

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



IDENTIFICACIÓN GUIADA POR BIOACTIVIDAD DE COMPUESTOS
PRESENTES EN *OPUNTIA FICUS-INDICA* CON ACTIVIDAD
CITOTÓXICA SOBRE CÉLULAS DE CÁNCER DE COLON

POR

MARIANA LETICIA TREVIÑO SALAZAR

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INMUNOBIOLOGÍA

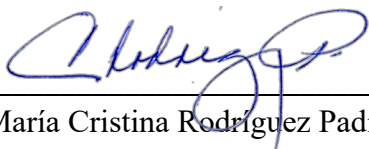
2026

IDENTIFICACIÓN GUIADA POR BIOACTIVIDAD DE COMPUESTOS
PRESENTES EN *OPUNTIA FICUS-INDICA* CON ACTIVIDAD
CITOTÓXICA SOBRE CÉLULAS DE CÁNCER DE COLON

Comité de tesis



Dra. Ana Carolina Martínez Torres
Presidente



Dra. María Cristina Rodríguez Padilla
Secretario



Dra. Marilena Antunes Ricardo
Vocal 1



Dr. Kenny Misael Calvillo Rodríguez
Vocal 2



Dr. Pablo Zapata Benavides
Vocal 3

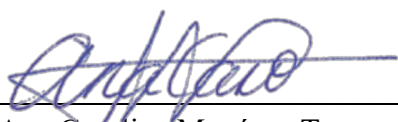


Dra. Katiushka Arevalo Niño
Subdirector de posgrado



IDENTIFICACIÓN GUIADA POR BIOACTIVIDAD DE COMPUESTOS
PRESENTES EN *OPUNTIA FICUS-INDICA* CON ACTIVIDAD
CITOTÓXICA SOBRE CÉLULAS DE CÁNCER DE COLON

Dirección de tesis



Dra. Ana Carolina Martínez Torres
Director



Dra. Marilena Antunes Ricardo
Director externo

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el apoyo económico de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por medio del Proyecto Ciencia de Frontera CF-223-G-669.

AGRADECIMIENTOS



El presente proyecto de tesis fue desarrollado en el Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en San Nicolás de los Garza, bajo la dirección de la Dra. Ana Carolina Martínez Torres, y en el Instituto de Investigación sobre la Obesidad del Tecnológico de Monterrey, por la Dra. Marilena Antunes Ricardo.

Agradezco al Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León por la infraestructura proporcionada, fundamental para llevar a cabo esta investigación. Asimismo, agradezco al Tecnológico de Monterrey por su colaboración en la elaboración de los extractos vegetales utilizados en este trabajo. Finalmente, agradezco el apoyo económico de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, otorgado al proyecto Ciencia de Frontera CF-223-G-669, así como el apoyo con mi beca de manutención 2006688.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los miembros de mi comité de tesis: Dra. Ana Carolina Martínez Torres, Dra. Marilena Antunes Ricardo, Dra. María Cristina Rodríguez Padilla, Dr. Kenny Misael Calvillo Rodríguez y Dr. Pablo Zapata Benavides por su fundamental apoyo, acompañamiento y orientación durante el desarrollo de este proyecto.

También quiero agradecer a mi familia y amigos, así como a mis compañeros de laboratorio, y a todas las personas que cooperaron en la realización de esta tesis.

ÍNDICE

RESUMEN.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. ANTECEDENTES.....	12
2.1 Cáncer	12
2.1.1 Cáncer de colon	13
2.1.1.1 Etapas del cáncer de colon	13
2.1.1.2 Factores de riesgo	14
2.1.1.3 Cáncer de colon de inicio temprano	14
2.1.1.4 Tratamientos	14
2.1.1.4.1 <i>Pitfalls</i> de los tratamientos de cáncer de colon	14
2.2 Búsqueda de tratamientos alternativos: productos naturales.....	15
2.3 Opuntia ficus-indica	15
2.4 Extracción secuencial.....	19
3. JUSTIFICACIÓN.....	20
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVOS.....	22
6.MATERIALES Y MÉTODOS	23
6.1 Extracción secuencial.....	23
6.2 Cultivo celular	23
6.3 Obtención y aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) humanas	24
6.4 Obtención y aislamiento de eritrocitos humanos	24
6.5 Ensayo de viabilidad celular MTS en células Caco-2	24
6.6 Ensayo de viabilidad celular MTS en PBMCs humanas	25
6.7 Ensayo de hemólisis en eritrocitos humanos	25
6.8 Citometría de flujo	25
6.9 HPLC-PDA-QDa	25
7.0 Análisis estadístico	26
7.RESULTADOS.....	27
7.1 Rendimiento de extracción obtenido de las fracciones de harina de cladodio de <i>Opuntia ficus-indica</i> mediante fraccionamiento secuencial	27
7.2 Análisis de la actividad citotóxica de las fracciones obtenidas de <i>Opuntia ficus-</i>	

<i>indica</i> en Caco-2	28
7.3 Análisis del efecto de las fracciones de OFI sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periféricas (PBMCs).	30
7.4 Evaluación del efecto hemolítico de las fracciones obtenidas de <i>Opuntia ficus-indica</i>	33
7.5 Determinación del tipo de muerte celular inducido por las fracciones de OFI sobre células de cáncer de colon (Caco-2).	34
7.6 Identificación de los compuestos presentes en la fracción acuosa de OFI	35
8. DISCUSIÓN	38
9. CONCLUSIÓN	45

RESUMEN

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, con el cáncer colorrectal entre los tipos más prevalentes. A pesar de los avances en los tratamientos convencionales, persiste la necesidad de desarrollar terapias más efectivas y menos tóxicas. En este contexto, los productos naturales, particularmente los derivados de plantas medicinales han emergido como una fuente prometedora de nuevos compuestos con potencial citotóxico.

Este proyecto de tesis de maestría se enfoca en la evaluación del potencial terapéutico de fracciones obtenidas de *Opuntia ficus-indica*, una especie de cactus endémica de México, sobre cáncer de colon (Caco-2). El estudio emplea un enfoque de fraccionamiento guiado por bioactividad para identificar y caracterizar los compuestos responsables de la actividad citotóxica.

La metodología incluye un fraccionamiento secuencial utilizando solventes de polaridad creciente de *O. ficus-indica*. Las fracciones obtenidas serán evaluadas mediante ensayos de viabilidad celular (MTS), hemólisis, y análisis de muerte celular (Anexina V-FITC/Hoechst). Las fracciones más prometedoras serán sometidas a análisis adicionales mediante UPLC-QDA para la identificación y caracterización de los compuestos bioactivos.

ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of mortality worldwide, with colorectal cancer among the most prevalent types. Despite advances in conventional treatments, there remains a need to develop more effective and less toxic therapies. In this context, natural products, particularly those derived from medicinal plants, have emerged as a promising source of new compounds with cytotoxic potential.

This master's thesis project focuses on evaluating the therapeutic potential of fractions obtained from *Opuntia ficus-indica*, a cactus species endemic to Mexico, against colon cancer (Caco-2). The study employs a bioactivity-guided fractionation approach to identify and characterize the compounds responsible for cytotoxic activity.

The methodology includes sequential fractionation using solvents of increasing polarity from *O. ficus-indica*. The obtained fractions will be evaluated through cell viability (MTS) and hemolysis assays and cell death analysis (Annexin V-FITC/Hoechst). The most promising fractions will be further analyzed by UPLC-QDA for the identification and characterization of bioactive compounds.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, con cerca de 20 millones de nuevos casos y 10 millones de muertes asociadas estimadas en 2022. Entre los tipos de cáncer más prevalentes se encuentra el cáncer colorrectal ocupando el tercer lugar en incidencia global. A pesar de los avances en los tratamientos convencionales como la cirugía, quimioterapia y radioterapia estos presentan limitaciones significativas, incluyendo efectos secundarios severos que afectan la calidad de vida de los pacientes y altos costos que reducen su accesibilidad.

Con base en esto, la búsqueda de alternativas terapéuticas basadas en productos naturales ha tomado relevancia en los últimos años. Las plantas medicinales, ricas en metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas, representan una fuente prometedora de nuevos compuestos con potencial citotóxico. Entre estas, *Opuntia ficus-indica*, una especie de cactus originaria de México ha demostrado poseer propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas.

El presente proyecto se enfoca en evaluar el potencial terapéutico de fracciones obtenidas de *Opuntia ficus-indica* sobre cáncer de colon (Caco-2). Mediante un enfoque de fraccionamiento guiado por bioactividad, se busca identificar y caracterizar los compuestos responsables de la actividad citotóxica.

Se realizará un fraccionamiento secuencial con solventes de polaridad creciente, evaluación de la citotoxicidad, ensayo de hemólisis, análisis de muerte celular y la identificación de los compuestos presentes en las fracciones con mayor actividad citotóxica.

La relevancia de este trabajo radica en que actualmente se desconoce cuáles son los compuestos bioactivos responsables de los efectos citotóxicos de *O.ficus-indica*, por lo cual es necesario identificar estos compuestos con el fin de desarrollar tratamientos más efectivos y menos tóxicos para el cáncer de colon.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cáncer

El cáncer es un conjunto de enfermedades que se desarrollan con el tiempo e implican la división descontrolada de las células del cuerpo. Aunque el cáncer puede desarrollarse prácticamente en cualquiera de los tejidos corporales, y cada tipo de cáncer tiene características únicas, los procesos básicos que lo originan son bastante similares en todas las formas de la enfermedad. (National Institutes of Health (US); Biological Sciences Curriculum Study, 2007).

Los "Hallmarks of Cancer" fueron propuestos como un conjunto de capacidades funcionales adquiridas por las células humanas a medida que avanzan de la normalidad a los estados de crecimiento neoplásico, más específicamente capacidades que son cruciales para su habilidad de formar tumores malignos. Esto con la intención de proporcionar un marco conceptual que permitiera racionalizar los complejos fenotipos de los diversos tipos y variantes de tumores humanos en términos de un conjunto común de parámetros celulares subyacentes (Hanahan, 2022).

Uno de los rasgos fundamentales de las células cancerosas es su capacidad para llevar a cabo una proliferación crónica y, en esencia, ilimitada. Mientras que las células normales presentan señales de crecimiento rigurosamente reguladas, las células transformadas exhiben una capacidad de señalización mayormente desregulada. En la mayoría de los casos, este comportamiento sin restricciones se debe a la habilidad de las células cancerosas para sintetizar una variedad de ligandos de factores de crecimiento y/o sus receptores de superficie celular correspondientes (Werner & LeRoith, 2022).

Por otro lado, la muerte celular programada o apoptosis es un mecanismo natural que ocurre durante el desarrollo y el envejecimiento en todos los tejidos sanos. Desempeña tanto una función homeostática, ya que controla la población celular, como una función defensiva, ya que elimina las células dañadas o enfermas. Las vías de activación de la apoptosis incluyen la vía extrínseca, la vía intrínseca y la vía perforina/granzima. Las tres convergen en la misma

vía de ejecución, iniciada por la caspasa-3, que conduce a la fragmentación del ADN, la degradación del citoesqueleto y la formación de cuerpos apoptóticos (Salva De Torres et al., 2024).

En el contexto del cáncer, las anormalidades genéticas, los microambientes no convencionales y/o la terapia activan la señalización pro-supervivencia constitutiva para reprogramar el metabolismo a fin de mantener la supervivencia, el crecimiento y la proliferación. Las células cancerosas emplean diversos mecanismos para evadir la apoptosis. Se ha demostrado que la vía intrínseca de la apoptosis se interrumpe frecuentemente en las células cancerosas y está estrechamente regulada por el metabolismo celular. Mientras que los oncogenes y los supresores tumorales reprograman el metabolismo tumoral, los microambientes o los factores de estrés impuestos por la terapia pueden además recablear el metabolismo, creando nuevas dependencias metabólicas (Sharma et al., 2019).

2.1.1 Cáncer de colon

El cáncer de colon (llamado también cáncer colorrectal) es el tercer tipo de cáncer más común a nivel mundial, representando aproximadamente el 10% de todos los casos de cáncer, y es la segunda causa principal de muerte relacionada con esta enfermedad en el mundo. Se estimó que en el año 2022 ocurrieron más de 1.9 millones de nuevos casos de cáncer colorrectal y 904,000 muertes. Además, se proyecta que la carga del cáncer de colon aumente a 3.2 millones de nuevos casos y 1.6 millones de muertes para el año 2040. (Bray et al., 2024; Morgan et al., 2023)

2.1.1.1 Etapas del cáncer de colon

La estadificación proporciona información esencial para decidir la terapia adecuada y permite identificar pacientes con metástasis aisladas o confinadas en hígado o pulmón. El American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la Unión Internacional contra el Cáncer (UICC) han establecido el sistema de estadificación TNM. Opcionalmente se utiliza la clasificación de Dukes modificada. El pronóstico depende del estado de la enfermedad. El estadiaje es importante para determinar el mejor tratamiento en cada caso y se ha añadido la estadificación mediante los hallazgos por TC. (Motta Ramírez et al., 2011).

2.1.1.2 Factores de riesgo

Los factores modificables asociados con un mayor riesgo de cáncer colorrectal incluyen el consumo de alcohol, la obesidad, el tabaquismo y la ingesta de carne procesada y roja. Mientras que los factores no modificables que muestran una asociación positiva incluyen la enfermedad inflamatoria intestinal, los antecedentes familiares de cáncer colorrectal y la edad (mayores de 50 años). (Johnson et al., 2013).

2.1.1.3 Cáncer de colon de inicio temprano

Si bien se consideraba como el principal factor de riesgo para el cáncer colon el tener una edad mayor de 50 años, actualmente se ha presentado un aumento en los casos de cáncer colorrectal de inicio temprano (en menores de 50 años) y se espera un incremento del 90% en cáncer de colon y de 124% en cáncer rectal para 2030 en estos pacientes. (AlZaabi et al., 2022).

2.1.1.4 Tratamientos

Las opciones de tratamiento convencionales para el cáncer dependen de la etapa y del tipo de cáncer e incluyen: la cirugía, quimioterapia y radioterapia. Dentro de los avances recientes se encuentran las terapias de células madre, terapias dirigidas, terapia de ablación, terapia sonodinámica, nanopartículas, y terapias con productos de origen natural.

El tratamiento para el cáncer de colon es individualizado, sin embargo, se basa principalmente en la cirugía, suplementada con quimioterapia, radioterapia, terapia molecular dirigida e inmunoterapia. (Zhang et al., 2018).

2.1.1.4.1 *Pitfalls* de los tratamientos de cáncer de colon

A pesar de las mejoras sustanciales en los tratamientos actuales disponibles para los pacientes diagnosticados con cáncer y la influencia positiva de estos tratamientos en la supervivencia, la quimioterapia o la radioterapia causan una serie de efectos secundarios traumáticos, la quimioterapia puede causar a veces efectos secundarios desagradables como fatiga, trastornos del sueño, pérdida de apetito, pérdida de cabello, boca dolorida, cambios en el gusto, fiebre e infección, ansiedad, depresión, náuseas y vómitos. Estos efectos secundarios suelen ser difíciles de mejorar o manejar, y pueden afectar significativamente la calidad de

vida de un paciente con cáncer. También existen posibilidades de otros efectos dañinos de estos tratamientos, como segundos cánceres después de la quimioterapia, problemas hormonales y reproductivos, efectos sobre el sistema inmunológico, enfermedades cardíacas, efectos sobre el riñón y la vejiga urinaria, efectos sobre los órganos gastrointestinales, cambios neurológicos y psicológicos. (Anand et al., 2023). Debido a estos efectos secundarios indeseables que afectan la calidad de vida de los pacientes continúa la búsqueda de anticancerígenos naturales que puedan prevenir, retrasar o revertir la progresión del cáncer.

2.2 Búsqueda de tratamientos alternativos: productos naturales

Los productos naturales son químicos producidos por organismos vivos: microbios, organismos marinos, animales, hongos y plantas. Estos presentan un área de investigación altamente relevante en el tratamiento del cáncer. (Bontempo et al., 2023). Especialmente las plantas producen un gran número de metabolitos secundarios los cuales son derivados biosintéticos de los metabolitos primarios con potenciales propiedades anticancerígenas. (Muhammad et al., 2022).

Los terapéuticos derivados de plantas, que pueden llegar al mercado farmacéutico como compuestos puros o como mezclas complejas que contienen miles de moléculas diferentes, tienen varias ventajas, incluyendo amplia disponibilidad, diversas acciones farmacológicas y un perfil generalmente bueno de seguridad y tolerabilidad. A medida que han surgido nuevos objetivos terapéuticos en los últimos tiempos, el desarrollo de tecnologías de vanguardia se puede aplicar al descubrimiento de fármacos a partir de fuentes naturales (Atanasov et al., 2021). Actualmente se cuenta con varias drogas antitumorales sintéticas, sin embargo, continúa la búsqueda de anticancerígenos naturales que puedan prevenir, retrasar o revertir la progresión del cáncer.

2.3 *Opuntia ficus-indica*

Opuntia ficus-indica originaria de México, se extiende por América del Centro, América del Sur, Australia, el Mediterráneo y Sudáfrica. Es un miembro de la familia Cactaceae la cual engloba alrededor de 1600 especies divididas en 130 géneros, en 3 subfamilias

Pereskioideae, *Opuntioideae* y *Cactoideae*. En el orden *Caryophyllale* el género *Opuntia* es el más común agrupando más de 300 especies el cual incluye *Opuntia ficus-indica*. (Giraldo-Silva et al., 2023).

Contiene una variedad de fitoquímicos como flavonoides, ácidos fenólicos, fitoesteroles, proteínas y aminoácidos.

Tabla 1. Compuestos presentes en *O. ficus indica*

Ácidos fenólicos	Ácido cinámico Ácido clorogénico Ácido cumárico Ácido ferúlico Ácido cafeico Ácido sinápico Ácido dimetoxicinámico Ácido gálico Ácido protocatecuico	
Flavonoides	Flavonoles	Quercentina Catequina Rutina
	Flavononas	Naringenina Naringina Hesperidina
Fitoesteroles	Sitosterol Campesterol Estigmasterol Lanosterol Ergosterol 5-Avenasterol 7-Avenasterol	
Aminoácidos	Taurina	

(Wang et al 2023)

Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos, una clase de compuestos formados por la sustitución de átomos de hidrógeno en los anillos de benceno por un grupo de ácido carboxílico y al menos un hidroxilo, se encuentran ampliamente en las plantas, los alimentos vegetales y los metabolitos humanos (Chen et al., 2020).

Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de compuestos polifenólicos producidos en las plantas como metabolitos secundarios. Se encuentran ampliamente en las frutas, las verduras y otros cultivos alimentarios. Tienen efectos bioquímicos favorables sobre múltiples enfermedades (enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis), así como otras actividades biológicas (antiinflamatoria, antienvjecimiento) (Guven et al., 2019). Además, los flavonoides son un ingrediente esencial en una variedad de productos nutracéuticos. Por otro lado, se ha establecido que las actividades biológicas de los flavonoides difieren entre agliconas y glucósidos, y también difieren entre los glucósidos según el tipo, la posición y el número de unidades de azúcar. La principal actividad biológica de los flavonoides, que ha sido estudiada ampliamente, es su actividad antioxidante. La actividad antioxidante de los flavonoides puede prevenir el daño causado por los radicales libres a través de la eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ROS), la activación de las enzimas antioxidantes, la inhibición de las oxidasas (xantina oxidasa [XO], ciclooxigenasa [COX], lipooxigenasa y fosfatidilinositol 3-quinasa [PI3K]) y la reducción de los radicales α -tocoferilo (Sheng et al., 2021).

Fitoesteroles

Los fitosteroles (PS) son compuestos grasos derivados de plantas (esteroides) que representan la mayor parte de la materia insaponificable en los lípidos vegetales. Consisten en un esqueleto esteroide caracterizado por un enlace saturado entre C-5 y C-6 del componente esterol. Tienen una cadena lateral alifática unida al átomo C-17 y un grupo hidroxilo unido al átomo C-3 (Salehi et al., 2021).

Los fitoesteroles y sus derivados tienen múltiples propiedades farmacológicas, incluidas las capacidades de promoción del bienestar humano. Estos beneficios para la salud incluyen una

gran capacidad para reducir los niveles totales y de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL), lo que disminuye el riesgo de muchas enfermedades (Plat et al., 2019). Además, los fitoesteroles también modulan la inflamación; tienen efectos antioxidantes, antiulcerosos, inmunomoduladores, antibacterianos y antifúngicos; e intervienen también en la promoción de la cicatrización de heridas y la inhibición de la agregación plaquetaria (Ogbe et al., 2015).

Rol de *O. ficus-indica* en cáncer

Varias partes de la planta *Opuntia* (frutas, raíces y cladodios) han demostrado poseer efectos citotóxicos ante líneas celulares malignas. También se ha reportado que los extractos de *Opuntia ficus-indica* presentan actividad farmacológica antioxidante disminuyendo el riesgo de enfermedades como el cáncer (Wang et al., 2023).

Antunes-Ricardo et al., (2014) demostraron que los isorhamnetin diglucósidos, aislados de un extracto alcalino de *Opuntia ficus-indica*, indujeron apoptosis de células de cáncer de colon HT-29 mejor que los triglicósidos.

También se ha encontrado que la isoramnetina-3-O-glucosil-pentosido (IGP) induce la muerte celular en células de cáncer de colon metastásico (HT-29) a través de la exposición de fosfatidilserina, un aumento en la relación Bax/Bcl-2, la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y un arresto del ciclo celular en la fase G2/M (Antunes-Ricardo et al., 2019) y que el extracto de *Opuntia ficus-indica* (OFI-E) y su flavonoide glicosilado isoramnetina-3-O-glucosil-ramnósido (IGR) disminuyen significativamente el crecimiento tumoral de células de cáncer de colon en ratones inmunosuprimidos al activar la vía intrínseca apoptótica, produciendo un arresto en la progresión del ciclo celular y modulando el metabolismo lipídico y la respuesta inmune (Antunes-Ricardo et al., 2021).

Para investigar la bioactividad de los fitoquímicos y descubrir nuevos compuestos presentes en la vasta variedad de especies vegetales se requieren técnicas eficientes y robustas. Un enfoque típico para obtener aislados puros de origen vegetal es el fraccionamiento guiado por bioactividad. El fraccionamiento guiado por bioactividad puede definirse como una

técnica para el perfilado y *screening* de extractos de plantas en busca de compuestos bioactivos con potencial como fuentes de nuevos medicamentos de origen biológico. Se utiliza para aislar compuestos de interés bioactivo de mezclas complejas e implica técnicas de separación y analíticas, donde el material fraccionado se prueba secuencialmente para evaluar su actividad en un bioensayo y su pureza mediante métodos analíticos. El procedimiento de fraccionamiento permite una selección y purificación más eficiente de productos naturales en los extractos de plantas (Abubakar & Haque, 2020; Mani et al., 2022)

2.4 Extracción secuencial

Para extraer estos compuestos se utilizan varios métodos, entre ellos la extracción secuencial. Esta ofrece beneficios, principalmente mejora la eficiencia y especificidad de la extracción de diversos compuestos. Permite la extracción de una amplia gama de metabolitos a partir de una sola muestra. El método usa de una serie de solventes con polaridad creciente para separar diferentes clases de metabolitos. Es particularmente eficaz en comparación con la extracción directa para aislar metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos (Ahmed et al., 2026).

3. JUSTIFICACIÓN

La búsqueda y el desarrollo de tratamientos alternativos para el cáncer de colon son de gran importancia debido a las limitaciones y los efectos secundarios asociados con las terapias convencionales, como la quimioterapia y la radioterapia. Estas terapias no solo pueden ser agresivas para el organismo del paciente, causando una variedad de efectos adversos que afectan la calidad de vida, sino que también suelen representar un costo económico elevado, limitando su accesibilidad.

Los productos naturales han surgido como una prometedora alternativa debido a la diversidad de compuestos bioactivos que poseen, los cuales han demostrado tener un potencial terapéutico significativo en la prevención y tratamiento del cáncer.

Opuntia ficus-indica es una especie endémica de México con potencial anticancerígeno. La evidencia científica disponible hasta ahora sugiere que los extractos y compuestos derivados de *Opuntia ficus-indica* pueden inducir la muerte celular en células cancerosas a través de diferentes mecanismos moleculares.

Por otro lado, es necesario profundizar en la identificación de los compuestos específicos responsables de la actividad citotóxica. Asimismo, es fundamental determinar qué tipo de muerte celular inducen estos compuestos, para mejorar sus potenciales aplicaciones terapéuticas en el tratamiento del cáncer.

4. HIPÓTESIS

Las fracciones de *Opuntia ficus-indica* obtenidas por extracción secuencial contienen perfiles diferenciados de compuestos bioactivos con capacidad de inducir actividad citotóxica sobre células de cáncer colorrectal humano (Caco-2).

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad citotóxica inducida sobre cáncer de colon por fracciones obtenidas a partir de harina de cladodio de *Opuntia ficus-indica* (OFI) mediante extracción secuencial, así como identificar los compuestos bioactivos presentes en dichas fracciones.

Objetivos específicos

1. Analizar la actividad citotóxica de las fracciones de OFI sobre células de cáncer de colon (Caco-2).
2. Determinar el efecto de las fracciones de OFI sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periféricas (PBMCs).
3. Evaluar el efecto hemolítico de las fracciones de OFI sobre células eritrocíticas humanas
4. Determinar el tipo de muerte celular inducido por las fracciones de OFI sobre células de cáncer de colon (Caco-2).
5. Identificar los compuestos presentes en las fracciones de OFI con mayor actividad citotóxica

6.MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Extracción secuencial

Se llevó a cabo un proceso de extracción secuencial de harina de cladodio de *Opuntia ficus-indica* utilizando siete solventes en orden creciente de polaridad: hexano, éter de petróleo, acetato de etilo, acetona, butanol, etanol al 80% y agua, en una proporción 1:10 (g:mL). Se pesaron 4 g de la harina de *Opuntia ficus-indica* y se colocaron en un tubo cónico de 50 mL (Falcon®), posteriormente se midieron 40 mL de hexano y se añadieron al mismo tubo con la harina (este proceso se realizó por triplicado). Los tubos se introdujeron en el agitador orbital (Thermo Scientific™ MaxQ™ 4000) a 250 rpm y 30 °C durante 30 minutos. Después, se colocaron en la centrifuga (Thermo Scientific™ SL4 Plus) a 5000 × g durante 10 minutos. La fase líquida se decantó en un tubo cónico de 50 mL nuevo. Al tubo cónico de 50 mL con pellet de harina restante se le agregaron 40 mL del siguiente solvente (éter de petróleo) y se replicó el procedimiento previamente descrito. Esto se llevó a cabo con cada uno de los solventes (acetato de etilo, acetona, butanol, etanol 80% y agua). Posteriormente, las muestras obtenidas de hexano, éter de petróleo, acetato de etilo, acetona, etanol 80% y agua se evaporaron en el evaporador rotatorio (Rotavapor ® R-100); en el caso de la muestra de butanol esta se evaporó en el concentrador de vacío (Thermo Scientific™ Savant™ SpeedVac™ SPD1030). Finalmente, las muestras (excepto la fracción acuosa) se resuspendieron en 5 mL de agua bidestilada estéril, se transfirieron a tubos cónicos de 15 mL (Falcon®), y se liofilizaron por 72 h (Labconco™ FreeZone® 6 Plus).

6.2 Cultivo celular

Se utilizó la línea celular Caco-2 (adenocarcinoma colorrectal humano) siguiendo los protocolos establecidos por la ATCC. La línea celular se mantuvo en *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM; Gibco, Thermo Fisher Scientific), suplementado con 1% p/v de glucosa, 10% v/v de suero fetal bovino (SFB) y 1% v/v de solución antibiótica. Las células se incubaron a 37 °C en una atmósfera controlada y humidificada con 5% de CO₂. Para el mantenimiento del cultivo celular se empleó solución tampón fosfato salino (PBS) para los lavados y tripsina 3× para el despegue celular.

6.3 Obtención y aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) humanas

Primeramente, se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los participantes (Anexo 1). Se extrajeron 10 mL de sangre de seis donantes sanos por venopunción. Las muestras sanguíneas se depositaron en tubos cónicos de 50 mL (Falcon®) y se adicionaron 10 mL de solución tampón fosfato salino (PBS). Posteriormente, se transfirieron 10 mL de las muestras sangre-PBS a tubos cónicos de 15 mL (Falcon®) previamente cargados con 5 mL de Ficoll-Paque® sin romper el gradiente de densidad. Se centrifugaron a $400 \times g$ durante 30 minutos (Beckman Coulter Allegra®64R) y se recuperó la fase blanca que contenía las PBMCs en tubos cónicos de 15 mL (Falcon®) aforándolos a su capacidad máxima con PBS. A continuación, se centrifugaron nuevamente a $400 \times g$ durante 10 minutos. Finalmente, los pellets resultantes se resuspendieron en 1 mL de medio *Roswell Park Memorial Institute medium* (RPMI; Gibco Thermo Fisher Scientific).

6.4 Obtención y aislamiento de eritrocitos humanos

Primeramente, se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los participantes (Anexo 2). Se extrajeron 2 mL de sangre de seis donantes sanos por venopunción. Las muestras sanguíneas se depositaron en tubos cónicos de 15 mL (Falcon®) y se les adicionaron 2 mL de cloruro de sodio al 0.9% (solución CS, PiSA®). Se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos (Beckman Coulter Allegra® 64R) y se descartaron los sobrenadantes. Este proceso se repitió tres veces. Se diluyeron las muestras en una relación 1:100 (eritrocitos: cloruro de sodio).

6.5 Ensayo de viabilidad celular MTS en células Caco-2

Para los ensayos de viabilidad celular mediante MTS, se sembraron 4×10^3 células Caco-2 en un volumen final de 100 μ L por pozo en placas de 96 pozos de fondo plano y se incubaron durante 24 horas a 37 °C para la adhesión de las células. Posteriormente, las células se trataron con las siete fracciones de *Opuntia ficus-indica* a una concentración de 100 μ g/mL y se incubaron nuevamente durante 24 horas a 37 °C. Finalmente, se adicionaron 10 μ L de reactivo MTS (CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay) a cada pozo y la placa se incubó durante 45 minutos a 37 °C en oscuridad. La absorbancia se registró en un lector de placas (Varioskan™ LUX) a 490 nm.

6.6 Ensayo de viabilidad celular MTS en PBMCs humanas

Para los ensayos de viabilidad celular, se sembraron 2×10^5 PBMCs en un volumen final de 100 μ L por pozo en placas de 96 pozos de fondo plano. Posteriormente, las células se trataron con las siete fracciones de *Opuntia ficus-indica* a una concentración de 100 μ g/mL y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Finalmente, se adicionaron 10 μ L de reactivo MTS (CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay) a cada pozo y la placa se incubó durante 45 minutos a 37 °C en oscuridad. La absorbancia se registró en un lector de placas (Varioskan™ LUX) a 490 nm.

6.7 Ensayo de hemólisis en eritrocitos humanos

Para el ensayo de hemólisis se añadieron 50 μ L de medio RPMI en una placa de 96 pozos de fondo redondo y posteriormente se agregaron 50 μ L de la dilución 1:100 de eritrocitos para un volumen final de 100 μ L por pozo. Se trataron las células con las siete fracciones de *Opuntia ficus-indica* a una concentración de 100 μ g/mL. Se incubó la placa durante 1 hora a 37°C. Se transfirieron los sobrenadantes de los pozos a una placa de fondo plano de 96 pozos y la absorbancia se registró en un lector de placas (Varioskan™ LUX) a 415 nm.

6.8 Citometría de flujo

Para el ensayo de citometría de flujo se plaquearon 3×10^4 células Caco-2 y se trataron con la fracción acuosa (100 μ g/mL) de *Opuntia ficus-indica*. Se incubaron por 24h a 37°C. Se marcaron las células con Anexina V-FITC y Hoechst y se analizaron por citometría de flujo.

6.9 HPLC-PDA-QDa

Las muestras de fracción acuosa se disolvieron en metanol grado UPLC, y se filtraron a través de membranas de nylon de 0.22 μ m antes de su análisis. El análisis cromatográfico se realizó en un sistema de cromatografía líquida de ultra-alta resolución (UPLC) acoplado a un detector de arreglo de diodos (PDA) y a un detector de masas cuadrupolar (QDa). La detección UV-Vis se llevó a cabo mediante un detector de arreglo de diodos (PDA), registrando espectros en un rango de 200–400 nm. Los cromatogramas y espectros obtenidos fueron procesados con el software del equipo.

7.0 Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando ANOVA con Tukey en el software GraphPad Prism.

7.RESULTADOS

7.1 Rendimiento de extracción obtenido de las fracciones de harina de cladodio de *Opuntia ficus-indica* mediante fraccionamiento secuencial

Se realizó una extracción secuencial de harina de cladodio de *Opuntia ficus-indica* con siete solventes de polaridad creciente: hexano, éter de petróleo, acetato de etilo, acetona, butanol, etanol 80% y agua en relación 1:10 (g:mL). La Tabla 1 muestra los rendimientos de extracción obtenidos con cada solvente, expresados en porcentaje. La fracción acuosa presentó el mayor rendimiento (41.97 ± 11.955), seguida por la fracción de etanol al 80% (5.85 ± 1.334). Las fracciones obtenidas con solventes de polaridad intermedia mostraron rendimientos alrededor de 1%: butanol (1.65 ± 0.859), acetona (1.70 ± 0.228), y acetato de etilo (1.06 ± 0.963). Por último, con los solventes no polares se obtuvieron los rendimientos más bajos: éter de petróleo (0.40 ± 0.117) y hexano (0.54 ± 0.100).

Tabla 1. Rendimiento de extracción de fracciones de harina de *Opuntia ficus-indica*

Solvente	Rendimiento de extracción (%)
Hexano	0.54 ± 0.100
Éter de petróleo	0.40 ± 0.117
Acetato de etilo	1.06 ± 0.963
Acetona	1.70 ± 0.228
Butanol	1.65 ± 0.859
Etanol 80%	5.85 ± 1.334
Agua	41.97 ± 11.955

La tabla muestra porcentaje de rendimiento de cada una de las siete fracciones obtenidas de harina de *Opuntia ficus-indica* utilizando extracción secuencial con diferentes solventes: hexano, éter de petróleo, acetato de etilo, acetona, butanol, etanol y agua. El rendimiento se expresa como la media $\pm$ DE.

7.2 Análisis de la actividad citotóxica de las fracciones obtenidas de *Opuntia ficus-indica* en Caco-2

Para evaluar el efecto citotóxico sobre Caco-2 de las fracciones obtenidas de harina de cladodio de OFI se llevaron a cabo ensayos MTS a 24 y 48 h. Las fracciones se resuspendieron en distintas proporciones de DMSO: Agua para solubilizarlos de acuerdo con la polaridad de los solventes utilizados.

A 24 h se encontró todas las fracciones generaron una disminución en la viabilidad celular, sin embargo, la fracción de hexano presentó el menor efecto citotóxico siendo no significativo y las fracciones de éter de petróleo y acetato de etilo tuvieron el mayor efecto citotóxico teniendo diferencia significativa con el control. Los vehículos utilizados para resuspender las fracciones no disminuyeron la viabilidad celular de manera significativa por lo cual se puede confirmar que la citotoxicidad no viene de los vehículos.

A 48 h todas las fracciones generaron una disminución en la viabilidad celular, y la fracción de agua fue la que presentó la mayor citotoxicidad. De igual manera, los vehículos utilizados para resuspender las fracciones no disminuyeron la viabilidad celular de manera significativa por lo cual se puede confirmar que la citotoxicidad no viene de los vehículos.

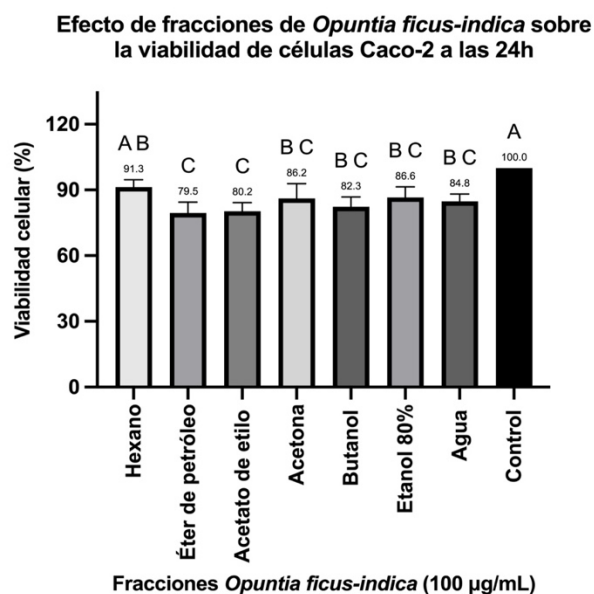


Figura 1. Efecto de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (100 µg/mL) sobre la viabilidad de células Caco-2 a las 24 h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

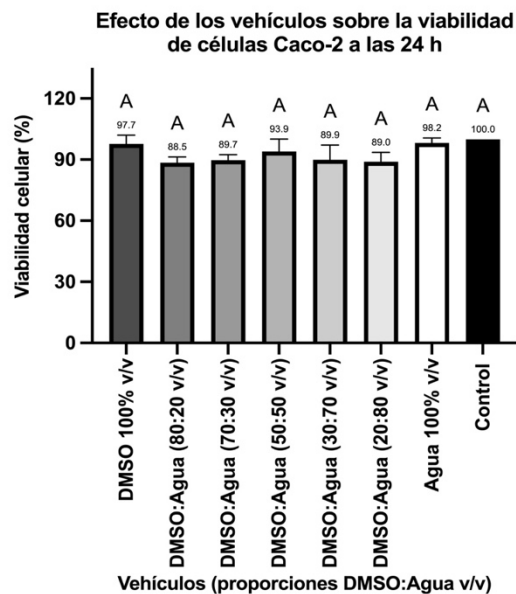


Figura 2. Efecto de las distintas proporciones del vehículo dimetilsulfóxido (DMSO): Agua (v/v) sobre la viabilidad de células Caco-2 a las 24h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras (A) indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

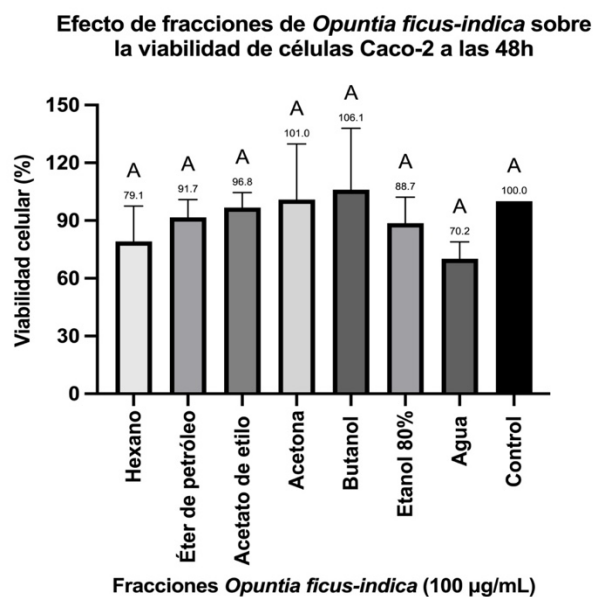


Figura 3. Efecto de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (100 µg/mL) sobre la viabilidad de células Caco-2 a las 48 h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras (A) indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

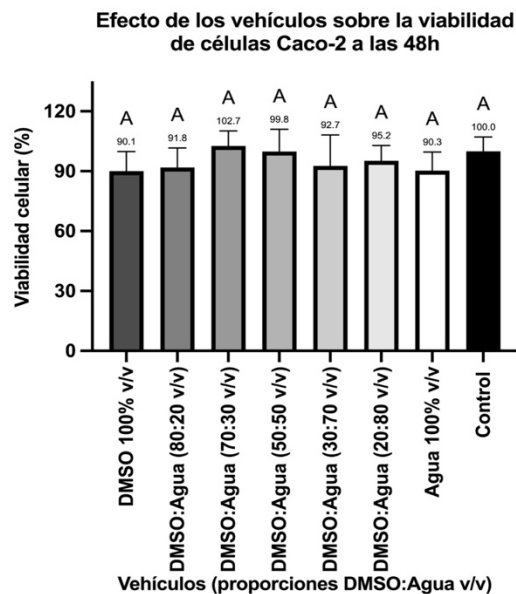


Figura 4. Efecto de las distintas proporciones del vehículo dimetilsulfóxido (DMSO):Agua (v/v) sobre la viabilidad de células Caco-2 a las 48h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras (A) indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

7.3 Análisis del efecto de las fracciones de OFI sobre la viabilidad de células mononucleares de sangre periféricas (PBMCs).

Para evaluar el efecto citotóxico sobre PBMCs de las fracciones obtenidas de harina de cladodio de OFI se llevaron a cabo ensayos MTS a 24 y 48 h. Las fracciones se resuspendieron en distintas proporciones de DMSO: Agua para solubilizarlos de acuerdo con la polaridad de los solventes utilizados. Tanto a 24 como a 48 h se encontró que ninguna fracción genera una disminución significativa en la viabilidad de PBMCs por lo que se puede inferir que no existe un efecto negativo sobre las células del sistema inmune.

Asimismo, los vehículos utilizados para resuspender las fracciones no disminuyeron la viabilidad celular de manera significativa por lo cual se puede confirmar que la citotoxicidad no viene de los vehículos.

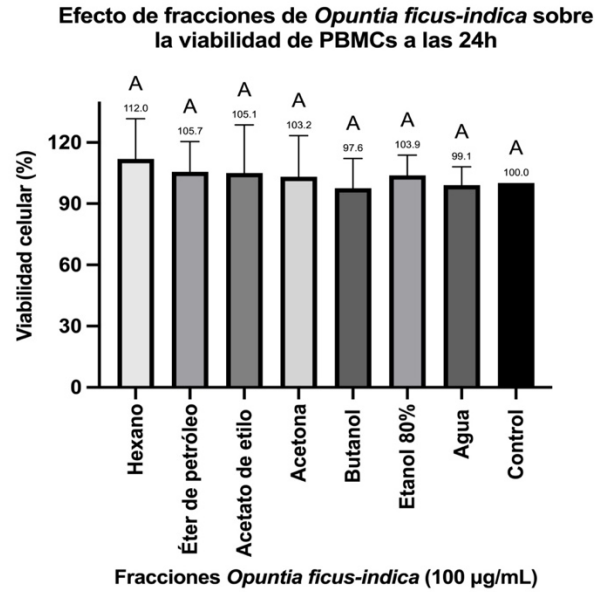


Figura 5. Efecto de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (100 µg/mL) sobre la viabilidad de PBMCs a las 48 h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras (A) indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

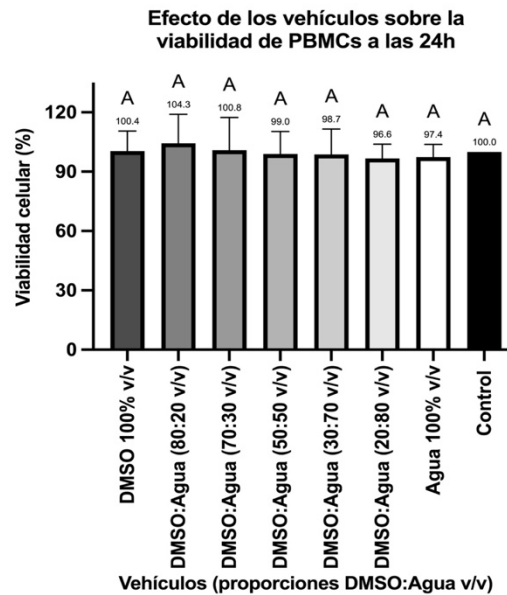


Figura 6. Efecto de las distintas proporciones del vehículo dimetilsulfóxido (DMSO) : Agua (v/v) sobre la viabilidad de PBMCs a las 48h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

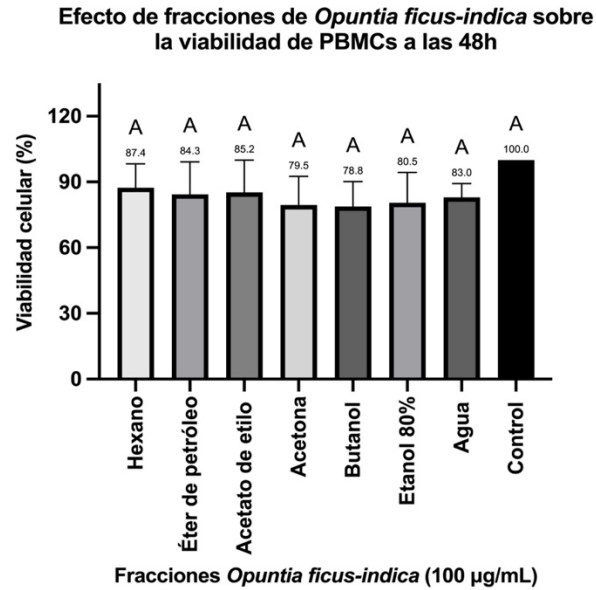


Figura 7. Efecto de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (100 µg/mL) sobre la viabilidad de PBMCs a las 48 h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras (A) indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

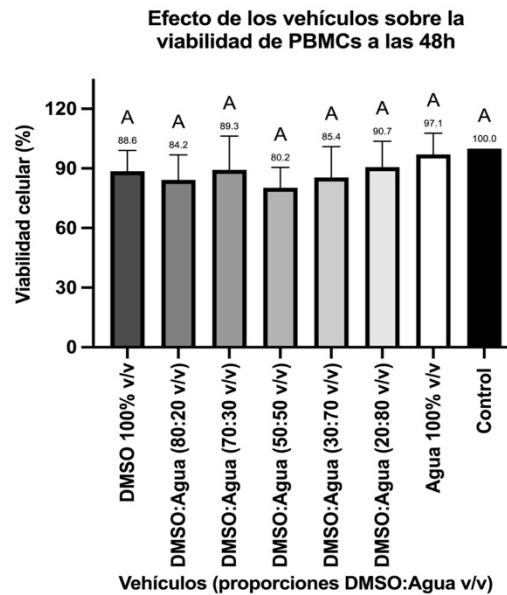


Figura 8. Efecto de las distintas proporciones del vehículo dimetilsulfóxido (DMSO):Agua (v/v) sobre la viabilidad de PBMCs a las 48h. Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. Las letras indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

7.4 Evaluación del efecto hemolítico de las fracciones obtenidas de *Opuntia ficus-indica*.

Para evaluar la seguridad de las fracciones se realizó ensayo de hemólisis. Se encontró que el hexano y acetato de etilo tienen el mayor efecto hemolítico con 4.9% y 2.8% respectivamente, mientras que la fracción de agua tuvo el menor efecto hemolítico con 0.1%. Todos los extractos mostraron un porcentaje de hemólisis menor al 5% por lo que se consideran seguros

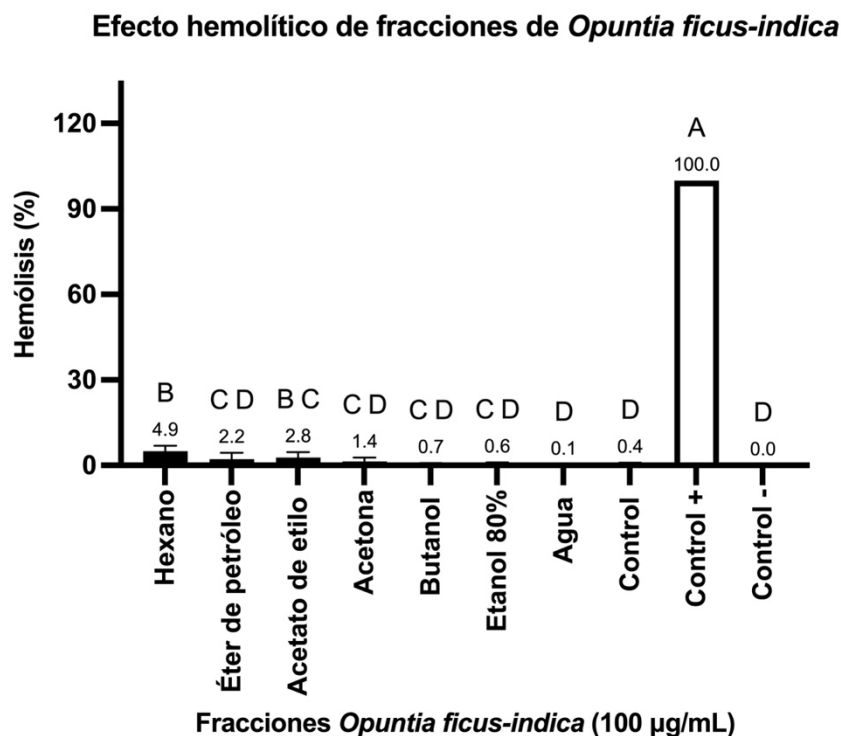


Figura 9. Efecto hemolítico de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (100 µg/mL). Las barras indican la media $\pm$ desviación estándar del porcentaje de hemólisis. **Control +** (Tritón X-100) y **Control -** (Solución salina 0.9%). Letras diferentes (A, B, C, D) indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, prueba de Tukey; $p < 0.05$).

Tomando en cuenta los resultados de estas pruebas se realizó una ponderación para seleccionar las fracciones más adecuadas para continuar con los objetivos cuatro y cinco.

Tabla 2. Resumen del rendimiento de extracción de las fracciones de *Opuntia ficus-indica* y sus efectos biológicos sobre la viabilidad celular (Caco-2 y PBMCs) y la hemólisis.

	Rendimiento de extracción	Viabilidad celular Caco-2 24h	Viabilidad celular Caco-2 48h	Viabilidad PBMCs 24h	Viabilidad PBMCs 48h	Hemólisis
Hexano	0.54%	91.3%	79.1%	112.0%	87.4%	4.9%
Éter de petróleo	0.40%	79.5%	91.7%	105.7%	84.3%	2.2%
Acetato de etilo	1.06%	80.2%	96.8%	105.1%	85.2%	2.8%
Acetona	1.70%	86.2%	101.0%	103.2%	79.5%	1.4%
Butanol	1.65%	82.3%	106.1%	97.6%	78.8%	0.7%
Etanol 80%	5.85%	86.6%	88.7%	103.9%	80.5%	0.6%
Agua	41.97%	84.8%	70.2%	99.1%	83.0%	0.1%

Los valores de rendimiento de extracción se presentan en porcentaje (%). Los datos de viabilidad celular (Células Caco-2 y PBMCs) y hemólisis se expresan como porcentaje (%). Las células Caco-2 y PBMCs fueron tratadas con una concentración de 100 µg/mL de cada fracción.

Con base en estos resultados se decidió tomar la fracción acuosa para analizar por citometría de flujo e identificar sus componentes por UPLC-PDA-QDa.

7.5 Determinación del tipo de muerte celular inducido por las fracciones de OFI sobre células de cáncer de colon (Caco-2).

Para analizar el tipo de muerte celular generado por las fracciones de harina de cladodio de OFI sobre células Caco-2 estas se marcaron las células con Anexina V-FITC y Hoechst y se analizaron por citometría de flujo. Con la fracción acuosa de OFI 40.1% de células fueron Anexina V-FITC positivas (hay exposición de PS) mientras que solo 8% fueron positivas para Hoechst (tinción de núcleos), esto sugiere que el principal mecanismo de citotoxicidad de OFI es la apoptosis.

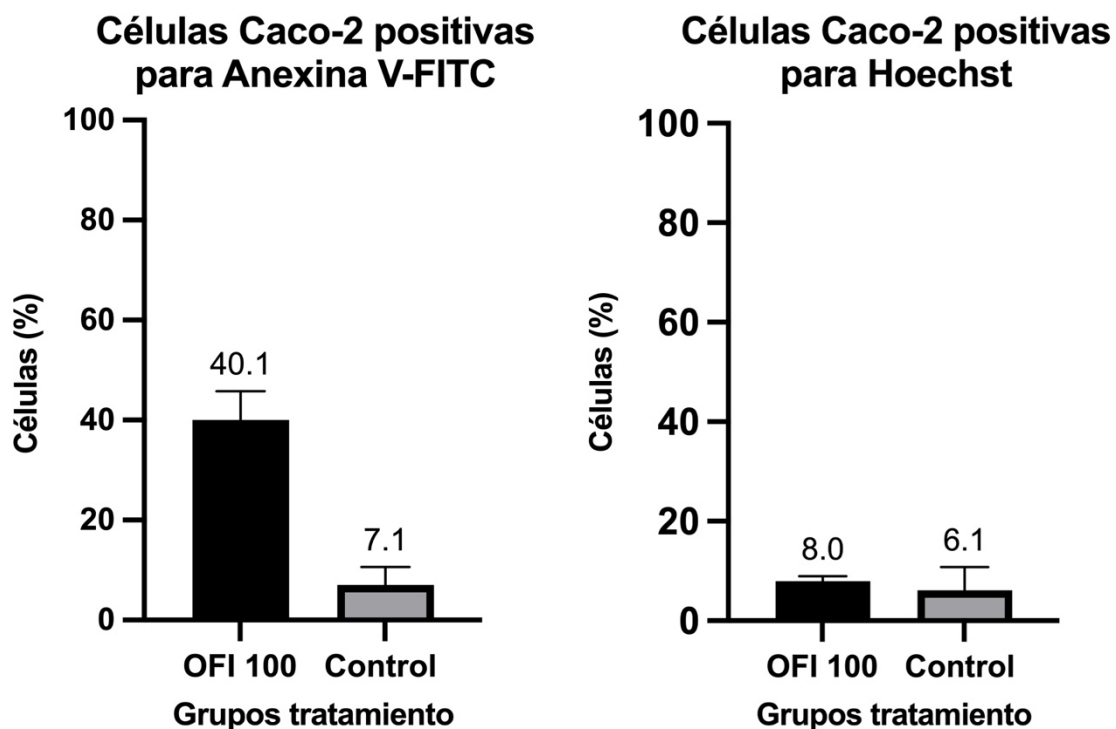


Figura 10. Inducción de la muerte celular en células Caco-2 después del tratamiento con la fracción acuosa de *Opuntia ficus-indica* (OFI 100 µg/mL). El gráfico de la izquierda muestra el porcentaje de células positivas para Anexina V-FITC y el gráfico de la derecha muestra el porcentaje de células positivas para Hoechst. Los valores se comparan con el grupo Control (sin tratamiento). Las barras indican la media $\pm$ desviación estándar.

7.6 Identificación de los compuestos presentes en la fracción acuosa de OFI

Para identificar los compuestos en la fracción acuosa de OFI se introdujeron las muestras en el UPLC-QDA-PDa y se analizaron con el software del equipo. El UPLC acoplado con un detector de arreglo de diodos mostró los siguientes cromatogramas:

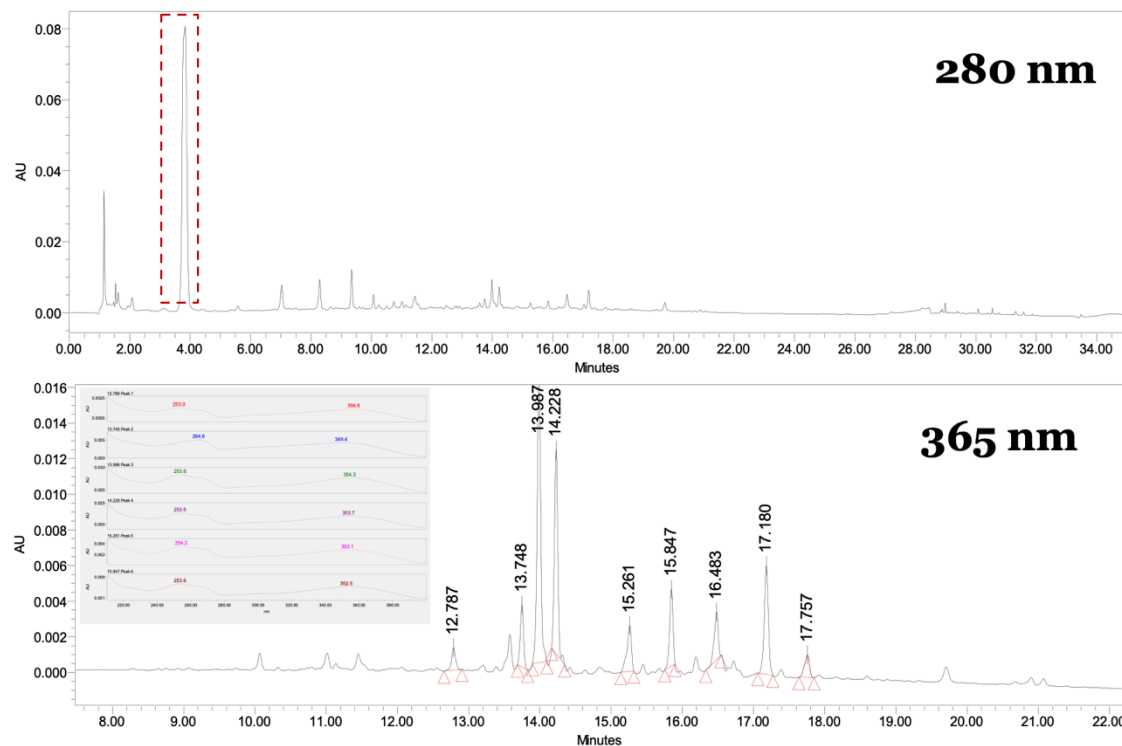
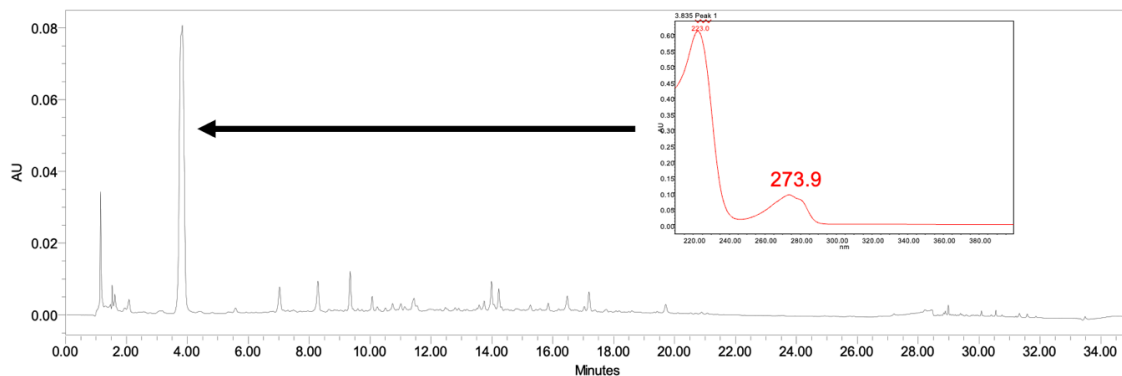


Figura 11. Cromatogramas UPLC-QDA-PDa de fracción acuosa de OFI a 280 nm y 365 nm muestran los perfiles de elución y los tiempos de retención de los compuestos detectados en cada longitud de onda.

El análisis en el UPLC acoplado con un detector de arreglos de diodos muestra el siguiente cromatograma a 280 nm y a 365 nm, respectivamente. Se puede observar que el compuesto que eluye a 3.835 minutos a 280 nm es el componente mayoritario representando el 88% de todos los compuestos detectados a esa longitud de onda. Los compuestos detectados a 365 nm que generalmente se han asociado a flavonoides glicosilados (como puede intuirse por sus espectros UV) previamente reportados en *Opuntia* muestran una señal menos intensa (la mitad aproximadamente).



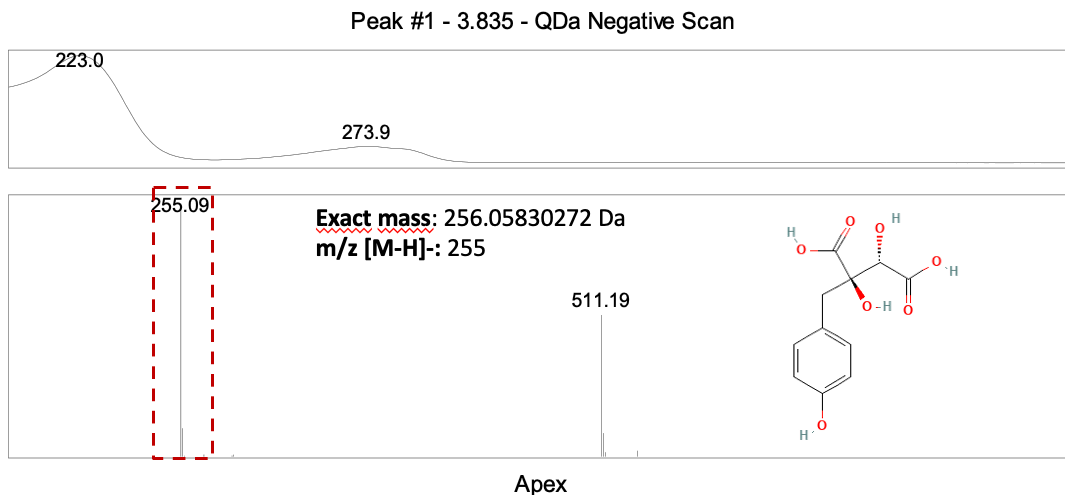


Figura 12. Cromatograma del pico mayoritario (3.835 min) y su correspondiente espectro UV ($\lambda_{\text{máx}} = 273.9$ nm) y espectro de masas en modo negativo (QDa), ion [M-H]⁻ en m/z 255 y el fragmento en m/z 511.

Al analizar el compuesto mencionado se observó que su espectro de absorción corresponde a la familia de ácidos fenólicos con una longitud de onda de 273.9 nm. Asimismo, el análisis en el detector de masas Qda en ionización negativa arrojó una masa/carga (m/z) de 255 lo que corresponde al ácido piscidico previamente reportado en *Opuntia*. El fragmento de m/z de 511 surge por la alta concentración de este compuesto que igual ha sido reportado con un isómero entonces este fragmento representa 2 moléculas de 255.

8. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad citotóxica de fracciones obtenidas de *Opuntia ficus-indica* mediante un enfoque de fraccionamiento guiado por bioactividad, así como identificar los compuestos responsables de dicho efecto en células de cáncer de colon humano (Caco-2). Los resultados obtenidos aportan evidencia sólida de que *O. ficus-indica* contiene metabolitos bioactivos con potencial anticancerígeno selectivo, particularmente concentrados en la fracción acuosa del cladodio.

Rendimiento de extracción y relación con la polaridad de los metabolitos

La extracción secuencial mostró diferencias marcadas en el rendimiento entre las fracciones obtenidas, observándose que la fracción acuosa presentó el mayor porcentaje de recuperación (~42%), seguida por la fracción etanólica al 80%. Estos resultados concuerdan con estudios previos que indican que los cladodios de *O. ficus-indica* son ricos en compuestos altamente polares, como ácidos fenólicos, flavonoides glicosilados y otros metabolitos hidrofílicos (Giraldo-Silva et al., 2023; Wang et al., 2023).

El bajo rendimiento observado en fracciones no polares (hexano y éter de petróleo) sugiere una menor abundancia de lípidos y compuestos apolares en la matriz vegetal analizada, lo cual es consistente con la composición fitoquímica reportada para los cladodios, en contraste con otras partes de la planta como semillas o frutos (Giraldo-Silva et al., 2023). Este perfil de extracción respalda el uso de solventes polares para la recuperación de metabolitos con potencial actividad biológica en *O. ficus-indica*.

Actividad citotóxica diferencial sobre células Caco-2

Los ensayos de viabilidad celular mediante MTS demostraron que todas las fracciones redujeron la viabilidad de células Caco-2 en al menos uno de los tiempos evaluados; sin embargo, la magnitud del efecto dependió tanto de la fracción como del tiempo de exposición. A las 24 h, las fracciones de éter de petróleo y acetato de etilo mostraron una disminución significativa de la viabilidad celular, lo que sugiere la presencia de compuestos citotóxicos de polaridad baja a intermedia. Estos resultados son comparables con reportes

que atribuyen actividad anticancerígena a flavonoides aglicona y ciertos fitoesteroles extraídos con solventes orgánicos (Salehi et al., 2021).

No obstante, a las 48 h la fracción acuosa fue la que mostró el mayor efecto citotóxico, reduciendo la viabilidad celular de forma más pronunciada que el resto de las fracciones. Este hallazgo es particularmente relevante, ya que indica un efecto dependiente del tiempo y sugiere que los compuestos hidrofílicos presentes en la fracción acuosa podrían inducir mecanismos de muerte celular programada que requieren mayor tiempo de exposición, como la apoptosis.

Estudios previos han reportado que extractos acuosos o hidroalcohólicos de *O. ficus-indica* inducen citotoxicidad en líneas celulares de cáncer de colon mediante la activación de vías apoptóticas intrínsecas (Antunes-Ricardo et al., 2014; Antunes-Ricardo et al., 2019). Los resultados obtenidos en este trabajo son congruentes con dichas observaciones y refuerzan la hipótesis de que los metabolitos polares juegan un papel central en la actividad anticancerígena de esta especie vegetal.

Selectividad biológica: efecto sobre PBMCs humanas

Un aspecto fundamental en la evaluación de compuestos con potencial terapéutico es su selectividad hacia células tumorales. En este estudio, ninguna de las fracciones evaluadas produjo una disminución significativa en la viabilidad de PBMCs humanas, tanto a 24 como a 48 h. Este resultado sugiere que las fracciones de *O. ficus-indica* presentan un perfil de citotoxicidad selectiva, afectando preferentemente a las células cancerosas.

La ausencia de toxicidad sobre PBMCs es consistente con estudios que reportan un bajo efecto citotóxico de extractos de *O. ficus-indica* sobre células normales, lo que se ha atribuido a la capacidad de los compuestos fenólicos de modular selectivamente el estrés oxidativo y las vías de señalización alteradas en células tumorales (Antunes-Ricardo et al., 2021; Muhammad et al., 2022). Esta selectividad representa una ventaja importante frente a muchos agentes quimioterapéuticos convencionales, los cuales carecen de especificidad y afectan tanto a células sanas como malignas (Anand et al., 2023).

Evaluación de seguridad: ensayo de hemólisis

El ensayo de hemólisis permitió evaluar la seguridad preliminar de las fracciones obtenidas. Todas las fracciones presentaron porcentajes de hemólisis inferiores al 5%, umbral comúnmente aceptado para considerar un compuesto como no hemolítico (Baldim et al., 2022). La fracción acuosa mostró el menor efecto hemolítico (0.1%), reforzando su perfil de seguridad.

Estos resultados son relevantes desde el punto de vista farmacológico, ya que indican que los compuestos presentes en la fracción acuosa no comprometen la integridad de la membrana eritrocitaria. Estudios previos han señalado que muchos polifenoles vegetales presentan baja afinidad por membranas celulares sanas, lo que contribuye a su baja toxicidad sistémica (Bontempo et al., 2023).

Inducción de apoptosis como principal mecanismo de citotoxicidad

El análisis por citometría de flujo utilizando Anexina V-FITC y Hoechst permitió determinar el tipo de muerte celular inducido por la fracción acuosa. El alto porcentaje de células Anexina V positivas (~40%) en comparación con el bajo porcentaje de células Hoechst positivas indica que la apoptosis es el mecanismo predominante de muerte celular.

La exposición de fosfatidilserina en la membrana plasmática es una característica temprana de la apoptosis y ha sido ampliamente reportada como un marcador confiable de este proceso (Elmore, 2007). Estos hallazgos concuerdan con estudios previos en los que flavonoides glicosilados derivados de *O. ficus-indica*, como la isoramnetina y sus derivados, inducen apoptosis mediante la modulación de la relación Bax/Bcl-2 y la pérdida del potencial de membrana mitocondrial (Antunes-Ricardo et al., 2019).

La inducción de apoptosis es un objetivo clave en la terapia anticancerígena, ya que permite la eliminación controlada de células tumorales sin generar inflamación asociada a necrosis (Bozgeyik & Bozgeyik, 2023). En este contexto, los resultados obtenidos posicionan a la fracción acuosa de *O. ficus-indica* como una fuente prometedora de compuestos pro-apoptóticos.

Identificación del ácido piscídico como compuesto mayoritario

El análisis por UPLC-PDA-QDa permitió identificar al ácido piscídico como el compuesto mayoritario en la fracción acuosa, representando aproximadamente el 88% de los compuestos detectados a 280 nm. El espectro UV característico y la relación masa/carga (m/z 255) concuerdan con reportes previos que describen la presencia de este ácido fenólico en especies del género *Opuntia* (Gómez-López et al., 2021).

El ácido piscídico ha sido reportado como un potente antioxidante y quelante de hierro, propiedades que pueden contribuir a su actividad citotóxica en células cancerosas al alterar el balance redox y afectar procesos metabólicos dependientes de hierro (Wang et al., 2023). La alta abundancia de este compuesto en la fracción acuosa sugiere que podría desempeñar un papel central en la actividad citotóxica observada.

No obstante, es importante considerar que la actividad biológica observada podría ser el resultado de efectos sinérgicos entre el ácido piscídico y otros compuestos minoritarios presentes en la fracción, como flavonoides glicosilados. La sinergia entre metabolitos vegetales ha sido ampliamente documentada y representa un aspecto clave en la bioactividad de extractos complejos (Atanasov et al., 2021).

Implicaciones y proyección del estudio

En conjunto, los resultados de este trabajo respaldan el potencial de *Opuntia ficus-indica* como fuente de compuestos bioactivos con actividad citotóxica selectiva contra células de cáncer de colon. El uso de un enfoque de fraccionamiento guiado por bioactividad permitió identificar a la fracción acuosa como la más prometedora, destacando al ácido piscídico como un posible compuesto clave.

Estos hallazgos abren la puerta a estudios futuros enfocados en el aislamiento del ácido piscídico en forma pura, la evaluación de su actividad citotóxica individual y la elucidación detallada de los mecanismos moleculares involucrados. Asimismo, será necesario explorar su efecto en modelos *in vivo* para validar su potencial terapéutico y su seguridad sistémica.

Finalmente, este estudio contribuye al conocimiento sobre los metabolitos bioactivos de *O. ficus-indica* y refuerza la relevancia de los productos naturales como una estrategia viable en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para el cáncer de colon.

Relación entre estrés oxidativo, quelación de hierro y citotoxicidad

Diversos estudios han demostrado que muchas células cancerosas, incluidas las de cáncer colorrectal, presentan una mayor dependencia del hierro debido a su elevada tasa proliferativa y a la necesidad incrementada de cofactores metálicos para enzimas involucradas en la replicación del ADN y el metabolismo energético. En este contexto, la quelación de hierro se ha propuesto como una estrategia terapéutica alternativa para limitar el crecimiento tumoral (Torti & Torti, 2013).

El ácido piscídico, identificado como el compuesto mayoritario en la fracción acuosa de *O. ficus-indica*, ha sido descrito como un ácido fenólico con capacidad antioxidante y potencial quelante de metales. La alteración de la homeostasis del hierro intracelular puede conducir a disfunción mitocondrial, incremento de especies reactivas de oxígeno y activación de vías apoptóticas, lo cual podría explicar, al menos en parte, la citotoxicidad observada en células Caco-2 tras el tratamiento con la fracción acuosa (Wang et al., 2023).

Cabe destacar que la inducción de apoptosis observada mediante la exposición de fosfatidilserina es consistente con un escenario en el que el estrés oxidativo y la disrupción del metabolismo del hierro actúan como señales pro-apoptóticas. Estudios previos han demostrado que la privación de hierro puede activar la vía mitocondrial de la apoptosis mediante la regulación negativa de proteínas antiapoptóticas y la activación de caspasas ejecutoras (Yu et al., 2012).

Importancia del enfoque de fraccionamiento guiado por bioactividad

El uso de un enfoque de fraccionamiento guiado por bioactividad representa una fortaleza metodológica importante de este estudio. A diferencia de los análisis realizados con extractos crudos, este enfoque permitió correlacionar de manera directa el perfil químico de cada

fracción con su efecto biológico, facilitando la identificación de la fracción con mayor potencial terapéutico.

La selección de la fracción acuosa se sustentó no solo en su elevada actividad citotóxica sobre células Caco-2, sino también en su alta selectividad biológica y bajo efecto hemolítico. Este tipo de análisis integral es fundamental en las etapas tempranas del descubrimiento de fármacos, ya que permite descartar fracciones con actividad inespecífica o con perfiles de toxicidad desfavorables (Mani et al., 2022).

Asimismo, el alto rendimiento de extracción de la fracción acuosa sugiere una ventaja práctica desde el punto de vista de escalamiento y reproducibilidad, aspectos críticos en el desarrollo futuro de fitofármacos o compuestos derivados de productos naturales.

Comparación con terapias convencionales y relevancia clínica

Los tratamientos convencionales para el cáncer de colon, como la quimioterapia y la radioterapia, si bien han mejorado la supervivencia de los pacientes, se asocian con una alta incidencia de efectos secundarios debido a su baja selectividad celular (Anand et al., 2023). En contraste, los resultados obtenidos en este estudio muestran que las fracciones de *O. ficus-indica*, particularmente la fracción acuosa, ejercen un efecto citotóxico selectivo sobre células tumorales sin afectar de manera significativa a células inmunes ni eritrocitos humanos.

Esta selectividad sugiere que los compuestos presentes en *O. ficus-indica* podrían actuar sobre vías moleculares específicas alteradas en células cancerosas, lo que los posiciona como candidatos atractivos para el desarrollo de terapias adyuvantes o complementarias. En este sentido, los productos naturales no necesariamente buscan sustituir a las terapias convencionales, sino potenciarlas o reducir las dosis requeridas, minimizando así los efectos adversos asociados (Atanasov et al., 2021).

Limitaciones del estudio

A pesar de los hallazgos relevantes obtenidos, este estudio presenta algunas limitaciones que deben ser consideradas. En primer lugar, la evaluación de la citotoxicidad se realizó a una

sola concentración (100 µg/mL), por lo que será necesario realizar estudios dosis-respuesta para determinar valores de IC₅₀ y establecer con mayor precisión la potencia de las fracciones y del ácido piscídico.

En segundo lugar, aunque la citometría de flujo permitió identificar la apoptosis como el principal mecanismo de muerte celular, no se evaluaron marcadores moleculares específicos como la activación de caspasas, la pérdida del potencial de membrana mitocondrial o la modulación de proteínas pro- y antiapoptóticas. Estos análisis permitirían una caracterización más profunda del mecanismo de acción.

Finalmente, los resultados obtenidos corresponden a un modelo *in vitro*, por lo que es indispensable validar estos efectos en modelos *in vivo* que permitan evaluar la biodisponibilidad, toxicidad sistémica y eficacia antitumoral en un contexto fisiológico más complejo.

Perspectivas futuras

Con base en los resultados obtenidos, futuros estudios deberían enfocarse en el aislamiento y purificación del ácido piscídico, así como en la evaluación de su actividad citotóxica individual y en combinación con otros metabolitos presentes en la fracción acuosa. Asimismo, sería de interés investigar posibles efectos sinérgicos con fármacos quimioterapéuticos utilizados en el tratamiento del cáncer de colon.

La elucidación detallada de los mecanismos moleculares involucrados, así como la validación *in vivo*, permitirá determinar con mayor precisión el potencial terapéutico de *Opuntia ficus-indica* y contribuirá al desarrollo de estrategias innovadoras basadas en productos naturales para el tratamiento del cáncer de colon.

9.CONCLUSIÓN

En este estudio se demostró que la extracción secuencial es una metodología eficaz para la obtención de compuestos bioactivos presentes en el cladodio de *Opuntia ficus-indica*, ya que permitió separar metabolitos de distinta polaridad y evaluar de manera dirigida su actividad biológica. Las fracciones obtenidas mostraron efectos citotóxicos sobre la línea celular de cáncer de colon humano Caco-2, evidenciando el potencial anticancerígeno de esta especie vegetal.

De manera relevante, ninguna de las fracciones evaluadas indujo efectos negativos significativos sobre células mononucleares de sangre periférica humanas, lo que sugiere un perfil de citotoxicidad selectiva. Asimismo, todas las fracciones presentaron porcentajes de hemólisis inferiores al 5%, lo que indica un adecuado perfil de seguridad preliminar.

Entre las fracciones analizadas, la fracción acuosa destacó por presentar el mayor rendimiento de extracción y la mayor actividad citotóxica, manteniendo al mismo tiempo una alta selectividad y bajo efecto hemolítico. El análisis por citometría de flujo evidenció que esta fracción induce principalmente muerte celular por apoptosis. Finalmente, su caracterización química permitió identificar la presencia predominante de compuestos fenólicos, particularmente el ácido piscídico, el cual podría estar asociado con la actividad biológica observada.

REFERENCIAS

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Ahmed, S., Alsharif, K. F., Aschner, M., Alzahrani, K. J., Akkol, E. K., Türkcanoğlu, E. G., & Khan, H. (2026). A deep dive into herbal extraction: Techniques, trends, and technological advancements. *South African Journal of Botany*, 188, 9–37. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.11.005>
- AlZaabi, A., AlHarrasi, A., AlMusalami, A., AlMahyijari, N., Al Hinai, K., ALAdawi, H., & Al-Shamsi, H. O. (2022). Early onset colorectal cancer: Challenges across the cancer care continuum. *Annals of Medicine & Surgery*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104453>
- Anand, U., Dey, A., Chandel, A. K. S., Sanyal, R., Mishra, A., Pandey, D. K., De Falco, V., Upadhyay, A., Kandimalla, R., Chaudhary, A., Dhanjal, J. K., Dewanjee, S., Vallamkondu, J., & Pérez De La Lastra, J. M. (2023). Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes & Diseases*, 10(4), 1367–1401. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.02.007>
- Antunes-Ricardo, M., Guardado-Félix, D., Rocha-Pizaña, M. R., Garza-Martínez, J., Acevedo-Pacheco, L., Gutiérrez-Urbe, J. A., Villela-Castrejón, J., López-Pacheco, F., & Serna-Saldivar, S. O. (2021). Opuntia ficus-indica Extract and Isorhamnetin-3-O-Glucosyl-Rhamnoside Diminish Tumor Growth of Colon Cancer Cells Xenografted in Immune-Suppressed Mice through the Activation of Apoptosis

Intrinsic Pathway. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(4), 434–441.

<https://doi.org/10.1007/s11130-021-00934-3>

Antunes-Ricardo, M., Hernández-Reyes, A., Uscanga-Palomeque, A. C., Rodríguez-

Padilla, C., Martínez-Torres, A. C., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Isorhamnetin glycoside isolated from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill induces apoptosis in human colon cancer cells through mitochondrial damage. *Chemico-Biological Interactions*, 310, 108734. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108734>

Antunes-Ricardo, M., Moreno-García, B. E., Gutiérrez-Urbe, J. A., Aráiz-Hernández, D.,

Alvarez, M. M., & Serna-Saldivar, S. O. (2014). Induction of Apoptosis in Colon Cancer Cells Treated with Isorhamnetin Glycosides from *Opuntia Ficus-indica* Pads. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(4), 331–336.

<https://doi.org/10.1007/s11130-014-0438-5>

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., the International Natural Product Sciences

Taskforce, Orhan, I. E., Banach, M., Rollinger, J. M., Barreca, D., Weckwerth, W., Bauer, R., Bayer, E. A., Majeed, M., Bishayee, A., Bochkov, V., Bonn, G. K., Braidy, N., Bucar, F., Cifuentes, A., D’Onofrio, G., ... Supuran, C. T. (2021).

Natural products in drug discovery: Advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(3), 200–216. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>

Balhim, I., Oliveira, W. P., Rao, R., Raghuvir, S., Mahant, S., Gama, F. M., & Souto, E. B.

(2022). Biofate and cellular interactions of lipid nanoparticles. En *Nanoparticle Therapeutics* (pp. 211–246). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820757-4.00015-6>

Bontempo, P., De Masi, L., & Rigano, D. (2023). Functional Properties of Natural Products and Human Health. *Nutrients*, 15(13), 2961. <https://doi.org/10.3390/nu15132961>

- Bozgeyik, E., & Bozgeyik, I. (2023). Unveiling the therapeutic potential of natural-based anticancer compounds inducing non-canonical cell death mechanisms. *Pathology - Research and Practice*, 248, 154693. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154693>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Chen, J., Yang, J., Ma, L., Li, J., Shahzad, N., & Kim, C. K. (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific Reports*, 10(1), 2611. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z>
- Giraldo-Silva, L., Ferreira, B., Rosa, E., & Dias, A. C. P. (2023). *Opuntia ficus-indica* Fruit: A Systematic Review of Its Phytochemicals and Pharmacological Activities. *Plants*, 12(3), 543. <https://doi.org/10.3390/plants12030543>
- Gómez-López, I., Lobo-Rodrigo, G., Portillo, M. P., & Cano, M. P. (2021). Characterization, Stability, and Bioaccessibility of Betalain and Phenolic Compounds from *Opuntia stricta* var. *Dillenii* Fruits and Products of Their Industrialization. *Foods*, 10(7), 1593. <https://doi.org/10.3390/foods10071593>
- Güven, H., Arıcı, A., & Simsek, O. (2019). Flavonoids in Our Foods: A Short Review. *Journal of Basic and Clinical Health Sciences*. <https://doi.org/10.30621/jbachs.2019.555>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Johnson, C. M., Wei, C., Ensor, J. E., Smolenski, D. J., Amos, C. I., Levin, B., & Berry, D.

- A. (2013). Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes & Control*, 24(6), 1207–1222. <https://doi.org/10.1007/s10552-013-0201-5>
- Mani, J., Johnson, J., Hosking, H., Hoyos, B., Walsh, K., Neilsen, P., & Naiker, M. (2022). Bioassay Guided Fractionation Protocol for Determining Novel Active Compounds in Selected Australian Flora. *Plants*, 11(21), 2886. <https://doi.org/10.3390/plants11212886>
- Morgan, E., Arnold, M., Gini, A., Lorenzoni, V., Cabasag, C. J., Laversanne, M., Vignat, J., Ferlay, J., Murphy, N., & Bray, F. (2023). Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: Incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut*, 72(2), 338. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327736>
- Motta Ramírez, G. A., Alonso Blancas, E., Lozano Dubernard, G., Urbina de la Vega, J. F., & Valenzuela Tamariz, J. (2011). La evaluación del cáncer colorrectal por tomografía computarizada multidetector. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 10(5), 252–264.
- Muhammad, N., Usmani, D., Tarique, M., Naz, H., Ashraf, M., Raliya, R., Tabrez, S., Zughaibi, T. A., Alsaieedi, A., Hakeem, I. J., & Suhail, M. (2022). The Role of Natural Products and Their Multitargeted Approach to Treat Solid Cancer. *Cells*, 11(14), 2209. <https://doi.org/10.3390/cells11142209>
- National Institutes of Health (US); Biological Sciences Curriculum Study. (2007). *NIH Curriculum Supplement Series [Internet]*. National Institutes of Health (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20362/>
- Ogbe, R. J., Ochalefu, D. O., Mafulul, S. G., & Olaniru, O. B. (2015). *A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits*.
- Plat, J., Baumgartner, S., Vanmierlo, T., Lütjohann, D., Calkins, K. L., Burrin, D. G.,

- Guthrie, G., Thijs, C., Te Velde, A. A., Vreugdenhil, A. C. E., Sverdlov, R., Garssen, J., Wouters, K., Trautwein, E. A., Wolfs, T. G., Van Gorp, C., Mulder, M. T., Riksen, N. P., Groen, A. K., & Mensink, R. P. (2019). Plant-based sterols and stanols in health & disease: “Consequences of human development in a plant-based environment?” *Progress in Lipid Research*, 74, 87–102.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.02.003>
- Salehi, B., Quispe, C., Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., Nigam, M., Mishra, A. P., Konovalov, D. A., Orobinskaya, V., Abu-Reidah, I. M., Zam, W., Sharopov, F., Venneri, T., Capasso, R., Kukula-Koch, W., Wawruszak, A., & Koch, W. (2021). Phytosterols: From Preclinical Evidence to Potential Clinical Applications. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 599959. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.599959>
- Salva De Torres, C., Baraibar, I., Saoudi González, N., Ros, J., Salva, F., Rodríguez-Castells, M., Alcaraz, A., García, A., Tabernero, J., & Élez, E. (2024). Current and Emerging Treatment Paradigms in Colorectal Cancer: Integrating Hallmarks of Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 6967.
<https://doi.org/10.3390/ijms25136967>
- Sharma, A., Boise, L., & Shanmugam, M. (2019). Cancer Metabolism and the Evasion of Apoptotic Cell Death. *Cancers*, 11(8), 1144.
<https://doi.org/10.3390/cancers11081144>
- Sheng, Z., Jiang, Y., Liu, J., & Yang, B. (2021). UHPLC–MS/MS Analysis on Flavonoids Composition in Astragalus membranaceus and Their Antioxidant Activity. *Antioxidants*, 10(11), 1852. <https://doi.org/10.3390/antiox10111852>
- Wang, J., Rani, N., Jakhar, S., Redhu, R., Kumar, S., Kumar, S., Kumar, S., Devi, B., Simal-Gandara, J., Shen, B., & Singla, R. K. (2023). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

- anticancer properties and phytochemicals: Current trends and future perspectives.

Frontiers in Plant Science, 14, 1236123. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1236123>

Werner, H., & LeRoith, D. (2022). Hallmarks of cancer: The insulin-like growth factors perspective. *Frontiers in Oncology*, 12, 1055589.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1055589>

Zhang, L., Zhao, Y., Dai, Y., Cheng, J.-N., Gong, Z., Feng, Y., Sun, C., Jia, Q., & Zhu, B. (2018). Immune Landscape of Colorectal Cancer Tumor Microenvironment from Different Primary Tumor Location. *Frontiers in Immunology*, 9, 1578.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01578>

ANEXOS

Anexo 1



FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Nombre del proyecto: Identificación guiada por bioactividad de compuestos presentes en *Opuntia ficus-indica* con actividad citotóxica sobre células de cáncer de colon.

Investigadores: LBG Mariana Leticia Treviño Salazar, Dra. Ana Carolina Martínez Torres, Dra. Marilena Antunes Ricardo.

Propósito

Usted ha sido invitado(a) a participar en el estudio de investigación titulado "*Identificación guiada por bioactividad de compuestos presentes en Opuntia ficus-indica con actividad citotóxica sobre células de cáncer de colon*". El propósito de este procedimiento es obtener una muestra de 10 mililitros (mL) de sangre venosa para su análisis, con el fin de evaluar los efectos de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (nopal) sobre células mononucleares de sangre periférica (PBMCs).

Procedimiento

La extracción de sangre se realizará mediante venopunción, que consiste en la inserción de una aguja estéril en una vena del brazo (región del pliegue del codo) para recolectar 10 ml de sangre en un tubo estéril. El procedimiento será llevado a cabo por personal capacitado y con las medidas de higiene y bioseguridad correspondientes.

Riesgos y molestias

La obtención de sangre mediante punción venosa es un procedimiento seguro, pero puede ocasionar algunas molestias o efectos secundarios. Entre ellos se encuentran: dolor leve o molestia en el sitio de punción, aparición de moretón (hematoma), mareo o desmayo, sangrado prolongado y, en raras ocasiones, infección en el sitio de la punción.

Beneficios

La información obtenida no necesariamente representará un beneficio directo para usted, sin embargo, su participación ayudará en la comprensión de los efectos anticancerígenos del nopal y desarrollo de tratamientos alternativos para el cáncer de colon.

Costos y compensación

Este procedimiento no tendrá ningún costo para usted. No se le pagará por participar, pero tampoco se le generarán gastos relacionados con la obtención de la muestra de sangre.

Confidencialidad

La información y los resultados derivados de esta muestra se manejarán de manera confidencial. Además, las muestras serán desechadas al finalizar el procesamiento.

Voluntariedad

Su participación es completamente voluntaria. Usted tiene derecho a negarse a participar o a retirarse del procedimiento en cualquier momento.

Consentimiento

He leído (o me han leído) la información contenida en este documento y he tenido oportunidad de hacer preguntas. Mis dudas han sido respondidas satisfactoriamente. Comprendo los riesgos, beneficios y mi derecho a retirarme en cualquier momento. **Por lo anterior, doy mi consentimiento libre y voluntario para que se me realice la obtención de una muestra de 10 mL de sangre mediante punción venosa para los fines descritos.**

Nombre del participante: _____

Fecha de nacimiento: ____ / ____ / ____

Firma: _____

Nombre del testigo: _____

Fecha de nacimiento: ____ / ____ / ____

Firma: _____

San Nicolás de los Garza, Nuevo León a ____ de _____ del 20____

Anexo 2



FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Nombre del proyecto: Identificación guiada por bioactividad de compuestos presentes en *Opuntia ficus-indica* con actividad citotóxica sobre células de cáncer de colon.

Investigadores: LBG Mariana Leticia Treviño Salazar, Dra. Ana Carolina Martínez Torres, Dra. Marilena Antunes Ricardo.

Propósito

Usted ha sido invitado(a) a participar en el estudio de investigación titulado “*Identificación guiada por bioactividad de compuestos presentes en Opuntia ficus-indica con actividad citotóxica sobre células de cáncer de colon*”. El propósito de este procedimiento es obtener una muestra de 2 mililitros (mL) de sangre venosa para su análisis, con el fin de evaluar la actividad hemolítica de fracciones de *Opuntia ficus-indica* (nopal).

Procedimiento

La extracción de sangre se realizará mediante venopunción, que consiste en la inserción de una aguja estéril en una vena del brazo (región del pliegue del codo) para recolectar 2 ml de sangre en un tubo estéril. El procedimiento será llevado a cabo por personal capacitado y con las medidas de higiene y bioseguridad correspondientes.

Riesgos y molestias

La obtención de sangre mediante punción venosa es un procedimiento seguro, pero puede ocasionar algunas molestias o efectos secundarios. Entre ellos se encuentran: dolor leve o molestia en el sitio de punción, aparición de moretón (hematoma), mareo o desmayo, sangrado prolongado y, en raras ocasiones, infección en el sitio de la punción.

Beneficios

La información obtenida no necesariamente representará un beneficio directo para usted, sin embargo, su participación ayudará en la comprensión de los efectos anticancerígenos del nopal y desarrollo de tratamientos alternativos para el cáncer de colon.

Costos y compensación

Este procedimiento no tendrá ningún costo para usted. No se le pagará por participar, pero tampoco se le generarán gastos relacionados con la obtención de la muestra de sangre.

Confidencialidad

La información y los resultados derivados de esta muestra se manejarán de manera confidencial. Además, las muestras serán desechadas al finalizar el procesamiento.

Voluntariedad

Su participación es completamente voluntaria. Usted tiene derecho a negarse a participar o a retirarse del procedimiento en cualquier momento.

Consentimiento

He leído (o me han leído) la información contenida en este documento y he tenido oportunidad de hacer preguntas. Mis dudas han sido respondidas satisfactoriamente. Comprendo los riesgos, beneficios y mi derecho a retirarme en cualquier momento. **Por lo anterior, doy mi consentimiento libre y voluntario para que se me realice la obtención de una muestra de 2 mL de sangre mediante punción venosa para los fines descritos.**

Nombre del participante: _____

Fecha de nacimiento: ____ / ____ / ____

Firma: _____

Nombre del testigo: _____

Fecha de nacimiento: ____ / ____ / ____

Firma: _____

San Nicolás de los Garza, Nuevo León a ____ de _____ del 20____