

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**Influencia de la dosis de extractos de *Phoradendron tomentosum*
y *Psitacanthus calyculatus* en el control de los niveles de glucosa
en sangre mediante bioensayo en ratas arábigas**

Por:
ANA SOFÍA SALINAS MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título profesional de:
Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Noviembre de 2015

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Influencia de la dosis de extractos de *Phoradendron tomentosum*
y *Psitacanthus calyculatus* en el control de los niveles de glucosa
en sangre mediante bioensayo en ratas arábigas**

TESIS

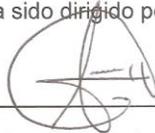
Por:

ANA SOFÍA SALINAS MARTÍNEZ

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito
Parcial para obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

El presente trabajo ha sido dirigido por el siguiente comité:



MC. Francisco Hernández Centeno

Asesor Principal

MC. María Hernández González

Coasesor

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Noviembre de 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS

DESARROLLO Y COMPARACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES
NUTRICIONALES DE LECHE VEGETALES

POR:

JOSÉ ALFREDO TREJO SOLÍS

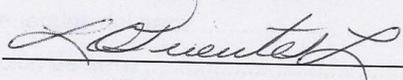
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

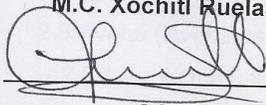
Dirigida por el siguiente comité asesor:

Lic. Laura Olivia Fuentes Lara



ASESOR PRINCIPAL

M.C. Xochitl Ruelas Chacón

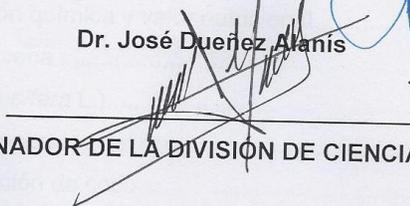


COASESOR

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

COASESOR

Dr. José Dueñez Alanís



COORDINADOR DE LA DIVISION DE CIENCIA ANIMAL



Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México

Noviembre de 2015

AGRADECIMIENTO

Agradezco primero que nada a Dios por darme la oportunidad , el tiempo, la paciencia y sobre todo la esperanza de iniciar y finalizar esta etapa de mi vida.

A mi hermosa familia que adoro, por que siempre estuvieron para apoyarme y aconsejarme y sobre todo por no perder la esperanza en mi, así como su motivación para ser mejor en todos los aspectos de mi vida y no dejarme vencer por nada ni nadie.

A mi querido novio el cual a estado a mi lado aconsejándome y realizando junto a mi las actividades que conlleva realizar este trabajó.

A mis preciosas y preciosos amigos que estuvieron cosechando junto a mi conocimientos sobre esta grata etapa; sin importar la distancia fuera de día o noche, por que gracias a ellos se pudo lograr mucho de este proyecto, sin importar la adversidad o desánimo.

Pero sobre todo a los profesores María Hernández, M.C. Mildred Flores Verástegui, Dra. Lulú Caballero, Dr. Mario Alberto a su esposa y al MC. Francisco Hernández por no perder la esperanza en mi y sobre todo en este proyecto. Por que gracias a sus conocimientos y asesoramiento se logró concretar esta hermosa investigación.

Y sin olvidar a mi Alma Terra Mater por que de no a ver estado aquí, no hubiera logrado realizar este proyecto y lo más importante a ver conocido a personas sorprendentes como las que me encontré por el paso de esta institución.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre María de los Ángeles Martínez por que me dio la fuerza para no desistir y sobretodo me enseñó que lo que uno se propone lo puede logra con esfuerzo y perseverancia. A mi padre José Cruz Salinas Álvarez por que es la persona mas trabajadora y luchona, el mejor ejemplo que tengo de que las cosas se obtienen de los esfuerzos. A mis hermanos Sandra Lorena, Carlos Ernesto y Guillermo para que pueda ser un buen ejemplo para ellos. A mi novio Mario Alberto Arellano que me a enseñado a no perder la fe en mí y que a pesar de lo bueno y malo esta a mi lado con sus consejos y su cariño.

A mis hermosas amigas Karla Valeria González Zepeda, Grace Stybalis Pino Arancibia, Olga Estefanía Neira Espericueta y Viviana Rosales Alemán por que sin ustedes no se que hubiera hecho, me ayudaron con su tiempo, sus risas sus ánimos y todo el cariño que solo ustedes pudieron darme para poder terminar este proyectó.

Sin olvidarme de mis grandiosos maestros María Hernández, Mildred Verástegui, Dr. Lulú Caballero y Francisco Hernandez, que muchos de estos conocimientos impresos y adquiridos en este proyecto son gracias a ustedes.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. Introducción	9
2. Justificación	11
3. Hipótesis	13
3.1 H ₀ :.....	13
3.2 H ₁ :.....	13
4. Objetivos.....	14
4.1 Objetivo General.....	14
4.2 Objetivos Específicos.....	14
5. Marco teórico	15
5.1 Diabetes <i>mellitus</i>	15
5.2.1 La diabetes mellitus tipo 1	22
5.2.2 La diabetes gestacional.....	22
5.2.3 Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	23
5.3. Tendencias al consumo de productos naturales.....	23
5.4. Ventajas y desventajas de productos naturales.....	26
5.5 Plantas medicinales	27
5.5.1 <i>Psittacanthus calyculatus</i>	28
5.5.2 <i>Phoradendron tomentosum</i>	31
5.5.3 Leucoantocianidinas.....	33
5.5.4 Esteroles	34
5.5.5 Glucósidos cianógenos	35

5.5.6 Flavonoides	36
5.5.7 Fenoles	40
5.6 Medicina alternativa para pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)	45
5.7 Medicamentos Hipoglucemiantes	46
5.8 Dosis “importancia”	47
5.9 Modelos de experimentación	48
6. Materiales y Métodos	54
6.1 Etapa 1. Obtención y cuantificación del extracto.	54
6.1.2 Secado	54
6.1.3 Infusión.....	56
6.1.4 Liofilización.....	56
6.1.5 Caracterización cualitativa de compuestos presentes en los extractos.....	58
6.1.6 Cuantificación y determinación de compuestos fenólicos y flavonoides ...	62
6. 2 Etapa 2 Ensayo in Vivo	68
6.2.1 Selección e inducción de diabetes tipo II	68
6.2.2 Determinación de glucosa durante el proceso de inducción a Diabetes mellitus tipo 2.	68
6.2.3 Empleo de las dosis adecuadas.....	69
7. Resultados y Discusión	70
7.1 Compuestos fitoquímicos de la infusión.....	70
7.2 Infusión después del proceso de liofilización	71
7.3 Cuantificación de compuestos fenólicos totales	71
7.4 Compuestos flavonoides totales	72

7.5 Prueba de actividad antioxidante por el método de DPPH por micro placa.....	73
7.6 Variaciones en los niveles de peso y glucosa de ratones en tratamiento con estreptozotocina.	74
7.7 Índice de glucosa después de que se les subministro extracto de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i> , por un periodo de 14 días.	75
7.8 Necropsia a ratones.....	76
8. Conclusiones.....	78
9. Bibliografía:.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Formas en que se utilizan los productos de origen natural.	24
Tabla 2. Clasificación de los principales compuestos fenólicos de origen vegetal, de acuerdo con su estructura química básica.	41
Tabla 3. Modelos experimentales para investigar diversos aspectos de la diabetes.	50
Tabla 4. Resultados de las pruebas de compuestos fitoquímicos de la infusión acuosa de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	70
Tabla 5. Resultados de la prueba de compuestos fitoquímicos de la infusión después del proceso de liofilización de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	71
Tabla 6. Resultados de las pruebas cuantitativas de los compuestos fenólicos totales de las infusiones de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i> . ..	72
Tabla 7. Resultados de las pruebas cuantitativas de los compuestos de flavonoides totales de los extractos de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	73
Tabla 8. Resultados de las pruebas de actividad antioxidante por el método de DPPH por microplaca a 30 ppm de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	73
Tabla 9. Niveles de glucosa en sangre y valores de peso en gramos durante el tratamiento con estreptozotocina en ratones.	74
Tabla 10. Niveles de glucosa con cada uno de los tratamientos.	75
Tabla 11. Daños físicos y daños internos en ratones.	77

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Compuestos identificados en la fracción MeOH-soluble del extracto acuoso de una muestra de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	30
Imagen 2. Estructura de leucoantocianidinas.....	33
Imagen 3. Estructura química de los principales esteroides	34
Imagen 4. Estructura de un glucósido cianogénicos.....	35
Imagen 5. Estructura básica de flavonoides.....	37
Imagen 6. Clasificación de acuerdo a la estructura central C3.....	38
Imagen 7. Muestra de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	54
Imagen 8. Muestra de <i>Phoradendron tomentosum</i>	54
Imagen 9. Muestras de <i>Psittacanthus calyculatus</i> en charolas de papel secante, para someterla al proceso de secado.....	55
Imagen 10. Horno de secado marca Novatech	55
Imagen 11. Molino marca Thomas Scientific, modelo 3383-L 10	55
Imagen 12. Costales de tela muselina	56
Imagen 13. Infusión acuosa.....	56
Imagen 14. Vasos de precipitado del equipo de liofilización, con frascos de plástico con muestra congelada a -80°C.....	57
Imagen 15. Equipo de liofilización de la marca LABCONCO, modelo FreeZone 2.5 plus.....	57
Imagen 16. Muestra triturada en capsula de porcelana después del proceso de liofilización.....	58
Imagen 17. Reacción colorida de fenoles.....	59

Imagen 18. Reacción colorida para flavonoides	59
Imagen 19. Reacciones colorida de Leucoantocianidinas.....	60
Imagen 20. Reacción colorida de glucósidos cianogénicos.....	61
Imagen 21. Reacción colorida de esteroides.....	62
Imagen 22. Prueba de cuantificación de compuestos fenólicos.....	63
Imagen 23. Espectrofotómetro de la marca VELAB, modelo VE 5600UV.....	63
Imagen 24. Cuantificación de compuestos flavonoides.....	64
Imagen 25. Espectro DPPH del Software Gen 5.....	66
Imagen 26. Niveles de glucosa con cada uno de los tratamientos.	76

Correo electrónico; Salinas Martínez, Ana Sofía, anso_21@hotmail.com

Resumen

Con fundamento en investigaciones anteriores sobre el poder reductor que pueden tener *Phoradendron Tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus* en los niveles de azúcar en sangre de sujetos de investigación, como se ha hecho en ratas que presentan diabetes tipo II. En la presente investigación se utilizó un modelo experimental con ratas arábicas con peso promedio de 25 g, a las cuales se les indujo diabetes mellitus tipo II administrándoles estreptozotocina a una concentración de 35mg/kg de peso corporal. Una vez comprobado que presentan un cuadro diabético, se les suministraron vía oral extractos acuosos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*, que fueron previamente extraídos mediante infusión y secados por liofilización para preservar de mejor manera a los compuestos de interés (antioxidantes). La administración del extracto se realizó en bebederos por separado, para los cuales fueron cuantificadas las cantidades de fenoles y polifenoles totales para cada caso. El tratamiento de monitoreo del consumo de los extractos fue de 14 días, una vez concluido el ensayo se prosiguió a cuantificar los niveles de glucosa en sangre y a realizar necropsias en los especímenes de investigación. De donde se pudo apreciar después de la liofilización que tanto las muestras de *Psittacanthus calyculatus*, como de *Phoradendron tomentosum* dieron positivas para la presencia de flavonoides, esteroides, leucoantocianidinas y fenoles.

Se cuantificó la presencia de fenoles en los extractos liofilizados y re suspendidos de *Psittacanthus* y *Phoradendron* teniendo 1.40 y 1.20 mg/ml respectivamente. El

contenido de leucoantocianidinas fue de 0.19 y 1.2 mg/ml para cada una de las muestras en el orden antes citado.

Otro parámetro a evaluar fue la capacidad antioxidante encontrándose eficiencias del 87.34 para el extracto de *Psittacanthus* y de 86.22% para *Phoradendrom*.

En lo relativo al bioensayo, la administración de estreptozotocina indujo la diabetes en ratones sanos, teniendo que las hembras a los 10 días, incrementaron sus niveles de glucosa hasta 180 mg/dl y hasta 203 mg/dl a los 20 días. Por otro lado su peso corporal incrementó en un 6% promedio.

Los machos incrementaron a niveles de 185 mg/dl de glucosa a los 10 días de tratamiento y hasta 215 mg/dl a los 20 días. En lo referente al peso corporal a los 10 días experimentaron una baja del 5% y un incremento del 9% para el día 20.

Después de suministrar a los ratones diabéticos con el extracto a una concentración equivalente a 1mg/kg de peso por día se apreciaron decrementos de 195 a 160 mg/dl a los 9 días de tratamiento y hasta 126 mg/dl a los 14 días en el caso de las hembras; y para los machos decrementos de 200 a 139 mg/dl y hasta 101 mg/dl para los 9 y 14 días después del tratamiento. Los individuos no tratados mantiene los índices de glucosa altos registrando, 190 mg/dl al inicio del ensayo 198 y 208 mg/dl para el día 9 y 14 respectivamente.

En cuanto a los daños presentados por los animales después de la administración de estreptozotocina, y con un suministro de extractos seis veces mayor al indicado se evidenciaron daños físicos como envejecimiento, ceguera en algunos casos, pérdida de pelo, decaimiento y desequilibrio; así como daños internos evidenciados en la autopsia como son: corazón dañado, tumores en páncreas, daños a nivel de aparato digestivo y coloración anormal de la sangre (coloración oscura).

Palabras claves: *Phoradendron tomentosum*, *Psittacanthus calyculatus*, diabetes, bio-ensayo, polifenoles, hiperglucemia.

1. Introducción

Se ha hablado mucho sobre el gran problema de salud que representa la diabetes *mellitus* tipo II en estos tiempos, pues a pesar de que la información que se puede encontrar en diversos medios ha ido en incremento, no solo ha afectado los bolsillos de los que la padecen, sino el de toda la población, ya que es muy grande la inversión que hacen los sistemas de salud públicos para cumplir con las demandas que los pacientes requieren.

Pero, ¿En que consiste la diabetes tipo II? Como respuesta a dicha interrogante, se trata de una afección propia de personas no-insulinodependientes, para lo cual el organismo de dichas personas sufre un forcejeo entre la resistencia de los tejidos a la acción de la insulina y la secreción insular pancreática, instalándose finalmente el fracaso de las células beta. Esta condición es en la que las estadísticas reportan más pacientes, ya que depende mucho del nivel de vida que se lleva, como lo es la actividad física y lo que se refiere a alimentación. El gran consumo de productos azucarados y grasos, que aunados a una vida sedentaria, son excelentes factores para propiciar esta enfermedad.

Una vez que los pacientes son informados de su condición sobre el daño que ya presentan gracias a esta afectación, tienden a tomar dos caminos: uno de ellos es el de cambiar por completo su estilo de vida y el otro el de seguir como si no hubiera de qué preocuparse y seguir con su vida tal como está, sin llegar a ver las consecuencias a futuro que este padecimiento conlleva (ceguera, amputaciones,

ataques al corazón, comas diabéticos, diálisis, daño en páncreas, daño en riñones etc.).

Cuando una persona desea cambiar su estilo de vida para hacer llevadera esta enfermedad busca la ayuda de personal capacitado, como lo son médicos que brindan a los pacientes dietas adecuadas para que sus niveles de azúcar no se eleven y causen daños; pero en ocasiones también recurren a productos de origen natural, como lo son las plantas.

Se cree que por su origen “natural” de ellas no habrá consecuencias al consumirlos en cantidades elevadas, pero es un error, porque muchas de las plantas no sólo cuentan con sustancias que benefician al organismo, sino que también contienen sustancias tóxicas que, más que brindar un beneficio, pueden provocar una afectación más grave. De ahí la necesidad de hacer estudios que brinden datos más reales en cuanto a su beneficio o nivel de daño que estos compuestos puedan causar para, de esta manera, poder ayudar a la formulación de mejores suplementos para hacer llevadera esta afección que causa miles de muertes en todo el mundo.

2. Justificación

A últimas fechas el estudio de la diabetes *mellitus* (DM) ha cobrado gran interés debido a la necesidad de buscar alternativas complementarias para su tratamiento. La presente investigación se orientó hacia la colaboración en el control de dicha afección.

La DM es un síndrome relacionado con el funcionamiento de la hormona insulina, (Hernández Rodríguez, Sastres Gallego and Hernández Rodríguez 1999) descubierta por los científicos Frederick Grant Banting y Charles Herbert Best en 1922, cuya principal función es encargarse de estimular la captación, utilización y almacenamiento de la glucosa (Mendoza Patiño, 2008) que se adquiere diariamente en los alimentos que se consumen para que pueda ser utilizada adecuadamente por las células del organismo como la principal fuente de energía para el cerebro, glóbulos rojos, sistema nervioso, feto y placenta (Velásquez Uribe, 2006). Esta enfermedad se clasifica en diferentes tipos: *diabetes mellitus* tipo 1 (DM1), *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) y diabetes gestacional.

Valores de la Organización Mundial de la Salud (2010) muestran altas cifras de personas que padecen algunos de los tipos de *diabetes mellitus*, y cita que en el mundo hay más de 347 millones de diabéticos. En 2004 fallecieron alrededor de 3.4 millones de personas a consecuencia de los niveles altos de azúcar en sangre, pero se espera que las muertes por diabetes se dupliquen para 2030. También es importante recalcar que el 80% de las muertes ocurren en países de ingresos medios y bajos (Organización Mundial de la Salud, 2010), mientras que en México la prevalencia nacional es de 14.3% en la población de 20 a 69 años, alrededor de 9 millones de personas presentan un cuadro de diabetes (ENSANUT 2006). Uno de los

puntos más importantes es que es la primera causa de muerte, de ceguera adquirida y de amputaciones no traumáticas. En cuanto a lo económico, es la principal causa que demanda consulta externa y hospitalización, y la atención de las complicaciones consume el 20% de los recursos de las instituciones de salud pública (Asociación Mexicana de Diabetes, 2005).

De ahí la importancia de encontrar complementos para su tratamiento, pues hoy en día hay una gran cantidad de medicamentos que presentan múltiples contraindicaciones, por lo que los pacientes prefieren no consumirlos. Como consecuencia de esto recurren a diversos productos de origen natural, mismos que dicen ser milagrosos por su origen, aparte de que la mercadotecnia bombardea a los pacientes con una gran cantidad de propaganda de productos que “presumen” grandes beneficios, sin mencionar los posibles efectos toxicológicos intrínsecos y dejando de lado el establecimiento de dosis adecuadas para las necesidades de cada persona (Fernández, 2000); mientras que los acontecimientos adversos que provoca el no establecer una dosis adecuada en medicamentos “ya sea de origen natural o alópata” ha llegado a ser un problema de salud pública (Otero López, Martín Muñoz, Santos Ramos, Pulgventós Latorre, & Delgado Sánchez, 2003).

Debido a que los productos naturales son más asimilables por el organismo que los medicamentos químicos y que no requieren de receta médica para el consumo, la gente cae en el abuso del consumo de estos productos. Pero es muy importante mencionar que los medicamentos químicos se pueden complementar con productos de origen natural siempre y cuando se esté bajo vigilancia médica afin evitar efectos adversos (Fernández, 2000).

3. Hipótesis

3.1 H₀:

La dosis administrada de los principios activos presentes en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* tiene un efecto determinante para el control de los niveles de glucosa en sangre de ratones diabéticos, así como indeseables en su ingesta excesiva.

3.2 H₁:

La dosis administrada de los principios activos presentes en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* no tiene un efecto determinante para el control de los niveles de glucosa en sangre de ratones diabéticos, ni presencia de efectos indeseables en su ingesta excesiva.

4 Objetivos

4.1 Objetivo General

Determinar la dosis de los principios activos del extracto acuoso de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para reducir los niveles en sangre en ratones diabéticos.

4.2 Objetivos Específicos

- Extraer en medio acuoso los compuestos de interés.
- Cuantificar los principios activos presentes en *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.
- Inducir diabetes en ratas arábicas sanas mediante suplementación con estreptozotocina.
- Monitorear el índice de glucosa en sangre de ratones suplementados.
- Observar el posible daño ocasionado en ratones diabéticos al recibir dosis altas de los extractos obtenidos.

5 Marco teórico

5.1 Diabetes *mellitus*

La diabetes *mellitus* (DM) es un síndrome “o conjunto de síndromes crónicos” provocado por la poca o nula producción de insulina que se origina en el páncreas (Hernández Rodríguez, Sastres Gallego and Hernández Rodríguez 1999) acompañada de alteraciones en el metabolismo de carbohidratos (azúcar y almidón), lípidos y proteínas (Mataix Verdú, 2013).

La insulina es una hormona reguladora que se origina en los islotes pancreáticos, o de Langerhans, la cual tiene dos importantes funciones: la primera es la de mantener en equilibrio los niveles de glucosa en sangre (glicemia) (Montalvo Arenas, 2010), esto se debe a que tiene unos receptores que hacen que la glucosa se adhiera a ella y de esta manera permitir que las moléculas de glucosa puedan entrar al páncreas, a las células grasas y a las células musculares, para que estas puedan adquirir su principal fuente de energía (D. Young, Dr.Metzger, & Professor of Medicine, 1999); y la segunda “que no se toma mucho en cuenta” es la regulación en el metabolismo del tejido adiposo, el que ayuda a estimular la transformación de la glucosa en triacilgliceroles en los adipocitos y así almacenarlos en la gran gota de grasa (Montalvo Arenas, 2010).

Derivado de lo anterior se describe sintomatología para los diferentes tipos de diabetes: complicaciones metabólicas agudas y crónicas, algunos ejemplos de ello: neuropatía y microangiopatía de la retina y del riñón que están en estrecha relación con el tiempo de evolución y el control metabólico de la enfermedad (Hernández Rodríguez, Sastres Gallego and Hernández Rodríguez 1999).

Hablando como fenómeno metabólico, la diabetes se comporta de dos diferentes maneras para cada tipo de síndrome: DM1 y DM2.

Metabólicamente la DM1 es una alteración precoz, la cual se detecta en una fase de pre-diabetes; esto se presenta a causa de una alteración en la secreción anticipada de insulina ante un exceso de glucosa a nivel intravenoso. Cuando esto ocurre y los valores son sometidos a un proceso estadístico y se arrojan resultados por debajo de 2 desviaciones estándar, se podría decir que “con un 80% de certeza” se está observando un caso de DM1.

Aparte de la predisposición genética, hay otros factores que afectan la incidencia de la DM y estos son los ambientales, mismos que alteran en mayor o menor medida la resistencia a la insulina y a la disfunción de las células beta, dando como resultado la prediabetes y diabetes franca. Pero para poder entender mejor la sintomatología de la DM2 es indispensable poder identificar lo que pasa también con el metabolismo de los hidratos de carbono antes y después del ayuno, en la homeostasis de la glucemia. La hidrólisis de los hidratos de carbono en el tracto intestinal permite el paso de la glucosa desde la luz del intestino al torrente sanguíneo. Los valores de glucemia son un potente estímulo para la secreción de insulina, cuya acción permite la captación de glucosa por los tejidos periféricos, principalmente el músculo, el hígado y el tejido adiposo. En el hígado, el efecto de la insulina se traduce en la síntesis de glucógeno (neoglucogénesis).

Durante los periodos de ayuno las necesidades de glucosa no pueden ser cubiertas a partir de la vía exógena. En consecuencia, y ante los valores circulantes bajos de insulina, se produce la glucogenólisis hepática y la neoglucogénesis a partir de las proteínas y de los ácidos grasos.

Estos fenómenos son de gran trascendencia desde el punto de vista práctico para el tratamiento del paciente diabético, ya que los valores basales de glucemia dependen fundamentalmente de la síntesis hepática y no de fuentes exógenas.

Respecto a uno de los mecanismos de importancia de DM2 se encuentra el de la disfunción de la célula beta pancreática, la cual comprende una disminución de los islotes de las células beta pancreáticas que antecede con el tiempo al desarrollo de la diabetes clínicamente manifestada, por lo que, hasta que la masa de células beta no disminuya por debajo de 50%, no se altera la glucemia basal.

Las causas de la reducción de la masa de células beta no son bien conocidas. Se ha señalado la presencia de un estado de apoptosis acelerada que podría, al menos de forma parcial, estar determinada genéticamente.

Se ha comprobado que la regeneración de células beta no es mayor en los pacientes diabéticos respecto a los no diabéticos, de modo que se establecería un desequilibrio entre destrucción y regeneración que podría conducir al desarrollo de la diabetes.

Se han involucrado también factores ambientales como responsables de este desequilibrio entre apoptosis y regeneración.

La evolución natural de la DM empieza cuando la pérdida de las células beta secretoras de insulina comienza unos 10 años antes de que la enfermedad sea clínicamente manifestada por el paciente.

El deterioro en las células beta no es muy significativo para el desarrollo de la DM2, por lo que se han descrito otras alteraciones cualitativas para la función de las dichas células. En la DM2 los niveles de proinsulina son anormalmente elevados como consecuencia de una disfunción intrínseca, debido a la excesiva secreción de gránulos inmaduros ricos en proinsulina como respuesta a la hiperglucemia. También

la alteración de la secreción basal pulsátil de insulina es una respuesta inadecuada para la secreción de esta hormona ante los diferentes estímulos, esto es, un déficit en la conversión de proinsulina en insulina y anomalías en la biosíntesis de esta última.

La resistencia insulínica (RI) es otro factor importante para la aparición de DM2, esto se refiere al mantenimiento que debe de haber en el proceso de homeostasis de la glucosa ligada con la correcta función secretora de insulina y de la capacidad de captarse en los tejidos periféricos, por lo que cabe mencionar que la hiperinsulinemia conlleva a la hiperglucemia y esta a la diabetes, pero la RI y la hiperinsulinemia está también relacionada desde que empieza el proceso metabólico normal de hidratos de carbono en la etapa de prediabetes y posteriormente en la diabetes .

La RI es un déficit de la acción de la insulina en tejidos periféricos aunque haya una gran cantidad en sangre (hiperinsulinemia). Las normalidades de la RI son identificadas a nivel pos-receptor, por lo que en el ayuno este déficit de insulina estimula la síntesis hepática de glucosa, que es la causa de hiperglucemia en ayunas. La hiperglucemia que se origina es un potente precursor para las células beta, ocasionando una segregación mayor de insulina; por lo tanto, dará origen a un cuadro de hiperglucemia e hiperinsulinemia.

En la etapa post-absortiva, la carga exógena de glucosa no se absorbe adecuadamente por los tejidos adiposo y muscular, y el principal mecanismo de la hiperglucemia es postprandial. Esto produce un estímulo en la liberación y síntesis de la glucosa a partir de la glucogenólisis y la neoglucogénesis y en la secreción pancreática de insulina, por lo que el hiperinsulinismo produce efectos tóxicos como

hipertensión, liberación de ácido γ -linoleico (AGL) y lesión endotelial, todos factores que llevan a la aterosclerosis.

La relación que hay entre la disfunción de las células beta y la resistencia insulínica que provocan la patogenia de la DM2 no se conoce exactamente.

La etapa inicial del déficit de células betas corresponde a la respuesta secretora de insulina, originando una estimulación en la producción hepática de glucosa, lo que da como resultado un déficit de captación de glucosa por tejidos periféricos. Como respuesta a esta hiperglucemia, habrá un estímulo tardío en la secreción de insulina, dando origen a una hiperinsulinemia compensadora. Esta hiperinsulinemia potenciará la resistencia insulínica que dependerá del mecanismo del receptor. Con el deterioro paulatino de las células beta, la hiperinsulinemia no se compensará y dará origen a una hiperglucemia en ayunas.

Las células beta fracasan cuando, en primera instancia, se tiene una RI y/o una menor sensibilidad hepática y periférica. Esto provoca una producción hepática de glucosa y una disminución de la captura de glucosa en músculo y tejido graso, lo que a su vez estimula una secreción de insulina. Esto es debido a que “si este mecanismo se hace constante” el cuerpo no cubrirá las necesidades de insulina, dando como resultado una hiperglucemia, convirtiéndose en un potenciador de la RI. En cuanto al papel del adipocito en la resistencia insulínica, la RI se relaciona directamente con el tejido adiposo y principalmente con la acumulación que se origina abdominalmente o a nivel centripeto.

Al haber un aumento en la grasa abdominal, se puede hacer una correlación de que el número y tamaño de adipocitos también aumentó ya, que van de la mano. Todo esto dependerá del equilibrio de la proliferación, la diferenciación y la apoptosis.

Para que un adipocito llegue a su madurez requiere de insulina y los glucocorticoides, las cuales actúan sobre los receptores PPAR- γ , “que se encarga de diferenciar la célula”, y el segundo receptor C/EBP- α , el cual se encarga de transformar un adipocito maduro en insulina.

Basado en lo anterior existe la teoría de que la RI se origina en el tejido adiposo, esto quiere decir que la insulina inhibe la lipólisis en el tejido adiposo y por consecuencia la insulina estimula la lipólisis y habrá un aumento de AGL (ácidos grasos libres). El aumento de los AGL reducirá la sensibilidad de la insulina en el hígado y tejido muscular, dando como resultado una hiperglucemia. Pero no solo esto ocasiona, sino que también estimulan la neoglucogénesis e inhiben el catabolismo de la insulina, mecanismos que provocan hiperglucemia, hiperinsulinemia y dislipemia.

Los adipocitos también alteran la RI vía endócrina, ya que tiene una intensa actividad de secreción en moléculas biológicamente activas como la leptina, la cual se encarga de regular la ingesta alimentaria y la RI en tejido muscular; mientras que la resistina se opone al mecanismo de la insulina y la cual se ve en aumento en personas obesas. Otra molécula activa es la adiponectina, que está en menor cantidad en personas obesas y que se encarga de reducir la RI por la oxidación de los AGL (Calderón Montero, 2007).

Considerando todo lo anterior, se puede concluir que el exceso de grasa abdominal ejerce el papel central de la génesis y la permanencia de la RI, la cual se puede provocar por vía metabólica o endocrina de los adipocitos (Calderón Montero, 2007).

La ingesta de productos hipercalóricos como alimentos ricos en grasas y dulces combinados con un estilo sedentario y rápido de vida, son factores que en nuestros tiempos han ayudado al incremento de enfermedades relacionadas con el sobrepeso, por lo que la mortalidad también ha ido en aumento.

Se espera que para 2030 el aumento de las siguientes enfermedades tenga esta relación: obesidad-36%, hipertensión-28% y diabetes-19%. La FID (Federación Internacional de la Diabetes) en 2010 proporcionó datos que indican que había 285 millones de diabéticos en el mundo, 317 millones en el 2012 y los valores para el 2030 no son nada alentadores, ya que se espera que en el mundo haya alrededor de 439 millones de diabéticos. Estos valores no son homogéneos debido a que hay países en los cuales este síndrome es un problema de salud pública que ha ocasionado que la inversión en salud sea muy costosa, mientras que en otros países la diabetes es inexistente.

México es uno de los países con mayor incidencia en pacientes diabéticos, en 2012 ocupaba el 6º lugar a nivel mundial con 10.6 millones de diabéticos. Los casos de este síndrome se duplicaron en tan solo 12 años. La ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) reportó una prevalencia de 5.8%, en 2006 7.5% y para 2012 9.2% en personas mayores a 20 años de edad. Estos valores son de gran importancia y alerta debido a que la mayor mortalidad, en comparación con enfermedades infecciosas, se da en pacientes diabéticos. Los valores son preocupantes porque un poco más del 50% de población adulta y un 35% de la población infantil son obesos o tienen sobre peso. Se podría concluir que aproximadamente el 85% de la población corre el riesgo de padecer diabetes y/o

hipertensión en los próximos 5 o 10 años (Segura-Campos, Chel Guerrero, & Betancur Ancona, 2013).

5.2 Tipos de diabetes

Existen 3 tipos: la diabetes *mellitus* tipo 1, diabetes gestacional y la diabetes *mellitus* tipo 2.

5.2.1 La diabetes mellitus tipo 1

La sufren personas insulino dependientes, ésta se debe a que las células beta no producen insulina. En esta afectación se deben considerar las complicaciones: neuropatías y microangiopatías de la retina y del riñón que se relacionan con el tiempo de evolución y el control metabólico.

5.2.2 La diabetes gestacional

Esta se ocasiona en mujeres que pasan por la etapa de embarazo; esto tiene ocasión a las 24 semanas y puede presentarse en mujeres que nunca han padecido diabetes, pero al elevarse los niveles de glucosa en sangre durante el embarazo o el parto se origina debido a que el cuerpo produce una gran cantidad de hormonas para el desarrollo del bebe, causando que la insulina no trabaje de manera correcta en el organismo, lo que provoca una resistencia al efecto de esta hormona. Este síndrome puede desvanecerse después del parto o se puede quedar en la paciente como una intolerancia a la glucosa, conocida como diabetes clínica (Anónimo, 2007).

5.2.3 Diabetes *mellitus* tipo 2

Son personas no-insulinodependientes, es un forcejeo entre las resistencias de los tejidos a la acción de la insulina y la secreción insular pancreática, instalándose finalmente el fracaso de las células beta. Este tipo de diabetes es el más común ya que ha ido en mayor aumento debido al estilo de vida que se lleva y al aumento de diagnósticos a tiempo debido a que los índices de vida media se han incrementado; pero no solo esto ha aumentado, sino también la mortalidad debido a esta afectación. Para 2010 se esperaba que hubiera alrededor de 230 millones de pacientes de este tipo de diabetes, por lo que cambia el concepto de este síndrome, debido a que hay varios factores como lo son: genotipo, fenotipo y etiológico. Esto ocasiona complicaciones metabólicas agudas y crónicas como control estricto de glucemia, obesidad, hipertensión arterial, dislipenia y supresión de factores como el tabaco. En cuanto a los efectos macrovasculares pueden originarse cardiopatía isquémica y enfermedades cerebrovasculares, las cuales provocan la mayoría de las muertes en estos pacientes (Hernández Rodríguez, Sastres Gallego and Hernández Rodríguez 1999).

5.3. Tendencias al consumo de productos naturales

En la actualidad siguen apareciendo tratados sobre medicina natural dando esperanza y despertando curiosidad en las personas por un enfoque natural en su salud y al tratamiento de enfermedades (B. Oberg, y otros, 2012) y la mercadotecnia realza la importancia de productos de origen vegetal y lo maravilloso que estos pueden ser para las necesidades de las persona. Estos productos se han

considerado como la primera elección ante las enfermedades debido a su origen, ya que se encuentran perfectamente incorporados en la biosfera, como nosotros. Todos los seres vivos estamos integrados en una unidad vital y compuestos de otros complejos similares.

La semejanza que tienen los productos naturales con el ser humano hace pensar que no haya contraindicaciones, en comparación con los productos farmacéuticos que al reverso de su empaque indican una gran cantidad de contraindicaciones. Los productos naturales van desde infusiones, aceites esenciales, las tinturas, etc. Estas presentaciones se realizan de diferentes formas, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Formas en que se utilizan los productos de origen natural.

Infusión	Son mezclas simples o compuestas, se debe eliminar el polvo que se produce al fragmentar las plantas. La relación que se utiliza para la elaboración de la infusión es de 1 cucharada por 200 ml de H₂O. Una vez triturada se añade la semilla y el fruto, si se indica. Las mezclas se deben de guardar en tarros bien cerrados y protegidos de luz.
Extractos	Se debe de empezar con una maceración que se puede hacer en agua, alcohol o vino a temperatura ambiente, mientras que el tiempo dependerá de la sustancias de interés como por ejemplo: Los mucilagos media hora Las aromáticas de 2 a 12 horas si es en agua no se debe de prolongar mucho el tiempo, podría haber presencia de moho. Se preparan con una parte de la planta y de 20 de agua, pueden ser fluidos o secos. Percolación: extracción a temperatura ambiente en la cual se utiliza un liquido que circule entre la planta para así arrastrar sustancias tóxicas.

	Digestión: la muestra se somete a temperaturas alrededor de 50°C por un periodo de media o 24 horas, con movimientos constantes. Esto se realiza para sustancias poco solubles.
Infusión	Es cuando las partes de interés de la planta se sumergen en agua hirviendo, dejándola reposar por un periodo de tiempo de 15 minutos, para así poder filtrar.
Decocción	Es semejante a la infusión pero en este caso la planta se sumerge en agua hasta que hierva por 15 minutos aproximadamente y se debe de consumir por un periodo no más largo de tres días, y esta no se puede almacenar.
Tinturas	Es el método de extracción para principios activos de la planta pero utilizando alcohol etílico o etanol (alcohol producido por la destilación del vino) con una graduación de 95° que se diluya en agua según el tipo de tintura (normalmente sobre un 50%).
Vinagres aromáticos	Extracción a base de alcohol y vinagre.
Tisanas	Maceración en agua fría por 12 horas, esto es en plantas ricas en mucílagos y aceites volátiles.
Vahos	Después de ebullición de la hierba en agua colocando la cabeza en el recipiente y tapándola para inspirar los vapores por 10 minutos. (Fernández, 2000)
Baños	Se hacen las plantas en forma de decocción en abundante agua, filtrándolo y añadiéndolo en la ducha.
Aplicaciones	Se lavan las plantas y se colocan por 15 minutos.
Emplastos	Se aplican sobre la piel, adhiriéndose sin fundirse, se deben aplicar siempre al principio en caliente.
Ungüentos	Es una droga en un soporte graso que se diluye al entrar en contacto con el cuerpo, esto se hace hirviendo la planta en vaselina o cualquier sustancia grasa.

Polvos	Se seca la planta a temperaturas controladas hasta dejarla como polvo, de este forma se obtienen los componentes una vez ingeridos.
Jarabes (siropes)	Solución de extractos de droga con azúcar utilizada en expectorantes.
Aguas aromáticas	Es la solución saturada de aceites esenciales generalmente se utiliza alcohol.
Vinos medicinales	Son soluciones de drogas en aceite vegetal.
Vinos medicinales	Son soluciones de drogas en aceite vegetal.

(Fernández, 2000)

Las sustancias activas que los hacen interesantes son aquellas que se encuentran ligadas a productos naturales como lo son las plantas, por lo que se hace más asimilable y accesible el consumo de este tipo de sustancias por el hombre. Se pueden encontrar una gran variedad de plantas en el entorno en el que vivimos, lo que hace fácil su localización (Fernández, 2000).

5.4. Ventajas y desventajas de productos naturales

En cuanto a las ventajas que presentan, cabe mencionar una gran cantidad de estas atribuciones, algunas de ellas es que al consumir productos de origen natural el organismo puede beneficiarse con efectos anti-inflamatorios, antioxidantes, anti-

mutagénicos y anti-cancerígenos; también de suma importancia es la biodisponibilidad que llegan a tener (Sumit, Navneet, Pooja, & Shivani, 2011). La mayoría de los medicamentos de origen natural son más asimilables y rápidos de desechar (Sánchez Ortiz, 2013).

Se podría creer que este tipo de producto no presentan desventajas, pero podría ser todo lo contrario debido a que no hay suficientes estudios sobre el mecanismo de acción de algunos productos naturales (dosis) y a que las personas las consumen indiscriminadamente (Sumit, Navneet, Pooja, & Shivani, 2011). Otra afectación es la eficacia en comparación a un medicamento alopático si se llegase a presentar alguna emergencia médica o un síntoma grave que requiera atención rápida. Su efecto es lento, normalmente la dosis que se emplea son por ensayo-error, lo que pudiera alterar el resultado de los medicamentos alopáticos si en determinado caso se llegaran a mezclar. Estos productos son adquiridos por las personas con sus propios recursos, ya que el seguro social no los cubre (Sánchez Ortiz, 2013).

5.5 Plantas medicinales

Las plantas pueden tener atributos terapéuticos similares que pueden ayudar a aliviar desde un malestar estomacal hasta algún tipo de cáncer (Fernández, 2000). Un ejemplo de esto es que al consumir una cucharada de canela ayudará a reducir los niveles de azúcar en sangre en un paciente diabético de tipo 2 (B. Oberg, y otros, 2012), pero no se debe caer en el consumo indiscriminado solo por ser derivados de origen natural, mucho menos abandonar los medicamentos habituales (químicos). Todo esto debe ser vigilado por un médico, para que de esta manera se puedan

complementar los productos de origen natural con los fármacos, a fin de obtener un mejor resultado y beneficio (Fernández, 2000). Algunos estudios han demostrado los beneficios que podrían aportar dos diferentes plantas a personas que padecen diabetes tipo 2, a estas dos se les conocen por los nombres de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

5.5.1 *Psittacanthus calyculatus*

Se ha demostrado que la actividad de la α -amilasa (HPA) del páncreas humano en el intestino delgado se correlaciona con un aumento en los niveles de glucosa postprandial, cuyo control es un aspecto importante en el tratamiento de la diabetes. Inhibidores pancreáticos de la α -amilasa ofrecen una estrategia eficaz para reducir los niveles de hiperglucemia prandial a través del control de la ruptura del almidón. El análisis de 91 extractos mostró que 10 plantas presentaban fuerte potencial inhibidor de la amilasa pancreática humana (HPA). El análisis fitoquímico reveló la presencia de alcaloides, proteínas, taninos, glucósidos cardíacos, flavonoides, saponinas y esteroides como compuestos inhibidores probables.

Barbosa-Filho et al (2005) menciona a *Psittacanthus calyculatus* dentro de una lista de plantas con actividad hipoglucemiante con estudios realizados por Pérez et al (1984), utilizando el extracto acuoso de sus flores y aplicándolos en ratones.

Estudios realizados en la Facultad de Química de la Universidad de Querétaro demostraron que *Psittacanthus calyculatus* contiene metabolitos secundarios que promueven la relajación vascular y las actividades antioxidantes. Como era de

esperar, su efecto antioxidante mostró una correlación significativa con el contenido de polifenoles.

Beltrán M. (2009) evaluó extracto acuoso obtenido de *P. calyculatus* concluyendo que contiene principios activos capaces de interaccionar con receptores o canales iónicos membranales, induciendo la liberación de factores vaso relajantes derivados del endotelio. La inhibición de la actividad de la proteína GCs por ODQ indicó que el efecto producido por los compuestos presentes en *P. calyculatus* esta mediada por una activación de la vía del NO/GMPc (óxido nítrico/GMP cíclico). Estos resultados apoyan el uso de la planta en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como la hipertensión, la aterosclerosis o la angina de pecho.

Un estudio fitoquímico realizado por Bah M. et al (2011) en una fracción metanol soluble de un extracto acuoso de una muestra de *Psittacanthus calyculatus* colectado de la planta hospedera *Prosopis laevigata*, utilizando diferentes técnicas, incluyendo co-cromatografía acoplada con detección de UV, purificaciones, cromatografías en infrarrojo, NMR (resonancia magnética nuclear) y estudios de espectrometría de masas (SM) resultaron en la identificación de ácido gálico, 2 favonol-3-biosidos, y el aminoácido nanoproteína N-methyl-trans-4-dihidroxy-L-proline.

En la imagen 1 se muestra la estructura del ácido gálico (1), la estructura química de la catequina (2), la estructura del compuesto aislado *trans 4-hydroxy-N-metilprolina* (3), aparecen los dos principales glucósidos flavonoles isorhamentin 3-O-β-D-xilopiranosil (1→6)-β-D-glucopiranosido (4) y quercetina-3-O-β-D-xilopiranosil (1→6)-β-D-glucopiranosido (5), los cuales también se purificaron a partir de otra porción de la fracción de metanol, utilizando CC Si-gel seguida por HPLC de fase inversa. Las

estructuras de estos tres últimos compuestos se determinaron mediante estudios espectroscópicos.

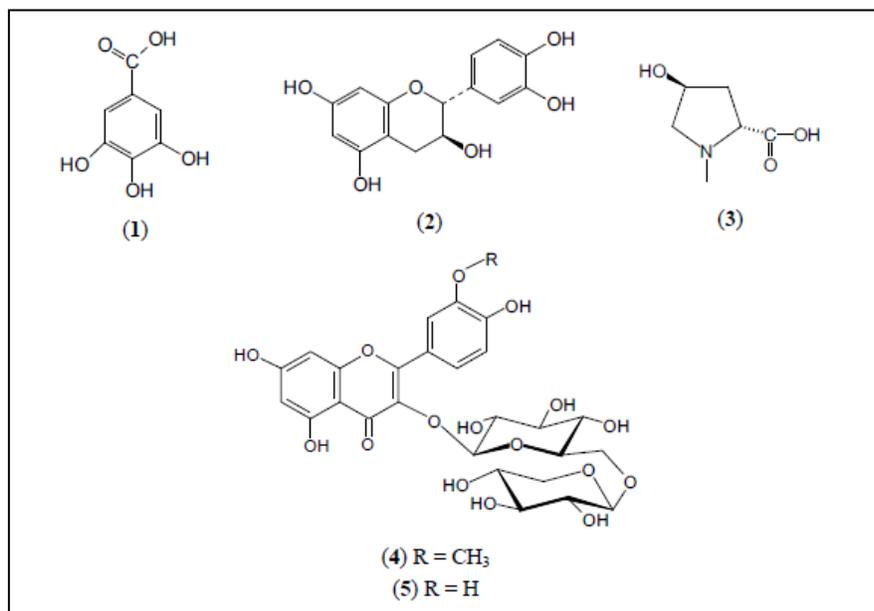


Imagen 1. Compuestos identificados en la fracción MeOH-soluble del extracto acuoso de una muestra de *Psittacanthus calyculatus* (Bah M. et al,2011)

El género *Psittacanthus* contiene arbustos parásitos de árboles y arbustos, erectos, crecen sobre ramas de dicotiledóneas, de 1 a 2 m de longitud, tiene tallos cilíndricos o cuadrangulares, quebradizos. Posee hojas grandes, verdes y bien desarrolladas, opuestas, alargadas, pinnatinervas, con el ápice obtuso o agudo, persistentes, carnosas, de formas cordada, obovada o lanceolada de 8 cm de largo y 3.5 cm de ancho. Tiene flores hermafroditas tubulares, de 3 a 8 cm de longitud, amarillas o anaranjadas y perianto glabro; estambres en igual número a los lóbulos del perianto glabro; ovario inferior y unilocular; inflorescencias corimbosas; al madurar se abre en 6 partes, tiene 6 estambres unidos por el filamento al perianto. El fruto es una baya elíptica, de color verde (inmaduro) y negra o café oscura (maduro), de 1 cm de largo

por 5 mm de ancho. La semilla sin endospermo está envuelta en una sustancia pegajosa que al madurar y encontrarse sobre la rama del hospedero se abre, tomando un aspecto estrellado.

El ciclo biológico de los muérdagos verdaderos es largo, variando de acuerdo a las condiciones del clima, la altitud y de las especies. *Psittacanthus calyculatus* presenta un ciclo de vida de 5 años, de los cuales tres son de crecimiento vegetativo, 7 meses de floración y 16 meses en fructificación (Vázquez, 1989; citado por Vázquez Collazo, I., et al 2006). El mecanismo de dispersión de las semillas de muérdago verdadero es zoócora; es decir, se dispersa con ayuda de animales, siendo los frutos bayas carnosas de vistoso colorido que atraen la atención de aves frugívoras. Las semillas que el ave ingiere pasan a través del tubo digestivo sin perder su viabilidad ni las propiedades de adherencia de la viscina o mucílago y al ser excretadas se adhieren a la rama o ramilla, hoja o tronco donde el ave se posa y defeca. Si el árbol es compatible con la especie de muérdago entonces podría germinar y sobrevivir, si no es así, entonces no germinará (Rodríguez Acosta 2013).

5.5.2 *Phoradendron tomentosum*

Andrade-Cetto (2005) enlista a *Phoradendron tomentosum*, utilizada por medio de infusión como remedio para la diabetes, y como información fitoquímica se menciona el contenido de phoratoxinas. Dentro de este registro también aparece *Psittacanthus calyculatus*, reportando el uso de hojas y flores en infusiones.

En la Universidad Autónoma de Nuevo León se realizó un estudio en *Phoradendron tomentosum* a la cual se le han atribuido algunas de las siguientes propiedades

medicinales: disminución en los niveles de glucosa en sangre, ayuda a regular la presión sanguínea y estimula el sistema inmunológico. Se planteó determinar el efecto toxicológico crónico producido por extracto acuoso de *Phoradendron tomentosum* en un grupo de ratas diabéticas y no diabéticas de experimentación sin mostrar efectos tóxicos. Los estudios fitoquímicos realizados utilizando tanto reacciones coloridas como cromatografías, revelaron que *Phoradendron tomentosum* posee los siguientes grupos de metabolitos secundarios: esteroides, saponinas y sesquiterpenlactonas.

Las especies del género *Phoradendron* son arbustos erectos o colgantes, de varios metros de longitud y parásitos de dicotiledóneas, aunque algunos atacan especies de pino; tienen ramas redondeadas, subcilíndricas, angulares o comprimidas, con o sin catafilos en la base de las ramas o en los entrenudos. Son glabras o pubescentes, de color verde, amarillo o verde amarillento; las hojas son opuestas y bien desarrolladas, reducidas algunas veces a escamas de color verde o amarillentas, con venación basinervada o pinnatinervada, lineares, lanceoladas o linear oblongas; de borde entero, ápice obtuso o agudo, base atenuada o cuneada y generalmente son coriáceas. Son plantas dioicas, sésiles o hundidas en el raquis de una espiga; las inflorescencias pueden ser solitarias y axilares o en espigas, la cual nace en los nudos de las ramas y está dividida en varios nudos o articulaciones (Rodríguez Acosta 2013).

5.5.3 Leucoantocianidinas

Estas sustancias no se hidrolizan por ácidos o enzimas, por lo que al someterlos a ácidos fuertes y calor tienden a convertirse en sustancias rojas u oscuras, insolubles en gran cantidad de solventes, llamados “flabafenos”. Estos taninos no se derivan de ácido gálico pero derivan de los catecoles considerados protaninos.

Sus estructuras son similares a los flavonoides y son poco solubles en agua por ser glucídicos, por lo que al momento de someterlos en ácido diluido y ser hervidos estos no se hidrolizan, sino que son producto de una condensación. Las catequinas se consideran precursores de los taninos condensados, y un ejemplo de taninos se pueden observar en las uvas, que son catequinas y más que nada leucoantocianidinas cuyas estructuras se pueden apreciar en la imagen 2 (agro.unlpam.edu, 2014).

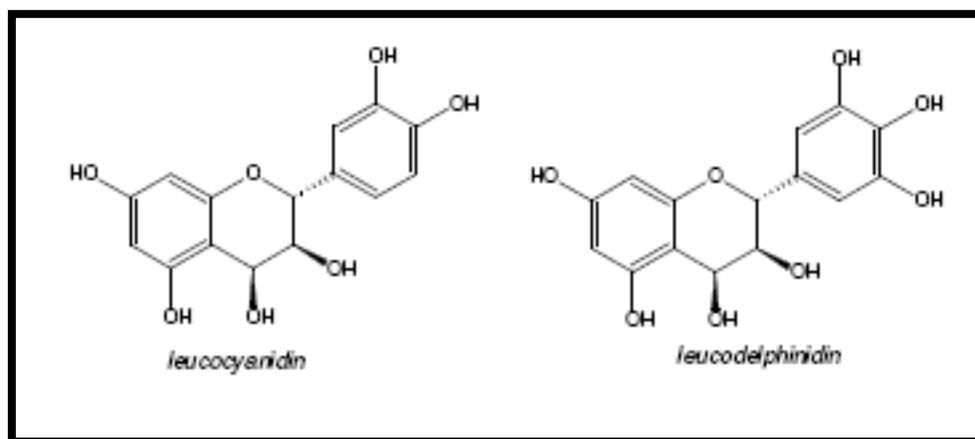


Imagen 2. Estructura de leucoantocianidinas.

5.5.4 Esteroles

Los esteroles que se encuentran en animales son conocidos como colesterol, mientras que en las plantas se encuentran 3 compuestos similares con el nombre de ergosterol, el β -sitosterol y el estigmasterol, su estructura química se puede apreciar en la imagen 3.

Los esteroles son moléculas de alcoholes esteroides, compuestas con grupos hidroxilos en posición β en el carbono numero 3 y uno o más dobles enlaces en el anillo B y en la cadena lateral (Koolman & Rohm, 2004).

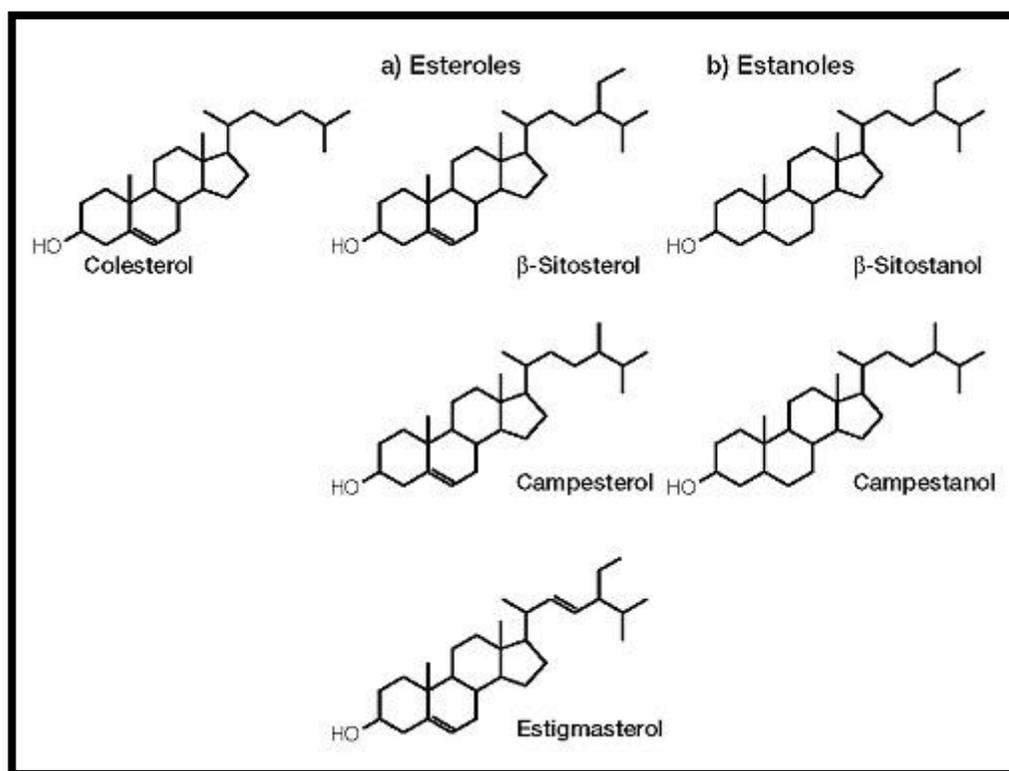


Imagen 3. Estructura química de los principales esteroles.

La importancia de estos compuestos a nivel fisiológico debe ser tomada en cuenta, ya que el consumo de productos de origen vegetal aporta menos cantidad de colesterol que los productos de origen animal (Koolman & Rohm, 2004).

5.5.5 Glucósidos cianógenos

Normalmente son estructuras que presentan glucosa, pero también se pueden presentar algunos mono o disacáridos. Se podrían mencionar algunos ejemplos que se encuentran en la lima denominados *limarina*, o la amigdalina componente de las semillas de las frutas con hueso, como el melocotón o albaricoque, y la *durrina* que se presenta en el sorgo; también se encuentran en alimentos como: mandioca, la batata, el bambú, el maíz o los frijoles. Una de las estructuras de los glucósidos cianogénicos se muestra en la imagen 4.

Son compuestos estables a pH neutro, cuando se les aplican tratamientos ácidos a temperaturas elevadas se hidrolizan dando origen a compuestos como lo son aldehídos, cetonas, azúcar y ácido cianhídrico (HCN). La producción del ácido cianhídrico es generalmente por compuestos normalmente enzimáticos, a tal proceso se le conoce como cianogénesis (López de Cerain, Gloria Gil, & Bello, 2012).

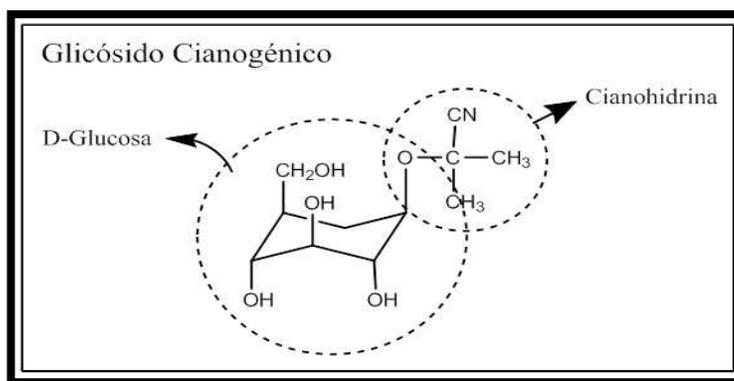


Imagen 4. Estructura de un glucósido cianogénicos.

5.5.6 Flavonoides

La naturaleza es muy sabia, ya que proporciona todos los nutrientes para que los seres vivos puedan sobrevivir en el entorno que les rodea. Las sustancias de mayor importancia que se podrían mencionar son los conocidos metabolitos primarios que son las sustancias que se encuentran principalmente en todas las formas de vida, cumpliendo con funciones básicas, a estas sustancias corresponden los carbohidratos, proteínas y grasas; también existen los metabolitos secundarios que corresponden a aquellas sustancias que se encuentran distribuidas solo en ciertas especies, géneros o familias, como los flavonoides, a los que se les da este nombre debido a que la primera vez que fueron aislados eran de color amarillo, pero con el paso del tiempo se ha demostrado que no solo son de este color sino que también los podemos encontrar en colores rojos, violetas, azul o incoloros.

Los flavonoides son sustancias de origen vegetal descubiertas por el ganador al premio Nobel en Bioquímica el Dr. Albert Szent-Gyorgi; él los denominó principalmente como "vitaminas P". En sus investigaciones descubrió que los flavonoides favorecen la función de la vitamina C, ayudando a la absorción y protegiendo de la oxidación a dicha vitamina; y no solo esto, sino que estas sustancias confieren colores a flores, frutos y hojas, engalanando con hermosos colores a jardines, casas y hasta pequeños centros de mesa que alegran la vida diaria de las personas, un gusto que es para cualquier nivel económico de vida.

Pero no solo en flores se pueden observar sino que también en las verduras que consumimos a diario. Hablando nutricionalmente aportan vitaminas y minerales, estos nutrientes se pueden ingerir de distintas formas, como lo pueden ser un

delicioso jugo de frutos rojos o una fruta recién cortada; la literatura también menciona que los flavonoides ayudan a prevenir y a tratar enfermedades.

Hablando químicamente de los flavonoides, se puede decir que tienen estructuras química definida. De manera general, son moléculas que presentan dos anillos bencénicos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono o simplemente como compuestos $C_6C_3C_6$, ésto se observar en la imagen 5.

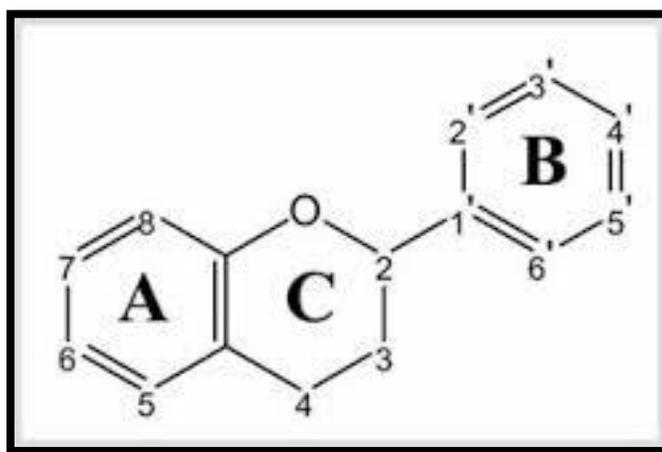


Imagen 5. Estructura básica de flavonoides.

Existen más de 4,000 flavonoides los cuales se clasifican de acuerdo a las variantes que presentan en la estructura de la cadena central C_3 , como se muestra en la figura 6.

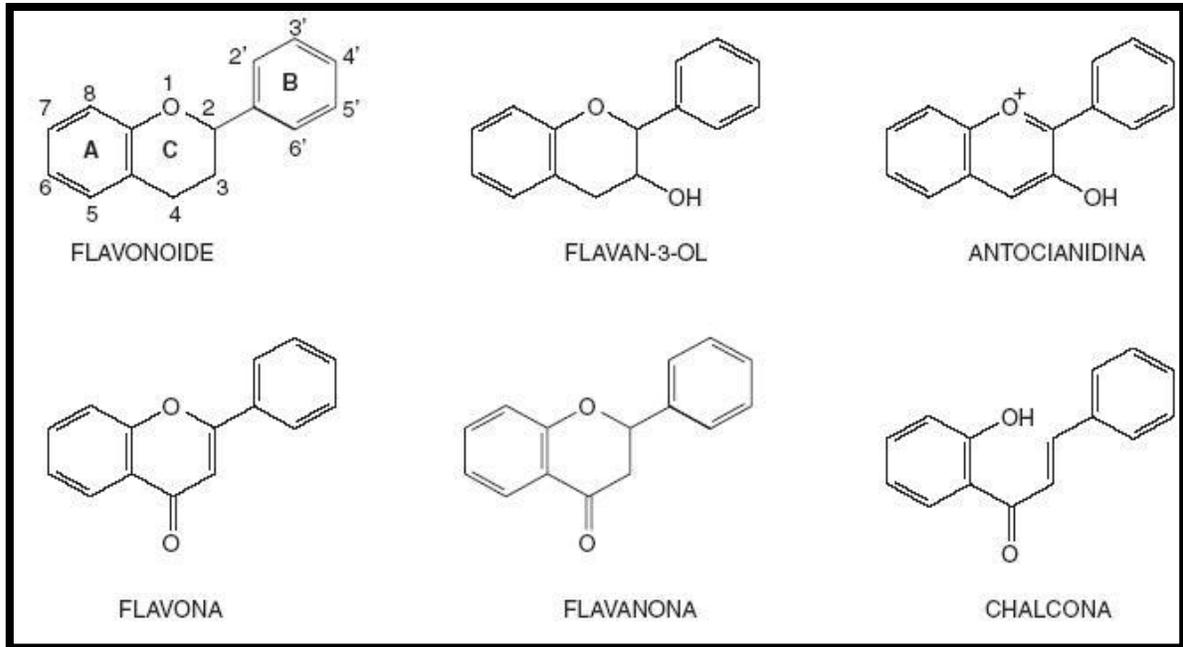


Imagen 6. Clasificación de acuerdo a la estructura central C₃.

En cuanto a nomenclatura de los flavonoides, normalmente se utiliza la terminación INA u OL, pero estos nombres también se los han ido asignando los científicos que los han ido descubriendo uno a uno en la naturaleza, por mencionar algunos: acetina, identificado en la planta del género *Acacia* clasificada como flavona; la queretina, que es un flavonol identificado en la planta del género *Quercus*; la naringenina, que es una flavanona aislada inicialmente en la naranja, por mencionar algunos ejemplos; pero esta clase de nombres no son muy comunes, por lo que los químicos han decidido llamarlos con nombres que representen su estructura química. Un ejemplo de esto sería la acetina que corresponde a la 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona; la queretina al 5, 7, 3',4'-tetrahidroxiflavonol; la naringenina a la 5, 7, 4'-trihidroxiflavanona, etc.

Las estructuras simples de polifenoles en la naturaleza no se encuentran solas, ya que en ocasiones vienen acompañadas de carbohidratos. A este tipo de combinación de núcleo flavonoide básico, más una o varias unidades de carbohidratos, se les asigna el nombre de glicósidos, y cuando no presentan una molécula de carbohidrato se les llama agliconas flavonoides. Un ejemplo de glicósido es la vitexina, que corresponde a la 8-C- β -D-glucopiranosido de epigenina.

Como ya se mencionó anteriormente, los flavonoides se encuentran distribuidos en las plantas verdes; normalmente se encuentran en las angiospermas, también en las partes aéreas de las plantas, y se han detectado en una muy pequeña cantidad en hongos y algas. Pero no solo se pueden encontrar en estas formas sino que también en forma libre, donde se les asigna el nombre de agliconas flavonoides, como glicósidos (mayor parte), sulfatos y en ocasiones como dímeros y polímeros. Pero en cuanto a los glicósidos, se pueden encontrar en dos clasificaciones: la primera corresponde a aquella en la que los carbohidratos están ligados a través de átomos de oxígeno, es decir, como O-glicósidos, o con los carbohidratos ligados a través de enlaces de C-C, es decir, como C-glicósidos. Los más comunes de encontrar son los O-glucósidos.

Al momento de hablar de la extracciones de los flavonoides, normalmente se manejan de manera seca y molida, principalmente se debe de eliminar grasa con éter de petróleo ó *n*-hexano, y posteriormente el marco se extrae con etanol puro o al 70%. Después se procede a evaporar el extracto obtenido con calentamiento no superior a los 50°C y se hacen particiones con éter etílico, acetato de etilo y *n*-butanol. Esto dará como resultado flavonoides apolares en la fase etérea, los medianamente polares en la fase acetato de etilo y los más polares en el *n*-butanol.

A estas fracciones se les puede analizar por cromatografía en capa fina (CCF) y HPLC en fase reversa (Martínez M, 2005).

5.5.7 Fenoles

Los fenoles constituyen una sustancia incolora, cristalizada en agujas que al momento de ponerlas al aire poco a poco se ponen rojizas, se funden a temperatura de 42°C y tienen olor característico. Los fenoles tienen una propiedad antiséptica, por lo que se emplean en medicina como desinfectantes (Bello, 1960).

Su importancia es que son una de las especies químicas más abundantes en el mundo vegetal, debido a que existen más de 8,000 estructuras que han sido estudiadas hasta ahora por su gran aporte fisiológico y morfológico en las etapas de crecimiento y reproducción, y aportando resistencia a las plantas frente a agentes patógenos y depredadores. Estas sustancias se utilizan en la fabricación de pinturas, papel y cosméticos.

Los fenoles son sustancias que pueden llegar a tener estructuras muy simples, como el ácido fenólico, o moléculas muy polimerizadas, como los taninos. Es muy importante mencionar que los fenoles no son metabolitos primarios, sino todo lo contrario: son metabolitos secundarios de las plantas, frutas y verduras, aportando una gran cantidad de características a éstas, como lo son los colores que van desde los rojos, violetas y azules, así como también aroma y sabor que pueden ser desde amargo hasta astringente en diferentes cítricos.

Respecto a los estudios nutricionales que se han hecho en relación con estas sustancias es el beneficio que aportan a enfermedades cardiovasculares (ECV), se han realizado también estudios para condiciones de obesidad, cáncer y

neurodegenerativas consumiéndolos como preventivos, por eso el interés de seguirlos estudiando.

Sin embargo, estas características tan favorables que presentan se deben a sus estructuras químicas, en las cuales hay un anillo aromático (C_6) con uno o más grupos hidroxilo. Es importante recalcar que del total de los polifenoles que se ingieren en una dieta, los más abundantes son los ácidos flavonoides y los fenólicos, que representan entre un 60% y 30% respectivamente.

Los fenoles se clasifican como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de los principales compuestos fenólicos de origen vegetal, de acuerdo con su estructura química básica.

Esqueleto carbonado	Clasificación
C_6	Fenoles simples, benzoquinonas
C_6-C_1	Ácidos fenólicos
C_6-C_2	Ácido fenilacético, acetofenoles
C_6-C_3	Ácido hidroxicinámico, polipropano, cumarina, isocumarina
C_6-C_4	Naftoquinona
$C_6-C_1-C_6$	Xantanos
$C_6-C_2-C_6$	Estilbeno, antraquinona
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoides, isoflavonas
$(C_6-C_3)_2$	Lignanós, neolignanós
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Bioflavonoides
$(C_6-C_3)_n$	Ligninas
$(C_6)_n$	Melanoidinas
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Taninos

La importancia del mecanismo de estos compuestos es que los ácidos *o*-cumárico y *p*-cumárico pueden detener el ciclo celular en la fase G1 en los preadipocitos murinos 3T3-L1 y la inhibición que origina el ácido *o*-cumárico en el factor de transcripción de un receptor activado por los proliferadores de los peroxisomas y (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR- γ), el cual actúa también en la adipogénesis y en la acción de la insulina, en el factor de transcripción que se une a regiones CCAAT del DNA (CCAAT enhancer binding protein, C/EBP- α) el cual se encarga de promover la expresión de ciertos genes, uno de estos es la adipogénesis, a través de una relación con el promotor y con la leptina, siendo precursor de la sobreexpresión de la adiponectina (Gil Hernández & Ruiz López, 2010).

5.5.8 Polifenoles

En el reino vegetal se encuentran 4 compuestos fitoquímicos de interés, los que se conocen como: sustancias fenólicas, terpénicas, azucaradas y nitrogenadas. Las tres primeras son las que tienen relevancia en los productos de origen vegetal o en cuestión de la alimentación de los seres humanos, destacando que los polifenoles son los que se encuentran de forma general en los alimentos de origen vegetal.

Los polifenoles están compuestos por diferentes estructuras: desde simples (derivados de ácidos fenólicos), hasta moléculas de alta masa molecular (taninos hidrolizables y condensados).

En cuanto a los subgrupos con estructura básica, se incluyen a las antocianinas, flavonoles y flavonas, las flavanonas, chalconas y deshidrochalconas, las isoflavonas y los flavan-3-oles. Otro subgrupo incluye al de los fenilpropanoides donde se

incluyen a los derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico, *p*-cumárico), otros de importancia son los estilbenoides (resveratrol) y derivados del ácido benzoico (ácido gálico y elágico).

La función que tienen los polifenoles es la de compuestos antioxidantes, ya que se encargaron de captar los radicales libres; dicha actividad se relaciona con la prevención de cáncer y enfermedades cardiovasculares pero, a fin de que estas sustancias puedan tener dichos efectos, es necesario el consumo constante de productos de origen vegetal.

Para poder observar la biodisponibilidad (porción de la dosis ingerida que es excretada en orina comparada con la excreta en heces) de los polifenoles en el organismo, es necesario estudiar sus efectos in vivo para, de esta manera, poder ver la acción que ejercen (diferentes dosis a estudiar) en enfermedades contra las cuales pueden aportar un beneficio (F.A. 2003).

5.5.8.1 Mecanismo de los polifenoles.

Como se ha mencionado, los polifenoles son poderosos antioxidantes que protegen a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) del daño oxidativo causado por los radicales libres, y su acción antioxidante está relacionada no sólo con su estructura química sino también con su localización en la partícula. Su mecanismo puede ser el siguiente:

- Como antioxidantes propiamente dichos, actuando como captadores de radicales libres. Los diferentes polifenoles tienen cada uno de ellos una afinidad especial por las distintas especies de radicales libres que se generan en el organismo.

- En forma directa como agentes quelantes de iones de metales de transición, es decir, uniéndose a estos iones y reduciendo la capacidad de estos metales pesados para generar radicales libres.
- Por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de la partícula de LDL, disminuyendo el consumo de los antioxidantes propios de la LDL, como son el tocoferol y los carotenoides, y en algunos casos incluso regenerando la vitamina E ya oxidada en la partícula de LDL.
- Por su capacidad de inhibir, activar o proteger enzimas específicas en el organismo. Los distintos polifenoles tienen cada uno actividades particulares. Por ejemplo, se ha observado que el consumo de catequina, quercetina y vino tinto preserva la actividad de la paraoxonasa, que es una enzima asociada con el colesterol HDL (colesterol bueno) y para cuya actividad está demostrado que es inversamente proporcional a la incidencia de las enfermedades cardiovasculares. Otros polifenoles inhiben oxigenasas celulares y por tanto la producción de especies oxidantes o radicales libres de oxígeno y de nitrógeno dentro del cuerpo humano. La quercetina y sus glucósidos inhiben la oxidación de las LDL inducida por lipoxigenasas, mientras la catequina, la epicatequina, la epigallocatequina, la epicatequina galata y la epigallocatequina galata inhiben la producción de radicales libres por inhibición de la xantinaoxidasas hepática.

Cada polifenol actuará mediante uno o más de estos mecanismos, según sus propiedades específicas (O'Gorman, 2003).

5.6 Medicina alternativa para pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)

Se ha mencionado que para que los pacientes que padecen DM2 lleven una mejor calidad de vida es necesario llevar un buen tratamiento, el cual abarca desde una buena alimentación (balanceada), tener control en su ingesta de productos calóricos (ricos en azúcar), medicamentos (dependiendo que tan avanzada este la enfermedad) y actividad física para que, de esta manera, sus niveles de glucosa en sangre sean normales. Para auxiliar en ello existen alternativas complementarias para los pacientes con DM2, una de estas es el cuidado naturopático, el cual se encarga de promover con éxito el cambio en el comportamiento en cuanto a la salud y la DM.

Lo anterior abarca desde una técnica de diagnóstico convencional, agentes farmacéuticos (que van desde insulina a medicamentos orales antidiabéticos), terapias enfocadas en productos de origen natural, técnicas mente-cuerpo, consejería nutricional detallada, recetando actividad física, y el manejo del estrés; todo esto se hace de manera individual para cada paciente.

Se han hecho investigaciones en EE.UU. en donde participaron pacientes con DM2 y se observaron resultados favorables que este complemento brindó a su tratamiento (se les ofrecieron 82 alternativas en cuanto a este tipo de productos). Por lo anterior, en EE.UU. utilizan la medicina naturopática para enfermedades como diabetes y otras enfermedades desconocidas pero, de los pacientes que se tratan por este medio, el 16.8% tiene diabetes, que es casi el doble de la prevalencia nacional de dicho país. Algunos aspectos positivos al momento de realizar encuestas arrojaron números positivos en el monitoreo de glucosa en la dieta, autoeficacia en su motivación y su estado de ánimo y en sus niveles de glucosa en sangre, ya que

obtenían resultados similares a las personas que no asisten a este tipo de cuidado naturopático. Este tipo de tratamientos es una opción novedosa que puede fomentar esperanza que dirige al paciente a un autocuidado de la diabetes y la salud general. Esta nueva perspectiva ayuda a los pacientes a tener un enfoque más natural del cuidado de su salud y su enfermedad.

La gente normalmente empieza a tener interés en la medicina natural por la curiosidad y el origen de los complementos que empiezan a consumir. Por eso los médicos naturistas se deberían consultar como un complemento junto con la atención primaria que brindan los médicos de cabecera (B. Oberg, y otros, 2012). Sin embargo, todos estos resultados positivos de la naturopatía deben seguirse evaluando para verificar la bondad de sus resultados en las personas que siguen este tipo de medicina alternativa, ya que los estudios que se han realizado son en grupos pequeños de pacientes y la realidad es que el número de personas que padecen DM2 es muy elevado (Bradley y otros, 2012).

5.7 Medicamentos Hipoglucemiantes

Los medicamentos para pacientes diabéticos difieren del tipo de afectación que pudieran llegar a presentar, pero todos tienen un propósito en común, que es el de brindarles un nivel de vida mejor, y esto lo logran disminuyendo o controlando las afecciones que originan el síndrome, algunos ejemplos son: mantener niveles de glucosa en sangre estables, reducir los riesgos en presión arterial que conlleven a desfavorecer los niveles ideales para estos pacientes, contrarrestar los efectos de las hipoglucemias que llegasen a presentar, lograr que se absorban correctamente los

nutrientes de los alimentos y otras alteraciones que se llegaran a presentar como consecuencia de la DM (Mataix Verdú, 2013).

En estos tiempos los avances médicos han ido en aumento, tan vanguardistas han sido que se están haciendo estudios *in vitro* e *in vivo* para suplir parcialmente o por completo las inyecciones de insulina (para pacientes con DM1), o los medicamentos hipoglucemiantes (pacientes con DM2), por medicamentos hechos a base de sales de vanadio (Alvino De La Sota, Pacheco Calderón, & Galli Rigo-Righi, 2007).

5.8 Dosis “importancia”

El establecimiento de una dosis es un punto crítico para evitar errores consecuentes al consumo de un principio activo o de un medicamento. Más que nada esto se considera preventivo, ya que los errores de una dosis equivocada pueden ser originados por la forma en que fue preparada o por una mala administración, también pueden ser provocados por un mal etiquetado o etiquetado incompleto.

Para que un medicamento ingrese o tenga la posibilidad de figurar en una guía farmacéutica debe pasar por una revisión en cuanto a su efectividad y precio respecto a otros con el mismo principio; también se debe evaluar su perfil de seguridad, su potencial de interacciones y de efectos adversos, sobre todo cuando se selecciona entre varios equivalentes en eficacia. Esto es para asegurar que se va a favorecer a los pacientes con medicamentos más seguros.

Hay factores que son de suma importancia para los protocolos de utilización o medidas dirigidas a mejorar la seguridad del uso de un nuevo fármaco antes, y no después de que éste se utilice; para esto se aplica una técnica conocida como

“Análisis de los Modos de Fallo y sus efectos” (Otero López, Martín Muñoz, Santos Ramos, Puigventós Latorre, & Delgado Sánchez, 2003).

5.9 Modelos de experimentación

Para una mejor comprensión del funcionamiento de la diabetes *mellitus*, se han realizado una gran cantidad de estudios que se conocen como modelos experimentales, los cuales podemos encontrar en artículos, libros, revistas, etc.

Esto tiene un motivo de ser: el comprender cómo es el mecanismo de la diabetes o de cualquier otra enfermedad. Sin embargo, los mecanismos de los modelos experimentales a veces difieren mucho de lo que en realidad pasa en el cuerpo de un ser humano, por lo que conlleva a fracasos en investigaciones que tratan de ofrecer productos naturales o sintéticos para un mejor tratamiento de la enfermedad. Por tal motivo, es indispensable elegir un modelo lo más parecido al del ser humano.

Los modelos experimentales en cuanto a tratamiento de diabetes *mellitus* a lo largo de varias investigaciones pueden ir desde nivel subcelular, así como líneas celulares humanas y de otras especies, órganos aislados de animales sanos para estudios in vitro bajo un ambiente fisiopatológico parecido al del diabético o el uso de órganos provenientes de animales diabéticos y animales íntegros con diabetes inducida por diferentes métodos, todo esto con la finalidad de hallar un mejor tratamiento.

Con resultados en diferentes investigaciones, empleando modelos experimentales, se ha llegado a concluir que los animales que son inducidos con diabetes por medio del uso de aloxan y estreptomina, son de los modelos más utilizados y con

resultados de mayor relevancia respecto a otros estudios, seguidos en importancia por los modelos que emplean animales modificados genéticamente.

Pero hay que mencionar el por qué otros modelos de experimentación no son tan eficientes, y esto es debido a que presentan algunas limitaciones, como se menciona a continuación:

- Los modelos que solo valoran una actividad enzimática: cuantifican una reacción en condiciones muy lejanas a la realidad.
- Los tejidos y órganos aislados (corazón, anillos de aorta, segmentos de intestino): dan información limitada a los componentes que los constituyen.
- Animales seleccionados genéticamente: son muy buenos, pero en ocasiones sus costos son muy elevados.

Todos los modelos pueden aportar alguna información de suma importancia para cada investigación, esto es una gran ventaja que pueden aportar para el desarrollo de mejores tratamientos, por lo que lo hace una necesidad técnica. Pero hay que tomar en cuenta también la complejidad del padecimiento y las limitaciones mismas de cada modelo, por lo que la interpretación a veces no es muy sencilla. Algo que podría mejorar los resultados es la utilización de dos modelos experimentales, lo que enriquecería la investigación. En el la tabla 3 se puede observar cómo se desglosan los modelos de experimentación (Col 2007).

Tabla 3. Modelos experimentales para investigar diversos aspectos de la diabetes.

Nivel de organización		Son diabéticos debido a:	Características del modelo
<p>Animales íntegros Son los que más se emplean porque se les evalúa como una entidad y se pueden apreciar aspectos variados desde su conducta, apariencia, tomar datos como la presión arterial invasiva o no invasiva) es factible la toma de muestras biológicas como orina,</p>	Animales no manipulados o seleccionados genéticamente	1. Estreptozotocina	Se trata de animales de diversas cepas, pueden ser ratones, ratas, conejos y perros. Se les puede inducir a un cuadro “diabético” por medio de fármacos (1,2); por medio de una dieta rica en azúcares (3); y por manipulación quirúrgica (4).
		2. Aloxan	
		3. Nutricional	
		4. Quirúrgico	
	Animales manipulados o seleccionados genéticamente	Ratón ob/ob	Resistentes a leptina, desarrolla obesidad, e hiperfagia
		Rata db/db	Deficientes en leptina. desarrolla obesidad, e hiperfagia
		Rata BB	Estos ejemplares, presentan diabetes espontánea, con una incidencia del 77% en los machos y 87% en las hembras antes de los 120 días de vida. Son obesos, presentan insulinitis en el 100% de los animales. Corresponde a un modelo de diabetes tipo I.
		Rata Lewis	Estas ratas son muy utilizadas porque “altamente” susceptibles a ser inducidas con estreptozotocina.
		Rata Goto-Kakizaki	Estas ratas no son obesas, exhiben un metabolismo hormonal y vascular similar al del paciente diabético.

<p>sangre y conservar los animales por largo tiempo o tomar muestras de diferentes tejidos para análisis posteriores</p>			Corresponde a un modelo de diabetes tipo II
			i) Desarrollan hiperlipidemia, hiperglicemia cuando se les alimenta con purina 5008, ii) son obesas y presentan resistencia a la glucosa y nefropatía.
	Ratas Zucker i) delgadas ii) falfa		Desarrolla nefropatía diabética, mimetiza el patrón de la enfermedad con la progresion que se presenta en los pacientes
	Rata TZDN		Estas ratas presentan nefropatía hipertensión, y congestión cardiovascular. Modelo de diabetes tipo II
	Rata SHHF		Cruza que se obtiene de las cepas ZDF y SHHR
	Rata 2SF1		

Nivel de Organización	¿Cómo se induce la diabetes?	Características del modelo	Limitaciones y ventajas
Órganos y tejidos	Se obtienen de animales diabéticos previamente por manejo farmacológico, quirúrgico nutricional o de alguna cepa específica. También se pueden manipular las condicones ambientales	Son órganos como el corazón, o el lecho mesentérico y la aorta. Se mantienen en soluciones fisiológicas por varias horas y se determinan diversos	La ventaja, es que son experimentos que se realizan en una sesión de horas, brindan de manera confiable información detallada de una

	<p><i>“in vitro”</i> para originar una condicion fisiológica específica.</p>	<p>aspectos, por ejemplo la producción de óxido nítrico.</p>	<p>reaccion o una respuesta fisiológica. Limitacion: no siempre se observa una respuesta congruente con otros modelos</p>
<p>Células</p>	<p>Se compran o se obtienen de animales íntegros.</p>	<p>Se cultivan y se pueden hacer muchas repeticiones en un solo experimento</p>	<p>La ventaja es que se obtiene información precisa de diversos eventos celulares. La limitación es que las celulas se hallan libres en un medio y en la realidad se hallan integradas formando un todo.</p>
<p>Sub-celular</p>	<p>Se adquieren en forma de “Kit “</p>	<p>Son productos sintéticos y semisintéticos que están diseñados para reaccionar con algún</p>	<p>La ventaja es que cuantifica rápidamente una actividad específica. La</p>

		<p>tipo específico de molécula o durante una reacción química.</p>	<p>limitación: estas reacciones las observamos en un medio artificial y nos da idea de lo que sucede, pero biológicamente puede tener diversas rutas metabólicas y originar diversos productos.</p>
--	--	--	---

(Col 2007).

6. Materiales y Métodos

6.1 Etapa 1. Obtención y cuantificación del extracto.

6.1.1 Recolección de muestras.

Las muestras de *Psittacanthus calyculatus* (imagen 7) fueron recolectadas en la ciudad de Santiago de Querétaro, en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Querétaro; mientras que la de *Phoradendron tomentosum* (imagen 8) fue localizada en el municipio de General Cepeda, en el estado de Coahuila. Las ramas fueron cortadas manualmente de árboles que presentaran esta plaga.



Imagen 1. Muestra de *Psittacanthus calyculatus*



Imagen 2. Muestra de *Phoradendron tomentosum*.

6.1.2 Secado

El secado de la muestra se realizó en el Laboratorio II del departamento de ciencia y tecnología de alimentos de la UAAAN y consistió en separar las hojas de los tallos de las dos plantas, *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*; posteriormente, fueron colocadas en charolas de papel secante (imagen 9) para ser

sometidas al proceso térmico en un horno de secado de la marca Novatech (imagen 10) a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 1 semana.

Después de que la muestra quedó totalmente seca, esta es trituró en un molino marca Thomas Scientific, modelo 3383-L10 (imagen 11).



Imagen 4. Muestras de *Psittacanthus calyculatus* en charolas de papel secante, para someterla al proceso de secado.



Imagen 3. Horno de secado marca Novatech.

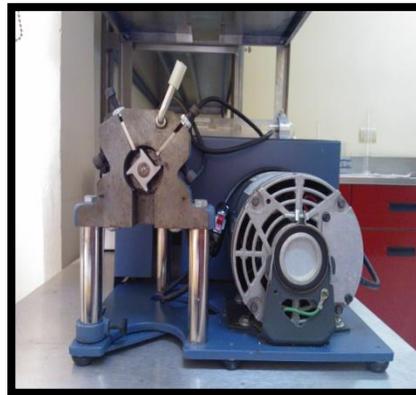


Imagen 5. Molino marca Thomas Scientific, modelo 3383-L 10.

6.1.3 Infusión

La infusión acuosa se obtuvo utilizando costalitos de tela muselina con el polvo de cada planta, por separado, en el interior (imagen 12), los cuales fueron colocados en vasos de precipitado con agua destilada que se colocaron con anticipación sobre una parrilla de la marca Thermo Scientific, hasta llevar a ebullición antes de que se introdujera el costalito (imagen 13); la relación fue de 1:6 (extracto/agua), los extractos se dejaron en reposo por 2 h a fin de obtener un extracto más concentrado. Después de obtener el extracto, éste se sometió a congelación para preservar la vida útil de los compuestos de interés.



Imagen 7. Costales de tela muselina.



Imagen 6. Infusiones acuosas.

6.1.4 Liofilización

Las muestras fueron sometidas a otro proceso de secado para que, de esta manera, todos los compuestos fenólicos de interés extraídos por la infusión estén más concentrados en el complemento que será administrado a los ratones diabéticos. El proceso se llevó a cabo en el laboratorio del departamento de horticultura de la UAAAN. Para realizar este proceso, se colocó cada uno de los extractos en botes de

plástico transparente con tapa de rosca llenos hasta la mitad de la capacidad del recipiente, a fin de poder tener un mejor proceso de liofilización. Posteriormente se congelaron a una temperatura de -80°C en una ultra congeladora para luego ser colocados en los vasos de precipitado (imagen 14) pertenecientes al equipo de liofilización de marca LABCONCO, modelo FreeZone 2.5plus (imagen 15). Una vez colocados en los vasos se sometieron nuevamente a congelación por 10 minutos en el ultra congelador con el fin de que todo estuviera bien congelado al momento de ensamblar al equipo los vasos con la muestra.

El proceso se llevó a cabo bajo los parámetros de temperatura de -84°C a -80°C y una presión de vacío de 0.22 milibares. Todo el proceso de liofilización tuvo una duración de 24h para cada muestra.

Después de dicho periodo, el material seco fue triturado en una capsula de porcelana (imagen 16) y recolectada en un frasco de plástico con tapa de rosca. Se cubrieron con papel aluminio para evitar el contacto con la luz y se almacenaron en un lugar seco.



Imagen 9. Vasos de precipitado del equipo de liofilización, con frascos de plástico con muestra congelada a -80°C .



Imagen 8. Equipo de liofilización de la marca LABCONCO, modelo FreeZone 2.5 plus.



Imagen 10. Muestra triturada en capsula de porcelana después del proceso de liofilización.

6.1.5 Caracterización cualitativa de compuestos presentes en los extractos.

Como en estudios anteriores, se realizaron pruebas cualitativas para la identificación de los compuestos de interés presentes en los extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* (Rodríguez Acosta 2013), ésto para extractos antes y después del proceso de liofilización.

6.1.5.1 Reacción para Fenoles.

Se colocaron en una gradilla tubos de ensaye a los cuales se les añadió 2 mL de cada extracto y, de manera consecutiva, se les agregaron gotas de FeCl_2 . La presencia de una coloración verde, azul o violeta indica que la prueba es positiva (imagen 17).

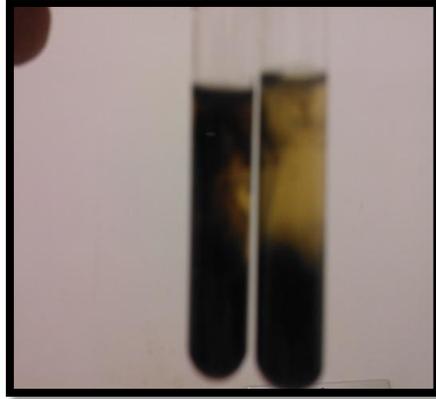


Imagen 17. Reacción colorida de fenoles.

6.1.5.2 Reacción de Flavonoides.

Se colocaron tubos de ensaye a los cuales se les añade limadura de Mg y 2 mL de cada extracto por separado, y a continuación se dejan caer unas gotas de HCl concentrado. Si se logra una coloración naranja, rosada, violeta o roja la prueba es positiva. La tonalidad azul indica la presencia de antocianidinas, mientras que si hay presencia de flavonas, isoflavonas y flavonoides las tonalidades serán: naranja-rojo-azulosa, rojo-violeta o café-anaranjado (imagen 18).



Imagen 18. Reacción colorida para flavonoides.

6.1.5.3 Reacciones para Leucoantocianidinas

En un tubo de ensayo se colocaron 2 mL de cada uno de los extractos, posteriormente se les añadió 1 mL de HCl concentrado; después de esto se colocaron en baño maría por 15 min. Si se presenta una coloración roja la prueba será positiva (imagen 19).



Imagen 19. Reacciones colorida de Leucoantocianidinas.

6.1.5.4 Reacción para glucósidos cianogénicos.

Primero se preparó el reactivo de picrato de sodio mezclando 1 g de Na_2CO_3 , 100 mg de ácido pícrico y 10 mL de H_2O destilada. A este reactivo se le adicionó papel filtro Whatman No. 1 que se encuentra en forma de cuadro de 1 X1 cm, sin que el papel tenga contacto con la solución. Mientras que para los extractos se colocaron 2 mL de cada uno de los en tubos de ensaye y se añade 1 mL de cloroformo, a estos tubos se les introdujo una tira de papel filtro Whatman No. 1, sin que esta tocara las paredes del tubo.

Una vez tapados los tubos se calentaron a baño maría a una temperatura de 37°C por un periodo de tiempo de 3 h.

Si la tira amarilla cambia a color rojo o rojo-café, la prueba será considerada como positiva (imagen 20).



Imagen 20. Reacción colorida de glucósidos cianogénicos.

6.1.5.5 Reacción para Esteroles (Reacción de Liberman-Burchard).

Para preparar el reactivo de Liberman-Burchard se mezclaron 5 mL de anhídrido acético y 5 mL de cloroformo, dejando enfriar hasta 0°C. Una vez que la mezcla alcanzó dicha temperatura, se le añadieron 2 gotas de H₂S concentrado.

En un tubo de ensaye se agregaron 2 mL de los extractos mas 1 mL de cloroformo y unas gotas del reactivo de Liberman-Burchard. Si se observan cambios de coloración verde, azul, rojo o naranja, al minuto 1, 2, 5, 20 y 60 la prueba es positiva (imagen 21).



Imagen 21. Reacción colorida de esteroides.

6.1.6 Cuantificación y determinación de compuestos fenólicos y flavonoides

Esta etapa experimental permitió conocer la concentración de los principios activos presentes en la infusión con la finalidad de establecer la dosis a suministrar de los extractos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus* (Rodríguez Acosta 2013) para poder reducir los niveles de glucosa en sangre y presión arterial en nuestro modelo *in vivo*.

6.1.6.1 Determinación de compuestos fenólicos totales de extractos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus*.

Para la solución madre se pesó 0.01 g de ácido gálico y se aforó a 10 mL con metanol. En una gradilla se colocaron 11 tubos de ensayo, en cada uno de ellos se realizaron diluciones de 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 y 1 con la solución madre y metanol para obtener un volumen final de 1 mL para cada dilución.

Una vez listas las concentraciones se preparó en un vaso de precipitado la solución Folin-Ciocalteu, tomando 1ml de la solución madre y añadiéndole 9 mL de H₂O

destilada. Adicionalmente se preparó Na_2CO_3 , esto pesando 0.75 g del reactivo y agregando 10 mL de H_2O (imagen 22).

Una vez ya preparadas todas las concentraciones y los demás reactivos, a cada dilución se le agregaron 500 μL de solución Folin-Ciocalteu y 250 μL de Na_2CO_3 , se taparon los tubos con Parafilm y se agitaron por 30 segundos en un vórtex de la marca Benchmark.

Las diferentes concentraciones se dejaron en reposo por 30 minutos, una vez transcurrido el periodo se tomaron lecturas en un espectrofotómetro de la marca VELAB™, modelo VE 5600UV (imagen 23) (Dhannjay Singh & Sunita Maurya, 2010 modificado por Rodríguez M; 2013).



Imagen 12. Prueba de cuantificación de compuestos fenólicos.



Imagen 11. Espectrofotómetro de la marca VELAB, modelo VE 5600UV.

6.1.6.2 Determinación de flavonoides totales en extractos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus*.

Para la preparación de solución estándar se pesaron 0.001 g de catequina en una balanza analítica y se aforó a 10 mL con agua destilada, enseguida se realizaron las siguientes diluciones: 0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 y 0.2.

Una vez hechas las diluciones se tomaron 250 μL de cada una y se colocaron en su respectivo tubo de ensaye, el cual se marcó con su concentración para así poder añadir 1,250 μL de H_2O destilada y 75 μL de NaNO_2 al 5%, después se dejó reposar los tubos por 6 min.

Una vez transcurrido el tiempo a los tubos se les adicionaron 150 μL de AlCl_3 al 10% y nuevamente se dejó reposar 5 minutos.

Después de este periodo se añadieron 50 μL de NaOH al 1 M y 275 μL de H_2O destilada. Al terminar esto se hizo la lectura de absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro (imagen 24).



Imagen 24. Cuantificación de compuestos flavonoides.

6.1.6.3 Determinación de actividad antioxidante de extractos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus* por el método de DPPH por microplaca.

La determinación de capacidad antioxidante se analizó por uno de los métodos más utilizados, el cual se basa en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil o mejor conocido como DPPH, el que consiste en que presenta una deslocalización de un electrón desapareado, proporcionándole una coloración violeta, la cual es caracterizada por una banda de absorbancia en solución etanólica de alrededor de los 520 nm. Esto indica que cuando la disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia donadora de átomos de H o algún radical, dará origen a su forma reducida (DPPH-H o DPPH-R), originando una coloración amarilla. Por lo que los valores de absorbancia disminuyen y se puede medir la capacidad antioxidante con el parámetro IC_{50} (concentración necesaria para obtener un 50% de efecto) (Gutiérrez Avella, Ortiz García and Mendoza Cisneros 2008).

Se debe determinar la longitud de onda de la absorbancia del radical mediante un barrido en el rango visible. Se puede usar el procedimiento espectro DPPH del software Gen 5, (imagen 25).



Imagen 13. Espectro DPPH del Software Gen 5.

Se empleó como blanco la lectura del metanol solo y como absorbancia control la de la solución DPPH-metanol.

Se colocaron las muestras blanco en la microplaca.

Se colocaron con la micropipeta 193 μ L de solución DPPH-Metanol y 1 μ L de la muestra a analizar. Se cubrió con papel aluminio para evitar el contacto directo con la luz mientras se llenaban los pocillos con DPPH y muestra.

Se cuantificó el cambio de absorbancia de manera cinética, y realizando diluciones de la muestra si era necesario, donde la reacción de neutralización del radical fue paulatina. El nombre del programa en el EPACH (Electrolítico Protón Asistida Celuloide Hidrólisis) es DPPH cinética.

Se estableció el tiempo en el cual el valor de la absorbancia permaneciera constante.

Se tomó este valor para hacer la relación a tiempo final.

Se modificó el tiempo de lectura del programa DPPH punto final del software Gen 5.

Como las muestras son extractos de plantas, se expresaron los resultados como equivalentes de DPPH/g de material, utilizando el número de Avogadro para su

cálculo, basándose en la concentración de la solución de radical y la cantidad de solución que reaccionó con la muestra.

Para graficar los datos, se emplearon las relaciones de absorbancia (curva de calibración), o bien el % de reducción del radical que se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Reducción de Dpph} = \frac{(A_c - A_m)}{A_c} \times 100$$

Donde: A_c = es la absorbancia control (DPPH-Metanol)

A_m = es la absorbancia de la muestra

6. 2 Etapa 2 Ensayo in Vivo

6.2.1 Selección e inducción de diabetes tipo II

El material biológico requerido consistió en 50 ratones machos jóvenes de la raza arábica, a los cuales se les indujo DM2 con estreptozotocina (EZT), de acuerdo con lo propuesto (Aguilar Cuestas, 2001), utilizando una concentración de 35 mg/kg de EZT por peso del animal. El peso de los especímenes osciló entre 20 y 25 g.

La solución de EZT se preparó usando agua bidestilada como diluyente, trabajando en contenedores completamente estériles y mantenida al resguardo del contacto con la luz a fin de que no sufriera degradación.

Para aplicar la EZT a los ratones, se realizó vía intraperitoneal (v.i.p).

Los animales fueron resguardados en las instalaciones de una clínica veterinaria. El sitio fue acondicionado para que la estancia de los animales fuera lo más adecuada posible.

Se utilizaron 5 jaulas con capacidad de 10 galones, las cuales fueron dotadas con un bebedero de capacidad de 30 mL y aserrín. La dieta de los animales consistió en alimento para rata y se les proporcionó agua de la red municipal.

6.2.2 Determinación de glucosa durante el proceso de inducción a Diabetes mellitus tipo 2.

Se dejaron a los animales en un periodo de ayuno de 4-5 horas anteriores a la toma de muestra para las lecturas de glucosa en sangre. Para la realización de estas pruebas se utilizó el sistema de autocontrol de la glucosa Accu-Chek® Active de la

marca Roche, el cual funciona con la ayuda de unas tirillas Accu-Chek® de la marca Roche, a las cuales se les añadió una pequeña gota de sangre obtenida de una punción en la base de la cola de los animales, la tirilla con sangre se introdujo en el equipo para obtener los valores de glucosa en sangre de cada uno de los animales. Esta prueba se realizó cada 7 días por un periodo de 21 días, tomando una muestra al tiempo cero antes de la administración del medicamento.

Adicionalmente se llevó el registro de peso durante todo el tiempo del ensayo.

6.2.3 Empleo de las dosis adecuadas

Para la preparación de la dosis a administrar a los animales se experimentación se prepararon dos soluciones madres una para el extracto de *Psittacanthus calyculatus* y otra para *Phoradendron tomentosum* que contenga 0.01 mg /ml de fenoles, de acuerdo a los resultados presentados posteriormente. De ahí se mezclan en las mismas proporciones una alícuota de cada una de las mezclas a fin de tener una mezcla 0.01 mg/ml de fenoles provenientes de ambas plantas.

La solución madre se diluye nuevamente con cuatro partes de solución madres mas 6 partes de agua purificada obteniendo así una concentración de 0.004 mg/ml. Dicha solución se colocó en los bebederos a fin de ser ingerida por los ratones. La ingesta del líquido fue vigilada a obtener un consumo promedio por día de entre 6 y 7 ml de acuerdo al peso del ratón que equivale a un consumo de 1mg por kg de peso corporal, ya que es la dosis referida como adecuada para lograr los beneficios pretendidos. (Beecher, 2003; Serrano, 2009).

Una vez concluida esta prueba se les suministró la a los animales de experimentación una dosis sin diluir de la solución madre.

7. Resultados y Discusión

7.1 Compuestos fitoquímicos de la infusión

Las hojas de las plantas de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*, después de haber pasado por el proceso de secado de estufa y de elaborar una infusión acuosa de cada una de las plantas, fueron sometidas a pruebas colorimétricas para determinar la presencia de los compuestos de interés y los resultados fueron los que se muestran en la tabla 4.

En ambas plantas se determinó la presencia de compuestos flavonoides, fenoles y esteroides, mientras que para *Psittacanthus calyculatus* se determinó la ausencia de glucósido cianogénico y de leucoantocianidinas, y ausencia de glucósido cianogénico para *Phoradendron tomentosum*.

En comparación con lo obtenido por Rodríguez-Acosta (2013) para el extracto de *Phoradendron tomentosum*, el analizado en el presente estudio denuncia la ausencia de leucoantocianidinas y glucósidos cianogénicos.

Tabla 4. Resultados de las pruebas de compuestos fitoquímicos de la infusión acuosa de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

Planta	Flavonoides	Leucoantocianidinas	Glucósidos Cianogénicos	Fenoles	Esteroides
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	+	+	-	+	+
<i>Phoradendron tomentosum</i>	+	-	-	+	+

7.2 Infusión después del proceso de liofilización

Las dos plantas de interés fueron sometidas también a las mismas pruebas colorimétricas anteriores, pero después de ser concentradas por un proceso de liofilización. Derivado de esto, se obtuvieron los resultados que se muestran en la (tabla 5).

Se evidenció la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, fenoles y esteroides; pero con ausencia de glucósidos cianogénicos para los dos extractos. Esto se reafirma con estudios anteriores, aunque los glucósidos cianogénicos no se evidenciaron en este estudio a diferencia de otros donde sí se encuentran presentes en *Phoradendron tomentosum*.

Tabla 5. Resultados de la prueba de compuestos fitoquímicos de la infusión después del proceso de liofilización de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

Planta	Flavonoides	Leucoantocianidinas	Glucósidos Cianogénicos	Fenoles	Esteroides
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	+	+	-	+	+
<i>Phoradendron tomentosum</i>	+	+	-	+	+

7.3 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Una vez identificada la presencia de compuestos fenólicos en las plantas de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*, se procedió a su cuantificación y los resultados se observan en la tabla 6, donde se señala que en *Psittacanthus calyculatus* la cantidad de compuestos fenólicos por mL de solución es de 1.40 mg mientras que Rodríguez Acosta, (2013) logró cuantificar 0.520 mg/mL; y en el caso de *Phoradendron tomentosum* solo se obtuvieron 1.20 mg, mientras que

la misma autora logró detectar una cantidad de 0.535 mg/mL. La variación que se puede ver en ambos estudios puede ser ocasionada por una serie de variantes como la temporada en que se recolectó la muestra, el riego al que fue sometida la planta: exposición al sol o proceso de secado, ya que en esta investigación se utilizó el proceso de liofilización, del cual se hace énfasis en que es un método que no altera cualitativa o cuantitativamente la composición química, así como también preserva la muestra de cambios enzimáticos, biológicos y químicos (CRAI 2014).

Tabla 6. Resultados de las pruebas cuantitativas de los compuestos fenólicos totales de las infusiones de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

Planta	Fenoles (mg/mL)
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	1.40
<i>Phoradendron tomentosum</i>	1.20

7.4 Compuestos flavonoides totales

Una vez detectada la presencia de compuestos flavonoides en las plantas de interés, se realizó la prueba para la cuantificación de los compuestos y los resultados arrojados fueron los que se muestran en la tabla 7.

Se logró determinar que para *Psittacanthus calyculatus* la cantidad de flavonoides totales es menor en comparación con *Phoradendron tomentosum*, ya que la primera tiene un valor de 0.1925 mg/mL y la segunda un valor de 1.20 mg/mL.

En comparación con resultados reportados por Rodríguez-Acosta (2013), para *Psittacanthus calyculatus* fue de 1.217 mg/mL y en *Phoradendron tomentosum* 2.033 mg/mL. Esto hace evidente una notable diferencia, pero también señala que en las

dos investigaciones la planta que presenta una mayor cantidad de flavonoides totales es la que corresponde a *Phoradendron tomentosum*.

Tabla 7. Resultados de las pruebas cuantitativas de los compuestos de flavonoides totales de los extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

Planta	Flavonoides (mg/mL)
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	0.19
<i>Phoradendron tomentosum</i>	1.20

7.5 Prueba de actividad antioxidante por el método de DPPH por micro placa

Una vez corroborada la presencia de compuestos fenólicos, se procedió a determinar el porcentaje de los compuestos de interés con actividad antioxidante, los cuales se muestran en la tabla 8.

El porcentaje que realmente ejerce una actividad antioxidante para *Psittacanthus calyculatus* es del 87.35%, mientras que para *Phoradendron tomentosum* solo se alcanza un 86.23%, valores que son de suma importancia para establecer una dosis ideal para el consumo de dichos extractos.

Tabla 8. Resultados de las pruebas de actividad antioxidante por el método de DPPH por microplaca a 30 ppm de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

Planta	% Reducción
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	87.35
<i>Phoradendron tomentosum</i>	86.23

7.6 Variaciones en los niveles de peso y glucosa de ratones en tratamiento con estreptozotocina.

Las hembras lograron obtener ganancia de peso a los 10 días, en un promedio del 6% en comparación a los machos, que presentaron un descenso del 5% en relación a su peso inicial; mientras que los niveles de glucosa en este periodo de días fue: en hembras de 180 mg/dL y en machos de 185mg/dL.

Después de un periodo de 20 días se volvieron a tomar estos mismos datos, arrojando como resultado que las hembras alcanzaron un incremento de peso de un 20% con un nivel de glucosa de 203mg/dL, mientras que los machos incrementaron en un 9% su peso y su nivel de glucosa en promedio fue de 215 mg/dL, todos estos resultado se muestran en la (tabla 9).

Tabla 9. Niveles de glucosa en sangre y valores de peso en gramos durante el tratamiento con estreptozotocina en ratones.

	Niveles iniciales		Niveles a los 10 días de tratamiento		Niveles a los 20 días de Tratamiento	
	Peso gr	Glucosa mg/dL	Peso (g)	Glucosa mg/dL	Peso (g)	Glucosa mg/dL
Hembras	24	100	25.44	180	28.8	203
Machos	23	98	21.85	185	25.07	215

7.7 Índice de glucosa después de que se les subministro extracto de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*, por un periodo de 14 días.

Los resultados de la (imagen 27) y (tabla 10) muestran que los extractos sí pueden ejercer un poder de reducción de los niveles de azúcar en sangre en ratas que presentan un cuadro clínico de Diabetes tipo II, como ya se ha demostrado en el estudio para *Phoradendron tomentosum* realizado por Aguilar-cuestas (2011). El efecto de reducción que ejerce el extracto de *Phoradendron tomentosum* es de 34.5 mg/dL para un periodo de 14 días.

En lo que respecta a *Psittacanthus calyculatus* el poder reductor es mucho más alto con un promedio de 49.5 mg/dL (casi 50 mg/dL) en 14 días, lo que denuncia su actividad antioxidante ya reportada por Rodríguez-Acosta (2013).

Para los animales que quedaron sin tratamiento, sus niveles de glucosa presentaron un incremento de 18 mg/dL al terminar el monitoreo.

Tabla 10. Niveles de glucosa con cada uno de los tratamientos.

TRATAMIENTO	GLUCOSA INICIAL mg/dL	GLUCOSA A 9 DIAS mg/dL	GLUCOSA A 14 DIAS mg/dL
<i>Phoradendron tomentosum</i>	195	160	126
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	200	139	101
Sin tratamiento	190	198	208

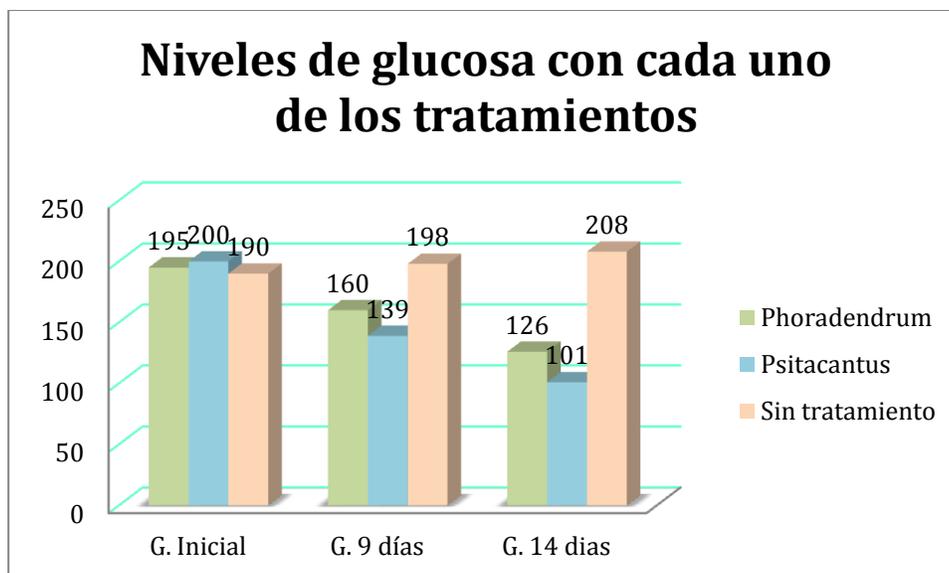


Imagen 26. Niveles de glucosa con cada uno de los tratamientos.

7.8 Necropsia a ratones

Finalizado el bio-ensayo se realizaron los sacrificios de los animales, a los cuales se les había suministrado una cantidad 6 veces mayor a la recomendada de los extractos de las plantas en estudio. El procedimiento fue realizado de la forma más humana posible, la cual consistió en provocar intoxicación paulatina a los sujetos de estudio con CO₂.

Ya sin signos vitales, se les realizó una necropsia, en la cual se observaron los órganos que presentaron daños evidentes. Adicionalmente se registraron los daños externos, observados durante el transcurso del ensayo. Las observaciones registradas se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Daños físicos y daños internos en ratones.

Daños físicos	Daños internos
Perdida de peso (machos)	Corazón muy dañado
Aumento de peso (hembras)	Tumores en páncreas
Envejecimiento	Aparato digestivo dañado
Ceguera	Sangre con color muy oscuro
Perdida de pelo	
Decaimiento	
Tumoraciones	
Desequilibrio	

8. Conclusiones.

Los extractos liofilizados de *Psittacanthus calyculatus*, y de *Phoradendron tomentosum* cuentan con compuestos bio-activos como flavonoides, esteroides, leucoantocianidinas y fenoles.

La capacidad antioxidante de los extractos de *Psittacanthus calyculatus*, y de *Phoradendron tomentosum*, es elevada; con niveles de 87.34 y de 86.22 Para cada uno de los extractos liofilizados.

La administración de estreptozotocina induce la diabetes en ratones sanos logrando hasta 203 mg/dl en hembras y 215 mg/dl en machos después de 20 días de tratamiento.

La ingesta durante 14 días, de 1 mg/kg de peso corporal al día, de fenoles provenientes de extractos de las plantas en estudio permitió el decremento en los niveles de glucosa de ratones diabéticos desde 195 hasta 126 mg/dl para las hembras y de 200 a 101 mg/dl para los machos.

Una ingesta excesiva de 6 veces la dosis diaria recomendada de fenoles procedentes de *Psittacanthus calyculatus*, y de *Phoradendron tomentosum* dejaron en evidencia daños físicos, asociados a la misma, como son envejecimiento, decaimiento y desequilibrio, así como daños internos: corazón y aparato digestivo dañados y coloración anormal de la sangre (coloración oscura).

9. Bibliografía:

1. Calderón Montero, Alberto. "Epidemiología, genética y mecanismos patogénicos de la diabetes mellitus." *Revista española de cardiología*, 2007: 3-11.
2. Col, Fernández-Saavedra &. «Modelos experimentales utilizados para el estudio e investigación de la Diabetes Mellitus.» *2º Congreso Nacional de Química Médica*. 2007. [www.respyn.uanl.mx/...2007/.../22_fernandez-saavedra_y_col.\(a\).pdf](http://www.respyn.uanl.mx/...2007/.../22_fernandez-saavedra_y_col.(a).pdf) (último acceso: 1 de Agosto de 2015).
3. CRAI. «Grupo GIDOLQUIM.» *Técnicas y Operaciones Avanzadas en Laboratorio Químico (TALQ)*. 2014. www.ub.edu/talq/es/node/261 (último acceso: 22 de Octubre de 2015).
4. López de Cerain, Adela, Ana Gloria Gil, and José Bello. *Alimentos con sustancias tóxicas de origen natural: Plantas superiores alimenticias: Toxicología alimentaria*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, 2012.
5. Alvino De La Sota, Nora, Javier Pacheco Calderón, and Carla Galli Rigo-Righi. "Diseño de Agentes Antidiabéticos de Vanadio: Desarrollo y Avances Recientes." *Revista de Química*, 2007: 37-48.
6. "agro.unlpam.edu." *agro.unlpam.edu*. www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/sustancias_fenolicas.pdf (accessed 2014 -1-Abril).
7. Aguilar, Cuestas, y Gloria. «Determinación de la Actividad Hipoglucemiante de Phoradendron Tomentosum (DC) Engelm, Sobre un Modelo de Ratas Diabeticas de Experimentación.» *Tesis*. Monterrey, Nuevo León: Universidad Autonoma de Nuevo León, Febrero de 2001.
8. —. «Determinación de la Actividad Hipoglucemiante de Phoradendron Tomentosum (DC) Engelm, Sobre un Modelo de Rt.» 11.
9. Anonimo. "Diabetes Mellitus: Defenición y Etiopatogenia." *Diabetes Mellitus: Defenición y Etiopatogenia*. <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/IntegradoTercero/ApFisiopSist/nutricion/NutricionPDF/DiabetesMellitus.pdf> (accessed 2014 -15-Mayo).
10. Anonimo. *Fundación para la diabetes*. 2007. http://www.fundaciondiabetes.org/diabetesinfantil/la_diabetes/que_es_la_diabetes.htm (accessed 2014 -7-Abril).
11. *Asociación Mexicana de Diabetes* . <http://www.amdiabetes.org/index.php> (accessed 2014 -21-Mayo).

12. B. Oberg, Erica, et al. "Patient-Reported Experiences with First-Time Naturopathic Care for Type 2 Diabetes." *PLOS one*, 2012: Volumen 7, tema 11.
13. Bello, Andrés. *Introducción a la química industrial: fundamentos químicos y tecnológicos*. Santiago de Chile: Andrés Bello, 1960.
14. Bornás Acosta, Soledad. *Efecto hipoglucemiante y antioxidante del extracto acuoso de Psidium guayaba (Guayaba) en ratas diabéticas*. Tacna, Perú: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, 2003.
15. Bradley, Ryan, et al. "Adjunctive naturopathic care for type 2 diabetes: patient-reported and clinical outcomes after one year." *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
16. D. Young, Christine, Boyd Dr. Metzger, and Northwestern University School of Medicine Professor of Medicine. "Anatomical Chart Co., Skokie, Illinois." *Comprendiendo la Diabetes*. Taiwan, 1999.
17. F.A., Tomás-Barberán. «Alimentación, Nutrición y Salud.» *Los polifenoles de los alimentos y la salud*. 2003.
18. Fernández, Temistocles. *Manual de Patología médica y Fitoterapia*. España: Amábar, S.L., 2000.
19. Gil Hernández, Ángel, and María Dolores Ruiz López. *Tratado de Nutrición, Tomo II Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. Madrid: Medica Panamericana, 2010.
20. Gutiérrez Avella, Dora Marina, Christopher Alberto Ortiz García, and Arturo Mendoza Cisneros. "Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal." *Simposio de Metrología*. Querétaro, 2008. 5.
21. Hernández Rodríguez, Manuel, A Sastres Gallego, and H Hernández Rodríguez. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Diaz de Santos, 1999.
22. Koolman, Jan, and Klaus-Heinrich Rohm. *Bioquímica: texto y atlas*. Madrid: Panamericana, 2004.
23. Martínez M, Alejandro. *farmacia.udea*. 2005 йил Septiembre. <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001> (accessed 2014 -7-Abril).
24. Mataix Verdú, José. *Tratado de Nutrición y Alimentación. VOL.2. Situaciones Fisiológicas y Patológicas*. España: Editorial Oceano, 2013.

25. Mendoza Patiño, Nicandro. *Farmacología médica*. México: Editorial Médica Panamericana, 2008.
26. Montalvo Arenas, César Eduardo. "Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Celular y Tisular." *Biología Celular e Histología Médica. Tejido Adiposo*. 2010 18-October. http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal%20de%20Recursos%20en%20Linea/Apuntes/tejido_adiposo_2010.pdf (accessed 2014 -30-Mayo).
27. O'Gorman, David. *¡A tu Salud!: Los Sorprendentes Efectos Preventivos y Terapeúticos*. Málaga, España: Editorial Sirio, S.A., 2003.
28. *Organización Mundial de la Salud*. 2012 Septiembre. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/> (accessed 2014 -20-Mayo).
29. Otero López, M.J, R. Martín Muñoz, R Santos Ramos, F. Puigventós Latorre, and O. Delgado Sánchez. "Seguridad de Medicamentos. Importancia del proceso de selección de medicamentos en la prevención de los errores de medicación." *Farmacia Hospitalaria*, 2003: 264-270.
30. Rodríguez Acosta, María Guadalupe. *Comparación y análisis de extractos de Psittacanthus Calyculatus y Phoradendron tomentosum para su uso en el desarrollo de alimentos funcionales para diabéticos tipo 2*. Saltillo, Coahuila: Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro, 2013.
31. Sánchez Ortiz, Juan José. *suite*. 2013-03-Julio. <http://suite101.net/article/ventajas-y-desventajas-de-la-medicina-natural-o-naturopatia-a81235> (accessed 2014 -29-Abril).
32. Segura-Campos, Maira, Luis Chel Guerrero, and David Betancur Ancona. *Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias*. Yucatán, México: OmniaScience, 2013.
33. Sumit, Bansal, Syan Navneet, Mathur Pooja, and Choudhary Shivani. "Pharmacological profile of green tea and its polyphenols: a review." *Medicinal Chemistry Research*, 2011: 3347-3360.
34. Velásquez Uribe, Gladys. *Fundamentos de alimentación saludable*. Colombia: Editorial Universidad de Antioquia, 2006.
35. Beecher G. Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and intake. *J Nutr*. 2003; 133:3248S-3254S.

36. Serrano J, Punpponen-Pimi R, Dauer A, Aura A.M and Saura-Calixto F. Tannis: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53: S310-S329.

