

1 9 8 7 - A

083543213

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EFFECTO DE LA INGESTION DEL FRUTO DE XOCONOSTLE
(Opuntia joconostle Web.) SOBRE EL NIVEL DE LA GLUCEMIA.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

BLANCA CATALINA RAMIREZ HERNANDEZ

GUADALAJARA, JAL. FEBRERO DE 1993

M.C. JUAN LUIS CIFUENTES LEMUS
DIRECTOR
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que, habiendo revisado el trabajo de Tesis "EFECTO DE LA INGESTION DEL FRUTO DE XOCONOSTLE (*Opuntia xocconostle* Web.) SOBRE EL NIVEL DE LA GLUCEMIA" que presenta la Pasante de Biología Blanca Catalina Ramírez Hernández para obtener la Licenciatura en Biología, y de la cual fungí como director, considero que este ha sido concluido satisfactoriamente, por lo cual puede procederse a la presentación de la Tesis para su revisión en la Facultad y el Examen Profesional respectivo.

Sin otro particular por el momento aprovecho la ocasión para reiterarle mi consideración más distinguida.

A T E N T A M E N T E
Guadalajara, Jal. 11 de Enero de 1993



DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS
Director de Tesis

DEDICATORIAS

A Fausto e Isabel, padres amorosos, que me ha brindado su apoyo incondicional; por la formación, educación y ejemplo recibidos, a ustedes mi eterno agradecimiento y amor.

A Gilberto Robles Arellano, por ser un ejemplo como persona y profesionista, por su apoyo que me impulsa a seguir adelante y sobre todo por el grande amor que nos une, para tí con todo mi amor.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Eulogio Pimienta Barrios, mi más profundo respeto y agradecimiento por su paciencia, apoyo y magnífica asesoría que me brindó en todo momento.

A la Q.F.B. Rosa Ma. Domínguez Arias por su valiosa ayuda para obtener el apoyo del Instituto Mexicano del Seguro Social y su asesoría en las técnicas de análisis clínicos, que constituyeron un pilar fundamental para el desarrollo de esta tesis.

Al Diabetólogo Gilberto Mauricio L. por su valiosa asesoría en el diseño experimental de esta tesis.

A la Biol. Lucila Méndez Morán por su valiosa y desinteresada ayuda, que facilitaron el desarrollo del trabajo clínico y análisis de la composición química de los frutos.

A las Biol. Celia Robles Murguía, Sofía Loza Cornejo, Irma Ruán Tejeda y Lizzeth Ponce por su valiosa colaboración en las determinaciones químicas del fruto.

A la Enfermera Ma. Elena Sandoval y a Elizabeth Flores por su participación en la toma de muestras.

Al Dr. Carlos de la Mora Sánchez, encargado del Laboratorio de Patología del Hospital Regional No. 46 por el apoyo brindado para el uso de las instalaciones para la toma de muestras y análisis clínicos.

A la Q.F.B. Ligia Moguel Duarte y Q.F.B. Alejandra Buenrostro por su colaboración en las determinaciones de glucosa.

Al Dr. Miguel Angel López Rodríguez, Jefe del Servicio de Medicina Nuclear y al Dr. Carlos Aguilar Elías, Encargado del Area de Investigación del Departamento de Medicina Nuclear, del Centro Médico de Occidente, IMSS, por su ayuda prestada para llevar a cabo las detreminaciones de insulina.

A la Q.F.B. Elvira Montoya Haro, por su desinteresada y valiosa ayuda en las determinaciones de insulina.

A los voluntarios por su activa participación: Roberto Alvarez, Arturo Becerra, Francisco Garza, Martín González, Ernesto Gutiérrez, Enrique López, Alejandro Muñoz, Tito Pérez, David Pérez, Fausto y Alejandro Ramírez, Sergio Rizo, Jorge Rojo, Leonardo Sánchez, Gerardo Valencia y Bernardo Vázquez.

Al Ing. Rubén González, por su colaboración al aportar los frutos de xoconostle que se emplearon en este trabajo.

A José Manuel Dávila por su cooperación en la colecta de los frutos de xoconostle.

A la Biol. Sandra C. Reyes Aguilera, por su ayuda y la amistad que compartimos.

Finalmente queremos agradecer y reconocer que el origen de este proyecto se derivó de la grata experiencia que se obtiene de convivir con los productores de nopal de las zonas semiáridas de Jalisco y Zacatecas, en especial va el agradecimiento para Abel Sánchez y Venustiano Castañeda y a los habitantes de la Palma, Zacatecas.

Se agradece el apoyo financiero al proyecto titulado:
"EFECTO DE LA INGESTA DEL FRUTO DE XOCONOSTLE (*Opuntia joconostle* Web.) SOBRE EL NIVEL DE LA GLUCEMIA", por parte de la Comisión Nacional de Zonas Áridas, el cual ha hecho posible el desarrollo de este proyecto.

Indudablemente que ésto es un reflejo de la preocupación por apoyar la investigación por parte de los directivos de esta institución, por tal motivo estamos también reconociendo el apoyo de su Director General, Lic. Marco Antonio Pascual Moncayo y al Director de Investigación y Desarrollo Tecnológico Ing. José Angel de la Cruz Campa.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS	3
III. OBJETIVOS	3
IV. REVISION DE LITERATURA	
IV.1. Metabolismo de la Insulina	4
IV.2. Origen y Distribución de las Cactáceas	9
IV.3. Aspectos Históricos	9
IV.4. Clasificación	10
IV.5. Morfología y Anatomía	11
IV.6. Fisiología	12
IV.7. Composición Química del Cladodio	13
IV.8. Composición Química del Fruto	14
IV.9. Usos Medicinales	14
IV.10. Caracterización del Xoconostle	16
V. MATERIALES Y METODOS	
V.1. Selección de Voluntarios	18
V.2. Selección de Frutos	18
V.3. Evaluación de Cambios Fisiológicos en Frutos de Xoconostle después de la Cosecha	19
V.4. Determinación del efecto de la ingestión de la Cáscara del Fruto de Xoconostle sobre los Niveles Séricos de Glucosa e Insulina	23
V.5. Determinaciones Químicas y Bioquímicas	24
V.5.1. Determinación de Glucosa	24
V.5.2. Determinación de Insulina	25
VI. RESULTADOS	28
VII. DISCUSION	31
VIII. CONCLUSIONES	36
IX. LITERATURA CITADA	52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	37
Figura 2	38
Figura 3	39
Figura 4	40
Figura 5	41
Figura 6	42
Figura 7	43
Figura 8	44
Figura 9	45
Figura 10.....	46
Figura 11.....	47
Figura 12.....	48
Figura 13.....	49
Figura 14.....	50
Figura 15.....	51

I. INTRODUCCION

La Diabetes mellitus (DM), principal motivo de consulta en endocrinología, es una alteración metabólica caracterizada por la elevación crónica de la glucemia (hiperglucemia) como resultado de la deficiencia absoluta o relativa de la hormona insulina o por la actividad ineficaz de la misma (Zárate y Espinoza, 1984; Wyngarden y Smith, 1988). A pesar de las limitaciones que se tienen para realizar el registro de las defunciones debidas a la diabetes, se puede afirmar que esta enfermedad es una causa importante de muerte en América, y que hay un aumento progresivo en todos los países. Para 1982 se señala en México una tasa de mortalidad de 23 por cada 100,000 habitantes a causa de la citada enfermedad (OPS, 1988).

Dentro de la Diabetología moderna, el tratamiento a seguir para la DM se basa en: dieta, ejercicio, administración de insulina y/o hipoglucemiantes orales y la educación del paciente (Zárate y Espinoza, 1984; OPS, 1988). En adición a los tratamientos recomendados por la medicina alopática, la población mexicana emplea los cladodios jóvenes ("nopalitas") del nopal para el control de la DM (Ibañez y Román 1979; Frati *et al.* 1983; Meckes e Ibañez, 1983; Hegwood, 1990). Investigaciones realizadas por el Instituto Mexicano del Seguro Social han venido a reforzar este conocimiento tradicional, ya que a través de pruebas clínicas han demostrado que la administración de cladodios jóvenes de nopal (*Opuntia ficus-indica* y *O. streptacantha*) disminuye los niveles de glucosa sérica en personas sanas, en pacientes con DM tipo II, así como en modelos experimentales (Ibañez-Camacho y Román-Ramos, 1979; Fernández-Harp *et al.* 1984; Frati-Munari *et al.* 1983, 1987, 1988a, 1988b, 1989a, 1989b, 1989c, 1989d). Sin embargo, el conocimiento tradicional menciona que otras cactáceas nativas de las zonas semiáridas también presentan efectos hipoglucemiantes; dentro de éstas destaca la planta del xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) la cual es ampliamente utilizada por los habitantes de

las regiones semiáridas de la zona centro de México. En base a información obtenida directamente de personas afectadas con diabetes, se ha encontrado que el fruto de esta planta produce un control satisfactorio de la enfermedad, es decir, un control adecuado de la hiperglucemia. Sin embargo, este conocimiento empírico tradicional no ha sido valorado clínicamente, por lo que, a través de este trabajo, se pretende evaluar el efecto "hipoglucémico" del fruto de *Opuntia joconostle* Web. en personas "sanas".

II. HIPOTESIS

La ingestión de la cáscara del fruto de *Opuntia joconostle* Web. produce una disminución del nivel sérico de la glucemia en personas "sanas".

III. OBJETIVOS

1. Evaluar el efecto de la ingestión de la cáscara del fruto de *Opuntia joconostle* Web. sobre el nivel de la glucosa e insulina sérica en personas "sanas".

2. Relacionar los cambios en la condición fisiológica y química de frutos cosechados de xoconostle en el intervalo de tiempo en que fueron empleados para evaluar su efecto hipoglucemiante.

3. Relacionar el efecto hipoglucemiante del xoconostle y la condición fisiológica de los frutos al momento de su ingestión.

IV. REVISION DE LITERATURA

IV.1. Metabolismo de la Insulina en Humanos.

El páncreas es una glándula mixta de secreción interna y externa. Por la función externa, origina el jugo pancreático que es vertido en la segunda porción del duodeno. El páncreas se halla situado por delante de los vasos abdominales y corresponde a la primera y segunda vértebras lumbares; está colocado transversalmente entre la segunda porción del duodeno y el bazo y se fija sólidamente al duodeno por medio de tractos conjuntivos. Es alargado transversalmente, aplanado de adelante hacia atrás y más voluminoso en su extremidad derecha que en la izquierda. Posee una coloración blanco rosada, con un peso de 67 a 70 g; su longitud es de 15 cm, su altura es de 7 cm y el espesor de dos a tres cm (Quiroz, 1981).

El páncreas es el órgano en el cual ocurre la síntesis y secreción de insulina y está formado por dos tipos principales de tejidos: a) los acini, que secretan jugos digestivos, y b) Los islotes de Langerhans, que secretan insulina y glucagón directamente hacia la sangre. Los islotes tienen tres tipos principales de células: alfa, beta y delta. Las células beta constituyen cerca del 60 % del total y secretan insulina; las alfa, alrededor del 25 %, secretan glucagón; las delta, cerca del 10 % del total y secretan somatostatina. La insulina es una pequeña proteína compuesta por dos cadenas de aminoácidos, conectadas entre sí por enlaces disulfúricos. Para iniciar los efectos sobre las células blanco, la insulina se fija primero en la proteína receptora de la membrana; esto activa el receptor que inicia los efectos de la insulina, pero aún son vagos los mecanismos moleculares celulares que entran en acción a partir de este momento (Guyton, 1989).

La glucosa penetra en las células beta por transporte facilitado, posteriormente el azúcar es fosforilado por la glucoquinasa. La capacidad de los azúcares de sufrir el proceso de fosforilación y posterior glucólisis está

estrechamente relacionado con su capacidad para estimular la liberación de insulina. Esto ha llevado a la hipótesis de que uno o más de los intermediarios glucolíticos o cofactores enzimáticos es el estimulador real de la secreción de insulina, lo cual finalmente depende de la concentración intracelular de Ca^{++} y la glucosa y sus metabolitos estimulan el influjo de este catión. La mayoría de los nutrimentos y hormonas que estimulan la secreción de insulina también incrementan su biosíntesis. Por otro lado la disminución de las concentraciones extracelulares de Ca^{++} inhiben la secreción de insulina sin afectar su biosíntesis (Goodman *et al.* 1991).

Cuando es estimulada por la glucosa, la secreción de la insulina es bifásica: la primera fase alcanza un máximo luego de 1 a 2 minutos y es de corta duración, mientras que la segunda tiene una aparición más tardía pero es más prolongada. El mecanismo por el cual la glucosa y otros secretagogos estimulan la liberación de insulina no es bien conocido; aunque algunos investigadores han postulado la existencia de un "glucorreceptor" en la superficie de las células beta (Neglasson y Matschinsky, 1986, citados por Goodman, 1991).

La insulina es sintetizada como precursor monocatenario, proinsulina, en el cual las cadenas (A y B) están conectadas por Péptido C. La conversión de proinsulina en insulina se inicia en el complejo de Golgi, prosigue dentro de los gránulos secretorios y está prácticamente completa en el momento de la secreción. Así se liberan a la circulación cantidades equimoleculares del péptido C y de insulina. El primero no posee ninguna función biológica identificada hasta el momento, pero puede ser como un índice en la secreción de insulina (Goodman, 1991). El péptido C es secretado en cantidades equimolares con la insulina; sin embargo su concentración molar en el plasma es mayor por su vida media mucho más prolongada (Robins y col. 1984; citado por Goodman, 1991).

La secreción de insulina es un proceso estrechamente regulado, que proporciona concentraciones estables de glucemia durante el ayuno y la alimentación. Esta regulación se logra mediante la interacción coordinada de diversos nutrimentos, hormonas gastrointestinales, hormonas pancreáticas y neurotransmisores autonómicos. La glucosa, los aminoácidos, los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos estimulan la secreción de insulina (Goodman, 1991).

La glucosa es el estímulo principal de la secreción de insulina y constituye un factor permisivo esencial para las acciones de muchos otros secretagogos (Meglasson y Matschinsky, 1986; citados por Goodman, 1991). Los azúcares son más efectivos para provocar la secreción de insulina cuando se administra por vía oral que por intravenosa. Un efecto similar se tiene con el consumo de alimentos, ya que ambos inducen la liberación de hormonas gastrointestinales y estimula la actividad vagal (Malaisse, 1986; Sorenson, 1988; citados por Goodman, 1991).

La glucosa sanguínea en ayunas se encuentra dentro de los límites normales entre 60 y 100 mg/100 ml (promedio 80 mg/100 ml, 90 por 100 de los resultados normales están entre 70 y 90 mg por 100 ml). A partir del nivel normal de ayuno la cifra de glucosa sube hasta un máximo que no pasa de 155 mg/100 ml (habitualmente de 120 a 150 mg/100 ml) de 45 a 60 minutos después de tomar la dosis de prueba. La glucosa sanguínea debe ser normal otra vez al cabo de una hora y media o dos horas y media de iniciada la prueba. Habitualmente el mínimo alcanzado (entre una hora y media y dos horas y media) es un poco inferior a la cifra en el ayuno (aumento de la utilización); pero dicho nivel se recupera antes de los 30 minutos (Lynch, 1972).

Uno de los efectos más importantes de la insulina es que la glucosa absorbida después de una comida se almacena casi de inmediato en el hígado en forma de glucógeno. Posteriormente, cuando no se dispone de insulina y la concentración de la glucemia comienza a disminuir, el glucógeno hepático es dividido de nuevo en glucosa que se libera otra vez hacia la sangre para evitar que la glucemia

disminuya mucho. El mecanismo por el cual la insulina causa la captación y depósito de glucosa en el hígado incluye varias etapas casi simultáneas:

1. La insulina inhibe la fosforilasa, enzima que causa el desdoblamiento hepático del glucógeno en glucosa. Este hecho impide la destrucción del glucógeno ya que se encuentra en las células hepáticas.

2. La insulina aumenta la captación de glucosa de la sangre por las células hepáticas al incrementar la actividad de la enzima glucosinasa que causa la fosforilación inicial de la glucosa después que difunde al interior de las células hepáticas. Una vez fosforilada, la glucosa es atrapada dentro de las células hepáticas porque la glucosa fosforilada no puede difundir nuevamente a través de la membrana celular.

3. La insulina aumenta asimismo la actividad de las enzimas que promueven la síntesis de glucógeno, como la fosfofructocinasa que causa la segunda etapa de la fosforilación de la molécula de glucosa y la glucógeno/sintetasa que se encarga de la polimerización de las unidades de monosacáridos para formar moléculas de glucógeno.

La glucemia decreciente hace que el páncreas disminuya su secreción de insulina. Una vez que la glucemia comienza a disminuir hasta un valor bajo ocurren varios fenómenos que hacen que el hígado vuelva a liberar glucosa a la sangre circulante (Guyton, 1989).

Entre los aminoácidos que estimulan la síntesis de insulina se encuentran la L-lisina, L-ornitina, L-homoarginina y otros aminoácidos catiónicos. Estos aminoácidos actúan de manera similar a la L-arginina, que es considerado como un potente agente insulínotropico. La acción insulínotropica es dependiente de la acumulación de aminoácidos, pero no requiere de su metabolismo (Vincent, 1992).

Por otro lado, la insulina tiene varios efectos que conducen al depósito de grasas en el tejido adiposo. Uno es el aumento de la utilización de la glucosa por muchos tejidos del organismo. Sin embargo la insulina promueve asimismo la

síntesis de ácidos grasos principalmente en células hepáticas, donde son transportadas a las adiposas para almacenarse. Una pequeña parte de la síntesis ocurre en las células de grasa en sí (Guyton, 1989).

IV.2.- Origen y Distribución de las Cactáceas.

Las cactáceas son autóctonas del continente Americano en donde se encuentran distribuidas especialmente en las regiones áridas y semiáridas. México, por sus peculiares condiciones de latitud, topografía y las condiciones climáticas que prevalecen hacen que nuestro país albergue la mayor cantidad de especies; las cuales se encuentran distribuidas en las planicies de las zonas áridas y semiáridas del centro y norte del país, y que se sitúan en los estados de Coahuila, Nuevo León, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Hidalgo, Chihuahua, Durango y Aguascalientes (Bravo, 1978a).

IV.3. Aspectos históricos

Las cactáceas, por su aspecto peculiar, han sido motivo de atención en nuestro país desde tiempos remotos. La historia y el folklore registran la importancia que adquirieron entre las tribus prehispánicas según se deduce de sus tradiciones, teogonías, códices, monumentos descritos antes de su destrucción y de las numerosas voces con que les designaron y que aún persisten en nuestro país.

Por lo que se refiere a los nahoas, los historiadores desde la época de la conquista se han ocupado en considerar el aspecto social de las tribus civilizadas del Anáhuac, y han hecho notar el gran adelanto alcanzado por ellos en las ciencias naturales, muy especialmente en la botánica, ya que eran cuidadosos e inteligentes observadores de los caracteres de las plantas, así como de sus hábitos, desarrollo y propiedades útiles (Bravo, 1978a).

El interés de los nahoas por las plantas no era privativo de los humildes o de los curanderos, quienes con sagacidad y acierto pudieron llegar a conocer con precisión las plantas útiles, sino que se extendía a los grandes señores. Los nativos llegaron a conocer gran cantidad de vegetales que describieron por medio de símbolos, dibujos y representaciones mixtas, pues la iconografía fue su principal recurso; además, debido a su fina observación pudieron

ordenar sus conocimientos sobre plantas, por medio de un sistema de clasificación artificial, fundado en caracteres de afinidad, color, propiedades medicinales, etcétera.

En la vida económica, social y religiosa de los nahoas, las cactáceas desempeñaron un papel importante, a tal grado que el jeroglífico de la Gran Tenochtitlan, ostentaba airoosamente un nopal, símbolo que conserva el escudo de nuestro México actual; intervinieron en sus prácticas religiosas, y algunos fueron elevados a categoría de dioses; se usaron con frecuencia en la magia, pues varias de ellas eran consideradas como talismanes capaces de alejar los espíritus del mal; influyeron determinando la fundación de los poblados en regiones catíferas, y se les tuvo una gran estima como plantas de ornato (Bravo, 1978a).

IV.4. Clasificación

Probablemente la primera clasificación de especies de cactáceas fue realizado por los nahoas, que utilizaron una clasificación práctica. De esta manera, denominaban *nochtli* o *nopalli* a los nopales; añadiendo uno o varios términos al de *nochtli*, ayudaban a precisar su clase o tipo. Por ejemplo: *iztlanochtli* se utilizaba para designar los nopales de frutos blancos y *coznochtli* para los frutos amarillos; *xoconochtli* se refiere al nopal de frutos ácidos y *zaponochtli* al de tuna mansa (Pimienta, 1990).

Los *xoconostles* pertenecen a la familia *Cactaceae*, Subfamilia *Opuntioideae*, tribu *Opuntieae*, género *Opuntia* y subgénero *Opuntia*. El subgénero *Opuntia* incluye numerosas especies con hábitos de crecimiento arborescente, arbustivo y rastrero; con o sin tronco bien definido. Los cladodios (pencas), o tallos, son aplanados y pueden ser de forma lanceolada, elíptica abovada y hasta suborviculares. Incluye numerosas especies de frutos comestibles (tunas). Los frutos son globosos, ovoides y turbinados y llevan en el ápice la concavidad receptacular, u ombligo, más o menos profunda, desnuda después de la caída de los segmentos del perianto (Bravo, 1978a).

A pesar de que se han realizado estudios de taxonomía en el subgénero *Opuntia*, ésta es aún confusa porque la mayoría de las descripciones se realizaron con base a un solo ejemplar sin considerar la variabilidad existente en su habitat original. Esto ha ocasionado diferenciación de especies que, en realidad, no son mas que variedades, formas geográficas, híbridos, etcétera (Bravo, 1978b).

IV.5. Morfología y Anatomía

En las zonas áridas y semiáridas de México diferentes factores limitan el crecimiento de las plantas. La evolución de los nopales tuneros en este tipo de ambientes ha conducido a que las diferentes especies del subgénero *Opuntia* desarrollen características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que le permiten adaptarse a tales condiciones adversas. En el nopal tunero una modificación importante para enfrentar estas condiciones es la reducción en el tamaño de la lámina foliar, y lo efímero de éstas; ésto contribuye a reducir la pérdida de agua de las plantas por el proceso de transpiración foliar. En ausencia de hojas permanentes, el proceso fotosintético se realiza en los tallos verdes (Benson, 1963).

Otras adaptaciones importantes en esta planta se localizan en la epidermis de los cladodios, que se encuentra revestida de una cutícula gruesa que la protege de la evaporación (Conde, 1975). Otra modificación importante es la que los estomas se encuentran hundidos en criptas estomáticas y además que la densidad de éstos es baja y varía de 9 a 38 mm^2 , los que son relativamente bajos si los comparamos con otras especies frutales perennes, cuyo número oscila entre 300 a 800 estomas por mm^2 (Pimienta *et al.* en prensa). Destaca también la presencia de cristales de oxalato de calcio (drusas) en la corteza, los cuales son abundantes en las capas adyacentes a la epidermis. Se considera que la presencia de drusas en la corteza es una característica anatómica relacionada con la adaptación de esta especie a las condiciones bióticas y abióticas adversas que prevalecen en ambientes áridos. Se menciona que esta capa es refractiva

y actúa disminuyendo la absorción excesiva de energía luminosa (Pimienta et al. en prensa; Jacobsen, 1960; Doaigey, 1991). Debajo de la epidermis de los cladodios se distingue una capa de células de color verde intenso que constituye el tejido del clorénquima, y que debe su color al abundante contenido de cloroplastos en sus células. En este tejido es donde se realiza la fotosíntesis. En la porción interna de los cladodios se encuentra un cilindro de células blancas que deben su color al reducido número de cloroplastos y a la presencia de vacuolas grandes, las cuales ocupan el 95 % del volumen celular (Gibson y Nobel, 1986). Este tejido es el parénquima medular, cuya principal función es el almacenamiento de agua e imparte el carácter de succulencia en el nopal (Pimienta, 1990). En el clorénquima y parénquima medular se diferencian células mucilaginosas que almacenan mucilago; éstas se encuentran también en la cáscara de los frutos, ya que anatómicamente la cáscara se considera como un tallo modificado (Pimienta y Engleman, 1985). Algunos investigadores mencionan que el mucilago es altamente higroscópico y que actúa como elemento de absorción de agua (Haberlandt, 1965, citado por Pimienta, 1990); sin embargo estudios recientes del metabolismo de carbohidratos en el género *Opuntia* han revelado que el mucilago no funciona de esta forma (Sutton et al. 1981). El mucilago presente en las células de la corteza se ha descrito como un polisacárido ácido (T y M), que posee una estructura altamente ramificada (M y P). Recientemente se ha encontrado acumulación de mucilago en *Opuntia* en respuesta a las temperaturas bajas (Loik-M. y Nobel, 1991).

IV.6. Fisiología

Una de las adaptaciones fisiológicas más importantes de los miembros del subgénero *Opuntia*, es el proceso fotosintético denominado metabolismo ácido crasuláceo (MAC). Este tipo de fotosíntesis se distingue del de la mayoría de las plantas en que los estomas se encuentran cerrados durante el día y abiertos en la noche, cuando la temperatura y el déficit de presión de vapor son ordinariamente bajos. En la

fotosíntesis MAC, el CO₂ del aire es fijado a ácido málico durante la noche; este ácido se almacena en las vacuolas de la célula de la corteza. Durante el siguiente periodo de luz, el ácido málico es liberado de la vacuola y descarboxilado en el citoplasma para liberar CO₂, el cual es finalmente refijado y reducido en los cloroplastos por medio del ciclo de Calvin. Una de las ventajas de esta ruta metabólica es que se abate la pérdida de agua por transpiración, debido a que los estomas están abiertos en la noche y cerrados en el día (Kluge y Ting, 1978).

La acumulación de ácido málico durante el transcurso de la noche ocasiona que los cladodios reduzcan su pH, es decir, acidifican los tejidos. Esta acidificación o acumulación de ácidos es más intensa en los cladodios jóvenes que en adultos (Pimienta, 1990).

IV.7. Composición Química del Cladodio

El cladodio se caracteriza por tener un contenido de agua que oscila entre el 88 y 91 %, siendo el mayor porcentaje en cladodios jóvenes que en adultos. El contenido de materia seca fluctúa entre 9 y 12 %. Del total de materia seca, cuatro por ciento es proteína, 1.8 % es grasa, 9.2 % fibra gruesa y 18 % cenizas. En cladodios jóvenes se encuentran porcentajes más bajos de materia seca, pero superiores en proteína. Respecto a la composición mineral, es notable la acumulación de calcio, llegando a registrarse porcentajes que van de cinco a 9.5 % (Nobel, 1983; Crosta y Vecchio, 1979; citados por Pimienta, 1990).

Los cladodios jóvenes o nopalitos están constituidos principalmente por agua (92%), carbohidratos (4-6%), proteínas (1-2%), minerales (1%) y cantidades moderadas de vitaminas, principalmente A y C. Debido a que los nopalitos presentan metabolismo MAC, se observa variación en el contenido de ácidos orgánicos durante el día; el pH varía de 4.4 en la tarde a 5.2 en las primeras horas de la mañana y el porcentaje de ácido málico varía de 0.5% a 8:00 am a 0.1% a las 4:00 pm (Cantwell, 1991; Neri, 1991).

IV. 8. Composición Química del Fruto

En el fruto de los nopales tumeros el componente que se encuentra en mayor proporción es el agua (85-90 %). El resto está constituido por una gran diversidad de compuestos. El porcentaje de sólidos solubles totales varía de 10 a 15 %; el de azúcares reductores de 3.9 a 9.2. El pH oscila entre 6.4 y 7.1; El contenido de ácido ascórbico puede llegar a alcanzar valores de 41.0 mg/100 g de pulpa (Delgado 1985).

IV.9. Usos Medicinales

El uso de los nopalitos como planta medicinal se remonta a las culturas prehispánicas (Sánchez-Mejorada, 1982). Una práctica común que persiste hasta nuestros días es el uso de cladodios calentados para reducir el ardor de los riñones y al orinar. Los jugos de los nopalitos se empleaban también en caso de fiebres biliosas y malignas y como ayuda para sanar úlceras (Bravo, 1978a; Meyer and McLaughlin, 1981).

Estudios etnobotánicos en las poblaciones rurales de México han revelado un uso extensivo del nopal como tratamiento para el control de la diabetes mellitus (Morales, 1990). Reportes del uso del nopal para el tratamiento de diabetes también se han reportado en Australia y Sudáfrica (Meyer and McLaughlin, 1981).

A pesar de la gran cantidad de evidencias de usos medicinales del nopal, no fue hasta que se estableció el Instituto Mexicano de Plantas Medicinales a principios de los 70's, que se empezó a investigar el efecto hipoglucemiante del nopal (Trejo-González *et al.* 1991). Investigaciones recientes han demostrado las propiedades hipoglucemiantes de los "nopalitos" (Fрати-Munari *et al.* 1983; Ibañez-Camacho y Román-Ramos, 1979; Fernández-Harp *et al.* 1984). El consumo de "nopalitos" también tiene efectos en el metabolismo de lípidos. La ingestión de nopalitos cocinados a las brasas antes de cada comida puede ser de gran utilidad en el tratamiento de hiperlipidemia, diabetes mellitus y obesidad. De los resultados obtenidos en algunos estudios se infiere que el uso del nopal puede ayudar a la prevención del cáncer

de colon y la diverticulitis atribuida a la proliferación de bacterias por la permanencia prolongada de heces en el intestino grueso (Morales, 1990).

En Estados Unidos ha sido ignorado por largo tiempo el potencial de las plantas medicinales, sin embargo recientemente ha empezado a llamar la atención las propiedades medicinales del nopal, lo cual en parte es debido a que se ha incrementado la popularidad de los "nopalitos" y las tunas en los estados de la frontera sur de este país, ya que existe una amplia población de origen hispano que acostumbra su consumo. La elaboración de productos de nopal para el tratamiento de las enfermedades anteriormente citadas, puede incrementar el valor económico de los nopalitos y su demanda en Estados Unidos (Hegwood, 1990).

También se menciona el uso medicinal de otras partes de la planta como son los frutos y las raíces. Paez (1978) citado por Figueroa (1984), menciona que las tunas machacadas y reducidas a pulpa cruda o cocida eran utilizadas como cataplasmas. Las raíces de algunas especies de nopal se emplean como remedio para la diabetes, hernias, erisipelas, patologías hepáticas y ulceraciones. Los indios seris de Sonora acostumbran el uso de la pulpa de las tunas para tratar niños con diarreas persistentes. En Hawai se emplea el mucilago de la tuna como laxante (Meyer y McLaughlin, 1981).

En la Isla de Sicilia, Italia donde existe una amplia tradición en el cultivo y aprovechamiento del nopal, es común que para el tratamiento de problemas renales se elabore un te de flores de nopal. Una pasta de flores secas se aplica en la piel para curar el sarampión.

Gran parte de las propiedades medicinales de las partes reproductivas y vegetativas del nopal, probablemente se deban al mucilago, polisacárido que es abundante en las diferentes partes de la planta del nopal. Recientemente en uno de los más elegantes trabajos sobre las propiedades medicinales del nopal realizado en la Universidad de Arizona por Fernández *et al.* 1990, se encontró que un pectinoide aislado del nopal reduce los niveles de colesterol hepático, debido al incremento de los ácidos biliares y la interrupción de la

circulación enterohepática. Este mismo pectinoide se ha demostrado que tiene efectos hipoglucemiantes (Trejo-González et al. 1991).

En Perú es común el aprovechamiento del nopal como planta medicinal. La fruta asada se emplea para curar la tos y la cáscara se utiliza para curar enfermedades de los riñones (Romero, 1986).

IV.10. Caracterización del Xoconostle (*Opuntia joconostle* Weber).

Tanto a la planta como al fruto se le identifica con el nombre de "xoconostle". Se encuentra en condición silvestre en las zonas semiáridas de los estados de Jalisco, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro (Pimenta, comunicación personal). En condición cultivada se encuentra en los estados de México, Jalisco, Querétaro y Michoacán del Altiplano (Bravo, 1978a).

La planta es arborescente de dos a tres m de altura, con tronco bien definido, como de 20 cm de diámetro, grisáceo; ramificación abundante. Artículos pequeños, ovales, con epidermis glabra, de color verde claro ligeramente amarillento. Espinas blancas, de longitud desigual. Flor amarilla. El fruto subgloboso, como de 3 a 6 cm de diámetro, de pulpa ácida rosada, ligeramente perfumada.

El fruto del xoconostle se conoce con diferentes nombres vulgares: "tuna blanca", "tempranilla", y "joconoxtle", "xoconoxtle". El nombre de esta especie alude al sabor del fruto y proviene del Náhuatl *xoconochtli* que significa tuna agria. (Bravo, 1978a).

El peso promedio del fruto varía de 20 a 44 g; de este peso el mayor porcentaje (70 %) es ocupado por la cáscara o receptáculo, debido a que el lóculo que contiene la pulpa ocupa un volumen pequeño.

Sánchez (1990) reporta que la variación del contenido de azúcares solubles en el pericarpio oscila entre 0.52 y 0.88 g/100 g de peso fresco. Este mismo autor identificó por lo menos 12 azúcares distintos: Los más comunes son:

sacarosa, fructuosa, maltosa, rafinosa, triosa (no identificada), trisacárido (no identificado) y un azúcar desconocido; glucosa, arabinosa y galactosa.

Como verdura y condimento se emplea como sustituto del tomate de cáscara, ya que el sabor que da el xoconostle a los guisos es semejante al que da éste o también al del limón. El caldo, el mole y los tamales, son guisos donde es más frecuente su empleo. Los frutos, se preparan como dulces cubiertos y también para condimentar algunos platillos regionales.

Otro uso importante es como planta medicinal ya que los campesinos utilizan el fruto, para el tratamiento de una gran diversidad afecciones como son los casos de fiebre, gripa, dolor o inflamación de la garganta, de anginas o dolor de espalda. Lo aplican solamente cuando el "xoconostle" ha sido debidamente "tatemado" o "soasado" (cocido) en las brasas, tibio se abre en "flor" (cuatro partes sin separarse) y se unta el "juguito" del centro, en la planta de los pies, en articulaciones de brazos y piernas, espalda, pecho y garganta, después de hacerlo se abrigan para mantener caliente la parte que fue frotada con el "xoconostle", cuidando la persona de no exponerse a cambios bruscos de temperatura para aliviar enfermedades respiratorias; también se acostumbra ingerirlo en jarabes. Para la diabetes y presión arterial se consume crudo, licuado y en ayuno (Hernández, 1990; Sánchez, 1987).

V. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital Regional no. 46 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en la Unidad de Medicina Nuclear del Centro Médico de Occidente del IMSS y en el Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara.

El procedimiento experimental que se empleó para llevar a cabo el estudio se describe a continuación:

V.1. Selección de Voluntarios

El reclutamiento y selección de voluntarios se llevó a cabo principalmente entre estudiantes de la Universidad de Guadalajara, los cuales fueron entrevistados directamente y si éstos mostraban disposición de colaboración, se elegían siempre y cuando reunieran los criterios de inclusión que se alistan a continuación:

1. Personas "sanas"
2. Sexo masculino
3. Edad 18 a 30 años
4. Peso normal (+/- 10 % del peso ideal)
5. Sin antecedentes familiares de diabetes
6. Tabaquismo negativo
7. Sin toma habitual de medicamentos (como por ejemplo: ácido acetil-salicílico, dipirona)
8. Aceptación voluntaria a participar

Con esto se logró seleccionar 8 personas (voluntarios).

V.2. Selección de Frutos

Los frutos de xoconostle que se utilizaron en este trabajo se colectaron de una plantación intensiva comercial en el rancho "Los Alpes", propiedad del Ing. Rubén González, que se encuentra localizado en el municipio de Pinos, Zacatecas.

Se cosecharon frutos que se encontraban en la condición de maduración fisiológica y que además se encontraban libres de daños causados por plagas, enfermedades y factores climáticos adversos (granizo, heladas).

Una vez que se cosecharon los frutos fueron llevados al Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara. En este lugar se prepararon los frutos para el estudio sobre los cambios fisiológicos del fruto después de la cosecha y las pruebas del efecto del consumo de xoconostle sobre los niveles de la glucemia e insulina. A continuación se describen los procedimientos empleados para llevar a cabo ambas actividades:

V.3. Evaluación de Cambios Fisiológicos en Frutos de Xoconostle Después de la Cosecha.

Para evaluar los cambios fisiológicos en los frutos a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha se emplearon 160 frutos maduros de *Opuntia joconostle* Web. Con el fin de llevar a cabo un muestreo aleatorio de frutos en las diferentes fechas de evaluación se le anotó un número a cada fruto, adheriendo a este un pedazo pequeño de cinta adhesiva (Figura 1); posteriormente se registró el peso y el diámetro polar y ecuatorial.

Los frutos se sometieron a dos tratamientos: luz y oscuridad. El tratamiento de luz consistió en colocar 80 frutos de xoconostle en la mesa del laboratorio (del número 1 al 80), previamente desinfectada con cloro (4 %), a temperatura ambiente.

Para el tratamiento de oscuridad se colocaron 80 frutos (del 81 al 160) en bolsas de papel en una gaveta previamente desinfectada con cloro (4 %), a temperatura ambiente.

A partir del segundo día después de la cosecha y después cada 7 días hasta los 49 días, se tomaron 5 frutos al azar de la condición de luz y oscuridad, usando una tabla de números aleatorios para seleccionar los frutos para cada una

de las fechas en que se llevaron a cabo las determinaciones fisiológicas, que se describen a continuación:

1) Peso fresco.

2) Posteriormente los frutos se lavan con agua destilada y se quita la cutícula del fruto, para separar el lóculo de la cáscara (receptáculo) (Figuras 2, 3 y 4).

El receptáculo se corta en trozos pequeños para proceder a su homogenización. Las muestras homogeneizadas se colocan en frascos de vidrio cubiertos con papel aluminio, se almacenan en el refrigerador para posteriores determinaciones químicas, que a continuación se describen:

pH

Se pesan 6 g de tejido homogenizado a los cuales se les agregan 40 ml de agua bidestilada, se agita con una varilla de vidrio y se filtra (coladera doméstica) a fin de obtener una suspensión sin partículas grandes que puedan interferir en la medición. Para ello se utiliza un potenciómetro Conductronic pH 20.

Acidez Titulable

Se determinó en base al método de A.A. Kader (comunicación personal) de la Universidad de California, Davis.

Después de haber registrado el pH a la misma muestra se le agrega hidróxido de sodio 0.01 N hasta lograr un pH de 7.2 (los datos de acidez se refieren a la cantidad de H⁺).

Para estimar el porcentaje de ácido málico se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de ácido málico} = \frac{\text{ml utilizados de NaOH} * \text{N de NaOH} * 6.7}{6 \text{ g de tejido}}$$

Extracción y Determinación del Contenido de Proteína

Para la extracción de proteína se utilizó el método descrito por Choe y Timann (1975) con algunas modificaciones.

Se pesan 2 g de tejido, el que se homogeniza con 8 ml de acetona fría (80 %). El homogenizado se centrifuga a 10,000 rpm por 10 minutos, a temperatura baja (-4°C). Se descarta el sobrenadante. Al precipitado se le adiciona la misma cantidad de acetona (80 %), en seguida se lleva a cabo una segunda centrifugación a la velocidad, tiempo y temperatura previamente mencionados. Al precipitado final se le agregan 8 ml de ácido tricloroacético (10 % frío y se almacena a temperatura baja (-10°C) en un refrigerador doméstico por espacio de una hora. Posteriormente se agita en un Vortex y se centrifuga a 10,000 rpm durante 20 minutos. Después de esta centrifugación se elimina el sobrenadante y al precipitado se le adicionan 3.2 ml de hidróxido de sodio (1 M). Posteriormente se coloca la muestra en un baño de maría (80°C), por un tiempo de 20 minutos. Después se mide el volumen final.

Finalmente la proteína insoluble en acetona (80 %) se estima utilizando el método de Lowry (1951). La curva de calibración se elabora con albúmina de suero de bovino y la cantidad de proteína en cada muestra se obtiene en base a esta referencia de calibración.

Extracción y Determinación del Contenido de Azúcares Solubles

Se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Carnal y Black (1989) con algunas modificaciones.

A un gramo de tejido homogenizado se le añaden 5 ml de etanol (80 %), posteriormente se calienta a 75°C por 5 minutos, se centrifuga a 10,000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se colecta en una probeta, se repiten los pasos anteriores con el precipitado. Se combinan los sobrenadantes y se centrifugan a 15,000 rpm (4°C) por 20 minutos. El sobrenadante obtenido de esta tercera centrifugación se coloca en una probeta y se lleva a un volumen final, se toman alícuotas para la determinación de azúcares totales y reductores.

Contenido de azúcares totales

Se realizó por el Método colorimétrico de fenol descrito por Dubois y colaboradores (1956), siguiendo la rutina de análisis químicos de frutos del Laboratorio de Postcosecha del Departamento de Pomología de la Universidad de California, Davis, la cual se adecuó a nuestro material de estudio.

Del sobrenadante se toma una alícuota de 0.1 ml y se coloca en tubos de ensaye y a los que se agregan 2 ml de antrona (disuelta en ácido sulfúrico concentrado). Se agitan en un Vortex, posteriormente se colocan en un baño de María (80°C) durante 10 minutos. Se dejan enfriar de uno a dos minutos. Finalmente se registrará la absorbancia a 620 nm, utilizando como blanco agua destilada.

La cantidad de azúcares totales se determina en base a una curva estándar empleando diferentes concentraciones de glucosa.

Contenido de azúcares reductores

Se utilizó el método colorimétrico de Somogyi (1952) con las modificaciones citadas previamente para el análisis de azúcares totales.

Agregar 0.1 ml de muestra a tubos de ensaye, a los que se les adicionan 1 ml de reactivo de cobre, este reactivo resulta de la combinación de Cu I (tetrato de sodio y potasio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y sulfato de sodio) y Cu II (sulfato de cobre y sulfato de sodio) en una relación de 4:1 (cuatro partes de Cu I y una de Cu II). Posteriormente se calienta en una baño de maría durante 10 minutos. Se dejan enfriar de uno a dos minutos. A cada tubo se le agrega 1 ml de reactivo de Nelson (el cual contiene molibdato de amonio disuelto en agua destilada, ácido sulfúrico mezclado con arsenato de sodio). Esta muestra se agita (Vortex). Se deja reposar 30 minutos en obscuridad. Finalmente se mide absorbancia a 565 nm.

La concentración de azúcares reductores se estima a partir de una curva de calibración elaborada con glucosa.

V.4. Determinación del Efecto de la Ingesta de la Cáscara del Fruto de Xoconostle Sobre los Niveles Séricos de Glucosa e Insulina.

Para llevar a cabo estas determinaciones se emplearon dos tratamientos: en el primero a los voluntarios se les practicó una curva de tolerancia oral a la glucosa; y en el segundo además de ésto se les administraron 200 g de la cáscara del fruto del xoconostle.

Como requisitos para iniciar los estudios control y experimental, las personas participantes mantuvieron ayuno previo de 12 horas (iniciando a las 20:00 horas del día anterior), sin haber ingerido alcohol ni medicamentos cuando menos 32 horas anteriores al inicio de cada tratamiento.

En cada tratamiento se tomaron muestras sanguíneas a los tiempos: -20, 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 y 200 minutos.

Para la toma de muestras sanguíneas se canaliza al paciente con un equipo de venoclisis (con solución salina fisiológica 0.9 %). En cada tiempo de toma de muestra se retira del catéter la solución salina fisiológica y se eliminan las primeras gotas de sangre, después se colectan 5 ml de sangre en un tubo de ensaye (dejando que la sangre resbale por la pared del tubo para evitar la hemólisis), y se deja coagular. Posteriormente se separa el suero en una centrifuga clínica a una velocidad de 4,500 rpm durante 5 minutos. Inmediatamente después se determina la glucosa sanguínea y el resto del suero se conserva a una temperatura de -20°C para la determinación posterior de insulina.

Tratamiento Testigo (A)

El primer Tratamiento se efectuó de la manera siguiente: a los voluntarios se les practicó una curva de tolerancia oral a la glucosa, la cual consistió en:

1. Administración de 200 ml de agua entre el tiempo -20 y 0 minutos, (primera y segunda muestra sanguínea, respectivamente) en un lapso no mayor de 10 minutos.

2. Inmediatamente después de la segunda muestra sanguínea (0 minutos) y en un lapso no mayor de cinco minutos, se administra una carga de solución glucosada (75 g de glucosa en 250 ml de agua⁻¹).

El resto de las tomas de muestras se realizó en los tiempos anteriormente mencionados.

Tratamiento Experimental (B)

El segundo Tratamiento se realizó de la siguiente forma:

1. Administración de 200 g de cáscara sin cutícula del fruto del xoconostle entre el tiempo -20 y 0 minutos (primera y segunda muestra, respectivamente) en un lapso no mayor de 10 minutos.

2. Administración oral de solución glucosada, empleando las cantidades y tiempos de administración mencionadas en el Tratamiento A.

Los frutos de xoconostle empleados en el Tratamiento B se almacenaron por un tiempo no mayor de 35 días después de la cosecha y se conservaron en condiciones de obscuridad a temperatura ambiente (24°C).

V.5 Determinaciones Químicas y Bioquímicas

V.5.1. Determinación de Glucosa

Para la determinación de glucosa se utilizó el método de glucosa oxidasa descrito por Trinder (1969), con algunas modificaciones, que se describe a continuación:

En tubos de ensaye adecuadamente marcados se colocan 2.0 ml del reactivo denominado Glucose Trinder (Gliford). A intervalos regulares de tiempo se añaden 0.005 ml de agua destilada, estándar (50, 100 y 300), control o muestra

⁻¹ Esta es la dosis recomendada por la Organización Mundial de la Salud para este tipo de estudios (OPS, 1988).

desconocida a cada tubo de ensaye y se mezcla bien. Después de 18 minutos de incubación a temperatura ambiente (18-25°C), se lee la absorbancia a 505 nm de la solución de cada tubo de ensaye en los mismos intervalos de tiempo utilizados anteriormente.

Para determinar la concentración de glucosa en la muestra se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Conc. de glucosa} = \frac{A_{\text{desc}} - A_{\text{bl}}}{A_{\text{std}} - A_{\text{bl}}} \times \text{conc. del std}$$

A_{desc} = Absorbancia del desconocido

A_{bl} = Absorbancia del blanco

A_{std} = Absorbancia del estándar

Conc. de glucosa = concentración de glucosa

Conc. del std = concentración del estándar

V.5.2. Determinación de Insulina.

La insulina se determinó por el método de radioinmunoensayo (Marschner *et al.* 1974), que a continuación se describe:

Se etiquetan 4 tubos (descubiertos) T de polipropileno de 12 X 75 mm y NSB (unión no específica) en duplicado. Después se etiquetan 14 tubos cubiertos con anticuerpos: A, de máxima unión, y B hasta G en duplicado. Y finalmente se etiquetan tubos con anticuerpos adicionales, también en duplicado, para el control y muestras de pacientes.

A continuación se presente los valores de la curva de calibración empleada en esta determinación:

Calibradores	$\mu\text{IU}/\text{ml}$ 1er IRP (66/304)
A (MB)	0
B	5
C	15
D	50
E	100
F	200
G	400

Enseguida se pipetea 200 μl del calibrador A en el NSB y tubos A, y 200 μl de cada calibrador restante, control y muestras de pacientes en los tubos preparados (se pipetea directamente en el fondo del tubo). Como paso inmediato se adiciona 1.0 ml de (^{125}I) insulina a todos los tubos y se agita en un Vortex. Posteriormente se incuban de 18 a 24 horas a temperatura ambiente, enseguida se remueve toda la humedad posible. Usando una gradilla de espuma se decanta el contenido de todos los tubos (excepto el tubo T) y se drena por dos o tres minutos. Después se golpean los tubos enérgicamente en papel absorbente para eliminar la humedad residual. Finalmente se realiza el conteo por un minuto en un contador gama.

Para calcular la concentración de insulina, se emplea una representación logarítmica de la curva de calibración, para ésto primero se calcula para cada par de tubos el porcentaje de NSB del conteo por minuto.

$$\text{Total de cuentas} = \% \text{ de CPM} - \% \text{ de NSB CPM}$$

CPM = Conteo por minuto

Entonces se determina la unión de cada par de tubos con un porcentaje de máxima unión, con el conteo corregido de los tubos A tomados como el 100 %.

$$\% \text{ de unión} = \frac{\text{Cuentas totales}}{\text{Cuentas de MB total}} \times 100$$

MB = Unión Máxima

El cálculo puede ser simplificado omitiendo la corrección de unión no específica; las muestras dentro del rango de calibradores producen virtualmente los mismos resultados cuando el porcentaje de unión es calculado directamente del porcentaje de cuentas por minuto.

VI. RESULTADOS

La curva de tolerancia oral a la glucosa, que se obtuvo después de la ingestión de la cáscara del fruto de xoconostle reveló diferencias en los niveles de glucosa sérica entre el tratamiento con xoconostle y el testigo después del minuto 40. Sin embargo, al comparar las medias de los dos tratamientos, usando muestras apareadas (intervalo de confianza al 95 %), se encontró que únicamente se presentan diferencias estadísticas entre ambos tratamientos en los tiempos de 120 y 140 minutos después de la ingesta de la solución glucosada (Figura 5). El análisis de correlación y regresión lineal de ambos tratamientos, a partir del tiempo en que se alcanzó el nivel más alto de glucosa (minuto 40) y el tiempo en que se inicia la estabilización de los niveles de glucosa, que corresponde a los 140 minutos en el tratamiento B y a los 160 en el testigo, reveló que en el caso del tratamiento B se encontró una relación negativa (tomada del valor máximo de glucosa hasta el momento en que se alcanzan valores que se consideran clínicamente como normales), con una tasa de reducción de 0.64 mg de glucosa por minuto y una $r = -0.99$ ($P > 0.001$) (Figura 6); similar tipo de relación se encontró en el testigo siendo el valor máximo al minuto 40 y alcanzando un nivel normal de glucosa en el minuto 160, aunque la tasa de disminución fue menor (0.48 mg de glucosa por minuto), con un valor de $r = -0.97$ ($P > 0.001$) (Figura 7).

Por otro lado, la ingesta de la cáscara del fruto del xoconostle incrementó notablemente los niveles de insulina durante los primeros 100 minutos, después de administrada la solución glucosada. Este incremento fue más notorio a los 40 minutos, ya que se registraron 99 $\mu\text{UI/ml}$ en el tratamiento en que se administró xoconostle, en contraste con el Testigo donde en ese mismo tiempo se registraron 51 $\mu\text{UI/ml}$. Al comparar las medias de los dos tratamientos, usando muestras apareadas (intervalo de confianza al 95 %), se encontró que únicamente se presenta diferencia estadística entre ambos tratamientos, en los tiempos 20, 40 y 60 después de la

ingestión de la cáscara del fruto de xoconostle (Figura 8). Por otra parte, el análisis de correlación y regresión lineal realizado entre el tiempo inicial (minuto 0) y el valor máximo de insulinemia en ambos tratamientos (que corresponde al minuto 60 en el testigo y 40 en el tratamiento con xoconostle) reveló una relación positiva, con una tasa de incremento de $0.86 \mu\text{UI/ml}$ y una $r = 0.89$ ($P > 0.01$) para el caso del testigo (Figura 9); y en el tratamiento B la tasa de incremento es de $2.33 \mu\text{UI/ml}$ con una $r = 0.94$ ($P > 0.001$) (Figura 10).

Con lo que respecta a los cambios fisiológicos que ocurrieron en los frutos; se encontró estabilidad en los valores de pH registrados durante el transcurso de las observaciones, ya que éste osciló entre 3.2 y 3.4 en condiciones de luz y de 3.2 a 3.5 en obscuridad (Figura 11). Tendencia similar se encontró en los porcentajes de ácido málico (Figura 12). En relación a los azúcares totales se observó, que durante los primeros 5 días se incrementa su contenido, en condición de luz y de obscuridad. Después de este incremento se observa una reducción significativa, que alcanza su valor mínimo a los 21 días. En este tiempo, la reducción llega a ser cercana al 90 % del valor máximo que se registró a los 7 días. Después del día 21 se incrementa el contenido de azúcares, aunque únicamente es más notable en la condición de luz que en la de obscuridad (Figura 13). En el caso de los azúcares reductores se encontró un comportamiento similar durante los primeros 28 días, aunque en contraste con los azúcares totales, los reductores presentaron un incremento notable en su contenido entre los días 28 y 35, aunque posteriormente se observa disminución gradual, aunque ésta fue de menor intensidad que la reducción que se registró durante los días 7 y 28. Sin embargo, llama la atención, que al final del periodo de observación la disminución fue mayor en la condición de luz que en la de obscuridad. En la condición de obscuridad el contenido de azúcares reductores fue ligeramente inferior al registrado en la primer fecha de evaluación (Figura 14).

El comportamiento del contenido de proteína revela una respuesta diferente a la observada para el resto de los componentes químicos evaluados, ya que con excepción del período de tiempo de los 7 a los 14 días en la condición de luz, en el resto de tiempos se observó un incremento en el contenido de proteína, que alcanza los valores máximos para ambas condiciones ambientales a los 21 días y después se estabilizan hasta el final de las observaciones (Figura 15).

VII. DISCUSION

La prueba de tolerancia a la glucosa es una prueba natural, que permite establecer la respuesta insulínica frente a un estímulo fisiológico generado por glucosa. En este tipo de curvas se observa que en un individuo normal el nivel de glucosa después de la absorción se incrementa hasta 150 mg/100 ml. Las cifras normales (80-90 mg/100 ml) se recuperan generalmente antes de 120 minutos, y desde luego antes de los 180 minutos contados a partir de la ingestión de glucosa (Lynch, 1972).

Al comparar las curvas de tolerancia del testigo y el tratamiento con xoconostle se encontró que en ambos casos la cifra máxima de glucosa es cercana a los 145 mg/100 ml, que es considerada como una respuesta normal (Lynch, 1972). Por otro lado, este valor máximo ocurre a los 40 minutos que es ligeramente inferior al rango reportado como normal (45-60 minutos). Los niveles normales se alcanzaron en el testigo a los 160 minutos y con el tratamiento con xoconostle a los 120 minutos, por lo que se puede inferir que la ingesta de xoconostle únicamente presentó diferencias con el testigo en el tiempo en que se alcanzaron los valores normales de glucosa después de la ingestión de este carbohidrato. Lo anterior deja entrever que el xoconostle tiende a normalizar curvas de tolerancia a la glucosa, lo cual se ha confirmado recientemente en forma parcial con observaciones realizadas en individuos sanos (Méndez, L. 1992, comunicación personal).

Uno de los aspectos más relevantes de este trabajo es el incremento de la síntesis de insulina en respuesta a la ingestión de la cáscara del fruto del xoconostle. Esta observación contrasta con los resultados obtenidos en trabajos realizados anteriormente en los que reportan que la ingestión de cladodios jóvenes de nopal por personas sanas, obesas o con DM tipo II disminuye significativamente los niveles de insulina, además de disminuir los niveles de glucosa sanguínea (Fрати *et al.* 1983; Fernández-Harp *et al.* 1984; Frати *et al.* 1987; Frати *et al.* 1988a; Frати *et al.* 1989a).

Lo que más llama la atención del estímulo en la síntesis de insulina inducida por la cáscara del fruto de xoconostle es el hecho de que normalmente la síntesis de esta hormona es estimulada por diferentes tipos de secretagogos, tales como: glucosa, aminoácidos catiónicos, ácidos grasos y cuerpos cetónicos (Guyton, 1989; Vincent, 1992). Sin embargo, la evaluación del contenido de azúcares en la cáscara del fruto de xoconostle durante el desarrollo del experimento reveló que el contenido de azúcares (totales y reductores) en la cáscara del fruto de xoconostle fueron relativamente bajos, comparados con los niveles que se encuentran en otros alimentos (10-20 %), que normalmente estimulan la síntesis de insulina después de su ingestión (OPS, 1988). Recientemente se ha corroborado que los aminoácidos catiónicos son factores importantes en la síntesis de insulina (Vincent, 1992). Sin embargo, no se puede atribuir en general a los aminoácidos el ser causa de este estímulo debido al hecho de que el contenido de proteína en la cáscara de los frutos muestra tendencia a incrementarse con el tiempo, por lo que el metabolismo de proteínas muestra tendencia sintética o anabólica, lo cual mantiene bajos los niveles de aminoácidos libres en el tejido, por lo que la hidrólisis de proteína aparentemente no fue significativa para liberar aminoácidos que participen en la síntesis de insulina.

Generalmente un incremento en la síntesis de insulina, se asocia con cambios en el metabolismo de carbohidratos y de lípidos (Guyton, 1989). Sin embargo en este trabajo se encontró que el incremento en la síntesis de insulina no se acompañó de cambios notables en los niveles de glucosa sanguínea después de la ingesta de xoconostle. Aunque llama la atención el hecho de que durante los primeros 100 minutos después del valor máximo de glucosa fue mayor la tasa de reducción en el tratamiento con xoconostle que en el testigo, es decir que los valores normales de glucosa se alcanzan en un menor tiempo como respuesta a la ingesta del xoconostle. Por otro lado, esta observación nos sugiere la posibilidad de que la ingestión de la cáscara del fruto de xoconostle está

causando resistencia a la insulina, fenómeno que normalmente ocurre en individuos obesos que presentan diabetes Tipo II (Zárate y Espinosa, 1984).

Las investigaciones hasta ahora realizadas en las que se encontró disminución de la glucemia en respuesta a la ingesta de nopal, adjudican este resultado a un efecto mecánico, debido a la presencia de fibras. Sin embargo, esta apreciación del concepto de fibra es amplio, e incluye una gran cantidad de compuestos químicos que no se pueden clasificar como fibras, además se ha confundido el término goma con mucilago, ya que el mucilago cuando se expone al aire se transforma en una goma. Es probable que el efecto hipoglucemiante reportado en estos trabajos se atribuya al mucilago, ya que evidencias recientes han demostrado que este polisacárido disminuye los niveles de lipoproteína (Fernández *et al.* 1990).

En este trabajo se encontró que el efecto del fruto en estimular la síntesis de insulina es mayor conforme transcurre más tiempo después de que es cosechado. También se observó, que durante la extracción de azúcares y proteína que el contenido de mucilago es mayor en los frutos que tienen más tiempo después de la cosecha, por lo cual se sugiere que probablemente este polisacárido de reserva, desempeñe un papel importante en los efectos observados en este trabajo. Por otro lado, descartamos efectos de las fibras debido a que la cáscara es un tejido primario, en que la mayor parte del tejido lo conforman células parenquimatosas.

En la literatura se menciona que intermediarios glucolíticos estimulan la secreción de insulina y que esto depende de la concentración intracelular de Ca^{++} . Por otro lado la disminución de las concentraciones extracelulares de Ca^{++} inhiben la secreción de insulina sin afectar su biosíntesis (Goodman *et al.* 1991). Esta observación es relevante debido a que en los tejidos de miembros del subgénero *Opuntia* se ha registrado acumulación relativamente alta de calcio (5 a 9.5 %) en comparación con otras especies vegetales (Nobel, 1983). Además en la cáscara de los frutos se registraron valores de pH que oscilaron de 3.2 a 3.5, lo

cual se debe principalmente al hecho de que esta planta presenta metabolismo ácido crasuláceo (Kluge y Ting, 1978). Lo anterior nos conduce a sugerir que por las características de metabolismo y la tendencia a la acumulación de Ca^{++} que presenta este tipo de tejidos es probable que el incremento en los niveles de insulina registrados en este trabajo se atribuyan a una mayor disponibilidad de intermediarios de la glucólisis y de calcio intercelular.

Los resultados obtenidos en este trabajo han generado otras inquietudes no contempladas en los objetivos e hipótesis iniciales de esta tesis. Los aspectos que más llamaron la atención fueron el estímulo en la síntesis de insulina, que es notable comparado con los valores obtenidos con el testigo. Otro aspecto fue el hecho de que el efecto hipoglucemiante del fruto de xoconostle fue mayor cuando los frutos de xoconostle fueron administrados a los voluntarios después de 15 días de que fueron cosechados y mantenidos almacenados en obscuridad (condición que no se reflejó al realizar las medias poblacionales), lo cual sugiere la posibilidad de que durante el almacenamiento del fruto se generen sustancias no identificadas que tienen efecto sobre el metabolismo de glucosa e insulina. Esto nos permite sugerir que en la siguiente etapa de este proyecto se evalúe el efecto de frutos almacenados en la oscuridad en diferentes intervalos de tiempo, con el fin de verificar si existe relación positiva entre el tiempo de almacenamiento y el efecto hipoglucemiante del fruto del xoconostle. Como se menciona previamente es probable que el mucilago constituya el principal agente causal al cual se le puede adjudicar los efectos hipoglucemiantes encontrados cuando se administraban frutos después de los 15 días de almacenamiento.

Sin embargo, queda como cuestionamiento relevante el hecho de que el fruto no contiene las cantidades de secretagogos (e.g. azúcares, aminoácidos) a los cuales se les pueda adjudicar los incrementos de insulina registrados en este trabajo. Por lo que existe la posibilidad de que en la cáscara del xoconostle se encuentre otro tipo de secretagogo no identificado que potencie la secreción y biosíntesis de

insulina, a través de la activación de los receptores que se localizan en las células beta. Un candidato potencial es el calcio, ya que es un mineral que se encuentra en niveles altos en los tejidos de cactáceas.

VIII. CONCLUSIONES

1. La ingestión de 200 g de cáscara del fruto de xoconostle no disminuye en forma significativa los niveles de glucemia (únicamente en donde se presentó diferencia hubo un decremento de 21.8 %), sin embargo, incrementa los niveles de insulina (77.35 % para los tiempos en donde la diferencia fue significativa), en comparación con el testigo.

2. El incremento de la insulinemia (provocada por la ingestión de la cáscara del fruto de xoconostle) no se puede atribuir directamente a la cantidad de secretagogos comunes capaces de promover la secreción de esta hormona, ya que la concentración de azúcares fue baja y el contenido de proteína se incrementó en las diferentes fechas en que se evaluó la composición química del xoconostle después de la cosecha.

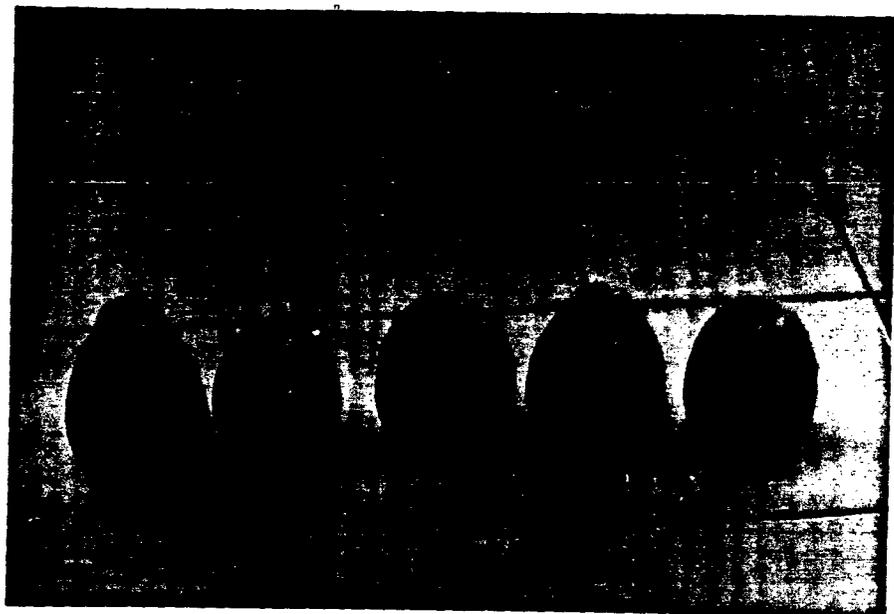


Figura 1. Frutos seleccionados para el estudio del efecto "hipoglucemiante" y la evaluación de los cambios fisiológicos. En cada fruto se anotó un número para llevar a cabo un muestreo aleatorio en las diferentes fechas en que fueron tomadas para los estudios respectivos.



Figura 2. En los frutos empleados en el estudio "hipoglucemiante" se removió la epidermis antes de administrarlos a los voluntarios.

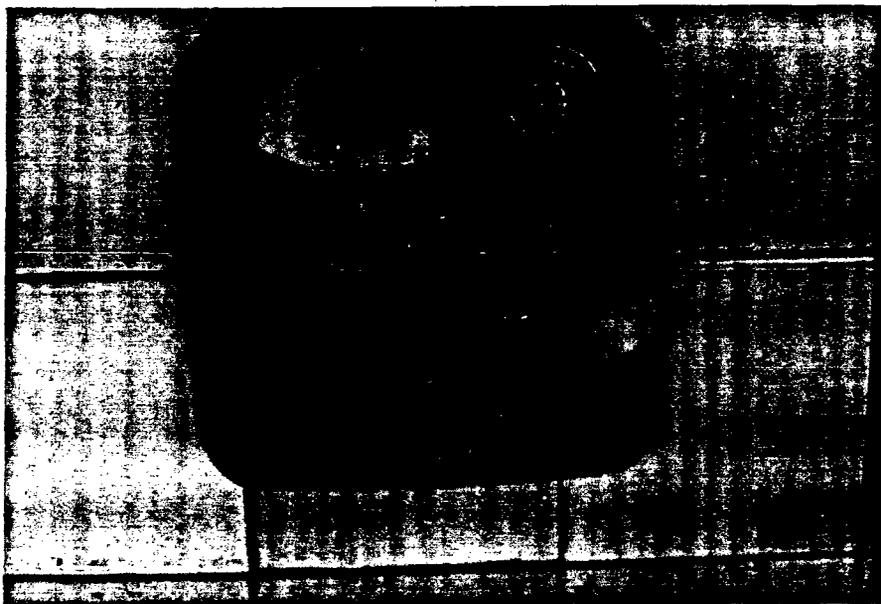


Figura 3. Corte longitudinal medio de un fruto de xocnostle, en el que se muestra la epidermis removida, el receptáculo o la cáscara (color claro) y el lúculo (color oscuro). El receptáculo del fruto es la parte que se emplea en el estudio "hipoglucemiante".

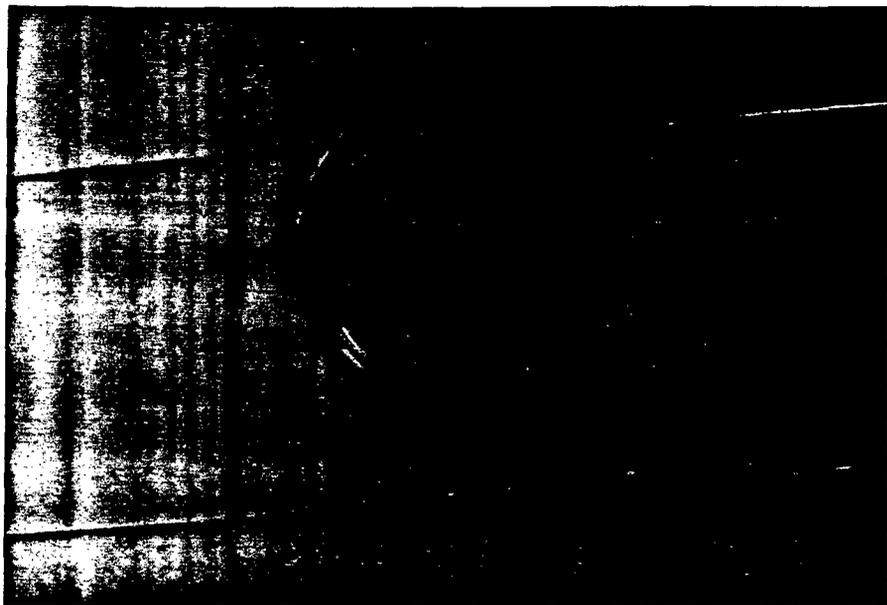


Figura 4. Receptáculo, en el cual se ha removido el loculo que contiene las semillas y la pulpa. El receptáculo fue administrado en mitades, como se ilustra en la figura.

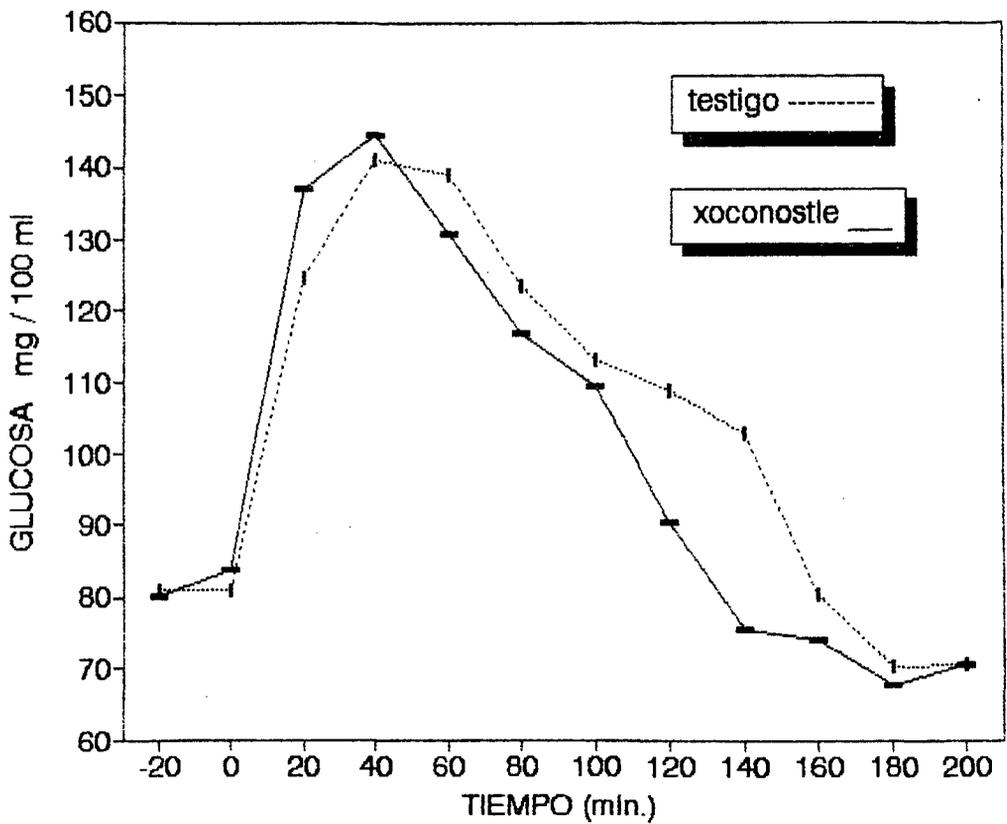


Figura 5. Concentración sérica media de glucosa en pruebas de tolerancia oral a la glucosa después de la ingestión de 200 g de cáscara del fruto de xoconostle (n=8).

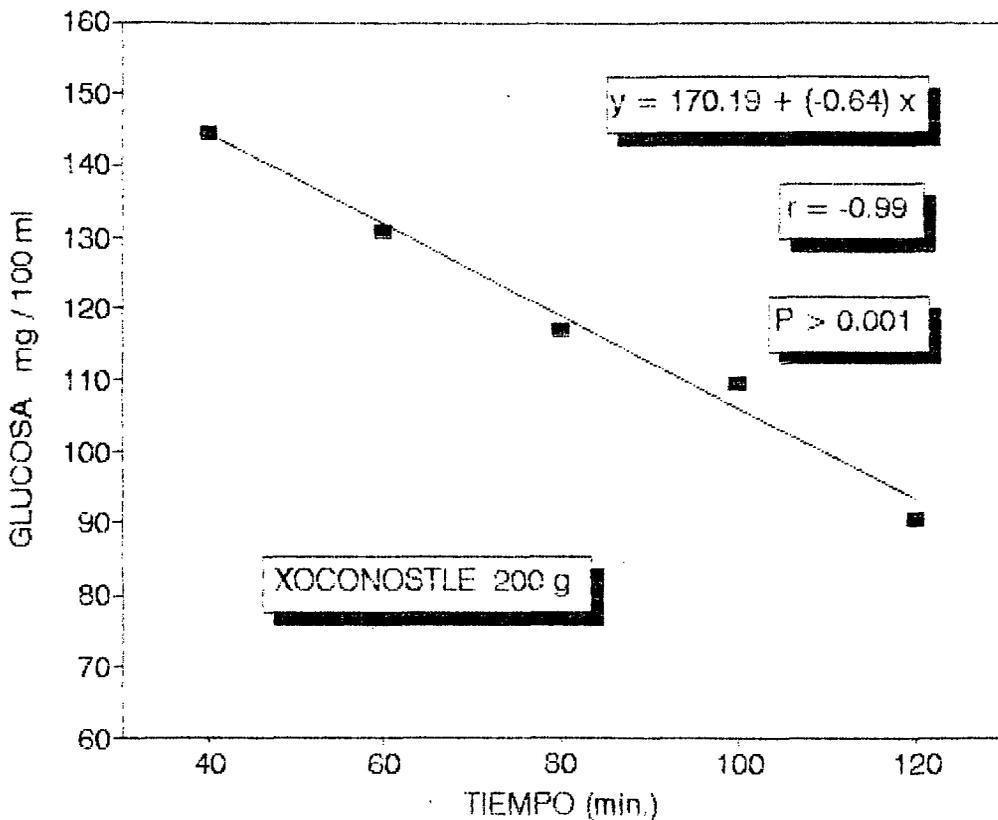


Figura 6. Análisis de correlación y regresión lineal entre concentraciones de glucosa y tiempo en respuesta a la ingestión de xoconostle en personas sanas.

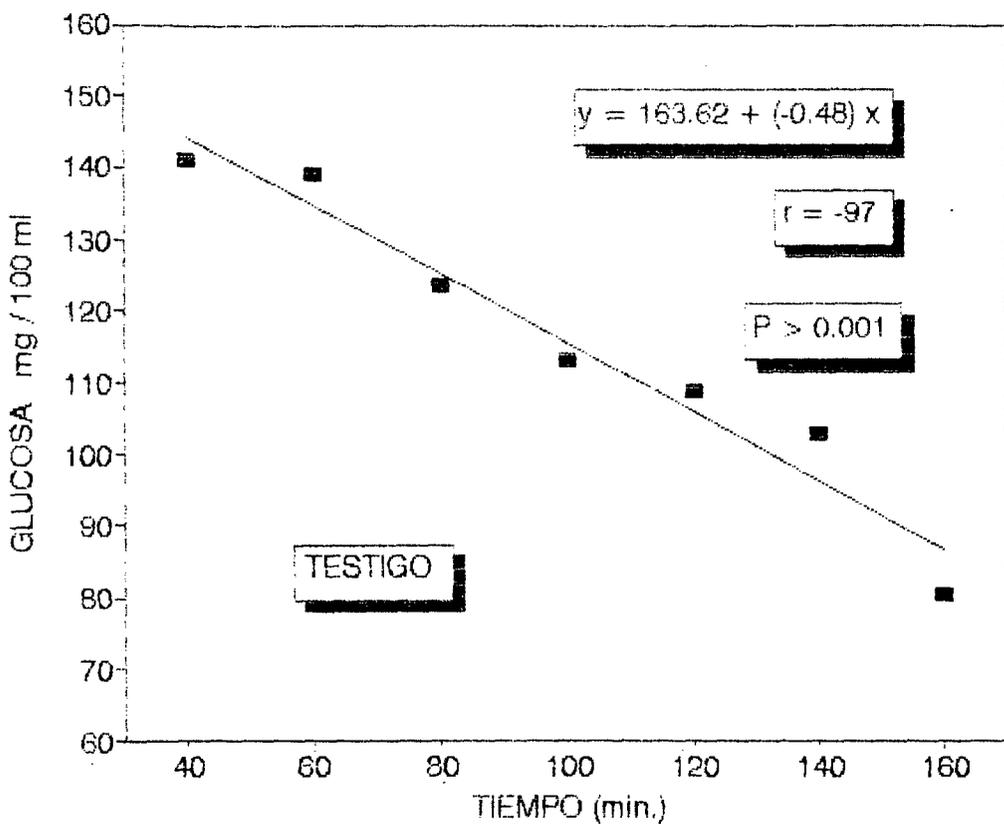


Figura 7. Análisis de correlación y regresión lineal entre concentraciones de glucosa y tiempo en el tratamiento Testigo (sin la ingestión de xoconostle) en personas sanas.

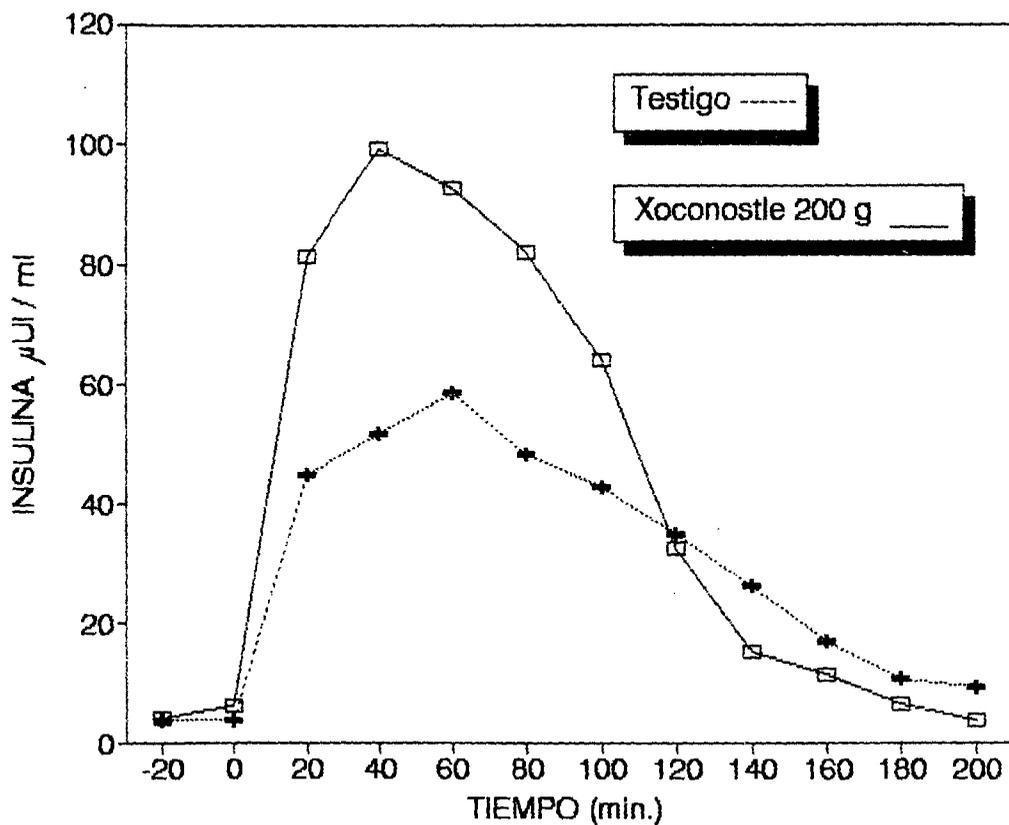


Figura 8. Concentración sérica media de insulina en pruebas de tolerancia oral a la glucosa después de la ingestión de 200 g de cáscara del fruto de xoconostle.

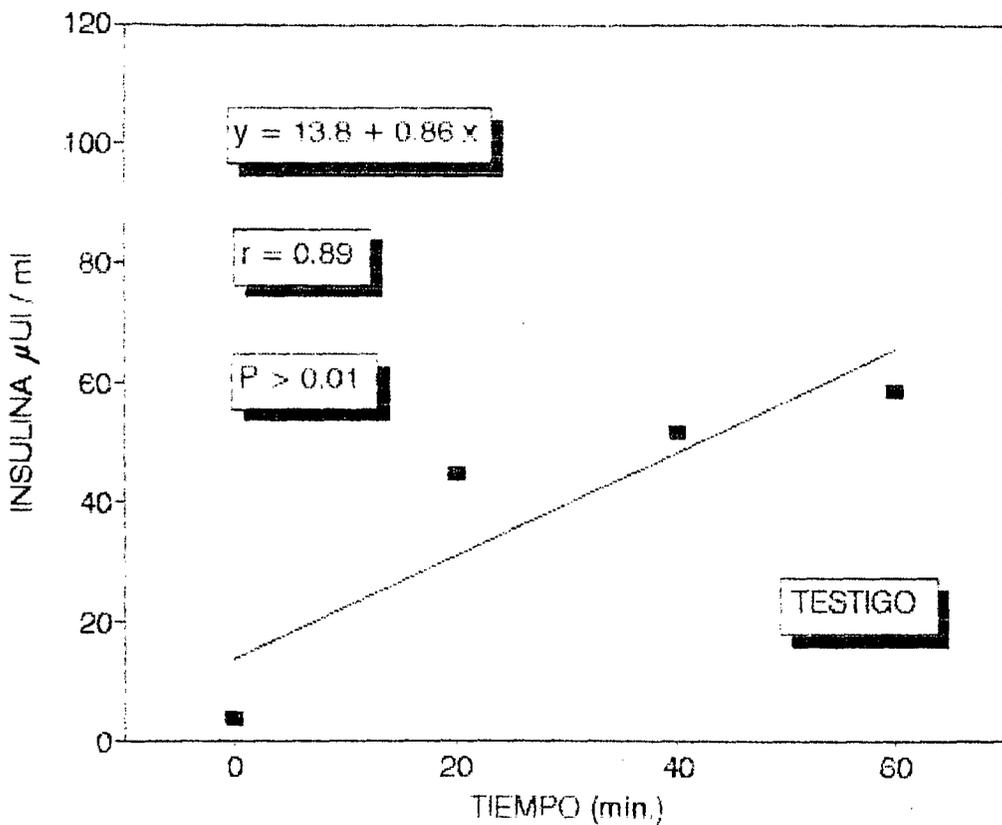


Figura 9. Análisis de correlación y regresión lineal entre concentraciones de insulina y tiempo en el tratamiento Testigo (sin la ingestión de xoconostle) en personas sanas.

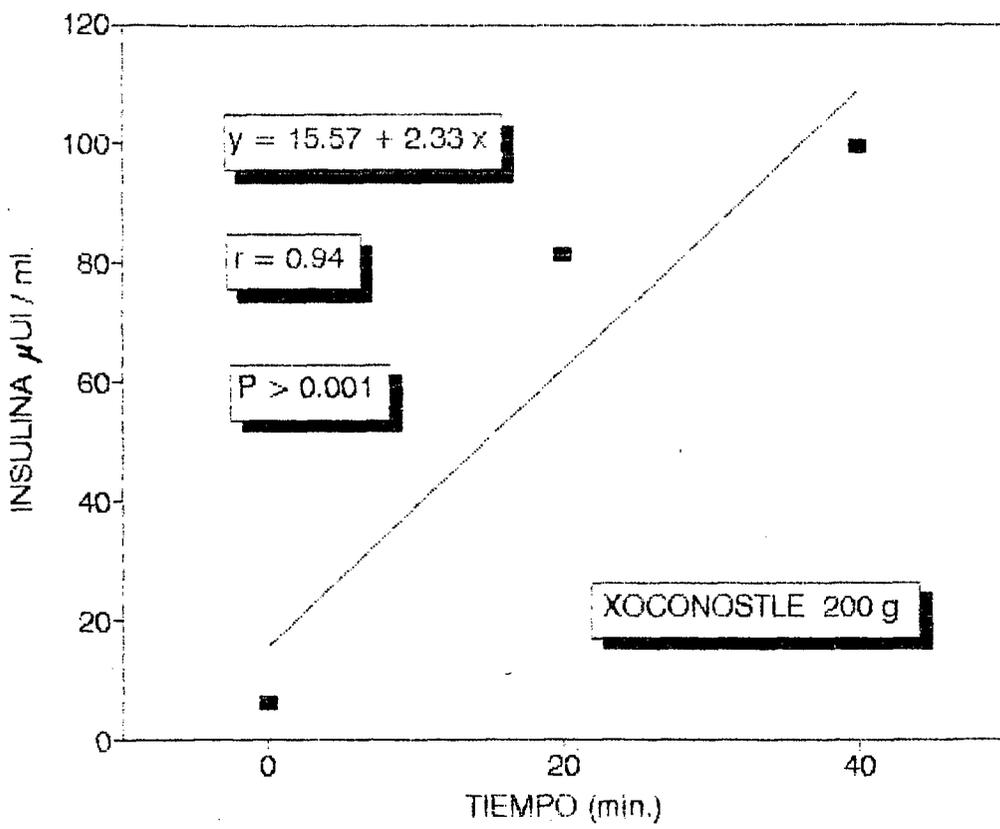


Figura 10. Análisis de correlación y regresión lineal entre concentraciones de insulina y tiempo en respuesta a la ingestión de xoconostle en personas sanas.

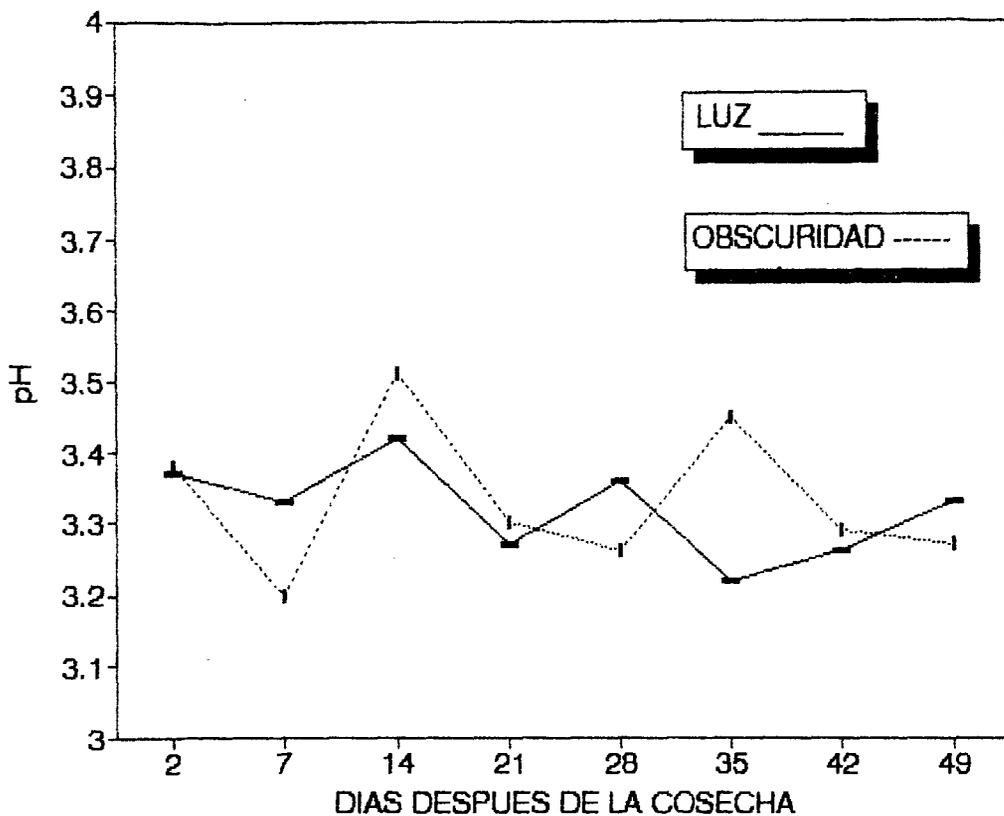


Figura 11. Valores de unidades de pH en el receptáculo del xoconostle bajo condiciones de luz y obscuridad a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha.

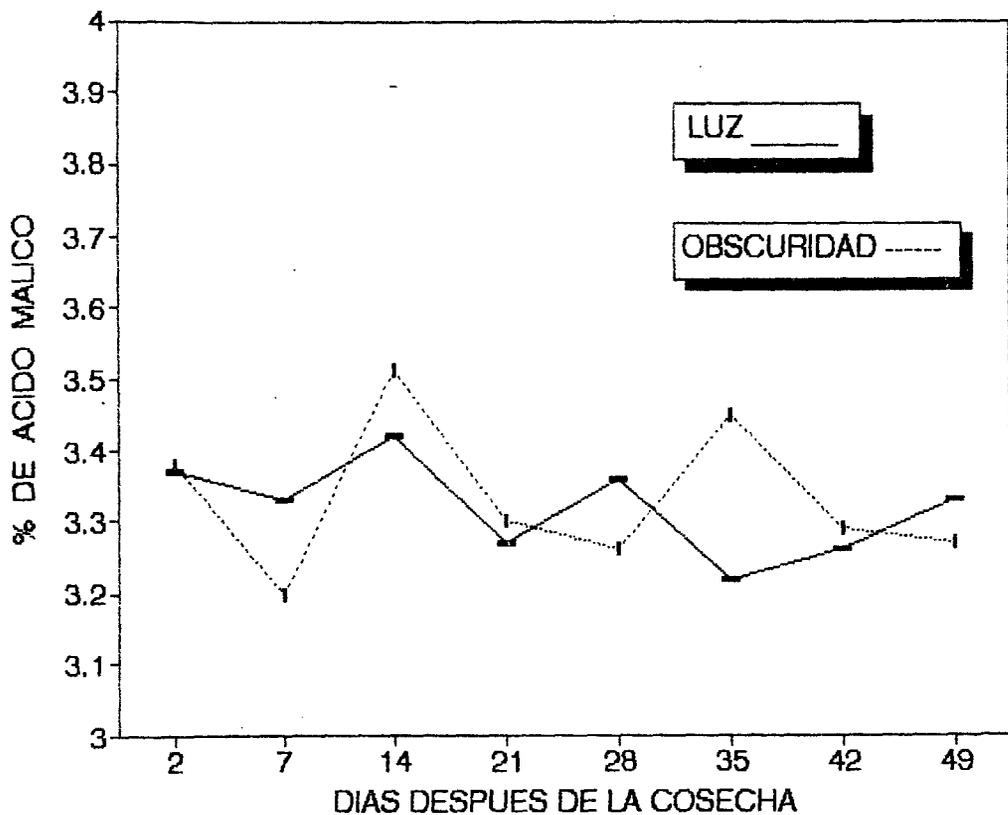


Figura 12. Contenido de ácido malico en el receptáculo del xoconostle bajo condiciones de luz y oscuridad a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha.

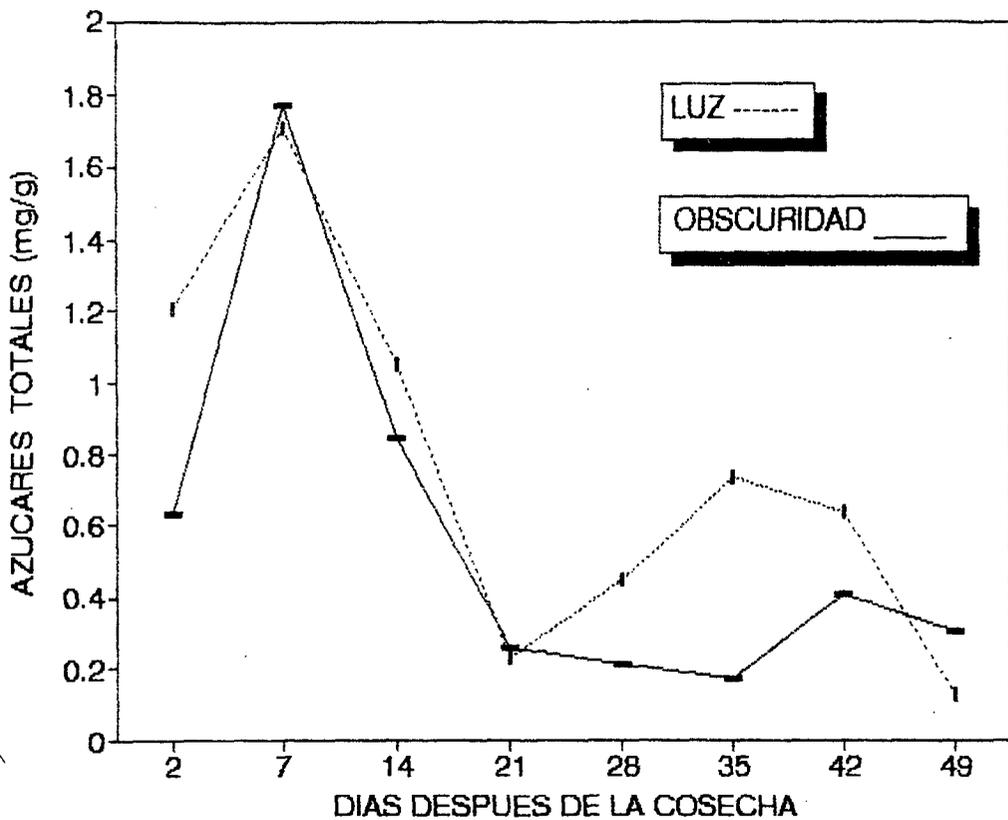


Figura 13. Contenido de azúcares totales en el receptáculo del xoconostle bajo condiciones de luz y obscuridad a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha.

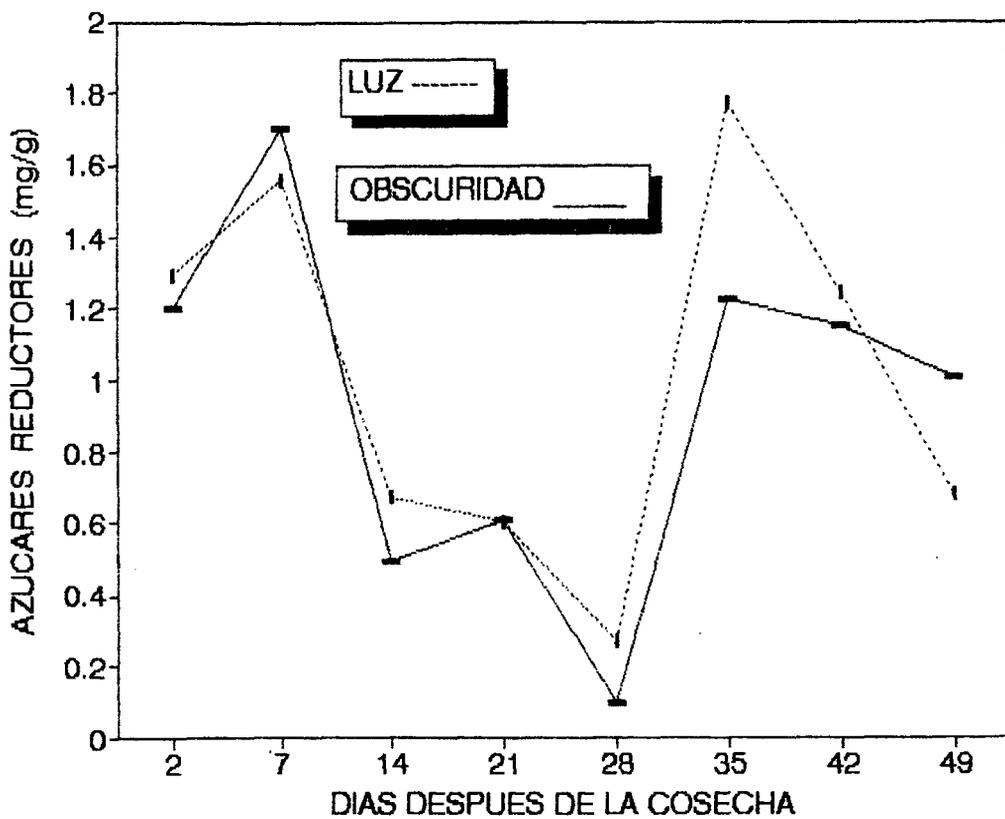


Figura 14. Contenido de azúcares reductores en el receptáculo del xoconostle bajo condiciones de luz y oscuridad a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha.

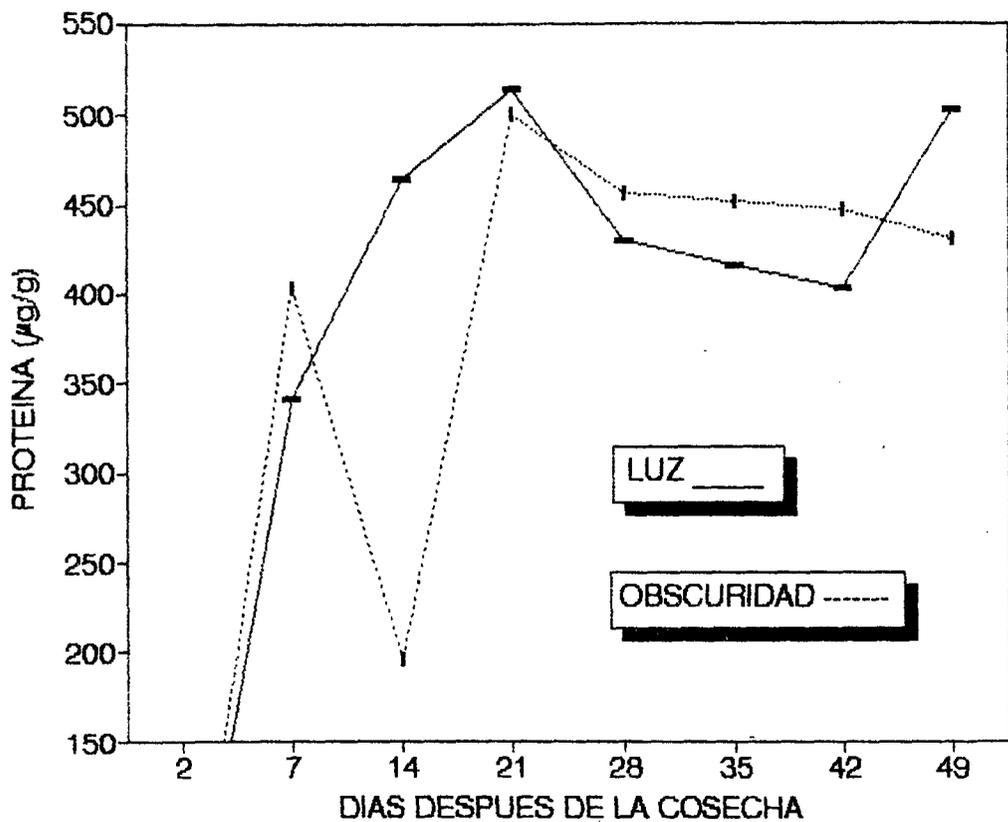


Figura 15. Contenido de proteína en el receptáculo del xoconostle bajo condiciones de luz y obscuridad a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha.

IX. LITERATURA CITADA

- Benson, L. 1963. The cacti of Arizona. The University of Arizona Press. Arizona. 218 p.
- Bravo Hollis H. 1978a. Las Cactáceas de México. UNAM. Segunda ed. México D.F. 735 p.
- Bravo Hollis H. 1978b. Consideraciones acerca de la clasificación morfológica y distribución de las cactáceas. Cact. Suc. Méx. 23:9-20.
- Cantwell, M. 1991. Calidad y Fisiología de postcosecha de tunas y nopalitos. Memorias del Simposium Internacional de Nopal y Tuna. Lagos de Moreno, Jalisco. México, Octubre. 1991 pp.
- Carnal, N.W. and Black, C.C. 1989. Soluble Sugars as the Carbohydrate Reserve for CAM in pineapple leaves. Plant Physiol. 90:91-100.
- Choe, T.H.; Thiman, K.V. 1975. The metabolism of Oat leaves during senescence of isolated chloroplast. Plant. Physiol. 55:828-834.
- Conde, F.L. 1975. Anatomical comparison of five species of *Opuntia* (Cactaceae). Ann. Missouri Bot. Gard. 62:425-473.
- Delgado, A.A. 1985. Caracterización de la variación de algunos componentes químicos del fruto (tuna) de nopal (*Opuntia* spp.) tunero en el altiplano potosino-zacatecano. Tesis profesional. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana. 141 p.

- Doaigey, R.A. 1991. Ocurrence, type and location of oxalate crystals in leaves and stems of 16 species of poisonous plants. Amer. J. Bot. 78 (12):1608-1616.
- Dubois, M; K.A. Gillies; J.K. Hamilton; P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem 28:350-356.
- Fernández-Harp; Frati-Munari, A.C.; Chávez-Negrete, A.; De la Riva-Pinal, H.P.; Mares-Gómez, G. 1984. Estudios hormonales en la acción del nopal sobre la prueba de tolerancia a la glucosa. Informe preliminar. Rev. Med. IMSS (Mex) 22:387-390.
- Fernández, M.L.; A. Trejo and D.J. McNamara. 1990. Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. J. Nutr. 120:1283-1290.
- Figuroa, H.F. 1984. Estudios de nopaleras cultivadas y silvestres sujetas a recolección para el mercado en el altiplano potosino-zacatecano. Tesis profesional. Escuela de agronomía. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 170 p.
- Frati-Munari, A.C.; Fernández-Harp, J.A.; Bañales-Ham, M.; Ariza-Andraca, C.R. 1983. Disminución de la glucosa e insulina sanguíneas por nopal (*Opuntia* sp.). Arch. Inv. Med. (Méx.) 14:269-274.
- Frati-Munari, A.C.; Yever-Garcés, A.; Islas-Andrade, S.; Ariza-Andraca, C.; Chávez-Negrete, A. 1987. Estudios sobre el mecanismo de acción "hipoglucemiante" del nopal (*Opuntia* sp.). Rev. Med. IMSS 18:7-12.

- Frati-M, A.; Gordillo-B, E; Altamirano-B, P; Ariza-A, C; 1988a. Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes care*, 11 (1):63-66.
- Frati-Munari, A.; Quiroz-L. J.L.; Altamirano-B, P; Bañales-Ham, M; Islas-A, S; Ariza-A, C. 1988b. Efecto de diferentes dosis de nopal (*Opuntia streptacantha* Lemaire) en pruebas de tolerancia a la glucosa en individuos sanos. *Arch. Inv. Med. (Méx)* 19:143-148.
- Frati-M, A; Valle-M, L.M; Ariza-A, C; Islas-A, S; Chávez-N, A. 1989a. Acción hipoglucemiante de diferentes dosis de nopal (*Opuntia streptacantha* Lemaire) en pacientes con Diabetes mellitus tipo II. *Arch. Inv. Med. (Méx)* 20:297-300.
- Frati-Munari, A.; De León, C.; Ariza-Andraca, C.; Bañales-Ham, M.; López-L. R.; Lozoya, X. 1989b. Influencia de un extracto deshidratado de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) en glucemia. *Arch. Inv. Med. (Méx)* 20:211-216.
- Frati-M, A.; Ríos-G, U; Ariza-A, C; Islas-A, S; López-R. 1989c. Duración de la acción hipoglucemiante de *Opuntia streptacantha* Lemaire. *Rev. Inv. Med. (Méx)*. 20:321-5.
- Frati-M, A; Altamirano-B, E; Rodríguez-B, N; Ariza-A, R; López-L, R. 1989d. Acción hipoglucemiante de *Opuntia streptacantha*: Investigación con extractos crudos. *Rev. Inv. Med. (Méx)* 20:297-300.
- Gibson, C.A. y P.S. Nobel. 1986. *The cactus primer*. Cambridge: Harvard University Press, 286 p.

- Goodman-Gilman A; T.W. Rall; Alan S. Nies y P. Taylor. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Ed. Med. panamericana. 8va ed. México D.F.
- Guyton, A.C. 1989. Tratado de fisiología médica. 7a ed. Ed. Interamericana. México D.F. 1051 p.
- Hegwood, D.A. 1990. Human health discoveries with *Opuntia* sp. (prickly pear). Hortscience 25 (12):1515-16.
- Hernández-Valencia, R.E. 1990. Algunas *Opuntia* en los remedios medicinales en los pobladores de San Luis Potosí, México. El nopal, su conocimiento y aprovechamiento. 3ra Reunión Nacional, 1ra Reunión Internacional. 10-14 de octubre de 1988. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. Méx. pp. 355-58.
- Ibañez-Camacho, R; Román-Ramos, R. 1979. Efecto hipoglucemiante del nopal. Arch. Inv. Med. (Méx.) 10:223-230.
- Jacobsen, H. 1960. A Handbook of Succulent Plants. London: Blandford Press. 489 p.
- Kluge, M. e I.P. Ting. 1978. Crassulacean acid metabolism Brelin Heidelberg. Springer Verlag, 209 p.
- Loik-M. E.; P. Nobel S. 1991. Water relations and mucilage content of a cactus during low-temperature acclimation. Plant Physiology 96 (1 Suppl.):56.
- Lowry, O.H; Rosenbrough, N.J.; Farr, A.C. and Randall R. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-75.

- Lynch et al. 1972. Métodos de laboratorio. 2da ed. Ed. Interamericana. 1522 p.
- Marschner, I. et al. 1974. Group. Experiments on the radioimmunological insulin detremination. Hormone and metabolic research. 6:293-96.
- Meckes, L.M., Ibañez, C.R. 1989. Hypogluceemic activity of *Opuntia streptacantha* throughout its annual cycle. Am. J. Chin. Med. 17 (3-4):221-4.
- Meyer, N.B. and J.L. McLaughlin. 1981. Economic uses of *Opuntia*. Cact. and Succ. J., 53:107-112.
- Morales-Benavides, L. 1990. Uso y experiencias en la utilización del nopal (*Opuntia* sp. y *O. ficus-indica*) dentro del campo de la medicina. El nopal, su conocimiento y aprovechamiento. 3ra Reunión Nacional, 1ra Reunión Internacional. 10-14 de octubre de 1988. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. Méx. pp. 352-354.
- Neri, L.C. 1991. Cambios fisiológicos durante el proceso de senescencia en caldodios jóvenes de nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara.
- Nobel, S.P. 1983. Nutrient levels in cacti in relation to nocturnal acid accumulation and growth. Amer. J. Bot. 70 (8): 1244-53.
- Organización Panamericana de la Salud: Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la OMS. 1988. Manual de normas técnicas y administrativas del programa integrado de Diabetes mellitus. 525 Twenty-third St. N.W. Washington, D.C. 20037, EUA12.

- Pimienta, B.E. y E.M. Engleman. 1985. Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro en tuna (*Opuntia ficus-indica* [L.] Miller) *Agrociencia*, 62:51-56.
- Pimienta, B.E. 1990 El nopal tunero. Libros de Tiempos de Ciencia. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México, 246 p.
- Pimienta, B.E., M.M. Loera Q. y L. O. López A. (en prensa). Estudio anatómico comparativo en colectas del subgénero *Opuntia*. *Fitociencia*.
- Quiroz, F.G. 1981. Anatomía Humana. 22 ed. Ed. Porrúa. Tomo III. 513 p. México D.F.
- Romero, P.R. 1986. Manual del cultivo de la tuna y producción de la cochinilla. Romero Suárez, S.R.L. Asesores y Consultores. Lima. Perú. 203 p.
- Sánchez-Mejorada R.H. 1982. Algunos usos prehispánicos de las cactáceas entre los indígenas de México. SDA. Gobierno del Edo. de México. 48 p.
- Sánchez-Venegas, G. 1987. Estudio preliminar sobre distribución y variabilidad de *Opuntia joconostle* Weber, en el estado de Zacatecas. Universidad Autónoma de Chapingo. Tesis Ing. Agrónomo Esp. Fitotec. 92 p.
- Sánchez-Venegas G. 1990. Caracterización fenológica y química de *Opuntia joconostle* Weber, en San Marthn de las Pirámides, Edo. de México. Tesis M.C. Esp. en Botánica. Colegio de Postgraduados. 122 p.
- Somigyí, M. 1952. Notes on Sugar determination. *J. Biol. Chem.* 195:19-23.

- Sutton, G.B.; I.P. Ting y R. Sutton. 1981. Carbohydrate metabolism of cactus in a desert environment. *Plant Physiol.* 68:784-787.
- Trejo, G.A.; E. Calva, P.J. Monterrubio; R. Munguía; R. Hernández; L. Sánchez; J. Terrazaz; M.A. Raida and B. Cobos. 1991. Anti-diabetic properties of prickly pear cactus. Proc. Second Annual Texas Prickly Pear Council. McAllen, Texas.
- Trinder, P. 1969. Determination of Blood Glucose using 4-Aminophenzone. *J. Clin. Pathol.* 22, 246.
- Vincent, R.S. 1992. Nitric oxide and arginine-evoked insulin secretion. *Science* 258:1376.
- Wynngarden, B.J. y L.H. Smith. 1988. Tratado de medicina interna. Ed. Interamericana-McGraw Hill. México. Vol. 2. 2667 p.
- Zárate, A. y L. Espinoza. 1984. Progresos en la asistencia a la diabetes mellitus. *Arch. Inv. Med. (Méx.)* 15:187-190.