % en PBS. Se disecó un trozo de piel de 2 cm<sup>2</sup> aproximadamente y se extrajo el corazón, el lóbulo

izquierdo del hígado y el riñón izquierdo. Al corazón y al riñón se les hizo un corte transversal y al hígado se le hizo cortes cada 5 mm. Todas las muestras se colocaron en un frasco con solución de para-formaldehído al 10 % en PBS y se mantuvieron a 4 °C hasta su análisis.

**Inclusión de los tejidos.** Los órganos fueron retirados de la solución de paraformaldehído en la que estaban inmersos y se enjuagaron repetidamente con agua destilada. Los tejidos fueron deshidratados mediante su inclusión, por 30 min en soluciones con concentraciones crecientes de etanol (60, 70 y 80 % en agua) y luego en etanol absoluto. Después de esa secuencia fueron sumergidos en una mezcla de etanol-xilol (50:50) y luego en xilol. El siguiente paso fue impregnar el material en parafina a 45 °C, una hora después se aplicó otro baño de parafina, esta vez a 53 °C. Luego se colocó el órgano en una cubeta, se vertió más parafina y se enfrió para su solidificación.

**Obtención de los cortes histológicos.** Se realizaron cortes seriados con un micrótomo, se montaron sobre portaobjetos y se colocaron en baño maría para retirar la parafina. Este proceso se completó con la inmersión de los portaobjetos en xilol. Posteriormente fueron sumergidos en alcohol absoluto, concentraciones decrecientes del mismo (80, 70 y 60 %) y al final en agua destilada, para rehidratar los cortes para su tinción.

**Tinción de los cortes histológicos.** Los portaobjetos se sumergieron en hematoxilina de Harris, se enjuagaron con agua destilada, se colocaron en un recipiente con eosina y se enjuagaron nuevamente con agua destilada; luego, se deshidrataron mediante su inmersión en alcohol absoluto y se colocó el cubreobjetos cuidando que no quedaran burbujas. Esta tinción permite obtener una visión global de las estructuras celulares, los núcleos se tiñen de azul y el citoplasma de rosa.

**Observación de los cortes histológicos.** Los cortes fueron observados con un microscopio óptico. En los cortes de hígado se evaluó la presencia de esteatosis

macro y microvesicular, esta última en escala porcentual; en los de riñón, se evaluó la presencia de procesos degenerativos como la vacuolización hidrópica; en los de corazón se evaluó la presencia de lesiones ateroscleróticas, y en la piel, la presencia de microtrombos.

### **III.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó un análisis del diseño con arreglo factorial y medidas repetidas. Sin embargo, debido a que los estados de salud (diabético y sano) son muy distintos, se decidió analizarlos separados, para hacer más eficiente la evaluación de la variación debida a los polisacáridos. Los datos iniciales de cada variable fueron utilizados como covariable para eliminar el efecto de la variabilidad inicial.

Además, se compararon los datos iniciales (antes de administrar los extractos) de cada tratamiento y los obtenidos al finalizar la cuarta semana de su aplicación, mediante pruebas *t* de Student.

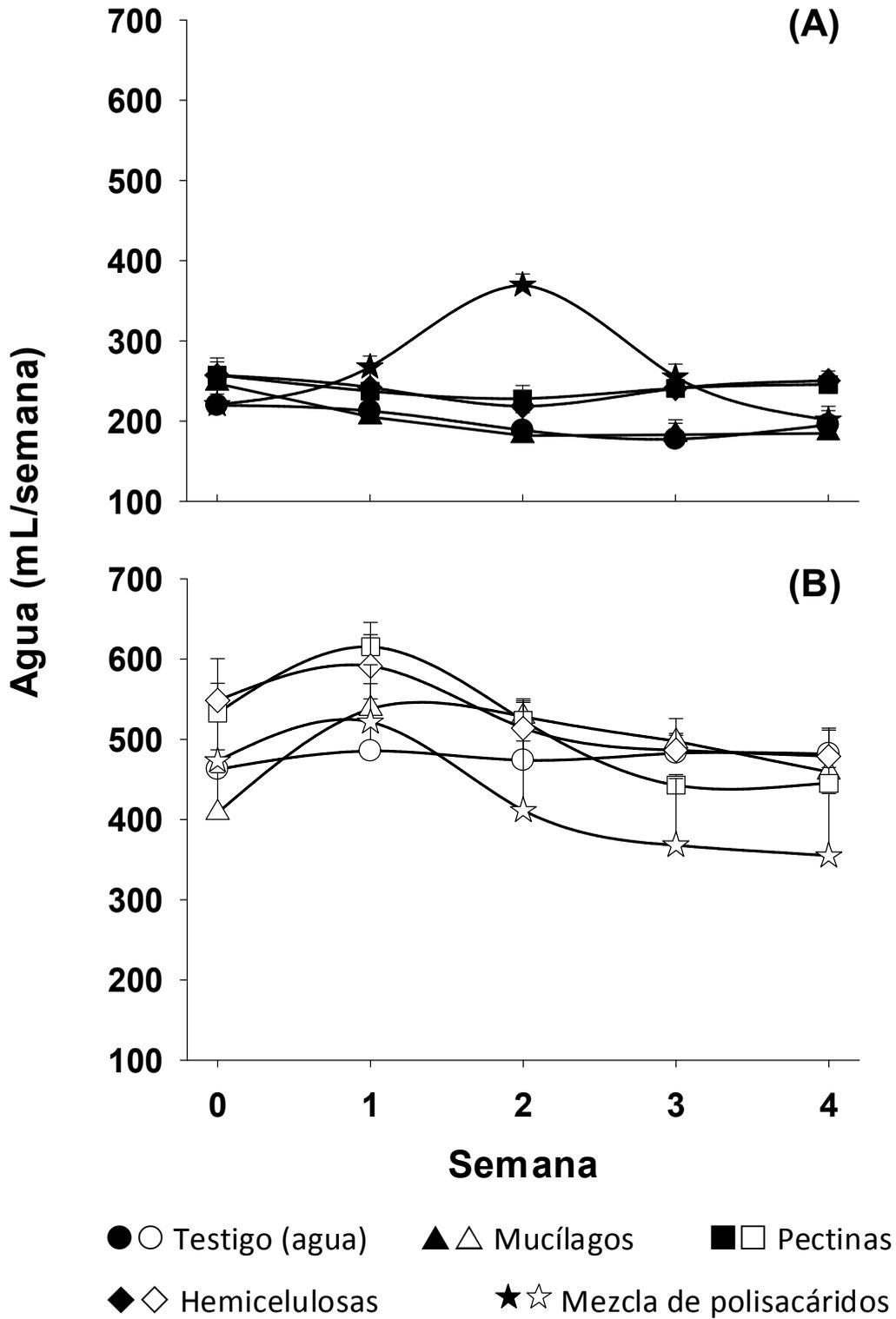
Los datos de los cortes histológicos se analizaron con la prueba de  $\chi^2$ . Sólo se compararon los estados de salud, ya que el número de repeticiones fue pequeño (3) para realizar comparaciones dentro de los estados de salud. En el caso de la esteatosis microvesicular, se obtuvo el promedio del porcentaje de esteatosis de cada estado de salud y cada grupo de ratas, y se realizaron las pruebas de  $\chi^2$  con esos datos. Sólo en ese caso se comparó cada tratamiento contra el testigo dentro de cada estado de salud.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

### Consumo de agua

Las ratas diabéticas consumieron más del doble de agua que las ratas sanas (485 y 229 ml/semana respectivamente). El análisis de los estados de salud separados mostró que en las ratas sanas sí hubo diferencia significativa en el efecto de los polisacáridos ( $p < 0.001$ ) y en el tiempo ( $p = 0.004$ ). La interacción tiempo\*tipo de polisacárido también fue significativa ( $p < 0.001$ ). Las ratas que recibieron la mezcla de polisacáridos tuvieron un consumo de agua atípicamente mayor durante la segunda semana de tratamiento (Figura 4.1 A); por lo que es probable que la diferencia entre los polisacáridos y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido significativas se deban a ese comportamiento atípico. Para los otros grupos de ratas sanas, el consumo medio de agua durante las cuatro semanas del estudio, se mantuvo con cambios pequeños (Anexos, Cuadro A-1).

En contraste con las ratas sanas, el efecto de los polisacáridos en las ratas diabéticas fue estadísticamente similar ( $p = 0.437$ ), pero sí hubo diferencia estadística en el tiempo ( $p > 0.001$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido fue significativa ( $p = 0.001$ ). La tendencia general fue el incremento del consumo de agua después de la primera semana de administración de los polisacáridos, seguido de su disminución durante la segunda y tercera semana, y un cambio mínimo durante la cuarta (Anexos, Cuadro A-2). El grupo testigo no mostró esta tendencia, su consumo de agua se mantuvo casi sin cambios durante las cuatro semanas de la administración de los polisacáridos (Figura 4.1 B).



**Figura 4. 1. Consumo de agua por ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.**

Al finalizar la cuarta semana de aplicación de los polisacáridos el consumo de agua de las ratas sanas representó 90 % de su consumo medio inicial, y el de las ratas diabéticas 96 % del inicial. Las pruebas *t* de Student mostraron que el efecto de los tratamientos en el consumo de agua fue significativo sólo en los grupos de ratas sanas que recibieron agua (control) y mucílagos y en las diabéticas que recibieron pectinas (Cuadro 4.1). Los tres grupos disminuyeron su consumo 24 y 62 ml los primeros dos y 88 ml el diabético.

**Cuadro 4. 1. Comparación (pruebas de *t*) del consumo de agua (ml) por ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto	Estado de salud	
	Sanas	Diabéticas
Agua	* (-) 24.33	NS (+) 19.08
Mucílagos	** (-) 61.67	NS (+) 50.80
Pectinas	NS (-) 11.67	* (-) 87.60
Hemicelulosas	NS (-) 6.67	NS (-) 69.75
Mezcla	NS (-) 19.83	NS (-) 0.58

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) del consumo de agua (ml/semana). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \*  $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

### Consumo de alimento

El análisis de los estados de salud por separado mostró significancia en el efecto de los polisacáridos ( $p = 0.017$ ) y en el tiempo ( $p < 0.001$ ) en el consumo de alimento de las ratas sanas; además, la interacción tiempo\*tipo de polisacárido para recibir la mezcla de polisacáridos no fue significativa ( $p = 0.118$ ). En la semana inicial destacó el grupo seleccionado para recibir la mezcla de polisacáridos, pues su consumo fue 25 % menor que el promedio de los grupos sanos; sin embargo, a partir de la primera semana de haber iniciado el tratamiento, este grupo mantuvo su consumo de alimento dentro del intervalo de los otros grupos sano (Figura 4.2 A). La tendencia general fue el mantenimiento del consumo de alimento con cambios mínimos las dos

primeras semanas, disminución del consumo durante la tercera semana y su mantenimiento, casi sin cambios, durante la cuarta (Anexos, Cuadro A-3).

El efecto de los polisacáridos en el consumo de alimento fue significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ) en las ratas diabéticas. En este grupo no hubo diferencia estadística ( $p = 0.828$ ) en el tiempo y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido no fue significativa ( $p = 0.576$ ) (Figura 4.2 B, Cuadro A-4).

La prueba *t* de Student mostró que el efecto de los tratamientos fue significativo ( $p \leq 0.05$ ) únicamente en los grupos sanos que recibieron mucílagos (disminuyó 9 %) y la mezcla de polisacáridos (incrementó 40 %) y en el enfermo que recibió hemicelulosas (incrementó 8 %) (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4. 2. Comparación (pruebas de *t*) del consumo de alimento (g) por ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Estado de salud/Extracto	Sanas	Diabéticas
Agua	NS (-) 3.36	NS (+) 12.64
Mucílago	* (-) 12.43	NS (+) 17.90
Pectina	NS (-) 2.55	NS (+) 5.18
Hemicelulosas	NS (+) 0.28	* (+) 10.80
Mezcla	* (+) 37.44	NS (+) 8.18

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) del consumo de alimento (g/semana). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \*  $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

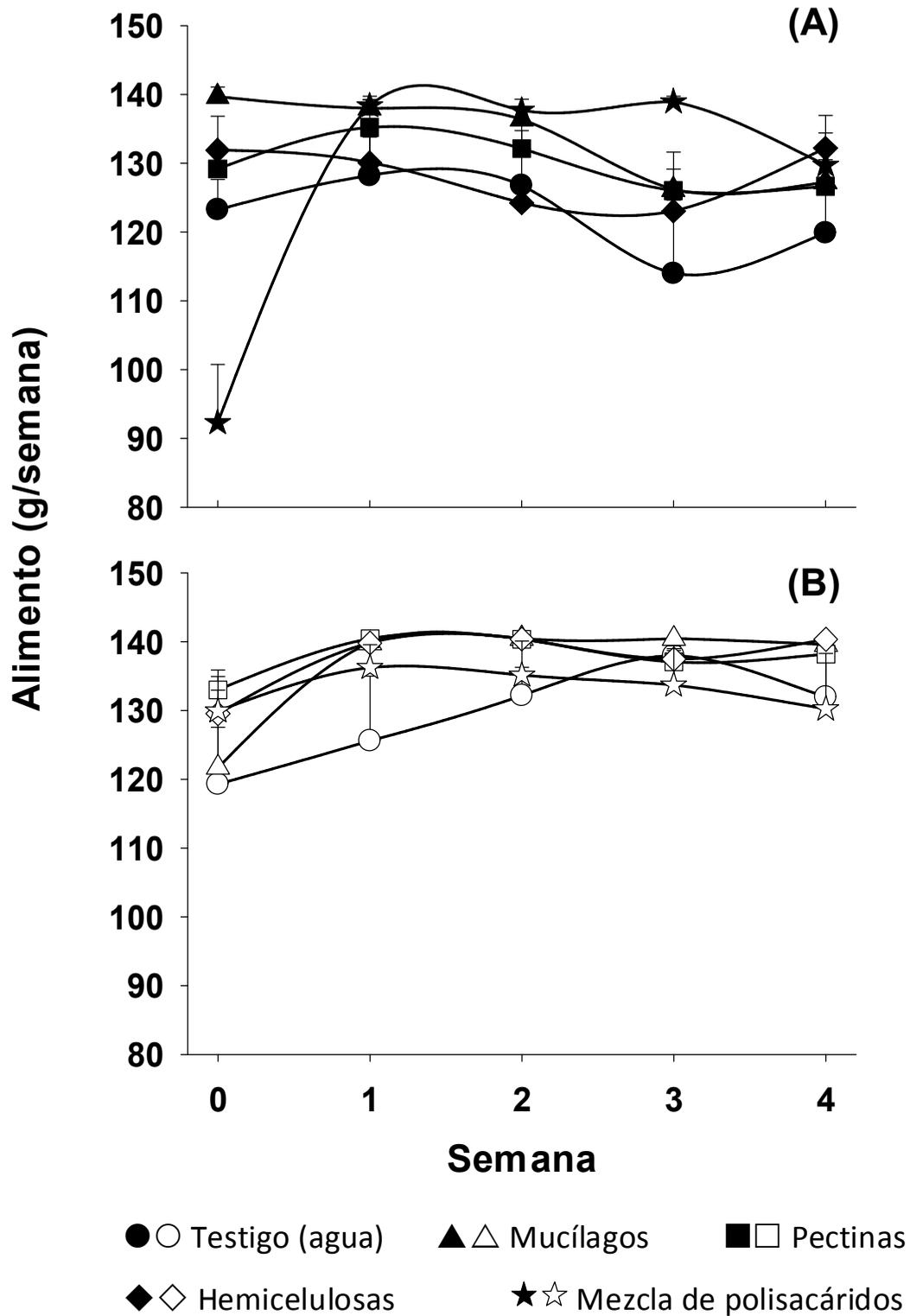


Figura 4. 2. Consumo de alimento por ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.

### **Masa corporal**

Destacó la heterogeneidad de la masa corporal inicial entre los grupos ( $p < 0.001$ ), a pesar de ser homogéneos en edad. Los grupos sanos iniciaron el estudio (semana cero en la Figura 4.3 A) con masa entre 273 g, en el seleccionado para recibir hemicelulosas, y 339 g, en el que representaría al testigo. En el caso de los grupos diabéticos, la masa corporal inicial varió entre 257 g, en el que recibiría hemicelulosas, y 312 g en el que recibiría pectinas (Figura 4.3 B).

En las ratas sanas no hubo diferencia estadística en el efecto de los polisacáridos administrados ( $p = 0.104$ ) sobre la masa corporal, pero sí hubo diferencia a través del tiempo ( $p < 0.001$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido fue significativa ( $p = 0.047$ ). En general, la masa corporal de las ratas sanas se incrementó con el tiempo (Anexos, Cuadro A-5); al inicio (semana cero en la Figura 4.3 A) su masa promedio fue  $305 \pm 28$  g y al final promedió  $347 \pm 23$  g. La interacción tiempo\*tipo de polisacárido consistió en que todos los grupos ganaron masa con el tiempo pero en diferente proporción. El grupo que ganó más masa (56 g) fue el que recibió pectinas; mientras que el testigo tuvo la ganancia menor (19 g) respecto a su masa inicial (Cuadro 4.3).

Antes de seleccionar los grupos para el estudio, la masa promedio de las ratas diabéticas fue  $311 \pm 27.4$  g; durante el periodo de inducción de la diabetes, las ratas perdieron 20 g en promedio; así que, al inicio de la administración intragástrica de agua y polisacáridos la masa media de los grupos enfermos (semana cero en la Figura 4.3 B) fue  $291 \pm 26$  g. En el grupo de animales diabéticos sí hubo diferencia estadística en el efecto de los polisacáridos ( $p \leq 0.05$ ) y en el tiempo ( $p < 0.001$ ); además, la interacción tiempo\*tipo de polisacáridos fue significativa ( $p \leq 0.05$ ). Todos los grupos de ratas diabéticas perdieron masa desde la inducción de la enfermedad, pero la magnitud de la pérdida de masa fue distinta en el tiempo, por lo que la interacción tiempo\*tipo de polisacárido fue significativa para esta variable (Anexos, Cuadro A-6). El grupo testigo tuvo la pérdida menor de masa (8 g) y las que recibieron pectinas tuvieron la pérdida mayor (64 g) (Cuadro 4.3).

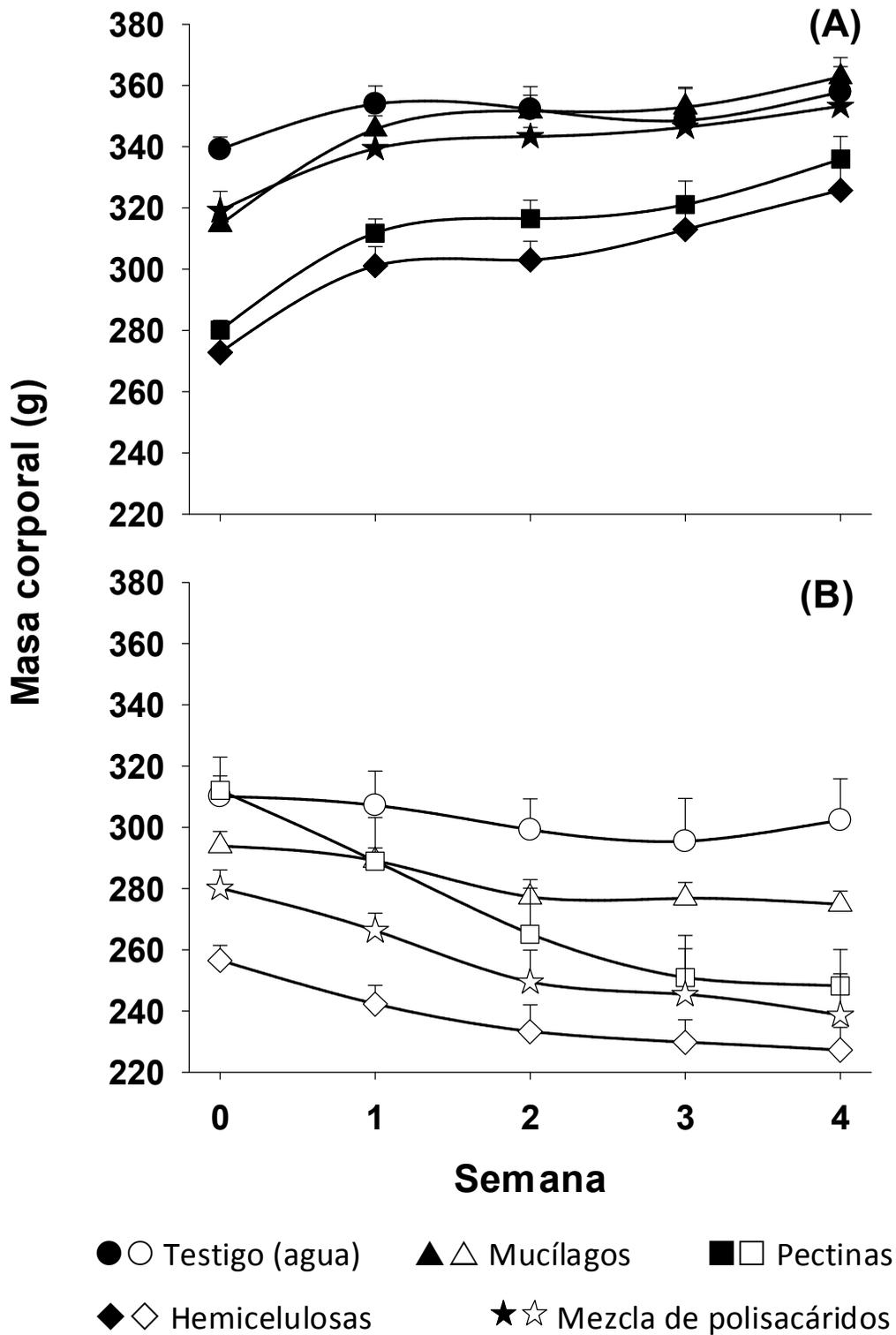


Figura 4. 3. Masa corporal de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.

La prueba *t* de Student mostró que todos los grupos, excepto el testigo diabético, modificaron significativamente ( $p \leq 0.05$ ) su masa corporal final respecto a la inicial (Cuadro 4.3).

**Cuadro 4. 3. Comparación (pruebas de *t*) de la masa corporal (g) de ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

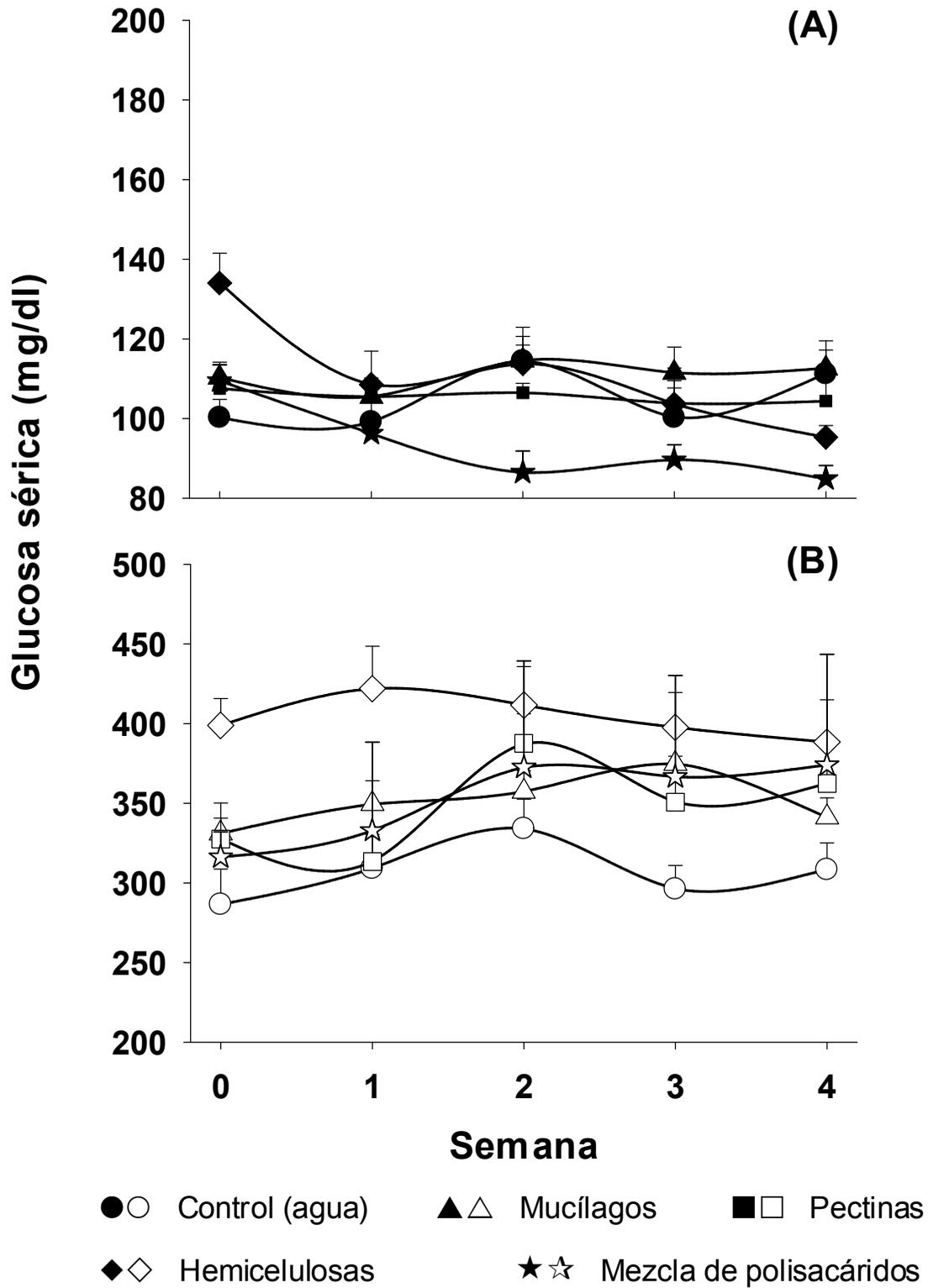
Estado de salud/Extracto	Sanas	Diabéticas
Agua	* (+) 18.7	NS (-) 7.8
Mucílago	** (+) 48.2	** (-) 19.0
Pectina	** (+) 55.8	** (-) 63.8
Hemicelulosas	** (+) 53.0	** (-) 29.3
Mezcla	** (+) 34.1	* (-) 41.4

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) de la masa corporal (g). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \*  $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

#### IV.1. VARIABLES BIOQUÍMICAS

##### Glucosa

En las ratas sanas sí hubo diferencia significativa en el efecto de los polisacáridos ( $p = 0.005$ ); aunque, en general la glucemia no cambió en el tiempo ( $p = 0.128$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido no fue significativa ( $p = 0.231$ ). El Cuadro A-7 muestra con más detalle el resultado de este análisis. La glucemia promedio de las ratas sanas antes de la administración intragástrica de agua y polisacáridos (semana cero en la Figura 4.4 A) fue  $112 \pm 17$  mg/dl; destacó el grupo seleccionado para recibir hemicelulosas, ya que su glucemia era mayor ( $p = 0.002$ ) que la del resto de los grupos. Al comparar la glucemia inicial y la final de las ratas sanas mediante pruebas de *t* de Student se encontró que el cambio fue significativo sólo en los grupos que recibieron hemicelulosas y la mezcla de polisacáridos (Cuadro 4.4).



**Figura 4. 4. Glucemia de ayuno de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.**

En las ratas diabéticas no se encontró diferencia significativa en el efecto de los polisacáridos en la glucemia ( $p = 0.357$ ), también hubo diferencia de su efecto en el tiempo ( $p = 0.016$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido sí fue significativa ( $p = 0.029$ ). La glucemia promedio de las ratas diabéticas antes de la administración intragástrica de agua y polisacáridos (semana cero en la Figura 4.4 B) fue  $332 \pm 55$  mg/dl, y después de cuatro semanas de recibir esos compuestos se incrementó hasta  $355 \pm 62$  mg/dl. La comparación de la glucemia inicial y final de cada grupo de ratas, mediante pruebas de  $t$  de Student, indicó que el efecto del tratamiento no fue significativo en ninguno de los grupos diabéticos (Figura 4.4).

**Cuadro 4. 4. Comparación (pruebas de  $t$ ) de la glucemia (mg/dl) basal de ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Estado de salud/Extracto	Sanas	Diabéticas
Agua	NS (+) 4.873	NS (+) 21.80
Mucílago	NS (+) 2.352	NS (+) 10.07
Pectina	NS (-) 3.13	NS (+) 34.83
Hemicelulosas	** (-) 38.79	NS (-) 10.49
Mezcla	** (-) 24.64	NS (+) 57.72

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) de la glucemia (mg/dl). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \* $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

### **Colesterol**

En las ratas sanas el promedio del colesterol sérico inicial fluctuó entre 53 mg/dl, en el grupo seleccionado como testigo, y 66 mg/dl, en el seleccionado para recibir la mezcla de polisacáridos (Figura 4.5 A), sin diferencia significativa ( $p = 0.2$ ) entre ellos. Sí hubo diferencia significativa ( $p = 0.038$ ) en el efecto de los polisacáridos en la concentración sérica de colesterol de los animales sanos, también hubo diferencia a través del tiempo ( $p < 0.001$ ), y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido fue significativa ( $p < 0.001$ ).

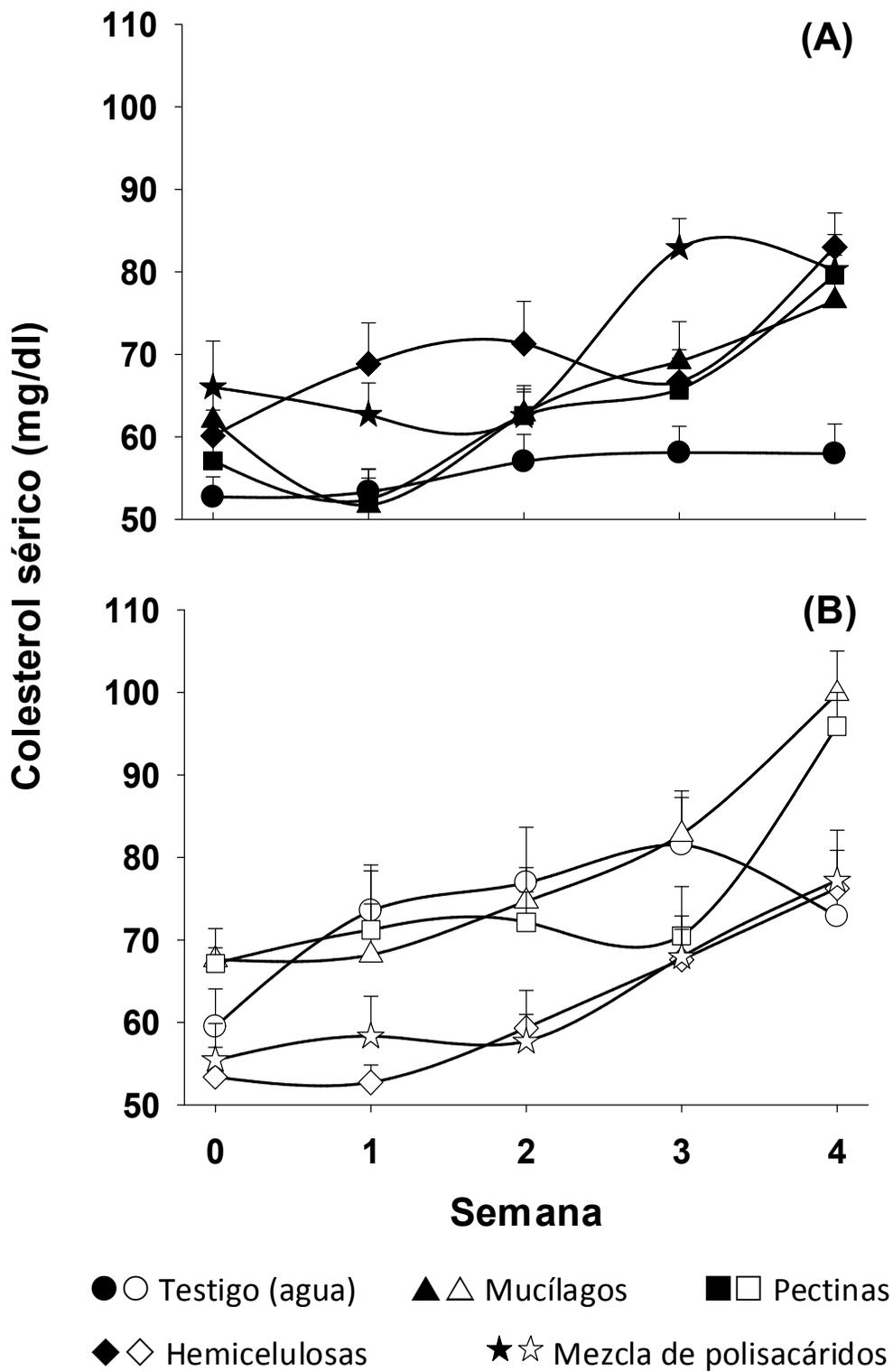


Figura 4. 5. Concentración de colesterol sérico de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.

Después de cuatro semanas de la administración de polisacáridos, la cantidad de colesterol sérico incrementó ( $p \leq 0.05$ ) en los grupos sanos que recibieron pectinas y hemicelulosas (39 y 38 %, respecto al inicial respectivo); el incremento se dio entre la tercera y cuarta semana (Figura 4.5 A; Cuadro A-9). En promedio, el colesterol en las ratas sanas incrementó 27 %, de  $60 \pm 10$  mg/dl a  $75 \pm 13$  mg/dl.

En las ratas diabéticas no hubo diferencia ( $p = 0.178$ ) en el efecto de los polisacáridos en el colesterol, pero sí la hubo en el tiempo ( $p < 0.001$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido fue significativa ( $p = 0.003$ ). En el extremo inferior (53 mg/dl) del intervalo de la colesterolemia inicial estuvo el grupo seleccionado para recibir hemicelulosas, y en el superior (68 mg/dl) el grupo seleccionado para recibir los mucílagos (Figura 4.5 B). Cabe señalar que estos grupos fueron los únicos que se ajustaron a la tendencia general, que fue el incremento de la colesterolemia semana tras semana (Figura 4.5 B; Cuadro A-10). En promedio, el colesterol de las ratas diabéticas incrementó de  $61 \pm 11$  mg/dl a  $84 \pm 16$  mg/dl (39 %). La prueba  $t$  de Student indicó que el cambio entre la cantidad de colesterol inicial y final fue significativo en todos los grupos. El testigo tuvo el incremento menor (22 %) y el mayor lo presentaron las ratas a las que se les administró mucílagos (48 %).

**Cuadro 4. 5. Comparación (pruebas de  $t$ ) de la concentración sérica de colesterol (mg/dl) de ratas sanas y diabéticas antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Estado de salud/Extracto	Sanas	Diabéticas
Agua	NS (+) 5.24	** (+) 13.38
Mucílagos	NS (+) 14.50	** (+) 32.24
Pectinas	** (+) 22.52	** (+) 28.75
Hemicelulosas	** (+) 22.86	** (+) 22.90
Mezcla	NS (+) 14.22	* (+) 21.80

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) del colesterol sérico (mg/dl). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \*  $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

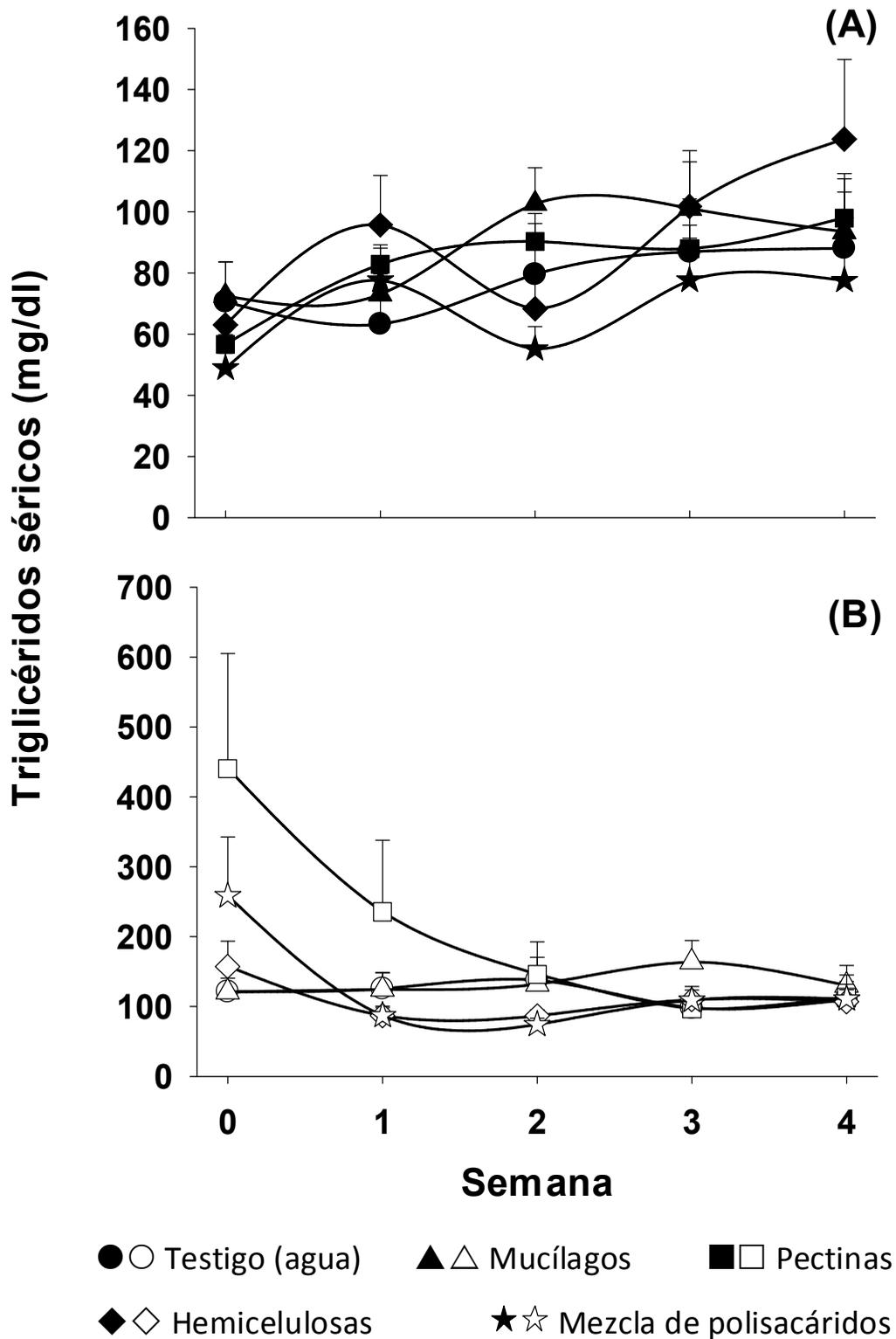
## Triglicéridos

En promedio, los grupos sanos iniciaron con  $62 \pm 23$  mg/dl (semana cero en la Figura 4.6 A) y los grupos enfermos con  $220 \pm 231$  mg/dl. No hubo diferencia significativa en la cantidad de triglicéridos inicial entre grupos sanos ( $p = 0.352$ ) ni entre los diabéticos ( $p = 0.069$ ).

En las ratas sanas no hubo diferencia estadística ( $p = 0.458$ ) en el efecto de los polisacáridos, pero sí la hubo en el tiempo ( $p = 0.032$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido no fue significativa ( $p = 0.243$ ). En promedio, los grupos sanos iniciaron con  $62 \pm 23$  mg/dl (semana cero en la Figura 4.6 A) y no hubo diferencia significativa ( $p = 0.352$ ) en su concentración inicial de triglicéridos. Estos grupos presentaron fluctuaciones en el tiempo y, en general, sus triglicéridos se incrementaron (Figura 4.6 A; Cuadro A-11).

En las ratas diabéticas no hubo diferencia ( $p = 0.428$ ) en el efecto de los polisacáridos, no la hubo en el tiempo ( $p = 0.501$ ) y la interacción tiempo\*tipo de polisacárido no fue significativa ( $p = 0.086$ ). En estos grupos hubo heterogeneidad amplia pero no significativa ( $p = 0.069$ ) del contenido inicial de triglicéridos séricos, que en promedio fue  $220 \pm 231$  mg/dl. En los grupos seleccionados para recibir pectinas y la mezcla de polisacáridos, algunas ratas presentaron concentraciones de triglicéridos significativamente elevadas respecto al resto; por lo que, el promedio inicial de estos grupos fue mayor que el de los otros (el triple y el doble, respectivamente), pero debido a la gran variabilidad no hubo diferencia significativa.

La prueba *t* de Student demostró que el efecto de los polisacáridos fue significativo únicamente en los grupos sanos que recibieron pectinas y hemicelulosas y en el grupo diabético que recibió pectinas, en el que la disminución fue de 328 mg/dl (75 %) (Cuadro 4.6).



**Figura 4. 6.** Concentración de triglicéridos séricos de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.

**Cuadro 4. 6. Comparación (pruebas de *t*) de la concentración de triglicéridos séricos (mg/dl) de ratas sanas y diabéticas, antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Estado de salud/Extracto	Sanas	Diabéticas
Agua	NS (+) 17.52	NS (-) 11.71
Mucílago	NS (+) 20.97	NS (+) 9.40
Pectina	** (+) 41.33	* (-) 327.50
Hemicelulosas	* (+) 60.79	NS (-) 50.39
Mezcla	NS (+) 28.65	NS (-) 147.71

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) de los triglicéridos séricos (mg/dl). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \*  $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

### **Insulina**

No hubo diferencia ( $p = 0.242$ ) en el efecto de los polisacáridos en la insulina sérica de las ratas sanas. El contenido medio inicial de insulina en estos animales fue  $1.9 \pm 0.6 \mu\text{UI/ml}$ , y al finalizar la cuarta semana de tratamientos promedió  $1.7 \pm 0.4 \mu\text{UI/ml}$ . Todos los grupos sanos, excepto el que recibió agua, presentaron disminución de la insulina; sin embargo, las pruebas *t* de Student indicaron que el efecto fue significativo sólo con la mezcla de polisacáridos (Cuadro 4.7), en este caso la disminución representó 13 % del valor original.

El contenido medio inicial de insulina sérica del grupo de ratas diabéticas fue  $2.3 \pm 1.1 \mu\text{UI/ml}$  y la variabilidad fue mayor en estos grupos. Tampoco hubo diferencia significativa en el efecto de los polisacáridos ( $p = 0.134$ ). Todos los grupos de ratas diabéticas, excepto el testigo, presentaron incremento de la insulina (Figura 4.7); aunque, al finalizar las cuatro semanas de administración de polisacáridos, el incremento fue significativo únicamente en los grupos que recibieron mucílagos y pectinas (Figura 4.7 B; Cuadro 4.7). En el primer caso la insulina aumentó a  $4.5 \mu\text{UI/ml}$  y en el que recibió pectinas se alcanzó  $3.5 \mu\text{UI/ml}$ . En promedio, la insulina de las ratas diabéticas fue  $3.5 \pm 1.8 \mu\text{UI/ml}$  después de la cuarta semana de los tratamientos con polisacáridos.

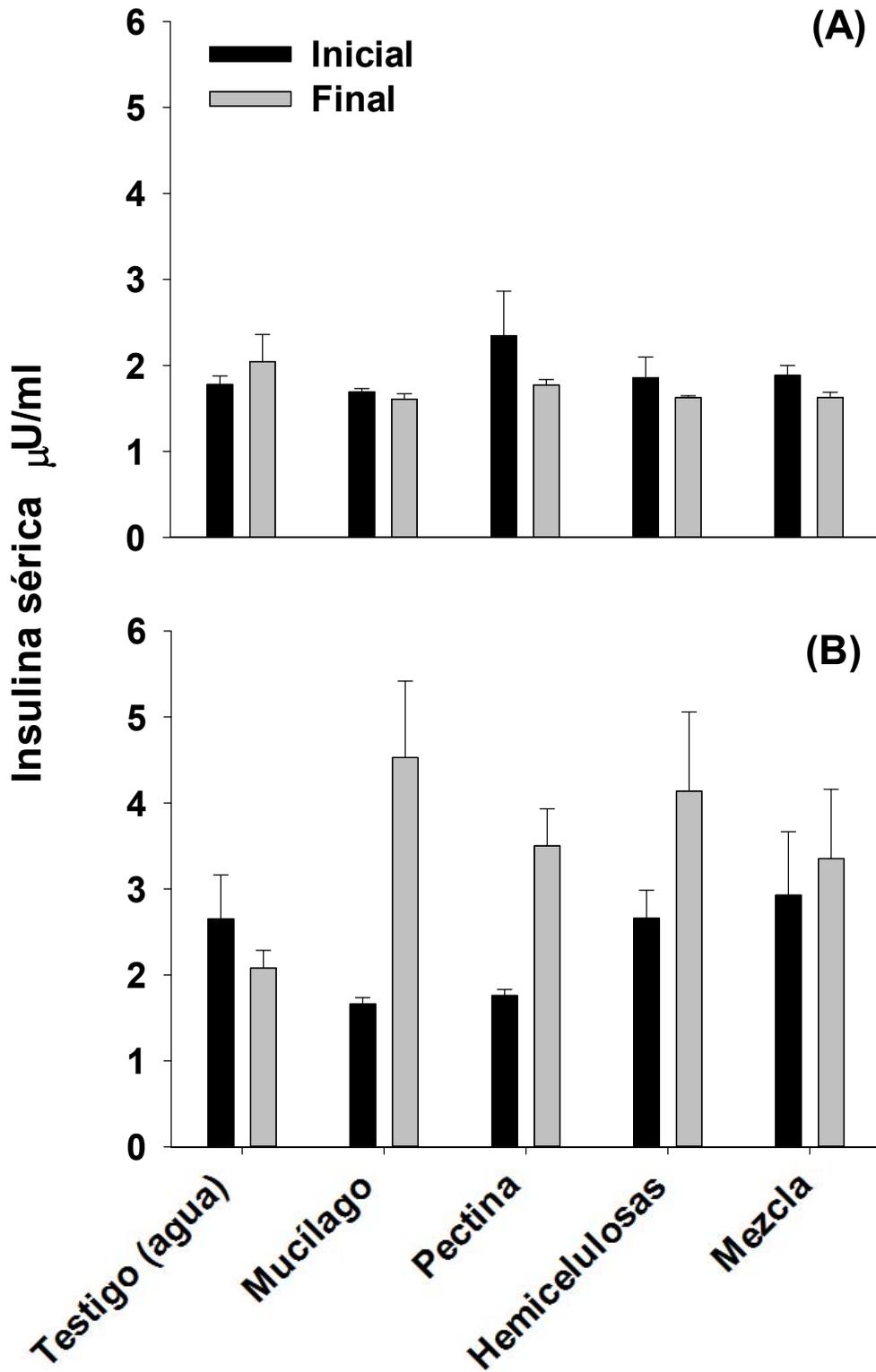


Figura 4. 7. Insulina sérica de ratas sanas (A) y diabéticas (B) con administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) aislados de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*); n = 6.

**Cuadro 4. 7. Comparación (pruebas de *t*) de la concentración de insulina sérica ( $\mu\text{UI/ml}$ ) de ratas sanas y diabéticas antes y después de cuatro semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Estado de salud/Extracto	Sanas	Diabéticas
Agua	NS (+) 0.27	NS (-) 0.57
Mucílago	NS (-) 0.08	* (+) 2.87
Pectina	NS (-) 0.57	** (+) 1.74
Hemicelulosas	NS (-) 0.23	NS (+) 1.48
Mezcla	* (-) 0.26	NS (+) 0.43

Se indica la magnitud del incremento (+) o disminución (-) de la insulina sérica ( $\mu\text{UI/ml}$ ). NS = No significativa con  $\alpha = 0.05$ . \*  $\alpha = 0.05$ . \*\*  $\alpha = 0.01$ .

## IV.2. LESIÓN CELULAR

Las pruebas de  $\chi^2$  demostraron que hubo diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ) entre los estados de salud en dos tipos de lesiones: esteatosis microvesicular y degeneración del riñón. La esteatosis hepática microvesicular se presentó en 33 % de las ratas sanas y 40 % de las diabéticas. La comparación del número de casos con estas afectaciones en cada estado de salud, mediante la prueba  $\chi^2$ , indicó que no hubo diferencia significativa. Sin embargo, la comparación de los promedios (Cuadro 4.8) porcentuales de los casos con esteatosis indicó que sí existió diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ) entre los estados de salud. En el grupo sano, el único tratamiento que se diferenció significativamente ( $\alpha = 0.05$ ) de su testigo fue el grupo que recibió hemicelulosas. En los grupos diabéticos todos los tratamientos, excepto el que recibió mucílagos, se diferenciaron de su testigo diabético, con porcentajes menores de esteatosis. En 33 % de las ratas sanas y 80 % de las diabéticas, se presentó vacuolización hidrópica en el túbulo renal. La esteatosis macrovesicular se presentó en 13 % de las ratas sanas y 33 % de las diabéticas. Las lesiones ateroscleróticas sólo se presentaron en 13 % de las ratas sanas. No se presentaron microtrombos en la piel de ninguna de las ratas (Cuadro 4.9). Cabe señalar que 47 % de las ratas

sanas y 27 % de las ratas diabéticas presentaron congestión en el miocardio. También se presentó congestión en los riñones de 53 % de las ratas sanas y 33 % de las diabéticas.

**Cuadro 4. 8. Presencia de esteatosis hepática microvesicular (%) en ratas sanas y diabéticas después de ocho semanas de la administración intragástrica diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*). N = 3.**

Tratamiento	Hígado	Tratamiento	Hígado
	Esteatosis microvesicular (%)		Esteatosis microvesicular (%)
SANAS		DIABÉTICAS	
Agua	3.33	Agua	31.67
Mucílago	3.33	Mucílago	40.00
Pectina	3.33	Pectina	3.33
Hemicelulosas	16.67	Hemicelulosas	13.33
Mezcla	0	Mezcla	0
PROMEDIO	5.33	PROMEDIO	17.67

**Cuadro 4. 9. Frecuencia de lesiones en el hígado, corazón, riñones y piel de ratas sanas y diabéticas, después de ocho semanas de la administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*). N = 3**

Tratamiento	Hígado	Corazón	Riñón	Piel
	Esteatosis Macro-vesicular	Lesiones atero-escleróticas	*Cambios degenerativos	Microtrombos
SANAS				
Agua	0	0	1	0
Mucílago	0	0	1	0
Pectina	0	0	1	0
Hemicelulosas	2	2	1	0
Mezcla	0	0	1	0
TOTAL	2	2	5	0
DIABÉTICAS				
Agua	2	0	3	0
Mucílago	2	0	2	0
Pectina	1	0	3	0
Hemicelulosas	0	0	3	0
Mezcla	0	0	1	0
TOTAL	5	0	12	0

\*Diferencia significativa con  $\alpha = 0.05$ .

## CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

El consumo de agua mayor (más del doble) por las ratas diabéticas respecto a las sanas (Figura 4.1, Cuadro 4.1) es una alteración común y ha sido explicado como un efecto del exceso de glucosa en sangre ( $> 250$  mg/dl, en humanos), que altera la capacidad del riñón para retenerla y tiende a liberarse por la orina (glucosuria); la liberación es acompañada de cantidades de agua mayores a las normales ( $< 3L/24$  h, en humanos). Esto ocasiona que el enfermo incremente el número y cantidad de micciones (poliuria, poliuria). La pérdida abundante de líquido genera la necesidad de beber agua en demasía (polidipsia) (Porepa *et al.*, 2001; Sánchez y Leon, 2001).

La disminución del consumo de agua por las ratas sanas del testigo y sanas que recibieron mucílagos (Figura 4.1; Cuadro 4.1) puede deberse a un efecto de dilución o hipo-osmolalidad del fluido extracelular. En el primer caso este efecto parece haberse generado por la administración directa de agua (1.6 – 1.9 ml/día) al estómago; y en el segundo caso, además del efecto anterior, los mucílagos pudieron haber unido iones (Miller *et al.*, 2008), con la consecuente disminución de su biodisponibilidad, y por consiguiente, su concentración en el fluido extracelular y la condición de hipo-osmolalidad.

En general, los organismos no toleran las alteraciones de la concentración de los electrolitos en los fluidos corporales; por lo que requieren corrección inmediata mediante procesos como: consumo de líquidos, producción de orina, sudoración, u otros. La dilución del fluido extracelular es un factor potente para la satisfacción de la sed, incluso prevalece sobre la deshidratación, que generalmente estimula la sed. Ejemplo de lo anterior es la pérdida de agua y minerales como resultado del ejercicio vigoroso; si el organismo recibe únicamente agua, la sed será saciada eventualmente, aunque la deshidratación persista, eso evitará que los fluidos corporales se diluyan excesivamente y es la razón por la que se recomienda consumir agua con electrolitos después del ejercicio (Nicolaidis, 1998). Así, existe la posibilidad de que si se hubiera usado solución fisiológica (Bwititi *et al.*, 2001) en

lugar de agua, como tratamiento del grupo testigo y como vehículo para los polisacáridos, no hubiera disminuido el consumo de agua.

En el caso en el que las ratas diabéticas disminuyeron el consumo de agua, respecto a las diabéticas testigo, al recibir pectinas, existe la posibilidad del efecto hiposmolalidad, como el del agua y los mucílagos, e hipovolemia (disminución del volumen de sangre circundante en el cuerpo), debida a la extracción semanal de sangre y recuperación lenta de los individuos.

En relación con lo anterior, el volumen de sangre de las ratas Wistar puede ser calculado mediante la siguiente relación propuesta por Lee y Blaufox (1985):

$$\text{Volumen de sangre (ml)} = 0.06 \times \text{masa corporal (g)} + 0.77$$

De acuerdo con esta ecuación, el volumen promedio de sangre de los grupos sanos al inicio del estudio fluctuó entre 17.1 y 21.1 ml, para los grupos con menor y mayor masa corporal (273 y 339 g), respectivamente. De acuerdo con las indicaciones del Comité Institucional de Uso y Cuidado Animal de la Universidad de Minnesota, si se requiere una muestra de sangre semanal, la cantidad máxima que debería extraerse a cada animal equivale a 0.5 % de su masa corporal. En el caso de las ratas sanas podría haberse extraído entre 1.4 y 1.7 ml; sin embargo, se extrajo únicamente 0.6 ml (600 ml). Si el volumen extraído es menor que el máximo calculado como adecuado, puede esperarse que un animal sano restablezca los niveles sanguíneos a la tasa de 1 ml/kg d (University of Minnesota, 2006). Esto indica que las ratas sanas recuperaban su volumen normal de sangre entre los dos y tres días posteriores a cada sangría; sin embargo, existe la posibilidad de que no haya ocurrido la recuperación con la misma velocidad en las ratas diabéticas.

La diabetes, como enfermedad crónica, conduce al desarrollo de complicaciones como nefropatía diabética (alteraciones microvasculares renales) y debido a que los riñones son los órganos responsables de la regulación de la eritropoyesis (proceso

de formación de eritrocitos), la anemia es común en pacientes diabéticos, principalmente en los que las alteraciones renales están avanzadas (Adamson *et al.*, 1968; Thomas *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2005; Mehdi y Toto, 2009). El hecho de que 33 % de las ratas sanas y 80 % de las ratas diabéticas presentaran alteraciones degenerativas en los riñones permite asegurar, con cierta certeza, que la tasa de recuperación de los constituyentes sanguíneos de las ratas diabéticas fue menor que en las sanas, o que el daño impidiera cualquier recuperación. Si este fuera el caso, la disminución del volumen sanguíneo hubiera sido acumulada en el tiempo, y después de la tercera sangría (al finalizar la segunda semana de tratamiento) las ratas diabéticas ya tendrían un déficit de 9.5 a 11.7 % (1.8 ml) respecto del volumen sanguíneo inicial. En relación con el déficit sanguíneo, en ratas se ha demostrado que la disminución de entre 8 y 10 % del volumen sanguíneo estimula la secreción de arginina vasopresina (una hormona que causa antidiuresis, es decir, disminución del volumen de orina) y otras hormonas que actúan directa o indirectamente en la retención de agua y sodio. Es probable que en las ratas diabéticas se hayan presentado estímulos contradictorios: a) corregir el déficit de agua ocasionado por la poliuria, b) evitar la hipovolemia y c) evitar la dilución sanguínea. Los estímulos a) y b) incrementarían el consumo de agua, mientras que el estímulo c) activaría mecanismos de retención de líquidos (como la antidiuresis) y posiblemente disminuiría el consumo de agua. El sistema nervioso central es el encargado de ponderar estas necesidades y poner en marcha el mecanismo adecuado para mantener el flujo sanguíneo en regiones críticas como el corazón, sin permitir la dilución excesiva de la sangre (Dunn *et al.*, 1973; Nicolaidis, 1998; McKinley y Johnson, 2004).

Aunque, se ha sugerido que para evitar la deshidratación e hipovolemia, en animales sometidos a extracción de sangre, se recomienda reemplazar el volumen extraído con algún fluido isotónico, como solución fisiológica (NaCl 0.9 %) (University of Minnesota, 2006; The University of Mississippi, 2010), no se encontró algún estudio similar al presente en el que se hubiera llevado a cabo dicho reemplazo (Hu *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2006; Paiz *et al.*, 2010).

El consumo de alimento fue mayor en las ratas diabéticas que en las sanas (Figura 4.2 A-B). Esto pudo deberse a que la administración de STZ ocasiona la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas y, en consecuencia, la depleción de insulina, lo que a la vez ocasiona que las células no utilicen la glucosa como fuente principal de energía. Como resultado, entre otras cosas, el individuo muestra una sensación de hambre exagerada (polifagia). Sin embargo, la insulina se incrementó en los animales enfermos después de cuatro semanas de tratamiento (Figura 4.7, Cuadro 4.7). Lo anterior permite suponer que la porción de células  $\beta$  que no fue afectada por la STZ incrementó su producción de insulina; aunque, debido a su resistencia a la insulina, los animales diabéticos la acumularon (Figura 4.7). Por otra parte, es probable que si el alimento se hubiera proporcionado *ad libitum*, la diferencia entre ambos estados de salud se hubiera incrementado (Akbarzadeh *et al.*, 2007; Hsien-Tsung *et al.*, 2008).

La disminución de alimento consumido por las ratas sanas que recibieron mucílago (9% respecto a su consumo inicial) (Figura 4.2; Cuadro 4.2), pudo ser resultado de la sensación de saciedad producida por el polisacárido. Ya que, de acuerdo con Burton-Freeman (2000) la fibra alimentaria contribuye a la satisfacción del apetito mediante mecanismos mecánicos durante el consumo del alimento y, además, incrementa la duración de esta sensación, ya que prolonga la fase de absorción en el intestino delgado. Así, destacaron los efectos fisiológicos diferentes de los grupos de polisacáridos; pues, no todos generaron disminución del consumo de alimento (Figura 4.2 A). Bwititi *et al.* (2000) obtuvieron resultados parcialmente similares a los del presente estudio, ya que la administración de un extracto etanólico de cladodios de *O. megacantha* disminuyó el consumo de alimento de ratas sanas y diabéticas respecto de sus grupos control (ratas sanas y diabéticas que no recibieron el extracto).

En los grupos de ratas diabéticas la interacción tiempo\*tipo de polisacárido no fue significativa para la cantidad de alimento consumido; esto indica que todos los grupos diabéticos tuvieron el mismo comportamiento en el tiempo: su consumo de

alimento se mantuvo sin cambios significativos. El incremento del consumo de alimento de las ratas diabéticas que recibieron hemicelulosas (después de cuatro semanas) fue significativo y representó 8 % de su consumo inicial, e indica que el apetito ocasionado por la enfermedad fue un factor más potente que la sensación de saciedad que pudiera haber ocasionado este grupo de polisacáridos. Sin embargo, el hecho de que en los demás grupos diabéticos el incremento del consumo de alimento no haya sido significativo, no debe interpretarse como una mayor sensación de saciedad producida por los polisacáridos; ya que las ratas consumían casi toda su ración de alimento (20 g de alimento/d) desde la inducción de la enfermedad. En relación con esto, Paiz *et al.* (2010) proporcionaron la misma cantidad de alimento utilizada en este estudio (20 g) a ratas diabéticas con masa corporal similar (250 – 300 g). Por otra parte, Hu *et al.* (2006) y Liu *et al.* (2006) reportaron un consumo aproximado de 40 g de alimento diarios, por ratas con diabetes inducida con STZ.

Respecto a la masa corporal, después de cuatro semanas de tratamiento ésta incrementó en las ratas sanas (14 %) y disminuyó en las ratas diabéticas (11 %) (Figura 4.3). Ambas respuestas pueden ser consideradas normales. En el primer caso, aunque se utilizaron ratas adultas (> 7 semanas), las incluidas en el estudio aún estaban en crecimiento. Además, los especímenes de la cepa Wistar pueden llegar a pesar más de 500 g (Liu *et al.*, 2006). Es probable que las ratas enfermas perdieron peso debido al catabolismo excesivo de proteínas y grasas, lo que compensa la inhabilidad del organismo para usar carbohidratos como fuente de energía (Sánchez y Leon, 2001). En los humanos con DM2 esta inhabilidad es resultado de la combinación de dos factores: producción insuficiente y uso deficiente de insulina (OMS, 2010). Sin embargo, de acuerdo con lo señalado por Junod *et al.*, (1969) y Akbarzadeh *et al.* (2007) puede asegurarse que en las ratas del presente estudio la inhabilidad para usar adecuadamente los carbohidratos se debió a la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas, ocasionada por la STZ.

Los resultados del presente estudio contrastaron con los de otros estudios en los que se evaluó el efecto de fibra alimentaria de diversas fuentes y mostraron que ratas

con diabetes, adquirida por STZ, ganan masa corporal, aunque esa ganancia es menor que en los animales sanos (Hu *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2008; Yao *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2010). La diferencia entre esos estudios y el presente fue el acceso libre al alimento, lo que pudo haber generado la discrepancia entre los resultados. En otros estudios, como el de Paiz *et al.* (2010), el alimento también fue restringido a 20 g/d; sin embargo, las ratas recibieron una dosis subcutánea de insulina cada 12 h, lo que seguramente mitigó los síntomas de la enfermedad.

En el presente estudio, también se observó que los grupos control de ambos estados de salud presentaron los cambios menores en la masa corporal (Figura 4.3, Cuadro 4.3); además, la disminución de la masa corporal del grupo diabético no fue significativa ( $p > 0.05$ ). En contraste, las ratas que recibieron pectina tuvieron la mayor ganancia (20 %) de masa corporal en el estado sano, y la mayor pérdida (20 %) en el estado diabético, respecto a su masa corporal inicial (Figura 4.3; Cuadro 4.3). Estos efectos son sobresalientes, pues indican que el estado de salud del animal parece modular el efecto de los polisacáridos estructurales, particularmente del grupo de las pectinas, en la masa corporal. Sin embargo, la masa corporal es resultado del metabolismo correcto o alterado del individuo y de su interacción con el ambiente, por lo que podrían esperarse efectos opuestos de los polisacáridos en diferentes parámetros fisiológicos en dependencia del estado de salud.

En cuanto a la glucemia, las ratas sanas tuvieron menor concentración de glucosa que las ratas diabéticas, durante las cuatro semanas de tratamiento. Al inicio la glucemia promedió 111.7 mg/dl (6.2 mmol/L) en las ratas sanas, así que se encontraba en el intervalo considerado normal para las ratas Wistar: 91 a 166 mg/dl (5.1 a 9.2 mmol/L) (Boehm *et al.*, 2007). Esta condición fue modificada por las hemicelulosas de xoconostle (Figura 4.4; Cuadro 4.4); ya que, separadas o mezcladas con los otros polisacáridos (*i.e.* mucílagos y pectinas) ocasionaron disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de la glucosa de los grupos que recibieron dichos tratamientos. Aunque en el primer grupo la disminución fue significativa, al finalizar la cuarta semana de tratamiento la glucosa continuaba dentro del intervalo normal (5.3

mmol/L o 95 mg/dl). Este efecto fue potenciado por la presencia de los otros grupos de polisacáridos, ya que la mezcla ocasionó disminución de la glucosa hasta 4.7 mmol/L (85 mg/dl), un nivel anormalmente bajo, de hipoglucemia.

La hipoglucemia en los humanos puede tener varias causas, entre ellas está la secreción excesiva de insulina, anomalías en el almacenamiento de carbohidratos, desnutrición, dosis excesiva de hipoglucemiantes, entre otras (Manual Merck de Información Médica para el Hogar, 2005). En el presente estudio, la causa principal de la disminución de la glucemia parece haber sido el efecto del grupo de hemicelulosas, ya que los otros tratamientos no presentaron ese efecto. El mecanismo por el que las hemicelulosas ocasionaron la disminución de la glucemia puede estar relacionado con la disminución general de la absorción de azúcares, el incremento en la secreción de insulina, o ambos. Sin embargo, es posible descartar el segundo caso, ya que la concentración sanguínea de insulina no se incrementó en el grupo de ratas sanas al que se administró hemicelulosas. Se ha señalado que los polisacáridos probablemente forman cadenas o redes moleculares que atrapan otros carbohidratos, lo que impide su absorción (Tunghland y Meyer, 2002); sin embargo, este mecanismo para disminuir o retrasar la absorción de azúcares y otros nutrientes, ha sido descrita para otros grupos de fibras solubles, como mucílagos y pectinas (Tunghland y Meyer, 2002). Así, los resultados del presente estudio permiten sugerir que las hemicelulosas (solubles e insolubles, como la mezcla evaluada en este estudio) pueden compartir mecanismos similares a los de otros grupos de polisacáridos de la fibra de los alimentos que atrapan nutrimentos. Además, es probable los polisacáridos de la fibra soluble e insoluble amplifiquen su efecto al estar mezclados.

La mezcla de los polisacáridos incrementó significativamente ( $p < 0.05$ ) la glucemia de las ratas diabéticas después de cuatro semanas. En contraste, los tres grupos de polisacáridos separados, *i.e.* mucílagos, pectinas y hemicelulosas, mantuvieron la glucemia sin cambios significativos. Este efecto debe ser considerado positivo, ya que la hiperglucemia sin ningún tipo de control tiende a agravarse con el tiempo

(Yang *et al.*, 2008; Eliza *et al.*, 2009); sin embargo, el grupo control (que recibió agua) también mostró esta tendencia. Este resultado indica que la estabilidad de la glucemia no es atribuible únicamente al efecto de los polisacáridos. Sin embargo, otro factor debe incorporarse a este análisis: la heterogeneidad inicial de la hiperglucemia de los grupos. Aunque los grupos diabéticos fueron formados aleatoriamente, aquél que se usó como testigo inició el estudio con la glucemia menor (286 mg/dl) entre los grupos diabéticos. Esto podría haber permitido la estabilidad del testigo.

El efecto hipoglucemiante postprandial de los nopales (*Opuntia* spp.) ha sido demostrado por Luo *et al.* (2010) y Paiz *et al.* (2010). En el primer caso, fueron proporcionados diferentes extractos de nopal (*O. ficus indica* cultivar Milpa Alta) a ratones diabéticos y se comprobó su efecto significativo de reducción de la glucemia dos horas después. Similarmente, Paiz *et al.* (2010) reportaron que el extracto acuoso de frutos de *O. joconostle* redujo la glucemia de ratas diabéticas a niveles similares de ratas sanas, dos horas después de su administración. Estos resultados y los del presente estudio conducen al planteamiento de que el efecto principal de los polisacáridos de xoconostle quizá sea en la glucemia postprandial. Lo anterior conduce a la visualización de nuevas aplicaciones y explicaciones de los efectos de las especies de *Opuntia*, ya que la hiperglucemia postprandial es identificada como un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Bastyr *et al.*, 2000; Ceriello, 2005) y tiene un papel preponderante en los desequilibrios metabólicos de pacientes con diabetes moderada; en contraste, en los pacientes con diabetes descontrolada la glucemia basal tiene importancia mayor (Monnier *et al.*, 2003). Estos resultados permiten sugerir el uso de los polisacáridos de xoconostle como coadyuvantes en el tratamiento no farmacológico de la diabetes moderada.

Además de lo anterior, debe hacerse hincapié en el hecho de que la evaluación del efecto antidiabético de una sustancia no debe limitarse a la cuantificación de la glucemia basal; para evaluar el potencial completo es conveniente cuantificar también el efecto en la glucemia postprandial y, mejor aún, en la hemoglobina

glucosilada (HbA<sub>1c</sub>), la que representa la media de la glucosa sérica de los dos a tres meses previos y tiene la ventaja de que su cuantificación no requiere que el paciente esté en ayuno (Bennett *et al.*, 2007).

El nivel de colesterol de las ratas diabéticas, 75 mg/dl (1.96 mmol/L), fue superior al de las ratas sanas, 60 mg/dl (1.55 mmol/L), antes de la administración de los polisacáridos; sin embargo, no hubo diferencia significativa ( $p = 0.68$ ) entre los estados de salud y todos los grupos se encontraban dentro del intervalo señalado por Boehm *et al.* (2007) como normal para ratas Wistar: 1.1 a 2.0 mmol/L (42 a 77 mg/dl). El nivel de colesterol fluctuó durante las primeras cuatro semanas de tratamiento en la mayoría de los grupos, excepto en el grupo control de las ratas sanas, que permaneció prácticamente sin cambio, y en los demás grupos tendió a incrementarse. Con la administración de los polisacáridos la concentración promedio de colesterol de las ratas sanas (1.84 mmol/L) continuaba dentro del intervalo normal, pero en las diabéticas estaba ligeramente arriba: 84.4 mg/dl (2.19 mmol/L) en promedio.

Entre las ratas sanas la interacción tiempo\*tipo de polisacárido fue significativa ( $p \leq 0.05$ ), lo que indica que no todos los tratamientos siguieron la misma tendencia en el tiempo. Los grupos sanos que recibieron pectinas y hemicelulosas presentaron incrementos significativos en su colesterolemia, al final de la cuarta semana tenían 2.07 y 2.16 mmol/L, respectivamente; ambos sobrepasaron ligeramente el límite superior normal. Estos incrementos no son graves, ya que apenas superan el límite del intervalo, y podrían estar relacionados con la edad de las ratas, como ocurre en los humanos (Gertler *et al.*, 1950). Además, otros autores también han cuantificado concentraciones de colesterol similares a las del presente estudio, entre 70 y 80 mg/dl (1.8 a 2.1 mg/dl), en ratas Wistar sanas (Hu *et al.*, 2006; Paiz *et al.*, 2010).

En los grupos diabéticos el incremento del colesterol sérico fue significativo en todos los tratamientos (Cuadro 4.5); sin embargo, destacaron los grupos que recibieron mucílagos y pectinas, debido a que la colesterolemia de éstos superó los 95 mg/dl

(2.47 mmol/L) y contrastaron con los otros grupos enfermos, a los que se administró agua, hemicelulosas y la mezcla de polisacáridos, que tuvieron en promedio 75 mg/dl (1.95 mmol/L). A pesar del incremento, el colesterol de todos los grupos fue bajo en comparación con los valores obtenidos por otros autores (140 a 250 mg/dl) para ratas diabéticas de la misma cepa (Hu *et al.*, 2006; Eliza *et al.*, 2009).

El presente estudio difiere de otros en los que se ha evaluado el efecto de la fibra de los alimentos, de diversas fuentes, en la concentración de colesterol de ratas diabéticas (Hu *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2008; Yao *et al.*, 2008), ya que en éstos se observó disminución del colesterol sérico hasta concentraciones similares a las de ratas sanas. La diferencia pudo deberse a diversas causas, como el tipo de fibra, la fuente de su extracción, el método de extracción, la dosis, la duración del tratamiento, las condiciones de manejo de los animales, y otras. Sin embargo, hay algunas similitudes con el estudio de Paiz *et al.* (2010), ya que en éste también utilizaron frutos de xoconostle para preparar extractos acuosos que proporcionaron a las ratas (Cuadro 5.1). Los autores cuantificaron contenidos de colesterol sérico entre 80 y 90 mg/dl en las ratas diabéticas testigo, y entre 70 y 80 mg/dl en las ratas sanas y las diabéticas que recibieron el extracto de los frutos de xoconostle.

Con la finalidad de comparar las condiciones de experimentación, en el Cuadro 5.1 se presenta la información del presente estudio y la de Paiz *et al.* (2010). Destaca una diferencia, esos autores administraron insulina a las ratas diabéticas, esta acción pudo potenciar o incrementar el efecto benéfico del extracto de xoconostle proporcionado a las ratas.

**Cuadro 5. 1. Condiciones de experimentación del presente estudio y el de Paiz *et al.* (2010).**

	Este trabajo	Paiz <i>et al.</i> (2010)
Modelo animal	Ratas macho, cepa Wistar (308 ± 27.4 g)	Ratas macho, cepa Wistar (250 a 300 g)
Inducción de diabetes	45 mg de STZ*/ kg (inyección intraperitoneal)	40 mg de STZ*/kg (inyección intraperitoneal)
Alimentación	20 g/d (Rodent Laboratory Chow 5001)	20 g/d (Rodent Laboratory Chow 5001)
Tratamiento hipoglucemiante	Polisacáridos purificados aislados de frutos de xoconostle ( <i>O. matudae</i> )	Extracto acuoso de frutos de xoconostle ( <i>O. joconostle</i> )
Dosis	100 mg/kg	100 mg/kg
Vía de administración	Intragástrica	Intragástrica
Duración	4 semanas	12 semanas
Control del estado diabético	Ninguno	Insulina subcutánea de acción lenta, cada 12 h.
Extracción de muestras de sangre	Semanalmente, justo antes de proporcionar los polisacáridos	Semanalmente, 2 h después de proporcionar el extracto

\*STZ: estreptozotocina

Respecto a la trigliceridemia, al inicio hubo diferencias amplias, aunque no significativas ( $p = 0.069$ ) entre los grupos de ratas diabéticas. Aunque fueron seleccionadas al azar para formar los grupos, las diabéticas que recibirían agua (control enfermo), mucílagos y hemicelulosas iniciaron con el nivel de triglicéridos normal en ratas Wistar, 34 a 183 mg/dl (0.4 a 2.1 mmol/L), de acuerdo con Boehm *et al.* (2007). En contraste, los grupos diabéticos que recibirían la mezcla de polisacáridos y las pectinas iniciaron con niveles de triglicéridos notablemente altos, 259 y 441 mg/dl, y superiores a los valores normales. Estos resultados confirman el hecho de que los individuos sujetos a experimentación, calificados (visualmente) como sanos y con edad y tamaño estandarizado respondieron diferente al desarrollo

de la diabetes y sólo algunos individuos expresaron síndrome metabólico (diabetes y dislipidemia, o exceso de lípidos en la sangre). Específicamente, estos grupos incluyeron algunos integrantes con desequilibrio del metabolismo de lípidos. Además de la concentración alta de triglicéridos, cuantificada por el método analítico, lo anterior fue confirmado en las muestras de esos individuos por su lipemia (muestras de sangre entera, suero o plasma en las que los lípidos son evidentes a simple vista). Debido a lo anterior, la variabilidad de los triglicéridos entre los grupos fue notablemente amplia y la efectividad de los polisacáridos en esta variable se demostró únicamente en algunos tratamientos (Figura 4.6).

La evidencia de que el nivel de triglicéridos fue normal en los animales seleccionados para el estudio la presentaron los cinco grupos no diabéticos, pues todos ellos al inicio tuvieron el nivel de triglicéridos séricos entre 49 y 72 mg/dl (Figura 4.6 A), típico de ratas Wistar sanas (Boehm *et al.*, 2007). Es conveniente señalar que, en coincidencia con este estudio, en otros, las ratas sanas consideradas como testigos o controles presentaron proporciones de triglicéridos entre 50 y 100 mg/dl (Yao *et al.*, 2008; Paiz *et al.*, 2010).

El aumento de los triglicéridos de los grupos sanos después de las cuatro semanas de evaluación, de un valor medio de 62 mg/dl (0.72 mmol/L) a valores entre 88 y 124 mg/dl en dependencia del tratamiento (Figura 4.6 A), es atribuible al incremento de la edad de los individuos; ya que, de acuerdo con Reaven (1978) la capacidad de las ratas para remover los triglicéridos del plasma se deteriora con el paso del tiempo, lo que resulta en un incremento del colesterol sérico. Sin embargo, las fluctuaciones e incrementos de los triglicéridos de todos los grupos sanos continuaban dentro del intervalo normal al finalizar la cuarta semana, con valores de 88 a 124 mg/dl.

El efecto de la mezcla de polisacáridos en los triglicéridos de las ratas sanas es destacable, pues la mezcla mantuvo ese contenido en los valores menores ( $p \leq 0.05$ ) de todos los tratamientos, en los grupos sanos y en los diabéticos (Figura 4.6). Otros autores han observado efectos similares al anterior. Yao *et al.*, (2008) indicaron que

la administración de quitosano de peso molecular elevado ocasionó la disminución de los triglicéridos en ratas sanas. Por otra parte, Paiz *et al.* (2010) documentaron la disminución de los triglicéridos séricos de ratas sanas después de proporcionarles un extracto acuoso de frutos de xoconostle, durante 12 semanas, respecto a su grupo control (ratas sanas que recibieron agua).

En general, los triglicéridos de las ratas diabéticas mostraron una tendencia opuesta a la de las sanas después de las cuatro semanas de ensayo. Sin embargo, como ya se señaló, los triglicéridos de los grupos seleccionados para recibir agua (121 mg/dl), mucílago (121 mg/dl) y hemicelulosas (158 mg/dl), aunque altos, estuvieron en el intervalo normal al inicio (semana 0). Los dos primeros grupos mantuvieron los triglicéridos con pocos cambios durante las cuatro semanas; y el tercero, el que inició con la concentración mayor de triglicéridos de estos tres grupos, la disminuyó 50 mg/dl, por las hemicelulosas recibidas.

El grupo de ratas diabéticas que recibió pectinas inició con la trigliceridemia más elevada (441 mg/dl) entre los grupos de todos los tratamientos. Estos polisacáridos disminuyeron los triglicéridos desde la primera semana y después de dos semanas de recibirlos ya habían normalizado el nivel de triglicéridos del grupo y así lo mantuvieron durante las siguientes semanas; aunque, con tendencia de continuar disminuyéndolo y manteniéndolo en los niveles normales (105 mg/dl, Figura 4.6 B). Las pectinas mezcladas con los mucílago y las hemicelulosas generaron una reacción parcialmente similar a la descrita, ya que el grupo que recibió la mezcla de polisacáridos disminuyó sus triglicéridos desde 259 mg/dl (hipertrigliceridemia) hasta 111 mg/dl (trigliceridemia normal), aunque la disminución no fue significativa debido, en parte, a la gran variabilidad de los datos dentro del grupo (Figura 4.6 B). Es probable que el efecto de las pectinas mezcladas haya sido atenuado por su proporción menor en la mezcla. Además, como se indicó antes, el grupo que recibió la mezcla inició con trigliceridemia 40 % menor que el que recibió pectinas, por lo que la comparación de efectos es parcialmente incorrecta si se considera que los grupos presentaban diferente grado de alteraciones metabólicas. Así, la

concentración de triglicéridos séricos en las ratas diabéticas fue una de las variables que respondieron mejor a los polisacáridos.

El efecto de los polisacáridos de la fibra de los alimentos en la trigliceridemia ha sido documentado en ratas; aunque, en estos estudios la fibra provenía de otras fuentes, como *Pleurotus citrinopileatus* (Hu *et al.*, 2006) y camarón (Yao *et al.*, 2008). Los resultados del presente estudio son opuestos a los obtenidos por Pimienta-Barrios *et al.* (2008) en humanos que consumieron frutos de xoconostle; ya que la trigliceridemia disminuyó en las personas sanas y no se modificó en las diabéticas. Paiz *et al.* (2010) también señalaron la disminución de la trigliceridemia en las ratas sanas, pero no en las diabéticas, al recibir un extracto acuoso de frutos de xoconostle. Algunas causas que pudieron haber conducido a las discrepancias fueron discutidas en los apartados referentes a los otros parámetros bioquímicos evaluados en el presente estudio. Sin embargo, es conveniente destacar el efecto contrastante de los polisacáridos de la fibra de los alimentos en dependencia del estado de salud de los animales.

Ese efecto contrastante también se observó en la insulina sérica, ya que la interacción estado de salud\*tipo de polisacárido fue significativa, lo que indica que los tratamientos siguieron tendencias diferentes en el contenido de insulina dentro de cada estado de salud. Al inicio los grupos sanos presentaron concentración homogénea de insulina, con valor medio cercano a 2  $\mu$ UI/ml; mientras que la insulinemia de los grupos diabéticos fluctuó desde 1.8 hasta 2.9  $\mu$ UI/ml, y en promedio fue 20 % mayor respecto a los grupos sanos, aunque hubo dos grupos que presentaron concentración de insulina similar a la de ratas sanas (Figura 4.7). La insulina sérica en ratas Wistar no diabéticas, cuantificada por Akbarzadeh *et al.* (2007) es similar a la de los grupos sanos del presente estudio (2  $\mu$ UI/ml). Cabe señalar que en la literatura las unidades utilizadas para reportar insulinemia son variables ( $\mu$ U/ml, Ut/ml, mg/ml, ng/ml, mIU/l y pmol/l), lo que dificulta la comparación.

La insulina en individuos no diabéticos es secretada en cantidad directamente proporcional a la carga de carbohidratos metabolizables que recibe el organismo, aunque también se incrementa por la ingesta de aminoácidos y ácidos grasos (Dominiczak, 2005). La disminución de la insulinemia del grupo sano que recibió la mezcla de polisacáridos (Cuadro 4.7) podría interpretarse como: a) disminución de la producción de insulina o b) incremento de su utilización, pero la segunda opción concuerda con la disminución significativa de la glucemia observada en ese grupo (Cuadro 4.4). El mecanismo por el que la mezcla de polisacáridos propició mayor utilización de glucosa e insulina se desconoce, pero el hecho de que este fenómeno no se presentara con los polisacáridos administrados por separado, sugiere que la interacción entre ellos potencia su efecto.

La reacción del incremento de insulina por la diabetes ha sido descrita en humanos, y en el presente estudio se relaciona, en parte, con el compuesto usado para la inducción de la enfermedad en las ratas. La STZ es usada ampliamente para inducir diabetes en animales de experimentación y su acción es el resultado de daño a las células  $\beta$  del páncreas (Gu *et al.*, 1997; Akbarzadeh *et al.*, 2007). La aplicación intravenosa o intragástrica de varias dosis a ratones de laboratorio ocasiona: a) destrucción eventual de las células  $\beta$  productoras de insulina, b) alteración de la concentración de insulina sérica y c) diabetes mellitus. Una vez destruido cerca del 80-90 % de los islotes de Langerhans, se desencadena la sintomatología. Recientemente se ha detectado regeneración de islotes al inicio de la enfermedad, lo que explicaría el fenómeno conocido como etapa de “luna de miel”, que consiste en la caída transitoria del requerimiento de insulina asociado a una mejoría en la función de las células  $\beta$ , con el incremento consecuente de la secreción de insulina (Casares y Brumeanu, 2001; Díaz y Guzmán, 2008).

En el presente estudio la inducción de diabetes en ratas fue comprobada con la hiperglucemia, como la asegura la mayoría de los autores que han usado STZ en ratas con tal fin (Bwititi *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2008; Eliza *et al.*, 2009; Jia *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010). Sin embargo, existe información que demuestra la

inefectividad de la STZ en algunos casos. Junod *et al.* (1969) señalaron que 28 días después de la inyección de STZ, la insulinemia de ratas diabéticas puede ser similar e incluso mayor que la de ratas sanas, lo que depende de la dosis aplicada. Además, los mismos autores indicaron que si la dosis de STZ es baja (35 mg/kg) las ratas pueden presentar recuperación espontánea, evidenciada por la desaparición de síntomas como la poliuria.

Además, debe destacarse que el daño metabólico generalizado en los animales de laboratorio por STZ también ha sido descrito. Estreptozotocina en dosis de 45 a 65 mg/kg genera hiperglucemia en ratas; sin embargo, la evidencia indica que la severidad de las lesiones producidas por el compuesto en páncreas, hígado, riñones y tracto gastrointestinal incrementa progresivamente con el tiempo, entre la primera y sexta semana post-tratamiento (Piyachaturawat *et al.*, 1988; Piyachaturawat *et al.*, 1991; Zafar *et al.*, 2009 a, b).

En el presente estudio se aplicó una dosis de 45 mg STZ/kg, de acuerdo a lo señalado por Junod *et al.* (1969), Jia *et al.* (2009) y Paiz *et al.* (2010) quienes aseguraron es suficiente para inducir el estado diabético y evita que las ratas mueran, por diabetes grave u otras complicaciones por el compuesto, en el período de experimentación. Sin embargo, la heterogeneidad de la reacción a STZ entre las ratas ha sido demostrada (Piyachaturawat *et al.*, 1988; Piyachaturawat *et al.*, 1991; Zafar *et al.*, 2009 a, b), y esta parece ser la explicación de las ratas que murieron (10 %) después de la primera aplicación del compuesto, y de la proporción relativamente alta (30 %) que no presentaron hiperglucemia después de dos aplicaciones y de las que necesitaron tres aplicaciones (7 %). Además, como resultado de la reacción heterogénea y la aplicación también heterogénea de STZ, el estudio incluyó ratas con hiperglucemia y síndrome metabólico (colesterolemia y trigliceridemia además de la diabetes) heterogéneos.

Los resultados del presente estudio mostraron que después de cuatro semanas las ratas diabéticas incrementaron ( $p \leq 0.05$ ) la insulina en reacción a los mucílago y

pectinas aislados, y que esta reacción fue no significativa cuando recibieron los polisacáridos mezclados (Figura 4.7 B, Cuadro 4.7). Existe evidencia limitada para explicar este efecto, pero hubo cierto efecto positivo en la glucemia, ya que los mucílagos y pectinas, con fluctuaciones, la mantuvieron constante, en contraste con la mezcla de polisacáridos, que la incrementó. Con base en estos resultados puede afirmarse que los mucílagos y pectinas de xoconostle tienen cierta acción en las células  $\beta$  del páncreas y favorecen la producción endógena de insulina en ratas diabéticas. Ya que los polisacáridos eliminan el posible defecto secretor y la insulino deficiencia; estos resultados permiten hipotetizar que el consumo de los polisacáridos puede propiciar la disminución de la glucemia, como en las ratas no diabéticas (Figura 4.4 A), en plazos mayores que cuatro semanas.

Finalmente, los daños en los órganos se presentaron tanto en las ratas diabéticas como en las sanas. Los órganos que presentaron cambios mayores fueron el hígado y los riñones. El daño en los órganos de las ratas sanas podría ser resultado de varios factores, entre ellos el posible estrés ocasionado por el propio experimento.

La esteatosis hepática (infiltración de grasa al hígado) es una enfermedad crónica y progresiva que se presenta en reacción al estrés que generan condiciones como la obesidad, diabetes, hipercolesterolemia, consumo de alcohol y otras (Sánchez-Lara, 2004). Con humanos adultos aparentemente sanos se ha demostrado que la edad también es un factor asociado a esteatosis hepática (Parés, *et al.*, 2000). La esteatosis microvesicular es un hallazgo infrecuente, en el que las gotas de grasa son pequeñas y no desplazan al núcleo celular hacia la periferia. Al contrario, la esteatosis macrovesicular es la forma más frecuente de este tipo de alteración y en ella se forman vacuolas de grasa grandes, que desplazan el núcleo hacia la periferia (Xiol, 2007).

En el presente estudio, el factor principal que pudo ocasionar la aparición de esteatosis macro y microvesicular en las ratas sanas es la edad, como ocurrió con la concentración de colesterol y triglicéridos. En relación con el efecto de los

polisacáridos administrados a las ratas sanas, destacó el hecho de que el grupo que recibió hemicelulosas presentaron significativamente más esteatosis microvesicular que su grupo testigo. En las ratas diabéticas, además de la edad, el estado de salud influyó en el desarrollo de esteatosis. Sin embargo, en contraste con las ratas sanas, los grupos diabéticos que recibieron pectinas y hemicelulosas solas o mezcladas con los otros polisacáridos, presentaron significativamente ( $\alpha = 0.05$ ) menos esteatosis microvesicular que el testigo respectivo. Estos resultados permiten hipotetizar que los polisacáridos como las hemicelulosas y las pectinas tienen efecto protector contra la esteatosis, probablemente relacionado con la regulación del metabolismo de lípidos. Por lo que, este es un aspecto sobresaliente que surge como tema de investigación posterior, que podría ser demostrado con número mayor de repeticiones que el evaluado en este estudio.

Los daños en los riñones de las ratas sanas pueden atribuirse, en parte, al mecanismo de acción del pentobarbital sódico usado como anestésico en la etapa de toma de muestra de los tejidos para la evaluación de lesiones y, en general, al manejo de los animales durante la extracción de los órganos. El pentobarbital ocasiona depresión fuerte del sistema respiratorio y los riñones son órganos muy sensibles a la hipoxia o isquemia, e inmediatamente después de que se detiene el flujo sanguíneo inician cambios bioquímico-estructurales. Primero se afecta la respiración aeróbica y, por lo tanto, la síntesis de ATP; luego se afecta la bomba Na/K ATPasa, se acumula sodio y eso aumenta la presión osmótica, produciéndose imbibición pasiva de agua, y las células experimentan tumefacción. Y si el agua continúa acumulándose se presenta vacuolización hidrópica; es decir, segmentos del retículo endoplásmico son distendidos (Moreno *et al.*, 1999; Cirión y Herrera, 2005). Cabe señalar que este tipo de lesión celular está clasificada como no mortal o reversible (Cirión y Herrera, 2005).

Existe la probabilidad de que la hipoxia haya afectado a mayor número de ratas diabéticas que ratas sanas, debido a que las primeras tuvieron disminuido su volumen sanguíneo, según el análisis previo en la sección de discusión del consumo

de agua. Además, la diabetes comúnmente daña los riñones, aunque en los humanos el desarrollo de la enfermedad renal puede durar años (NIDDK, 2010). Aunque desconocemos el tiempo que toma el desarrollo de esta enfermedad en las ratas, el período que duró este estudio puede haber sido suficiente para que la diabetes haya ocasionado daños renales.

Respecto a las lesiones ateroscleróticas en dos ratas sanas, parece poco probable que las hemicelulosas que recibieron hayan sido las responsables; estas lesiones, junto con los resultados de otras variables como la colesterolemia y trigliceridemia, permiten sugerir que entre las ratas del grupo seleccionado para recibir hemicelulosas había algunas con salud parcialmente alterada.

En la piel no se observaron cambios relacionados con la diabetes (Cuadro 4.9). Es probable que el tiempo de evaluación haya sido insuficiente para que se desarrollaran las complicaciones relacionadas con diabetes o que los polisacáridos tuvieran cierto efecto protector. Por otra parte, la congestión que se presentó en varios órganos pudo ser, en parte, consecuencia del estrés previo a la muerte; pues, a pesar de que los animales fueron anestesiados, la inyección del anestésico pudo ocasionar el estrés. En relación con esta condición, se señala que el estrés ocasiona la liberación de adrenalina, la que, a la vez, provoca la dilatación arterial y arteriolar y la apertura de capilares (Pardo, 1996).

## CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

- El efecto de los grupos de polisacáridos de xoconostle (mucílagos, pectinas y hemicelulosas, independientes o mezclados) en la concentración sérica de glucosa, colesterol, triglicéridos e insulina, varía en función del estado de salud del individuo, y no todos ellos tienen el mismo efecto en individuos con estado de salud similar.
- Los mucílagos tienen efecto insulinosecretor en ratas diabéticas. Las pectinas disminuyen los triglicéridos séricos en ratas diabéticas hipertriglicéridémicas e incrementan la insulinemia en ratas diabéticas. Las hemicelulosas disminuyen la glucemia de ratas sanas. Los grupos de polisacáridos mezclados disminuyen la glucemia e insulinemia de ratas sanas.
- Ninguno de los tres grupos de polisacáridos independientes o su mezcla disminuye la concentración de colesterol.
- Las pectinas independientes o mezcladas con los otros grupos de polisacáridos evitan la esteatosis hepática en ratas diabéticas.
- El efecto benéfico del xoconostle (*Opuntia matudae*) no es atribuible sólo a alguno de los polisacáridos que contiene, ni a la mezcla de la mayoría de ellos (mucílagos, pectinas y hemicelulosas); sin embargo, la pectina muestra efectos benéficos mayores que los otros polisacáridos.

## CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES PARA ESTUDIOS SIMILARES

- Seleccionar animales homogéneos en masa corporal, con variaciones menores a 3 % (*i.e.*  $300 \pm 10$  g).
- Asegurarse de que todos los animales consuman cantidades de agua y alimento similares antes de aplicar los tratamientos.
- Considerar otros modelos de diabetes tipo 2 en ratas, como los sugeridos por Masiello *et al.* (1998), Reed *et al.* (2000) y Arulmozhi *et al.* (2004).
- En caso de utilizar el mismo modelo de diabetes que se usó en el presente estudio, usar sólo animales que hayan recibido una dosis de estreptozotocina.
- Permitir el libre acceso de los animales al alimento.
- Utilizar solución fisiológica como vehículo para los polisacáridos y como tratamiento testigo.
- Prolongar el período de experimentación al menos a 12 semanas, con toma de muestras de sangre cada dos semanas.
- Evaluar la concentración de hemoglobina glucosilada  $A_{1c}$ .
- Analizar cortes histológicos del páncreas.
- Comparar el efecto de la aplicación pre- y post-prandial de los polisacáridos.
- Complementar la caracterización física y química de los polisacáridos utilizados en el presente estudio.
- Ampliar el estudio de los efectos de las pectinas de xoconostle en la trigliceridemia de individuos diabéticos con y sin dislipidemia.
- Comparar el efecto de las pectinas de xoconostle con las pectinas de otras fuentes.

## LITERATURA CITADA

- Adamson, J.W., J. Eschbach y C.A. Finch. 1968. The kidney and erythropoiesis. *The American Journal of Medicine* 44 (5): 725-733.
- Akbarzadeh, A., D. Norouzian, M.R. Mehrabi, Sh. Jamshidi, A. Farhangi, A.A. Verdi, S.M.A. Mofidian y B. Lame Rad. 2007. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22 (2): 60-64.
- Álvarez, R. y C.B. Peña-Valdivia. 2009. Structural polysaccharides in xocconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 11: 26-44.
- ADA (American Diabetes Association). 2007. Consensus statement on the worldwide standardization of the HbA<sub>1c</sub> measurement. *Diabetología*.
- Anderson, J., S. Perryman, L. Young y S. Prior. Dietary Fiber. Food and nutrition series. No. 9.333. [En línea]. 2010 [fecha de consulta: 12 de enero de 2011]. Disponible en: [www.ext.colostate.edu](http://www.ext.colostate.edu).
- Arulmozhi, D.K., A. Veeranjanyulu y S.L. Bodhankar. 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal of Pharmacology* 36: 217-221.
- Babu, P.V., K.E. Sabitha y C.S. Shyamaladevi. 2006 a. Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions* 162: 114-120.
- Barclay, A.W., P. Petocz, J. McMillan-Price, V.M. Flood, T. Prvan, P. Mitchell y J.C. Brand-Miller. 2008. Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk-a meta-analysis of observational studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 87: 627-637.
- Bastyr, E.J., C.A. Stuart, R.G. Brodows, S. Schwartz, C.J. Graf, A. Zagar y K.E. Robertson. 2000. Therapy Focused on Lowering Postprandial Glucose, Not Fasting Glucose, May Be Superior for Lowering HbA<sub>1c</sub>. *Diabetes Care* 23 (9): 1236-1241.
- Bennett, C.M., M. Guo y S.C. Dharmage. 2007. HbA<sub>1c</sub> as a screening tool for detection of Type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetic Medicine* 24 (4): 333-343.
- Boehm, O., B. Zur, A. Koch, N. Tran, R. Freyenhagen, M. Hartmann y K. Zacharowski. 2007. Clinical chemistry reference database for Wistar rats and C57/BL6 mice. *Biological Chemistry* 388 (5): 547-554.

- Brownlee, I.A. 2011. The physiological roles of dietary fiber. *Food Hydrocolloids* 25:238-250.
- Burton-Freeman, B. 2000. Dietary Fiber and Energy Regulation. Symposium: Dietary Composition and Obesity: Do We Need to Look beyond Dietary Fat? *The Journal of Nutrition* 272S-275S.
- Bwititi, P., C.T. Musabayane y C.F. Nhachi. 2000. Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 69 (3): 247-252.
- Bwititi, P.T., T. Machakaire, C.B. Nhachi y C.T. Musabayane. 2001. Effects of *Opuntia megacantha* leaves extract on renal electrolyte and fluid handling in streptozotocin (STZ)-diabetic rats. *Renal failure* 23 (2): 149-158.
- Casares S. y T. Brumeanu. 2001. Insights into the pathogenesis of type 1 Diabetes: A hint for novel immunospecific therapies. *Current Molecular Medicine* 1: 357-378.
- Castañeda-Andrade, I., J. González-Sánchez y A.C. Frati-Munari. 1997. Hypoglycemic Effect of an *Opuntia streptacanta* Lemaire Dialysate. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*: 73-75.
- Ceriello, A. 2005. Postprandial Hyperglycemia and Diabetes Complications. Is It Time to Treat?. *Diabetes* 54: 1-7.
- Cirión, M.G. y M.A. Herrera. 2005. Anatomía Patológica. Temas para enfermería. Editorial Ciencias Médicas. Cuba. 202 pp.
- Córdova-Villalobos, J.A., J.A. Barriguete-Meléndez, A. Lara-Esqueda, S. Barquera, M. Rosas-León-May y C.A. Aguilar-Salinas. 2008. Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública*. 50 (5): 419-427.
- De la Cruz-Mendoza, E., M. Ibarra-Torres, M. Goldaracena-Azuara, J.M. Vargas y C. Aradillas-García. 2007. Influencia de la migración rural-urbana sobre la resistencia a la insulina en niños y adolescentes de San Luis Potosí, México. *Bioquímica* 32: Suplemento A.
- Díaz G.C. y M.A. Guzmán. 2008. Inmunopatogenia de la diabetes mellitus tipo I. *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* 39(4): 151-160.
- Dunn, F.L., T.J. Brennan, A.E. Nelson y G.L. Robertson. 1973. The Role of Blood Osmolality and Volume in Regulating Vasopressin Secretion in the Rat. *The Journal of Clinical Investigation* 52: 3212-3219.
- Eliza, J., P. Daisy, S. Ignacimuthu y V. Duraipandiyam. 2009. Normo-glycemic and hypolipidemic effect of costunolide isolated from *Costus speciosus* (Koen ex.

- Retz.)Sm. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions* 179:329-334.
- Ennouri, M., H. Fetoui, E. Bourret, N. Zeghal and H. Attia. 2006 a. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 1. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresource Technology* 97: 1382-1386.
- Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). [En línea]. 2005 [fecha de consulta: 12 de enero de 2010]. Disponible en: [http://www.nap.edu/openbook.php?record\\_id=10490&page=339](http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10490&page=339).
- Foster-Powell, K., S. Holt y J.C. Brand-Miller. 2002. International table of glycemic index and glycemic load values. *American Journal of Clinical Nutrition* 76 (1): 5-56.
- Frati, A.C., X. Díaz., P. Altamirano, R. Ariza y R. López-Ledesma. 1991. The effect of two sequential doses of *Opuntia streptacantha* upon glycemia. *Archivos de Investigación Médica (México)* 22 (3-4): 333-336.
- Frati-Munari, A.C., B.E. Gordillo, P. Altamirano y C.R. Ariza. 1988. Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes Care* 11 (1): 63-66.
- Frati-Munari, A.C., L.M. Del Valle-Martínez, C.R. Ariza-Andraca, S. Islas-Andrade y A. Chávez-Negrete. 1989. Hypoglycemic action of different doses of nopal (*Opuntia streptacantha* Lemaire) in patients with type II diabetes mellitus. *Archivos de Investigación Médica (México)* 20 (2): 197-201.
- Frati-Munari, A.C., O. Vera-Lastra y C.R. Ariza-Andraca. 1992. Evaluation of nopal capsules in diabetes mellitus. *Gaceta Médica Mexicana* 128 (4): 431-436.
- Gertler, M.M., S.M. Garn y P.D. White. 1950. Diet, Serum Cholesterol and Coronary Artery Disease. *Circulation* 2: 696-704.
- Goycoolea, F. y A. Cárdenas. 2003. Pectins from *Opuntia* spp.: A Short Review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 5: 17-25.
- Gu, D.; M. Arnush y N. Sarvetnic. 1997. Endocrine/exocrine intermediate cells in Streptozotocin treated Ins-IFN-gamma transgenic mice. *Pancreas*, 15(3): 246-250.
- Hegwood, D. 1990. Human Health Discoveries with *Opuntia* sp. (Prickly Pear). *Hort Science* 25 (12): 1515-1516.
- Hsien-Tsung, Y., H. Shan-Ye y C. Meng-Tsan. 2008. A comparative study on hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of high and low molecular weight chitosan in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 1525-1534.

- Hu, S.H., J.C. Wang, J.L. Lien, E.T. Liaw y M.Y. Lee. 2006. Antihyperglycemic effect of polysaccharide from fermented broth of *Pleurotus citrinopileatus*. *Applied Microbial and Cell Physiology* 70:107-113.
- Ibañez-Camacho, R. 1978. Nopal (*Opuntia* sp.). *Medicina Tradicional* (Mex.) 4 (1): 1-4.
- Ibañez-Camacho, R. y Román-Ramos, R. 1979. Hypoglycemic effect of *Opuntia cactus*. *Archivos de Investigación Médica* 10: 223-230.
- IDF (International Diabetes Federation). What is diabetes?.[en línea]. 2009 [fecha de consulta: 19 de febrero de 2010]. Bruselas, Bélgica. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/content/what-is-diabetes>
- IDF (International Diabetes Federation).Health expenditure for diabetes, 2010-NAC.[en línea]. 2010 [fecha de consulta: 19 de febrero de 2010]. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/content/health-expenditure-diabetes-2010-nac>.
- Jia J., X. Zhang, Y.S. Hu, Y. Wu, Q.Z. Wang, N.N. Li, Q.C. Guo y X.C. Dong. 2009. Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry* 115: 32-36.
- Junod, A., A.E. Lambert, W. Stauffacher y A.E. Renold. 1969. Diabetogenic Action of Streptozotocin: Relationship of Dose to Metabolic Response. *The Journal of Clinical Investigation* 48: 2129-2139.
- Laurenz, J.C., C.C. Collier y J.O. Kutu. 2003. Hypoglycaemic effect of *Opuntia lindheimeri* Englem. in a diabetic pig model. *Phytotherapy Research* 17 (1): 26-29.
- Lee, H.B. y M.D. Blafox. 1985. Blood Volume in the Rat. *The Journal of Nuclear Medicine* 25: 72-76.
- Liu, C.T., P.L. Wong, C.K. Lii, H. Hse y L.Y. Sheen. 2006. Antidiabetic effect of garlic oil but not diallyl disulfide in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Food and Chemical Toxicology* 44: 1377-1384.
- Luo, C., Z. Wannian, S. Chunquan, Z. Chengjian, Y. Jianzhong y M. Zhenyuan. 2010. Chemical Composition and Antidiabetic Activity of *Opuntia Milpa Alta* Extracts. *Chemistry & Biodiversity* 7:2869-2879.
- Masiello, P., C. Broca, R. Gross, M. Roye, M. Manteghetti, D. Hillaire-Buys, M. Novelli y G. Ribes. 1998. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* 47 (2): 224-229.
- Manual Merck de Información Médica para el Hogar. Hipoglucemia. [En línea]. 2005 [fecha de consulta: 7 de febrero de 2011]. Disponible en:

[http://www.msd.es/publicaciones/mmerck\\_hogar/seccion\\_13/seccion\\_13\\_148.html](http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_13/seccion_13_148.html)

- McKiley, M.J. y A.K. Johnson. 2004. The Physiological Regulation of Thirst and Fluid Intake. *Physiology* 19: 1-6.
- Meckes-Lozoya, M. y R. Ibáñez-Camacho. 1989. Hypoglucaemic Activity of *Opuntia streptacantha* Throughout its Annual Cycle. *The American Journal of Chinese Medicine* 17 (3-4): 221-224.
- Mehdi, U. y R.D. Toto. 2009. Anemia, Diabetes, and Chronic Kidney Disease. *Diabetes Care* 32 (7): 320-326.
- Miller, S.M., E.J. Fugate, V.O. Craver, A.J. Smith y J.B. Zimmerman. 2008. Toward Understanding the Efficacy and Mechanism of *Opuntia* spp. as a Natural Coagulant for Potential Application in Water. *Environ. Sci. Technol.* 42 (12): 4274-4279.
- Miranda-Román, M.A. La fibra dietaria en la nutrición. [En línea]. 2006 [fecha de consulta: 9 de marzo de 2011]. Disponible en: <http://www.uaemex.mx/fmedicina/articulos/fibra.pdf>.
- Monnier, L., H. Lapinski y C. Colette. 2003. Contributions of Fasting and Postprandial Plasma Glucose Increments to the Overall Diurnal Hyperglycemia of Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* 26 (3): 881-885.
- Moreno, S.J., F. Jiménez, E. Redondo, G. Bocardo, A. Silmi y L. Resel. 1999. Conservación de órganos. *Clínicas Urológicas de la Complutense* 7: 209-218.
- Nicolaidis, S. 1998. Physiology of thirst. In: Hydration throughout life. Arnaud, M.J. (ed.). John Libbey Eurotext. 245 pp.
- NIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases). La enfermedad renal en personas con diabetes. [En línea]. 2010 [fecha de consulta: 2 de junio de 2011]. Disponible en: <http://kidney.niddk.nih.gov/spanish/pubs/kdd/>.
- Olaiz-Fernández, G., J. Rivera-Dommarco, T. Shamah-Levy, R. Rojas, S. Villalpando-Hernández, M. Hernández-Ávila y J. Sepúlveda-Amor. 2006. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). Diabetes: datos fundamentales. [En línea]. 2010 [fecha de consulta: 19 de febrero de 2010]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. [En línea]. 2009 [fecha de consulta:

15 de diciembre de 2009]. Disponible en: [http://new.paho.org/hq/index.php?option=com\\_joomlabook&Itemid=259&task=display&id=220](http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_joomlabook&Itemid=259&task=display&id=220).

- Paiz, R.C., B.I. Juárez-Flores, J.R. Aguirre-Rivera, N.C. Cárdenas-Ortega, J.A. Reyes-Agüero, E. García-Chávez y G. Álvarez-Fuentes. 2010. Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web., Cactaceae) in diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 4 (2): 2326-2333.
- Pardo, F.J. 1996. Anatomía Patológica. Harcourt. España. 1353 pp.
- Parés, A., R. Tresserras, I. Nuñez, M. Cerralbo, P. Plana, F. Pujol, J. Massip, L. Caballería, C. Bru, J. Caballería, J. Vidal, L. Salleras y J. Rodés. 2000. Prevalencia y factores asociados a la presencia de esteatosis hepática en varones adultos aparentemente sanos. *Medicina Clínica* 114 (15): 561-565.
- Peña-Valdivia, C.B. y Sánchez-Urdaneta, A.B. 2006. Nopalito and cactus pear (*Opuntia* spp.) polysaccharides: mucilage and pectin. *Acta horticulturae* 728: 241-247.
- Pimienta-Barrios, E., L. Méndez-Morán, B.C. Ramírez-Hernández, J.E. García de Alba-García y R.M. Domínguez-Arias. 2008. Efecto de la ingestión del fruto de xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) sobre la glucosa y lípidos séricos. *Agrociencia* 42: 645-653.
- Piyachaturawat, P.; J. Poprasit, T. Glinsukon y C. Warichanon. 1988. Gastric mucosal lesions in Streptozotocin-diabetic rats. *Cell. Biol. Intern. Rep.* 12(1): 53-63.
- Piyachaturawat, P., J. Poprasit y T. Glinsukon. 1991. Gastric mucosal secretions and lesions by different doses of Streptozotocin in rats. *Toxicol. Lett.* 55:21-29
- Porepa, M., X. Punthakee and J. Weinstein. 2001. Accounting for Polyuria. *University of Toronto Medical Journal* 79 (1): 61-64.
- Ramirez-Santiago, C.; L. Ramos-Solis; C. Lobato-Calleros; C. Peña-Valdivia; E. J. Vernon-Carter; J. Alvarez-Ramírez. 2010. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L. Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *Journal of Food Engineering* 101(3): 229-235.
- Rayas, P. y Romero A.L. 2008. Fibra a base de frutas, vegetales y cereales: función de salud. *Revista Mexicana de Agronegocios* 12 (23): 613-621.
- Reaven, G.M. 1978. Effect of age and sex on triglyceride metabolism in the rat. *Journal of Gerontology* 33 (3): 368-371.

- Reed, M.J., K. Meszaros, L.J. Entes, M.D. Claypol, J.G. Pinkett, T.M. Gabdois y G.M. Reaven. 2000. A new rat model of type 2 diabetes: The fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 49 (11): 1390-1394.
- Román-Ramos, R., J.L. Flores-Saenz y F.J. Alarcon-Aguilar. 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Journal or Ethnopharmacology* 48: 25-32.
- Sáenz, C. 1997. Cladodes: a Source of Dietary Fiber. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2: 117-123.
- Sáenz, C., E. Sepúlveda y B. Matsuhira. 2004. *Opuntia* spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments* 57: 275-290.
- Sáenz, C. 2006. *Opuntia* spp. Bioactive Compounds in Foods: a Plus for Health. *Acta Horticulturae* (ISHS) 728: 231-240.
- Sánchez, O. y A. Leon. 2001. Resistance Exercise for Patients with Diabetes Mellitus. In: Resistance training for health and rehabilitation. Graves, J. and B. Franklin (ed.). Human Kinetics. 418 pp.
- Sánchez-Lara, K.P. 2004. Esteatosis Hepática y Diabetes Mellitus. *Diabetes Hoy para el médico y el profesional de la salud* 5 (5): 1294-1295.
- Scheinvar, L. 1995. Taxonomy of utilized opuntias. In: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta. Agroecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO Plant Production and Protection Paper 132. Italia.
- Serrano J; e I. Goni. 2004. Role of black bean *Phaseolus vulgaris* on the nutritional status of Guatemalan population. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 54: 36-44.
- Secretaría de Salud (México). El uso de insulina permite al paciente con diabetes mejor calidad de vida. [En línea]. 2009 [fecha de consulta: 15 de enero de 2010]. Disponible en: <http://www.presidencia.gob.mx/2009/03/el-uso-de-insulina-permite-al-paciente-con-diabetes-mejor-calidad-de-vida/>.
- Somerville C.; S. Bauer; G. Brininstool; M. Facette; T. Hamann; J. Milne; E. Osborne; A. Paredez; S. Persson; T. Raab; S. Vorwerk y H. Youngs. 2004. Toward a systems approach to understanding plant cell walls. *Science* 306: 2206-2211.
- Thomas, M.C., R.J. Maclsaac, C. Tsalamandris, D. Power y G. Jerums. 2003. Unrecognized Anemia in Patients With Diabetes. A cross-sectional survey. *Diabetes Care* 26 (4): 1164-1169.
- Thomas, M., C. Tsalamandris, R. Maclsaac y G. Jerums. 2005. Anaemia in Diabetes: An Emerging Complication of Microvascular Disease. *Current Diabetes Reviews* 1 (1): 107-126.

- Trejo-González, A., G. Gabriel-Ortiz, A.M. Puebla-Pérez, M.D. Guísar-Contreras, M.R. Munguía-Mazariegos, S. Mejía-Arreguin y E. Calva. 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 55 (1): 27-33.
- Trinder, P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry* 6: 24-27.
- Tungland, B.C. y D. Meyer. 2002. Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3: 90-109.
- Ugochukwu N.H y C.L. Figgers. 2007. Dietary caloric restriction improves the redox status at the onset of diabetes in hepatocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions* 165: 45-53.
- University of Minnesota. Guidelines for Collection of Blood from Experimental Animals.[En línea]. 2006 [fecha de consulta: 12 de abril de 2011]. Disponible en: <http://www.ahc.umn.edu/rar/blood.html>
- University of Mississippi. Chapter 20 – Blood Collection: Guidelines for Survival Bleeding of Mice and Rats. [En línea]. 2010 [fecha de consulta: 11 de abril de 2011]. Disponible en: <http://www.research.olemiss.edu/cms/node/324>
- Yao, H.T., S.Y. Huang y M.T. Chiang. 2008. A comparative study on hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of high and low molecular weight chitosan in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 46: 1525-1534.
- Yao, H.T., P. Lin, Y.W. Chang, C.T. Chen, M.T. Chiang, L. Chang, Y.C. Kuo, H.T. Tsai y T.K. Yeh. 2009. Effect of taurine supplementation on cytochrome P450 2E1 and oxidative stress in the liver and kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Food and Chemical Toxicology* 47: 1703-1709.
- Wang, J., J. Zhang, B. Zhao, Y. Wu, C. Wang y Y. Wang. 2010. Structural features and hypoglycaemic effects of *Cynomorium songaricum* polysaccharides on STZ-induced rats. *Food Chemistry* 120: 443-451.
- Yang, N., M. Zhao, B. Zhu, B. Yang, C. Chen, C. Cui y Y. Jiang. 2008. Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9: 570-574.
- WHO (World Health Organization). 1999. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva, Switzerland.65 pp.

Wild, S., G. Roglic, A. Green, R. Sicree y H. King. 2004. Global Prevalence of Diabetes. *Diabetes Care* 27 (5): 1047-1053.

Xiol, X. 2007. Esteatosis hepática. *Formación Médica Continuada* 14 (5): 230-235.

Zafar, M., S. Naeem-ul-Hassan Naqvi, M. Ahmed y Z.A. KaimKhani. 2009 a. Altered liver morphology and enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int. J. Morphol.* 27(3): 719-25.

Zafar, M., S. Naeem-ul-Hassan Naqvi, M. Ahmed y Z.A. KaimKhani.. 2009 b. Altered kidney morphology and enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int. J. Morphol.* 27(3): 783-90.

## ANEXOS

**Cuadro A- 1. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de agua (mL/semana) por ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	227.4	203.4	192.4	210.2	208.3
Hemicelulosas	229.9	206.4	228.7	238.4	225.9
Mezcla	281.5	283.5	269.0	215.0	287.3
Mucílago	200.6	177.3	178.4	180.4	184.2
Pectina	225.1	215.8	228.8	233.5	225.8
Media por semana	232.9	237.3	219.5	215.5	

Se usó como covariable el consumo de agua de la semana previa al inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 12.71, 23.27 y 34.34.

**Cuadro A- 2. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de agua (mL/semana) por ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	491.9	480.2	489.1	488.1	487.3
Hemicelulosas	573.4	495.9	468.5	460.8	499.6
Mezcla	525	414.7	371.4	358.2	417.3
Mucílago	559.9	550.1	519.4	481.0	527.6
Pectina	601.8	509.8	429.2	431.8	493.2
Media por semana	550.4	490.2	455.5	444.0	

Se usó como covariable el consumo de agua de la semana previa al inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 24.55, 123.01 y 132.84.

**Cuadro A- 3. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de alimento (g/semana) por ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	128.21	126.78	113.98	119.89	122.21
Hemicelulosas	127.06	121.22	120.03	129.16	124.37
Mezcla	149.20	148.53	149.77	140.58	147.02
Mucílago	132.23	130.62	120.45	121.50	126.20
Pectina	133.14	130.05	123.94	124.57	127.93
Media por semana	133.97	131.44	125.63	127.14	

Se usó como covariable el consumo de alimento de la semana previa al inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 2.004, 6.172 y 6.672.

**Cuadro A- 4. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del consumo de alimento (g/semana) por ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	126.69	133.27	139.07	133.02	133.01
Hemicelulosas	139.43	139.98	137.06	139.93	139.10
Mezcla	135.78	134.67	133.23	137.66	135.33
Mucílago	140.55	141.19	141.18	140.32	140.81
Pectina	139.53	139.46	136.13	137.28	138.10
Media por semana	136.40	137.71	137.33	137.64	

Se usó como covariable el consumo de alimento de la semana previa al inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 4.209, 5.437 y 9.829.

**Cuadro A- 5. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la masa corporal (g) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	323.18	321.45	317.82	327.09	322.39
Hemicelulosas	330.39	332.29	342.27	355.05	340.00
Mezcla	326.72	330.65	333.75	340.59	332.93
Mucílago	337.21	343.08	344.42	354.26	344.74
Pectina	334.55	339.22	343.83	358.59	344.05
Media por semana	330.41	333.34	336.42	347.12	

Se usó como covariable la masa corporal medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 3.864, 21.439 y 18.86.

**Cuadro A- 6. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la masa corporal (g) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	286.75	278.78	275.03	281.92	280.62
Hemicelulosas	277.73	268.74	265.21	262.66	268.59
Mezcla	277.12	260.32	256.28	249.54	260.82
Mucílago	285.59	273.75	273.36	271.38	276.02
Pectina	266.52	242.77	228.5	225.8	240.9
Media por semana	278.74	264.87	259.67	258.26	

Se usó como covariable la masa corporal medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 5.017, 24.498 y 24.459.

**Cuadro A- 7. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la glucemia (mg/dl) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	103.4	118.7	104.5	109.4	109.0
Hemicelulosas	100.9	106.1	96.1	87.7	97.7
Mezcla	97.2	87.5	90.6	85.8	90.3
Mucílago	106.2	115.4	112.2	113.4	111.8
Pectina	107.2	108.1	105.5	106.1	106.7
Media por semana	103.0	107.2	101.8	100.5	

Se usó como covariable la glucemia medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 5.93, 12.51 y 16.44.

**Cuadro A- 8. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de la glucemia (mg/dl) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	317.5	342.5	304.6	316.7	320.3
Hemicelulosas	409.7	399.4	385.5	376.2	392.7
Mezcla	274.7	300.2	300.3	407.2	320.6
Mucílago	349.7	357.7	374.9	341.4	355.9
Pectina	314.3	388.4	351.6	363.3	354.4
Media por semana	333.2	357.6	343.4	360.9	

Se usó como covariable la glucemia medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 25.45, 84.1 y 97.39.

**Cuadro A- 9. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del colesterol sérico (mg/dl) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	55.82	59.5	60.57	60.44	59.08
Hemicelulosas	68.66	71.09	66.46	82.81	72.25
Mezcla	60.37	60.25	80.56	77.91	69.78
Mucílago	50.85	61.92	68.26	75.63	64.17
Pectina	53.30	63.50	66.62	80.51	65.99
Media por semana	57.80	63.25	68.49	75.46	

Se usó como covariable la concentración de colesterol sérico medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 3.677, 8.428 y 10.928.

**Cuadro A- 10. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, del colesterol sérico (mg/dl) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	74.01	77.41	82.03	73.33	76.69
Hemicelulosas	55.72	62.33	70.6	79.26	66.98
Mezcla	60.46	59.85	70.08	79.36	67.44
Mucílago	65.29	71.79	79.92	96.96	78.49
Pectina	68.50	69.45	67.8	93.21	74.74
Media por semana	64.80	68.17	74.09	84.42	

Se usó como covariable la concentración de colesterol sérico medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 4.887, 11.031 y 14.272.

**Cuadro A- 11. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de los triglicéridos séricos (mg/dl) de ratas sanas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	57.7	74	81.3	82.5	73.9
Hemicelulosas	95.2	67.8	101.3	123.4	96.9
Mezcla	86.8	64.3	86.8	86.7	81.1
Mucílago	66.2	95.8	94.2	86.6	85.7
Pectina	86.6	94.1	91.8	101.9	93.6
Media por semana	78.5	79.2	91.1	96.2	

Se usó como covariable la concentración de triglicéridos séricos medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 14.02, 28.64 y 38.93.

**Cuadro A- 12. Resultados del análisis del diseño completamente al azar, con medidas repetidas, de los triglicéridos séricos (mg/dl) de ratas diabéticas con administración diaria de agua o polisacáridos (100 mg/kg) extraídos de frutos de xoconostle (*Opuntia matudae*).**

Extracto/Semana	1	2	3	4	Media por extracto
Agua	138.7	150.9	111.2	122.8	130.9
Hemicelulosas	95.4	95.1	118.1	115.6	106.0
Mezcla	81.8	69.0	103.7	105.7	90.1
Mucílago	137.6	145.2	176.9	143.7	150.8
Pectina	206.0	116.7	67.4	83.5	118.4
Media por semana	131.9	115.4	115.5	114.2	

Se usó como covariable la concentración de triglicéridos séricos medida justo antes del inicio del tratamiento. Las diferencias mínimas significativas para comparar semanas, extractos y combinaciones semana\*extracto son, respectivamente: 33.87, 69.79 y 97.94.

## GLOSARIO

**Ad libitum.** A gusto, a voluntad.

**Colesterolemia.** Nivel de colesterol sanguíneo.

**Congestión.** También llamada hiperemia, es la alteración del flujo sanguíneo por dilatación vascular y aumento de la corriente sanguínea, que condiciona un aumento del volumen de sangre de un tejido u órgano.

**Dislipidemia.** Es la presencia de anormalidades en la concentración de grasas en la sangre (colesterol, triglicéridos, colesterol HDL y LDL).

**Distonía.** Trastorno del movimiento en el cual contracciones sostenidas del músculo causan torceduras y movimientos repetitivos o posturas anormales.

**Glucagonoma.** Tumor de las células pancreáticas a que produce un síndrome caracterizado por producción excesiva de glucagón y en consecuencia diabetes mellitus.

**Glucemia.** Nivel de glucosa capilar o plasmática.

**Glucosa postprandial.** Nivel de glucosa en sangre dos horas después de comer.

**Hipertrigliceridemia.** Concentración elevada de triglicéridos en la sangre.

**Insulinemia.** Nivel de insulina en la sangre.

**Lipemia.** Se emplea para describir muestras de sangre entera, suero o plasma en las que los lípidos son evidentes a simple vista.

**Pancreatectomía.** Extracción del tejido pancreático.

**Perfundir.** Introducir lenta y continuamente un líquido por vía intravenosa o en el interior de órganos.

**Trigliceridemia.** Nivel de triglicéridos en la sangre.