

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on a white horse, holding a lance and a shield, set against a landscape with green hills and a blue sky. Above the knight is a golden crown with a cross on top. The entire scene is enclosed within a circular border containing the Latin motto "CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERAS OMNIBUS".

Determinación de la actividad hipoglicemiante de las hojas de *Rubusurticifolius* Poir. (Mora silvestre) y las hojas de *Rubusrosaefolius* Sm. (Frambuesa silvestre) en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina

Informe de Tesis

Presentado por

Victor Manuel Mejía Castro

Para optar al título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, mayo de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de la actividad hipoglicemiante de las hojas de *Rubusurticifolius* Poir. (Mora silvestre) y las hojas de *Rubusrosaefolius* Sm. (Frambuesa silvestre) en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina

Informe de Tesis

Victor Manuel Mejía Castro

Químico Farmacéutico

Guatemala, mayo de 2015

MIEMBROS DE JUNTA DIRETIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Lic. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

Agradecimientos

A Dios, *por la vida y las oportunidades.*

A mis padres, *por enseñarme con su ejemplo a ser una persona con valores.*

A mis hermanas y mis cuñados, *por su cariño y apoyo incondicional.*

A mi padrino y familia, *por su atención y aprecio.*

A mis amigos, *por todos los recuerdos y aventuras.*

A mi novia, *por escucharme y apoyarme.*

A mi asesora, *por su entusiasmo y optimismo.*

A mi revisora, *por sus consejos y su pasión por la investigación.*

A mis profesores, *por la confianza y sus enseñanzas.*

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, *por acogerme en el camino del saber.*

A quienes me apoyaron en esta investigación, especialmente al equipo de trabajo del Bioterio, muchísimas gracias.

Dedicatoria

A los valores,

Forjados por mis padres, Antonia y Víctor.

Al apoyo incondicional,

Brindado por mis hermanas, Andrea y Regina.

A la familia,

Que con su ejemplo de trabajo me enseñaron a ser humilde y perseverante.

Al corazón,

Que encuentro siempre en mi novia, María Isabel.

A quienes ya no están,

Para que su recuerdo nos acompañe siempre, en nuestra lucha por ser mejores.

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. ANTECEDENTES.....	4
4. JUSTIFICACIÓN.....	26
5. OBJETIVOS.....	27
6. HIPÓTESIS.....	28
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
8. RESULTADOS.....	34
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	38
10. CONCLUSIONES.....	41
11. RECOMENDACIONES.....	42
12. ANEXOS.....	43

1. RESUMEN

En este estudio, se determinó la actividad hipoglicemiante de dos especies vegetales del género *Rubus*. Se utilizaron ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina (STZ) para evaluar la actividad hipoglicemiante de los extractos acuosos de las hojas secas de las especies *Rubusrosaefolius* y *Rubusurticifolius*. Los resultados demuestran que en las ratas tratadas con STZ los valores de glucosa se encuentran por arriba de 200 mg/dl, lo que confirma la inducción de un estado hiperglicémico en los animales.

A los animales se les administraron dosis de 750 y 1000 mg/dl de los extractos acuosos de las dos especies vegetales pertenecientes al género *Rubus* citadas con anterioridad. Estos extractos fueron administrados en ayunas por vía oral utilizando sondas gástricas especiales para rata. Los valores de glucosa fueron medidos con glucómetro, tomando la muestra de sangre del extremo distal de la cola del animal. La toma de muestra se repite cinco veces; siendo la primera antes de la administración de los extractos y las siguientes cuatro mediciones se realizaron en lapsos de una hora durante cuatro horas. La metodología aquí planteada se repitió a diario durante cinco días, siendo la misma metodología la que se implementó para los grupos control positivo –en el que se utilizó insulina como medicamento de referencia- y para el grupo control negativo –en el que se utilizó agua como tratamiento.

Al finalizar el estudio se analizaron los resultados, comparando los valores de glucosa en sangre de los animales tratados con los extractos acuosos con los valores de glucosa en sangre de los animales pertenecientes a los grupos control negativo y control positivo. Los resultados indican que el extracto acuoso de *Rubusrosaefolius* no presenta actividad hipoglicemiante, mientras que el extracto acuoso de *Rubusurticifolius* si presenta actividad hipoglicemiante leve en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina.

2. INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país que posee una alta diversidad florística con un gran número de especies endémicas que su distribución está restringida por barreras que rodean su lugar de origen y que solamente se encuentran allí y en ninguna otra región del mundo. Dentro de las diferentes especies vegetales que se encuentran en nuestro país, algunas plantas han sido utilizadas con diversos fines dentro de las comunidades guatemaltecas. Este conocimiento ha sido transmitido de generación en generación, y aunque se ha ido perdiendo conforme pasa el tiempo, aún prevalece en la actualidad (MacVean, A., 2006).

Numerosas plantas que crecen de forma silvestre en los bosques y campos abiertos, conforman parte tanto de la medicina tradicional como de la gastronomía de las poblaciones rurales. La medicina tradicional, particularmente, el uso de las plantas tiene gran relevancia en la sociedad guatemalteca, al ser uno de los recursos terapéuticos más frecuentado. Sin embargo, la falta de estudios sistemáticos y científicos de estos recursos terapéuticos, conlleva a un sesgo en la información y dificulta que los productos naturales sean una opción terapéutica viable y confiable (Cáceres, 2009). En este plano, la investigación de las especies vegetales adquiere un importante valor, ya que es importante respaldar con hechos científicos los usos populares que se le atribuyen a la flora en general.

Los usos populares de las plantas por lo tanto deben ser amparados por la investigación científica, en aras de fortalecer la terapia y alcanzar una mejor atención para con los pacientes. En el presente trabajo se realiza la investigación del uso de las hojas de dos especies vegetales presentes en Guatemala, *Rubusurticifolius* Poir (Mora silvestre), y *Rubusrosaefolius* Sm. (Frambuesa silvestre), para el control de la hiperglicemia. Ambas especies pertenecen al género *Rubus*, un género perteneciente a su vez a la familia Rosaceae. Las especies de este género se caracterizan por presentar frutos tradicionalmente conocidos como zarzas o 'berries', conformados por múltiples drupas.

La hiperglicemia es el signo característico de la diabetes, una enfermedad metabólica que tiene complicaciones bastante serias y clínicamente difíciles de tratar. El uso de preparados naturales es sin duda un abordaje terapéutico clínicamente relevante y que en la actualidad ha despertado interés dentro del campo de la investigación. La determinación de la actividad hipoglicemiante de las especies vegetales, conforma la base científica que a futuro va a respaldar los usos clínicos de los productos derivados de la naturaleza. Esto incluye las dos especies del género *Rubus* que antes se mencionaron.

3. ANTECEDENTES

3.1. DIABETES MELLITUS

La Diabetes mellitus (DM) es una patología caracterizada por la hiperglucemia, un aumento desproporcionado de glucosa en la sangre, por consecuencia de defectos en la secreción o en la acción de la insulina. Al afectar el metabolismo de la glucosa, la diabetes mellitus comprende una alteración metabólica crónica, que resulta en daño a largo plazo, disfunción y fallo de varios órganos, tales como los ojos, los riñones, el corazón y los vasos sanguíneos (Asociación Americana de la Diabetes, 2007).

Además de ser un desorden metabólico, la DM es una enfermedad de relevancia social, pues las consecuencias tanto de la enfermedad como del tratamiento requerido, generan cambios en la dinámica de cada paciente diabético, lo que conduce a cambios mayores al afectar la relación de los pacientes con su familia y sus amigos (Zarate T.A., 1991).

En relación al aspecto social de la diabetes cabe mencionar el aspecto económico que esta alteración metabólica implica, ya que los costos directos como indirectos ligados a la diabetes, representan un verdadero problema para el sector salud no únicamente en Guatemala, sino que a nivel mundial.

En México, durante el año 2013 los costos directos e indirectos por tratamiento de la diabetes ascendieron a 7.8 millones de pesos, lo que equivale aproximadamente a 4.7 millones de quetzales.

En Guatemala no se cuenta con números sólidos que provean un estimado acertado del número de diabéticos que existen en el país. Para el año 2013 se estimaba más de un millón de pacientes diabéticos en el país, cifra que según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) se podría duplicar debido a los subregistros médicos que prevalecen en la red hospitalaria, además del hecho de que este estimado no incluye a los pacientes diabéticos que acuden a los centros hospitalarios privados y clínicas particulares. Pero el problema no se queda ahí, se complica aún más, al considerar que

cerca de la mitad de enfermos de diabetes no han sido diagnosticados, aumentando las complicaciones y muertes vinculadas a esta enfermedad (Martínez, B., 2013).

3.2.FISIOPATOLOGÍA

La diabetes, como ya se mencionó, es una condición patológica en la que prevalece un nivel aumentado de glucosa en sangre lo que conlleva a un desorden metabólico que tiene repercusiones sobre diferentes órganos, siendo las complicaciones de la enfermedad bastante difíciles de tratar.

La diabetes se clasifica en dos tipos, Diabetes mellitus Tipo I o insulino dependiente y Diabetes mellitus Tipo II o No-Insulino dependiente. Cada tipo de diabetes se discute a continuación.

3.2.1. DIABETES MELLITUS TIPO I

La Diabetes mellitus Tipo I (DM-1) también es llamada ‘Diabetes Insulino-Dependiente’. Este tipo de Diabetes puede ocurrir a cualquier edad, pero es diagnosticada principalmente durante la infancia o la adolescencia. La causa exacta de este tipo de diabetes no se conoce a exactitud, pero se considera como la causa más probable un trastorno autoinmunitario en el que las células productoras de insulina, las células beta del páncreas, son afectadas. Por lo tanto, la producción endógena de insulina desaparece casi por completo siendo necesaria la administración de insulina exógena para controlar la glucemia, evitar la cetoacidosis diabética y sostener un funcionamiento normal (Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU, 2013).

La DM-1 ocasiona una producción baja o nula de insulina, la hormona que permite que la glucosa ingrese a las células del cuerpo. A causa de esto ocurre un aumento de la concentración de glucosa en el torrente sanguíneo, dejando que la glucosa se una a lipopolisacáridos y a la hemoglobina favoreciendo la formación de ateromas. Además, puesto a que no se puede usar la glucosa como combustible metabólico, otras biomoléculas como los lípidos y las

proteínas son utilizadas, produciendo un incremento en la formación de AcetilCoA (ACoA) los cuales saturan el ciclo de Krebs, forzando al ACoA a entrar a la ruta de biosíntesis de cuerpos cetónicos. El incremento de cuerpos cetónicos genera complicaciones realmente serias que pueden llevar a la defunción del paciente (Nolte, M.S., 2011).

3.2.2. DIABETES MELLITUS TIPO II

Al igual que la DM-1, la Diabetes mellitus tipo II (DM-2) es una enfermedad de carácter crónico, en la cual hay niveles elevados de glucosa en la sangre. Este tipo de diabetes se conoce también como 'Diabetes mellitus No-Insulino dependiente' (DMNID) y comprende el tipo más común de esta enfermedad, en una relación 85:15 con la DM-1. La DM-2 se define, según la Asociación Americana de Diabetes (ADA) como un nivel de glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dl o bien, a un nivel de glucosa >200 mg/dl luego de 2 horas de haber ingerido alimentos (Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU, 2013).

A diferencia de la DM-1, la cual se debe a una deficiencia de insulina, la DM-2 es causada por una resistencia a las acciones de la insulina. Esta resistencia a la insulina es compleja y puede deberse a un daño en los receptores de insulina, por predisposición genética o por una causa externa. Es importante resaltar el hecho de que la mayoría de los pacientes diabéticos tipo 2 presenta sobrepeso al momento del diagnóstico. Este sobrepeso favorece la resistencia a la insulina, por lo tanto un bajo nivel de actividad física y una ingesta excesiva de grasas y carbohidratos, son factores adquiridos que aumentan el riesgo de padecer DMNID.

La fisiopatología de la DM-2 recae por tanto en la Resistencia a la Insulina, alteración metabólica cuya etiología involucra factores genéticos como factores adquiridos. Algunos factores adquiridos, como la baja actividad física, la dieta deficiente, la edad avanza (más de 40 años), la hipertensión arterial predisponen la resistencia a la insulina. Pero son los factores genéticos,

auténticos predisponentes de la resistencia insulínica. Por ejemplo, trastornos humanos como la obesidad o la hiperglucemia están ligados a la pérdida de función de genes únicos, tales como los genes de la leptina o del receptor de la leptina (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, NIDDKD, 2011).

En cuanto al tratamiento, los pacientes de DM-2 probablemente no necesiten insulina, pero cerca de 30% de los pacientes se ven beneficiados por la administración de esta hormona y logran controlar la hiperglucemia. Cabe mencionar que los pacientes diagnosticados inicialmente con DM-2 – especialmente los pacientes jóvenes- pueden en realidad ser diabéticos insulino dependientes (DM-1) e ir perdiendo la función de las células beta del páncreas y con el tiempo requerir insulino-terapia completa (Nolte, M., 2009).

La DM-2 es una enfermedad que afecta principalmente a adultos, a diferencia de la DM-1 que inicia en la niñez y adolescencia. Sin embargo, en los últimos años la prevalencia de DM-2 en la juventud ha ido en aumento a nivel mundial, junto con el aumento global de la obesidad. Este incremento es alarmante puesto que las complicaciones en jóvenes con Diabetes mellitus tipo 2 ocurren antes que en jóvenes diabéticos tipo 1 (Dart, A. et Al., 2014).

3.3. Complicaciones asociadas a la Diabetes mellitus

La diabetes es una enfermedad bastante compleja tanto por su etiología y su fisiopatología como por las complicaciones que puede llegar a producir. Y es que a pesar de que la diabetes se centra, principalmente en la hiperglucemia, esta tiene gran impacto sobre la vasculatura, ocasionando complicaciones de naturaleza microvascular y macrovascular (Valero, K., 2012). Estas complicaciones se deben a la naturaleza crónica de la Diabetes mellitus, la cual genera un deterioro del sistema vascular, siendo este daño la causa principal de morbilidad y mortalidad en los pacientes diabéticos (Sociedad Española de Medicina Interna, [SEMI], 2010, p. 101 - 111). La disminución de la esperanza de vida de los pacientes diabéticos

también mantiene una relación directa con la incidencia de estas complicaciones, especialmente las complicaciones de tipo macrovascular.

3.3.1. Complicaciones Microvasculares:

Las complicaciones microvasculares de la DM se rigen por procesos fisiopatológicos que no han sido completamente dilucidados, pero se tiene conocimiento que hay por lo menos dos hechos que están implicados en el daño vascular. El primero de estos hechos es la acumulación de metabolitos que se producen en exceso bajo condiciones de hiperglucemia, tales como el sorbitol o los productos glicosilados. El segundo hecho, son las alteraciones que ocurren sobre la microcirculación causando problemas de isquemia y la formación de nuevos vasos sanguíneos, que a su vez favorecen el desarrollo de exudación y el desarrollo de fibrosis tisular (SEMI, 2010, p. 101).

La morbilidad derivada de las complicaciones microvasculares comprende la neuropatía, la retinopatía, la nefropatía y la isquemia de extremidades inferiores. Estas han aumentado notablemente durante los últimos años, especialmente por el incremento de la obesidad a nivel mundial (Valero, K., 2012).

Cada una de las complicaciones microvasculares mencionadas se discuten a continuación.

3.3.1.1. Neuropatía diabética:

La neuropatía diabética es el resultado del daño de los nervios a causa de un conjunto de trastornos nerviosos asociados a la diabetes. Esta complicación se manifiesta en más del 60% de los diabéticos, siendo por lo tanto, una complicación de gran incidencia y de gran impacto social. Los problemas sobre los nervios se manifiestan especialmente sobre las extremidades, siendo las piernas y los pies las áreas más afectadas, aunque las afecciones pueden

tomar lugar en cualquier órgano, incluyendo corazón, tracto digestivo o inclusive los órganos sexuales (NDIC, 2011).

Etiológicamente la neuropatía diabética tiene origen en la combinación de diferentes factores, incluyendo factores metabólicos y factores plenamente neurovasculares, los cuales pueden o no estar relacionados con otras causas conocidas de neuropatía tales como el alcoholismo, enfermedades degenerativas del tejido conectivo, hipotiroidismo, enfermedades cerebrovasculares, amputación de miembros o pérdidas de la función renal y/o hepática. Estas múltiples causas llevan al paciente diabético a desarrollar las afecciones características de la neuropatía diabética, la cual puede ser clasificada en neuropatía periférica, neuropatía autónoma, neuropatía proximal y neuropatía focal, cada una diferenciada por las regiones corporales que se ven afectadas.

La neuropatía periférica, por lo general, la más común produce pérdida de la sensación en los dedos de los pies, en los pies, piernas, brazos y manos. Es el tipo de neuropatía más común entre los pacientes diabéticos.

La neuropatía autónoma, es realmente delicada pues afecta los nervios del corazón y aparato digestivo, afectando también el tracto urinario, el sistema reproductor, glándulas sudoríparas, ojos y pulmones. Una característica importante de mencionar de la neuropatía autónoma es que esta produce hipoglicemia asintomática, una condición altamente delicada en la que los pacientes ya no son capaces de percibir los síntomas de la hipoglicemia, pudiendo llevar al paciente a un coma y a la muerte.

Cuando los síntomas de la neuropatía afectan específicamente las extremidades inferiores; las caderas, los muslos y los glúteos, se habla de la neuropatía proximal, un tipo de neuropatía caracterizada por la sensación de debilidad en los miembros inferiores. Este tipo de neuropatía es más común en

personas de edad avanzada, ya que el proceso de desgaste del cuerpo favorece el desarrollo de este tipo de complicación.

El tipo de neuropatía faltante es la Neuropatía focal, un tipo de neuropatía de aparición repentina que afecta casi siempre los nervios del cráneo, del torso y las piernas, siendo capaz de provocar diplopía, dolor en el pecho y la parte alta del abdomen, dolor en la parte baja de la espalda, pérdida de movimientos oculares lo que causa visión borrosa y cefaleas constantes. A pesar que este tipo de neuropatías es repentina, no suele causar daño a largo plazo (NDIC, 2011).

3.3.1.2. Retinopatía diabética:

La Retinopatía diabética es una de las consecuencias más conocidas de la Diabetes mellitus. Esta complicación se caracteriza por un daño sobre los vasos localizados en el tejido ocular, ocasionando pérdida de la visión y ceguera en la población diabética. Según la Organización Mundial de la Salud, la Retinopatía Diabética afecta a más de 150 millones de personas alrededor del mundo, estimando que este valor podría duplicarse para el año 2025 (Gupta, N., 2013).

Los problemas de visión generados por la Retinopatía diabética, pueden complicarse aún más, siendo el Edema Macular la principal complicación de la Retinopatía diabética. Esta agravación, consiste en un conjunto de cambios que se manifiestan como derivaciones arteriovenosas y neovascularizaciones. Este problema afecta a diabéticos insulino-dependientes, pero afecta con mayor incidencia a diabéticos no Insulino dependientes. El Edema Macular es una patología de la retina, pero los cambios vasculares se pueden presentar en diferentes partes del ojo conforme avanza la enfermedad, dando lugar al glaucoma de ángulo cerrado al verse comprometido el ángulo, el iris o el disco del ojo (Gupta, N., 2013).

3.3.2. Complicaciones Macrovasculares:

Este tipo de complicaciones constituyen la principal causa de morbi-mortalidad en pacientes diabéticos alrededor del mundo, ya que aproximadamente 65 % de los pacientes diabéticos padece de enfermedad cardíaca o cerebrovascular, siendo por lo tanto la incidencia de muerte cardiovascular marcadamente mayor en diabéticos que en no diabéticos. Las complicaciones macrovasculares ligadas a la diabetes comprenden la enfermedad de la arteria coronaria, la enfermedad arterial periférica y la enfermedad cerebro vascular (Isea, J., 2012).

3.3.2.1. Enfermedad Arterial Coronaria:

La Enfermedad Arterial Coronaria (EAC), es la principal causa de muerte de hombres y mujeres en países desarrollados, siendo la enfermedad cardíaca de mayor incidencia en estos países. Se caracteriza por el endurecimiento de las arterias que suministran la sangre al tejido cardíaco. Las arterias afectadas no solamente se endurecen, sino que también se estrechan, complicando el flujo normal de sangre a través de la arteria.

La causa de esta enfermedad es verdaderamente compleja, ya que no consiste únicamente en la acumulación de colesterol en las arterias, sino que involucra diferentes factores de riesgo, células sanguíneas y mensajeros moleculares, que son liberados por el mismo organismo por una respuesta inmunológica o a un proceso patológico. Uno de los factores de riesgo es la diabetes mellitus debido a que la hiperglicemia produce compuestos que aumentan la expresión de moléculas de adhesión que promueven la adherencia de los leucocitos de la sangre a la superficie interior de la pared arterial, lo que facilita la formación de la placa ateromatosa (Libby, P., 2005).

La formación de esta placa es un proceso largo, que puede tardar años sin que el paciente presente problemas cardíacos perceptibles, pero una vez que se ha formado el ateroma, el bloqueo de la arteria coronaria puede resultar en ataques cardíacos, problemas de angina de pecho, arritmias e insuficiencia cardíaca.

3.3.2.2. Enfermedad Arterial Periférica:

La Enfermedad Arterial Periférica (EAP) es una manifestación de la aterosclerosis la cual afecta diferentes lechos vasculares, siendo una enfermedad mayoritariamente asintomática. Comparte los factores de riesgo de la EAC, pero el tabaquismo y la diabetes mellitus son los factores de mayor importancia. Otros factores son el síndrome metabólico, la presión arterial alta, dislipidemias, problemas de coagulación y la arteriosclerosis evolutiva de extremidades inferiores. Los síntomas de la EAC por los síntomas característicos, manifestados como dolores repentinos en el músculo o grupo de músculos de las extremidades inferiores asociado a esfuerzos físicos de rutina, los cuales cesan luego de descansos breves (Isea, J., Vilorio, J.L., et al., 2012).

3.3.2.3. Enfermedad Cerebrovascular

Con el aumento de pacientes diabéticos, durante la última década, el riesgo de padecer de enfermedad cerebro-vascular ha aumentado, a tal punto que el ictus es un evento común de morbilidad y mortalidad. Además del riesgo de ictus, los de ataques de isquemia transitoria presentan un riesgo significativamente mayor en los pacientes diabéticos que en el resto de la población. Si bien, la diabetes se asocia íntimamente con la hipertensión y la dislipidemia, también es un factor de riesgo independiente para ictus, duplicando el riesgo de presentarlo en comparación con los no diabéticos. La combinación de diabetes e hipertensión arterial aumenta el riesgo de ictus seis veces más que en los

pacientes no diabéticos y dos veces más que en los diabéticos normotensos (Isea, J., Vilorio, J.L., et al., 2012).

3.4. TRATAMIENTO DE LA DIABETES:

3.4.1. TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO:

La diabetes mellitus es una enfermedad compleja la cual requiere de un conjunto de medidas tanto farmacológicas como no farmacológicas para poder controlar las alteraciones metabólicas generadas por esta enfermedad. Desde este punto de vista, las medidas no farmacológicas adquieren una importancia terapéutica igual o mayor a las medidas farmacológicas.

Las principales medidas no farmacológicas implicadas en el tratamiento óptimo de la diabetes comprenden básicamente la dieta y el ejercicio. Estas dos medidas aplicadas apropiadamente son suficientes durante las primeras etapas de la enfermedad (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, [CGCOF], 2010, p. 14).

La dieta adecuada para los pacientes diabéticos se basa en una disminución en la ingesta de grasas y carbohidratos, lo cual se logra adoptando dietas bajas en calorías (SEMI, 2010, p. 92).

La actividad física por su parte contribuye a regular el consumo de glucosa del cuerpo, disminuye la resistencia a la insulina logrando una mejor respuesta de las células a esta hormona.

3.4.2. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

3.4.2.1. Insulinoterapia:

La insulina es una proteína que consta de 51 aminoácidos, dispuestos en dos cadenas unidas por enlaces de disulfuro. Este compuesto es liberado por las células beta del páncreas, en respuesta a la glucosa u otros tipos de azúcares, aminoácidos glucogénicos, el péptido insulínico dependiente de glucosa – GIP, colecistocinina y la actividad vagal (Nolte, M.S., 2011). El Anexo No. 4a

muestra cómo está estructurada la insulina y el Anexo No. 4b expone los diferentes tipos de insulina disponibles en el mercado.

3.4.2.2. Antidiabéticos orales:

Los antidiabéticos orales son medicamentos comercializados para controlar los niveles de glucosa en sangre en pacientes diabéticos. En la actualidad existen diferentes tipos de fármacos antidiabéticos (Nolte, M.S., 2011). En el Anexo No. 5 se detallan las diferentes clases de estos medicamentos.

3.5. INVESTIGACIÓN FARMACOLÓGICA

3.5.1. MODELOS ANIMALES DE DIABETES

El uso de animales en la investigación de la diabetes, tanto su fisiopatología, su etiología o en el desarrollo de nuevos tratamientos, comprende un campo realmente complejo, pues en la actualidad existen una gran variedad de modelos experimentales con los que se puede estudiar la diabetes mellitus en diferentes animales.

Los animales utilizados en la investigación de la diabetes desarrollan el síndrome de resistencia a la insulina y la diabetes tipo I o tipo II, así como sus complicaciones características, de manera similar a como ocurre en seres humanos. Estos modelos abarcan una gran variedad de especies de animales, tanto roedores como no roedores. Cada modelo presenta diferencias que ayudan a clasificar los modelos experimentales según sus causas, siendo las causas más frecuentes la alteración genética, la inducción experimental y la inducción nutricional. De esta manera, los modelos experimentales se pueden clasificar en cinco categorías:

- 1) Modelos espontáneos o derivados genéticamente
- 2) Modelos de diabetes inducida por dieta
- 3) Modelos de diabetes inducida por químicos
- 4) Modelos de diabetes inducida quirúrgicamente
- 5) Modelos de diabetes de origen transgénico

3.5.2. Modelos espontáneos de diabetes tipo II

En este tipo de modelos animales, el desarrollo de la diabetes tipo II es de origen espontáneo, en donde el factor genético está altamente implicado. El desarrollo de la enfermedad en los animales bajo este modelo de investigación presenta grandes similitudes con el desarrollo de la diabetes en seres humanos.

Una de las ventajas más importantes de este tipo de modelos animales consiste en que el ámbito genético es controlable, lo que permite establecer relaciones genéticas con el desarrollo de la enfermedad.

Sin embargo, el mantenimiento de este tipo de modelos requiere procedimientos complejos y económicamente implica gastos verdaderamente elevados, sin hacer mención del alto riesgo de mortalidad debido a complicaciones propias de la diabetes.

3.5.3. Modelos de diabetes inducida por dieta:

Este tipo de modelos se basa en inducir la patología diabética a través de un tratamiento plenamente nutricional. Para esto, se busca alterar la dieta de los animales en busca de un estado de obesidad propicio para el desarrollo del síndrome diabético. Esto permite evitar la administración de sustancias químicas, haciendo de estos modelos los indicados para estudiar las relaciones de la diabetes y la obesidad en seres humanos.

Las desventajas de este tipo de modelos consiste en el prolongado tiempo que transcurre hasta establecer la obesidad en los animales, además que no todos los animales desarrollan la hiperglucemia característica de la diabetes.

3.5.4. Modelos de diabetes inducida por sustancias químicas:

La investigación de la diabetes, empleando animales diabéticos inducidos con sustancias químicas históricamente se relaciona al uso de aloxano, un

compuesto que tras su administración provoca un considerable aumento de los valores de glucosa sanguínea (Saravia, A., 2005). Sin embargo, en los últimos años el uso de aloxano se ha ido descontinuando y se ha sustituido por el uso del compuesto llamado estreptozotocina. Este tipo de modelos emplean sustancias que son selectivas por las células pancreáticas, por lo que presentan un menor índice de mortalidad por complicaciones relacionadas a la diabetes.

En comparación con otros modelos, estos son económicamente favorables y fáciles de mantener, pero a la vez la diabetes inducida puede ser inestable, reversible y los resultados pueden ser variados. A continuación se describen a detalle los modelos de diabetes inducida, según la sustancia utilizada para inducir la diabetes.

3.5.4.1.USO DE ALOXANO

El aloxano es un compuesto derivado del ácido úrico, descrito por primera vez en el año 1818 por Brugnatelli, siendo nombrado por primera vez como aloxano en 1938 por Wöhler y Liebig, quienes a su vez describieron su síntesis por oxidación del ácido úrico (Szkudelski, T., 2001). Las propiedades diabetogénicas del aloxano se reportaron por primera vez en 1943 por McLetchie y su grupo de investigación, al observar que este compuesto presenta un efecto necrótico sobre las células del páncreas y de esta manera produce estados diabéticos persistentes que pueden llegar a ser permanentes (McLetchie, N., 1943).

El aloxano destruye selectivamente las células pancreáticas, lo que genera una deficiencia de insulina, hiperglucemia y cetosis. Esto se ha reportado en diferentes especies de animales, tanto roedores como no roedores. Los animales tratados con aloxano presentan hiperglucemia severa, hiperlipidemia, glucosuria, polifagia, polidipsia y desarrollan complicaciones características de la diabetes mellitus no controlada. Uno de los problemas con el uso de aloxano como agente diabetogénico, recae en que la inducción de la diabetes y

el desarrollo de complicaciones diabéticas no es proporcional a la dosis administrada de aloxano. Además de ello, la acción del aloxano se debe a su administración por vía intravenosa, intraperitoneal o subcutánea, variando la dosis de animal a animal. En ratas por ejemplo, la dosis más utilizada es de 65 miligramos por kilogramo de peso corporal, aunque ciertos investigadores han reportado que dosis menores a 150 miligramos por kilogramo de peso son ineficaces para inducir diabetes a estos roedores. Otro factor que influye directamente en el establecimiento de la diabetes en los animales es si estos se encuentran en ayunas o no, ya que los animales en ayunas son más susceptibles al aloxano que aquellos con valores normales o elevados de glucosa en sangre. Esto aparentemente se debe al hecho de que la glucosa compite por el transportador de glucosa de las células pancreáticas, limitando la captación de aloxano por este tipo de células (Katsumata, 1993).

La captación de aloxano es mediada por el transportador GLUT2, siendo este el transportador predominante de las células pancreáticas. Dentro del páncreas, las células beta por medio de los transportadores GLUT2, captan el aloxano de manera similar a la glucosa, permitiendo su ingreso al espacio intracelular donde por generación de radicales libres se provoca el daño celular y se induce la diabetes. Existen reportes *in vitro* que demuestran que el aloxano también es captado en las células hepáticas, pero estas células son más resistentes a los radicales libres que acompañan la exposición celular al aloxano.

Otro de los problemas que han disminuido el uso de aloxano en la investigación son sus parámetros farmacológicos. Especialmente su vida media, que por ser un compuesto inestable, presenta una vida media próxima a 1.5 minutos. Sin embargo, este tiempo es suficiente para alcanzar el tejido pancreático y causar daño significativo, y así generar un estado diabético en la mayoría de los casos (Szkudelski, T., 2001).

3.5.4.2.USO DE LA ESTREPTOZOTOCINA

La estreptozotocina es un antibiótico derivado de *Streptomycesachromogenes*, siendo a su vez una glucosamina derivada de nitrosourea. En investigación es utilizada para inducir tanto diabetes tipo I como diabetes tipo II. Las dosis de estreptozotocina presentan perfiles de dosificación amplios en comparación con aloxano, y al igual que este, la estreptozotocina causa hiperglicemia por citotoxicidad directa sobre las células beta en el páncreas. El daño a las células pancreáticas es mediado por la generación de radicales libre, especialmente debido a que la estreptozotocina es donadora de óxido nítrico (NO), molécula que se ha visto involucrada en la destrucción de las células de los islotes de Langerhans. El daño ejercido por el NO sobre las células pancreáticas se ha reportado en diferentes experimentos, pero a pesar de ello esta molécula no es la única causante del daño oxidativo que produce la estreptozotocina, ya que este compuesto además estimula la producción de aniones superóxido por alteración de la función mitocondrial y un aumento de la actividad de la enzima xantina oxidasa. La estreptozotocina por tanto, detiene el ciclo de krebs, limitando el consumo de oxígeno dentro de las mitocondrias, comprometiendo la producción de ATP en las células beta del páncreas. El aumento de ADP dentro de la célula aumenta a su vez los sustratos para la enzima xantina oxidasa favoreciendo mayores concentraciones de ácido úrico y catalizando la formación del anión superóxido. De la misma manera, diferentes estudios han demostrado que la estreptozotocina tiene acción alquilante sobre las hebras de ADN, fragmentando las cadenas de material genético, aumentando la actividad de la enzima poli-ADP-ribosa-sintetasa lo que genera una restricción en la formación de energía por agotamiento de NAD, coenzima que participa en el intercambio de electrones e hidrogeniones para producir energía en todas las células. De esta manera las células mueren por privación de energía, alterando la función reguladora de las células beta sobre la concentración de glucosa en sangre.

Farmacológicamente, la estreptozotocina es un compuesto que causa alteraciones sobre la insulina y las concentraciones de glucosa. Este compuesto ingresa a las células betas pancreáticas a través del transportador de glucosa GLUT2. Una vez dentro, la estreptozotocina actúa sobre las hebras de ADN de la manera en que se explicó con anterioridad. West y su grupo de investigación reportaron estas alteraciones luego de dos horas de haber administrado la estreptozotocina por vía intraperitoneal, notándose una caída en los valores de insulina y un aumento de la concentración de glucosa en sangre. Seis horas después incide una hipoglicemia acompañada de altos niveles de insulina en sangre. Finalmente la hiperglucemia se desarrolla con la disminución de insulina en sangre, lo cual se asocia a la disminución de la biosíntesis y liberación de insulina por daño de las células beta del páncreas (West, E., 1996).

El uso de estreptozotocina además, muestra ventajas sobre el uso de aloxano en el ámbito de la investigación. Ciertas características tales como su vida media, la cual es más prolongada que la de aloxano (15 min > 1.5 min), la duración de la diabetes inducida marcadamente mayor, lo que permite dosis únicas, lo cual no es posible con aloxano. Por otra parte, el desarrollo de complicaciones propias de la diabetes ocurre en animales inducidos con estreptozotocina con baja incidencia de cetosis y mortalidad en comparación con aloxano, lo que permite el estudio del desarrollo de estas complicaciones de una mejor manera (Srinivasan, K. & Ramaro, P., 2007).

La dosis de inducción exitosa de diabetes en animales utilizando estreptozotocina parece depender de la especie, la edad e incluso la cepa. La inducción de diabetes en ratas según la literatura consultada oscila desde 35 a 60 mg/kg de peso corporal, aunque determinadas metodologías utilizan dosis mayores o menores con el mismo fin (Szkudelski, T., 2001).

En cuanto a la administración de la estreptozotocina, esta se disuelve en buffer de citrato 0.1 M, a un pH de 4.5, siendo esta la metodología más utilizada según diferentes grupos de investigación. Es altamente recomendado preparar el buffer de citrato antes de la administración de estreptozotocina. Las soluciones recién preparadas son claras de color amarillo pálido, pero las soluciones se oscurecen hasta llegar a ser de color marrón pudiendo presentar efervescencia, siendo estos, aspectos que señalan que la solución se ha descompuesto.

3.5.5. Modelos de diabetes inducida quirúrgicamente

La pancreatectomía en animales de laboratorio es un método ideado para la obtención de animales diabéticos en un ámbito plenamente experimental. De naturaleza parcial o completa, dependiendo el tipo de diabetes a investigar, diabetes tipo 2 o tipo 1, respectivamente. Existen diferentes modelos de inducir diabetes quirúrgicamente, dentro de los cuales la evolución de la diabetes varía principalmente por la especie animal utilizada. Los perros son la especie más utilizada, pero varios estudios reportan el uso de cerdos, conejos e incluso ratas. La pancreatectomía parcial corresponde a una disección del páncreas entre el 70 al 90 % de su masa. Tras el procedimiento quirúrgico se observa hiperglucemia, pero no se desarrollan manifestaciones severas de la diabetes (Srinivasan, K. & Ramarao, P., 2007).

3.5.6. Modelos de diabetes, animales transgénicos

Este tipo de modelos experimentales está ganando terreno en el campo de la investigación de la diabetes. Una de las principales razones del avance de la investigación con animales transgénicos consiste en que a través de estos modelos se puede investigar y determinar el rol de cierto grupo de genes en la fisiopatología de la diabetes.

Los animales transgénicos son obtenidos por la alteración de la expresión del gen funcional. Esto se conoce como *transgén* (Transgene en inglés). Pero

también se pueden obtener por la supresión de genes específicos, lo que se conoce como *Knockout*.

El uso de modelos experimentales con animales genéticamente manipulados es ideal para la investigación de mecanismos fisiopatológicos y farmacológicos, pero no es aconsejable para la determinación de la actividad hipoglicemiante de nuevas moléculas debido al alto coste que representa el manejo de este tipo de animales (Srinivasan, K. & Ramarao, P., 2007).

3.6. GÉNERO *RUBUS*

El género *Rubus* forma parte de los géneros comprendidos por la familia *Rosaceae*, popularmente conocida como la familia de las rosas. Esta familia alberga a más de 130 géneros, lo que equivale a más de 3000 especies vegetales, donde se incluyen hierbas, arbustos y árboles. Dentro de este género se encuentran especies vegetales de gran importancia comercial, tales como las moras, las frambuesas y las zarzas. Estas especies comprenden arbustos subleñosos, plantas rastreras, y perennes. Las hojas son alternas, pecioladas, palmaticompuestas o pinnaticompuestas, con 3 a 7 folíolos, son de margen doblemente aserrado. Una característica del género, es la presencia de estípulas concrecentes con el tallo o el peciolo. Las inflorescencias en cimas paniculiformes o racemiformes, terminales y laterales. Los frutos se forman en drupas múltiples – polidrupas, concrecentes en la base, de coloración roja, azul o negro azulado, de apariencia pruinosa (Castroviejo, S., Aedo, C., Cirujano, S., et al., 1993). El género *Rubus*, además de las características ya mencionadas, sus espinas y la disposición foliar de cada especie, facilita la correcta identificación botánica

Las flores de la familia *Rosaceae* son predominantemente actinomorfas, de apariencia bastante característica en los diferentes géneros de la familia, sin embargo existen diferencias remarcables especialmente en el posicionamiento del ovario y la formación de los frutos. Estas características difieren dentro de las diferentes subfamilias de la familia *Rosaceae*.

Una peculiaridad del género *Rubus* es la enorme diversidad morfológica que este presenta. Dentro de éste género se encuentran especies de gran tamaño, especies leñosas, herbáceas, rastreras y especies trepadoras con láminas foliares reducidas, lo que convierte a este género en uno de los géneros taxonómicamente más desafiantes de las plantas con flores. Esto se debe muchas veces a que muchas especies han sido nombradas con diferentes nombres a lo largo de la historia botánica, además de la aparición de diferentes especies híbridas, la poliploidía o la agamosperma (Lawrance, A. & Campbell, C., 1999).

3.6.1. GÉNERO *RUBUS* EN GUATEMALA

El género *Rubus* alberga especies cuya distribución es bastante amplia, lo que hace posible encontrar especies del género en prácticamente todo el mundo. En el territorio de Guatemala se han reportado al menos 18 especies vegetales pertenecientes al género *Rubus* (Standley, P., 1946), las cuales se enlistan a continuación:

- 1) *Rubus adenotrichus* Schlecht
- 2) *Rubus coriifolius* Liebm.
- 3) *Rubus hadrocarpus* Standl
- 4) *Rubus leptosepalus* Donn. Smit
- 5) *Rubus fagifolius* Schlecht
- 6) *Rubus miser* Liebm
- 7) *Rubus rosaefolius* J.E. Smith
- 8) *Rubus smithii* Rydb
- 9) *Rubus urticaefolius* Poir
- 10) *Rubus alpines* Macfad
- 11) *Rubus eriocarpus* Liebm
- 12) *Rubus glaucus* Benth
- 13) *Rubus irasuensis* Liebm
- 14) *Rubus macrogongylus* Focke.
- 15) *Rubus springlei* Rydb

- 16) *Rubusapidus* Schlecht.
- 17) *Rubustrilobus* Seringe in DC.
- 18) *Rubushadrocarpus*, forma *adenophorus* Standl & Steyerm.

Dentro de estas especies figuran *Rubusurticifolius* y *R. rosaefolius*. La primera se trata de una especie del género *Rubus* nativa del sur de México a Panamá, mientras que *R. rosaefolius* es una especie introducida, nativa de Asia, la cual se ha aclimatado en el país siendo una especie invasora.

3.6.2. Especies a investigar *R. urticifolius* y *R. rosaefolius*

3.6.2.1. *Rubusurticifolius* Poir.

La especie *R. urticifolius* Poir., conocida comúnmente como ‘Mora de montaña’, ‘Zarzamora’, o ‘Mora silvestre’, es un arbusto escandente que crece en áreas boscosas y orillas de caminos (Ver Anexo No.1). Sus frutos son comestibles, pero debido a su reducido tamaño (aproximadamente de 1.3 cm de largo) no es una especie de interés comercial. Sus tallos son moderadamente espinosos, con hojas alternas, pecioladas de 3 a 5 foliolos. El tallo y los peciolos son densamente hispídos (Nach, DI & Dieterle, JVA., 1976). Sus inflorescencias son paniculadas, variadamente pubescentes y con numerosas flores. Los sépalos tomentosos y los pétalos de color blanco.

Esta especie presenta una distribución geográfica bastante amplia, de México a Panamá, creciendo en un margen de altitud bastante amplio: desde los 1000 msnm hasta los 2100 msnm (Morales, J.F., 2006).

Las hojas de *R. urticifolius* son utilizadas popularmente en el tratamiento de las afecciones de la cavidad bucal. Este uso se encuentra respaldado por estudios realizados por la Escuela de Farmacia y Odontología, de la Universidad del Estado de Minas Gerais, Brasil. En estos estudios se demuestra la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la especie *R. urticifolius* frente a bacterias Gram positivas como Gram negativas (Silva, J. & Siqueira, A., 2000).

3.6.2.2. *Rubusrosaefolius* Sm.

Especie herbácea espinosa (Ver Anexo No.2). Sus hojas son pinnadas, con 5 a 15 foliolos, de margen dentado. Inflorescencias dobles, paniculadas o solitarias (Nach, DI &Dieterle, JVA., 1976). Es una especie nativa del sur del continente asiático, introducida en diferentes países alrededor del mundo, llegando a ser clasificada como especie invasora especialmente en las selvas tropicales, donde compite por nutrientes con las especies nativas. Sus frutos son comestibles y han sido utilizados con fines medicinales para tratar las alteraciones digestivas, dolores menstruales, náuseas y mareos (Low. T, 1990).

3.6.3. ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS DEL GÉNERO *RUBUS*

Diferentes estudios han demostrado que varias especies del género *Rubus* presentan actividad hipoglicémica en sus hojas. Entre estas especies encontramos *Rubusulmifolius*, especie utilizada popularmente en Chile como tratamiento de la diabetes y cuya actividad hipoglicemiante ha sido estudiada *in vivo*, en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina y ratas diabéticas inducidas con aloxano. Esta especie redujo significativamente la concentración de glucosa en sangre en ambos modelos de animales (Lemus, I., 1999). Otra especie es *R. imperalis*, empleada tradicionalmente en Brasil para tratar dolores fuertes y diabetes, siendo su actividad hipoglicemiante demostrada *in vivo* en ratas normoglicémicas (Anegusuku, M., 2002).

Otra especie del género *Rubus* de la cual se ha demostrado su actividad hipoglicemiante es *R. fruticosus*, especie estudiada en Marruecos en un modelo de rata normoglicémica y rata diabética inducida con estreptozotocina (Jouad, H., 2002).

3.7. ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS DE EXTRACTOS DE PLANTAS HIPOGLICEMIANTES EN GUATEMALA

En Guatemala se han hecho diferentes estudios que han ayudado a determinar la actividad hipoglicemiante de extractos vegetales, todos estos estudios han sido realizados en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos, dentro de las instalaciones del Bioterio “Dra. Amarillis Saravia Gómez”.

Principalmente se han evaluado extractos de especies vegetales, empleando un modelo de rata diabética inducida con aloxano. Los extractos así investigados incluyen las siguientes especies: *Solanum nigrescens* (Macuy), *Bixa orellana* (Achiote) y *Eupatorium semialatum* (Bacché).

Estos estudios han demostrado lo siguiente: La investigación farmacológica del extracto acuoso de las hojas de macuy demostró que dicho extracto carece de la actividad hipoglicemiante (Victoria, A., 1980). La determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto con n-hexano de la raíz de achiote si presenta la actividad hipoglicemiante (Lara, S., 1983). El estudio farmacológico del extracto acuoso de la hoja de bacché a la dosis de 1000 mg/Kg de peso corporal disminuyó significativamente los niveles de glucosa sanguínea en las ratas diabéticas inducidas con aloxano (Martínez, N. 1990).

4. JUSTIFICACIÓN

En el territorio guatemalteco, en el año 2013, se estimaban más de un millón de pacientes diabéticos pudiendo este número duplicarse debido a la existencia de subregistros médicos en el sistema de salud del país y al hecho de que este valor no contempla a los pacientes diabéticos no diagnosticados. Con base a este aspecto, la investigación de terapias costo-efectivas de carácter alternativo son necesarias no sólo como apoyo al sistema de salud, sino que también en beneficio de la identidad cultural que persiste en el país.

Cabe mencionar que el elevado costo de los medicamentos en conjunto con la falta de políticas sanitarias que busquen fortalecer la salud de la población, son dos aspectos preocupantes en materia de salud, sin mencionar que en nuestro medio, el uso de racional de medicamentos se ve opacado por una legislación que favorece a la publicidad engañosa y desmedida de los medicamentos. Estas características del sistema guatemalteco de salud respaldan la necesidad de fomentar la investigación acerca de nuevas opciones terapéuticas, especialmente enfocadas a enfermedades ligadas al desarrollo, citando ejemplos característicos, la hipertensión y la diabetes.

Recientemente, en el año 2011, Guatemala fue identificada como un país megadiverso por la Organización de Países Megadiversos Afines (por sus siglas en inglés, LMMC). Este título otorgado al territorio guatemalteco hace ver que más del 15 % de especies vegetales y más del 13 % de especies animales son endémicas. Estos datos son acompañados por una sociedad multicultural que utiliza los recursos naturales con fines medicinales. Ejemplo de esto es el uso de determinadas especies vegetales para el control del síndrome diabético. Debido a la diversa literatura que ha reportado que las especies del género *Rubus* (Familia Rosaceae) presentan un efecto hipoglicemiante, se considera relevante la investigación del uso de las hojas de las especies *Rubusurticifolius*Poir y *Rubusrosaefolius*Sm. para respaldar científicamente su uso como drogas vegetales de carácter hipoglicemiante.

5. OBJETIVOS

5.1.Objetivos generales:

5.1.1. Contribuir al estudio farmacológico de especies potencialmente útiles en Guatemala como hipoglicemiantes.

5.1.2. Establecer metodologías prácticas que sirvan de antecedentes para investigaciones posteriores referentes al tema.

5.2.Objetivos Específicos:

5.2.1. Evaluar el uso de estreptozotocina como agente diabetogénico en ratas Wistar.

5.2.2. Determinar si el extracto acuoso de la hoja de *Rubusurticifolius*Poir. (mora silvestre)y el extracto acuoso de la hoja de*Rubusrosaefolius* Sm. (frambuesa silvestre) poseen acción hipoglicemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina.

6. HIPÓTESIS

El extracto acuoso de las hojas de *Rubusurticifolius*Poir. (mora silvestre) y *R. rosaefolius*Sm. (frambuesa silvestre) presenta acción hipoglicemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Universo de trabajo

Plantas pertenecientes a la flora de Guatemala, a las cuales se les atribuye la actividad hipoglicemiante.

7.1.1. Muestra

Extractos acuosos obtenidos de las hojas de *Rubusurticifolius*Poir. (Mora silvestre), y las hojas de *R. rosaefolius*Sm. (Frambuesa silvestre).

7.2. Medios

7.2.1. Recursos humanos

- Autor del trabajo: Br. Victor Manuel Mejía Castro
- Asesor del trabajo de investigación: Licenciada Delia Arriaza
- Asesor del diseño estadístico: Dr. Jorge Luis de León Arana
- Asesor de identificación botánica: Licenciado Jorge Jiménez
- Revisora del trabajo de investigación: Dra. Amarillis Saravia Gómez.

7.2.2. Recursos materiales

- Cristalería y equipo de laboratorio
- Sondas orogástricas para ratas.
- Balanza semianalítica
- Estufa eléctrica
- Balanza OHAUS con plato contenedor
- Jeringas de 1cc, 5cc y agujas descartables
- Jeringas de insulina
- Mesas de trabajo
- Guantes descartables
- Mascarillas N95
- pHmetro
- Congelador
- Glucómetro

- Tiras reactivas para glucómetro
- Espectrofotómetro MicroLab 300

7.2.3. Productos biológicos

- 40 ratas WISTAR, machos, con peso de 250±20 gramos.

7.2.4. Productos químicos y farmacéuticos:

- Insulina de acción intermedia
- Estreptozotocina FISHER SCIENTIFIC
- Citrato de sodio
- Ácido cítrico
- Hidróxido de sodio

7.3. Procedimiento

7.3.1. Selección de especies vegetales a investigar

Se lleva a cabo una revisión bibliográfica que oriente la selección de las especies a investigar. Se establecen criterios de búsqueda basados en evidencia etnobotánica con respecto al uso medicinal de especies vegetales para control de la hiperglicemia.

7.3.2. Recolección de las especies vegetales *Rubusurticifolius* y *R. rosaefolius*:

La especie *Rubusurticifolius* (mora silvestre) es recolectada manualmente en Santo Domingo Xenacoj, municipio de Sacatepéquez, Guatemala.

La especie *Rubusrosaefolius* (frambuesa silvestre) es colectada en el vivero “Botanik”, empresa que colaborará en este componente del proyecto.

7.3.3. Identificación botánica

Al momento de recolectar las especies dos ejemplares de cada especie en plena floración o fructificación, deben ser llevados al personal del herbario de la Universidad San Carlos de Guatemala –USCG, quienes procederán a identificar la especie vegetal.

7.3.4. Secado

Una vez identificado, el material vegetal es secado en horno de convección a una temperatura de 40°C hasta reducir la humedad a un valor menor a 10 %. Una vez alcanzado el valor de humedad adecuado el material es almacenado en recipientes herméticos.

7.3.5. Molienda del material vegetal:

El material vegetal es molido con un molino eléctrico marca Proctor-Silex. Luego de moler el material, este se colecta y almacena en bolsas selladas herméticamente.

7.3.6. Preparación de las infusiones al 10%

Se pesan 10 g de material vegetal y se sumergen en 100 ml de agua purificada hirviendo. Se deja reposar hasta temperatura ambiente y luego se filtra por gravedad.

7.3.7. Determinación de la actividad hipoglicemiante.

Metodología descrita a continuación.

Principio: La diabetes debe ser inducida a través de una dosis única de estreptozotocina (35 mg/kg de peso corporal) en buffer de citrato 0.1 M recién preparado (pH 4.5) por vía intraperitoneal a ratas con ayuno de 12 horas. La inducción de diabetes se confirma al presentarse valores de glucosa en sangre

iguales o mayores a 250 mg/dl en ayunas, luego de transcurridas las 48 horas de la inyección de estreptozotocina.

Procedimiento: Se utilizan ratas albinas del mismo sexo, machos con peso de 250 ± 20 gramos, los animales deben presentar un ayuno de 12 horas previo al experimento. Los animales son separados en 4 grupos de la siguiente manera: Grupo I Ratas normoglucémicas tratadas con placebo (Agua destilada); Grupo II Ratas hiperglicémicas inducidas con estreptozotocina, tratadas con dosis de 750 mg/kg de peso corporal de extracto acuoso de la especie vegetal a investigar; Grupo III Ratas hiperglicémicas inducidas con estreptozotocina, tratadas con dosis de 1000 mg/kg de peso corporal del extracto acuoso de la especie vegetal a investigar; y Grupo IV Ratas hiperglicémicas inducidas con estreptozotocina tratadas con insulina durante 14 días. Posteriormente se determinan los niveles de glucosa sanguínea, utilizando para ello un glucómetro. Las muestras son tomadas de las venas laterales de la cola antes del tratamiento (tiempo 0) y a 1, 2, 3 y 4 horas después de la administración por vía oral (PO) de las sustancias administradas a cada grupo (Saravia, A., 2005).

7.3.8. Ensayo toxicológico:

Se seleccionan 5 lotes de 5 ratones albinos, de la misma edad y sexo, con un peso aproximado de 22 ± 10 gramos con el mismo tipo de alimentación. Se les administra la sustancia por vía orogástrica, de 1 a 5 g/kg de peso corporal, dándole a cada grupo la dosis respectiva, observando y recopilando resultados a 1, 4, 8, 12, 48 y 72, y así sucesivamente durante 8 días. Se evalúan la incidencia de signos o síntomas aparentes de toxicidad. Los resultados obtenidos se analizan utilizando el método de Karber y Beherens, de acuerdo al siguiente modelo matemático:

$$Df = \sum \frac{(a * b)}{n}$$

Donde a = suma de muertos de 2 lotes consecutivos; b es la diferencia entre dosis consecutivas entre lotes, expresada en mg; n es el número de animales por lote y D_f se refiere a la primera dosis que mata a todos los animales de un grupo (Saravia, A., 2005).

7.3.9. Análisis estadístico

$$H_0: M_1 = M_2 = M_3 = M_4$$

- Estadística de prueba: ANDEVA de 1 vía.

8. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos, siendo estos los siguientes: Grupo I (Control Negativo: Agua), Grupo II (Control positivo: Insulina), Grupo III (Extracto acuoso de la hoja de *Rubusrosaefolius*: dosis 750 mg/Kg de peso), Grupo IV (Extracto acuoso de la hoja de *R. rosaefolius*: dosis 1000 mg/Kg de peso), Grupo V (Extracto acuoso de la hoja de *R.urticifolius*: dosis 750 mg/Kg de peso), Grupo VI (Extracto acuoso de la hoja de *R.urticifolius*: dosis 1000 mg/Kg de peso). Además se presentan los resultados de la determinación de la DL50 de los extractos acuosos de las plantas estudiadas.

Tabla No.1: Determinación de DL₅₀ del extracto acuoso de la hoja seca de *Rubusrosaefolius* y *R. urticifolius*

<i>Extracto de hoja seca de Rubusrosaefolius</i>					
	1 g/Kg de peso	2 g/Kg de peso	3 g/Kg de peso	4 g/Kg de peso	5 g/Kg de peso
Piloerección	-	-	-	-	-
Respiración anormal	-	-	-	-	-
Taquicardia	-	-	-	-	-
Diarrea	-	-	-	-	-
Alteraciones de la marcha	-	-	-	-	-
Cambios de comportamiento	-	-	-	-	-
Convulsiones	-	-	-	-	-
Cromodacriorrea	-	-	-	-	-
<i>Extracto de hoja seca de Rubusurticifolius</i>					
Piloerección	-	-	-	-	-
Respiración anormal	-	-	-	-	-
Taquicardia	-	-	-	-	-
Diarrea	-	-	-	-	-
Alteraciones de la marcha	-	-	-	-	-
Cambios de comportamiento	-	-	-	-	-
Convulsiones	-	-	-	-	-
Cromodacriorrea	-	-	-	-	-

(-)Signo de toxicidad no se evidenció.

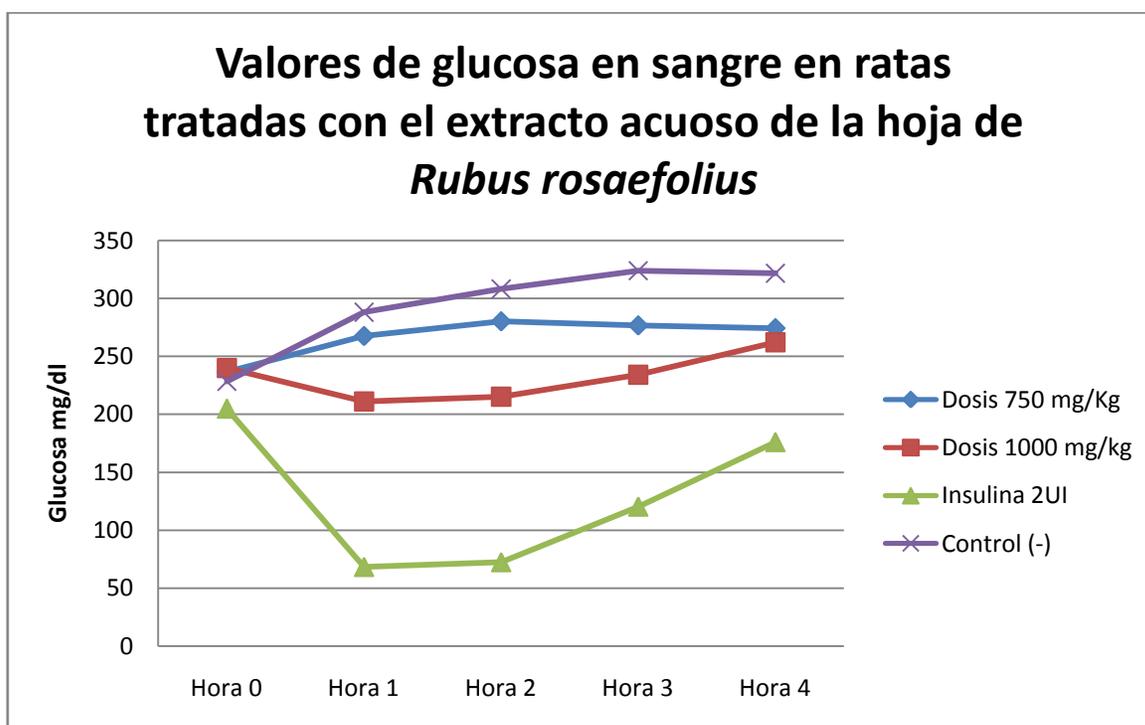
Fuente: Datos experimentales

Tabla No.2: Valores de glucosa en sangre, ratas tratadas con extracto acuoso de hojas de *Rubusrosaefolius* a dosis de 750 y 1000 mg/Kg

	T(0hora)	T(1hora)	T(2hora)	T(3hora)	T(4hora)
	Glucosa mg/dl				
Dosis 750 mg/Kg	236,68	267,64	280,32	276,76	274,4
Dosis 1000 mg/kg	239,88	211,04	215,08	234,12	262,12
Insulina 2UI	204,88	68,36	72,48	120,4	176,04
Control (-)	228,4	288,08	308,12	323,88	321,64

Fuente: Datos experimentales

Grafica No. 1: Valores de glucosa en sangre, ratas tratadas con extracto acuoso de hojas de *Rubusrosaefolius* a dosis de 750 y 1000 mg/Kg



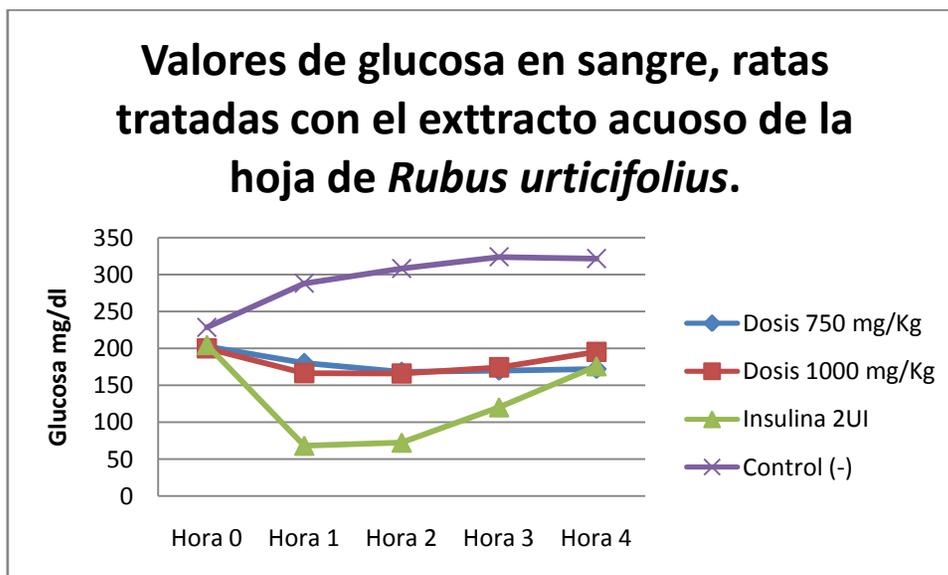
Fuente: Datos experimentales

Tabla No.3: Valores de glucosa en sangre, ratas tratadas con extracto acuoso de hojas de *Rubusurticifolius* a dosis de 750 y 1000 mg/Kg

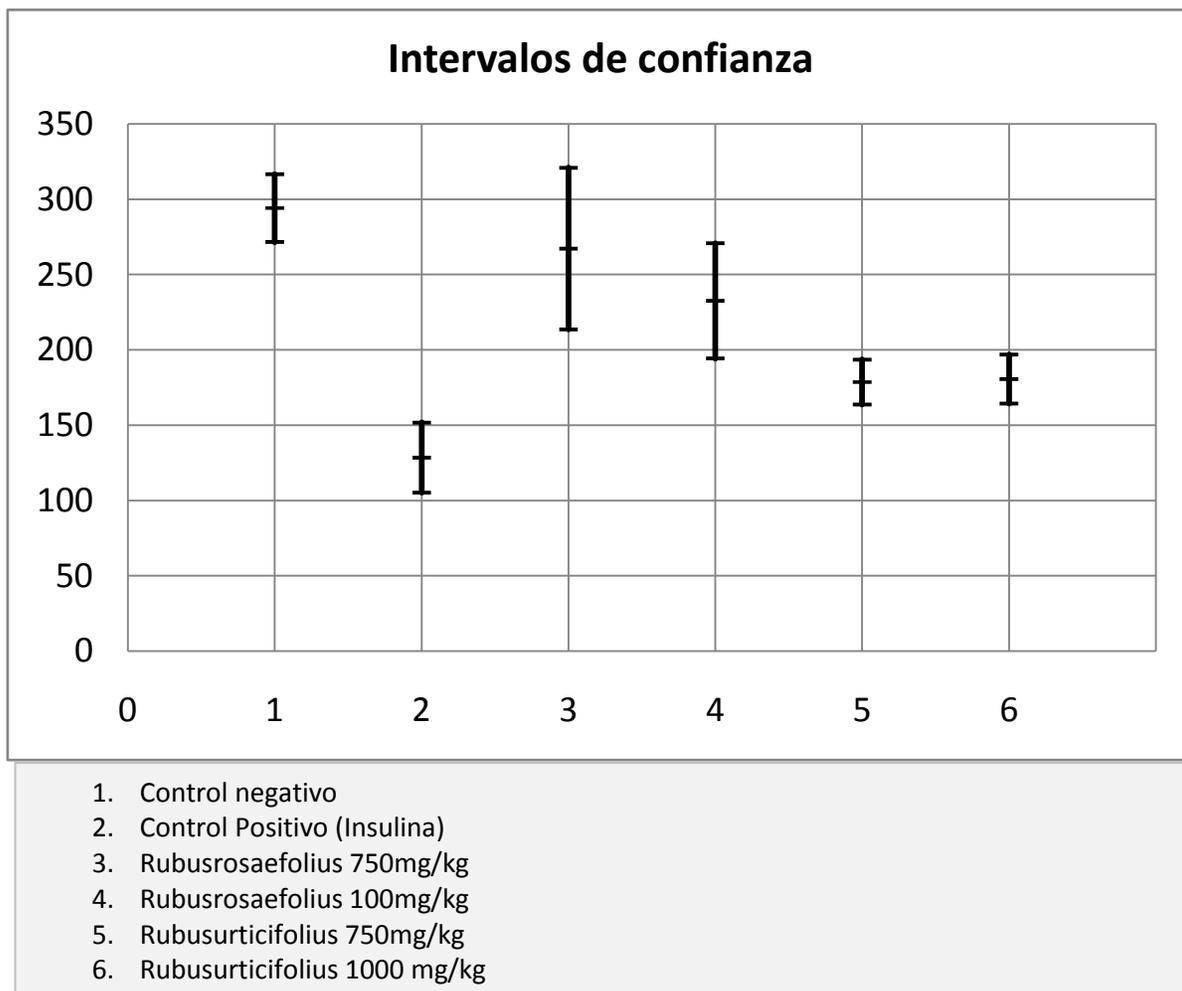
	T(0hora)	T(1hora)	T(2hora)	T(3hora)	T(4hora)
	Glucosa mg/dl				
Dosis 750 mg/Kg	202,56	180,2	168,2	169,76	172,24
Dosis 1000 mg/Kg	200	166,72	166,16	174,44	195,44
Insulina 2UI	204,88	68,36	72,48	120,4	176,04
Control (-)	228,4	288,08	308,12	323,88	321,64

Fuente: Datos experimentales

Grafica No. 2: Valores de glucosa en sangre, ratas tratadas con extracto acuoso de hojas de *Rubusurticifolius* a dosis de 750 y 1000 mg/Kg



Fuente: Datos experimentales

Gráfica No. 3. Análisis por intervalos de confianza.

Fuente: Datos experimentales

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se determinó la dosis letal 50, utilizando el método de Karber y Beherens, evaluando la toxicidad en ratones albinos de la misma edad, machos con un peso entre 22 ± 5 gramos, a concentraciones de 1 a 5 g/Kg de peso corporal. Luego de administrar los extractos, los animales se mantuvieron bajo observación constante durante 8 días, evaluando la presencia o ausencia de signos de toxicidad aparente. La tabla No. 1 indica los resultados de la observación tras la administración del extracto, dicha tabla demostró que ninguno de los grupos de animales que fueron tratados con los extractos acuosos de *Rubusrosaefolius* y *Rubusurticifolius* presentó piloerección, alteraciones del sistema respiratorio, circulatorio y nervioso, diarrea, afecciones a la actividad somatomotriz y del comportamiento, temblores, sudoración, convulsiones y/o cromodacriorrea, lo que dio pauta a la investigación de la actividad hipoglicemiante de las especies vegetales seleccionadas.

Previo al inicio de la investigación, fue necesario validar la dosis de estreptozotocina (STZ) adecuada para la inducción de hiperglicemia en ratas wistar macho. El uso de STZ en la inducción de hiperglicemia es complicado, ya que la actividad citotóxica y altamente selectiva por las células beta del páncreas puede llevar a la pérdida completa de este tipo de células, privando de insulina a los sujetos experimentales. Es por esto que se debe de establecer una dosis que reduzca el número de células beta pero que no las desaparezca. Esta dosis recibe el nombre de dosis diabetogénica y se define como: “La cantidad de agente inductor que en un 80% de los animales de una especie dada, produce hiperglicemia sostenida, destruye las células beta del páncreas y no causa daño en otros órganos” (Rakieten, 1963). La metodología de validación contempló dosis desde 25 a 65 mg/Kg de peso, de dichas dosis se eligió la dosis de 35 mg/Kg de peso corporal por vía Intraperitoneal (IP), puesto que los animales tratados con esta dosis reprodujeron la hiperglicemia, sin presentar complicaciones asociadas a la administración de estreptozotocina. El objetivo del procedimiento de validación era obtener la dosis diabetogénica de STZ que reprodujera valores de glucosa en ayunas iguales o arriba de 200 mg/dl y menores de 400 mg/dl, ya que si los valores están por arriba del límite, los cambios posibles atribuidos a los extractos vegetales estudiados pueden interpretarse erróneamente,

y si los valores de glucosa fueran menores de 200 mg/dl, no se podría observar la posible disminución del nivel de glucosa en el sujeto experimental, ya que una disminución podría atribuirse a la regulación propia del organismo para mantener un nivel de glucosa controlado y no precisamente a la acción de un agente externo. La metodología de la validación se puede consultar en los anexos adjuntados al final del presente informe.

Tras establecer la dosis, los valores de glucosa en sangre fueron medidos para determinar la actividad hipoglicemiante de los extractos acuosos de las plantas estudiadas, realizando la comparación con el grupo control negativo y el grupo control positivo tratado con insulina, en dosis de 2 UI. Se eligió insulina como control positivo debido a la acción citotóxica que ejerce la STZ sobre las células beta del páncreas, lo que podría derivar en complicaciones micro y macrovasculares en ausencia de una adecuada producción de insulina.

Para determinar la actividad hipoglicemiante, las mediciones de glucosa en sangre se realizaron en ayunas y cada hora luego de la administración del extracto, durante 4 horas, en la gráfica No. 1 y No.2, se observan los resultados obtenidos para el extracto acuoso de *Rubusrosaefolius* (EARr), y para el extracto acuoso de *Rubusurticifolius*(EARu), ambos extractos a dosis de 750 mg/kg y 1000 mg/kg, realizando la comparación respectiva con los grupos control. Tal y como se esperaba, en el grupo control positivo, la insulina resulta en un decremento notorio de los valores de glucosa en sangre, al analizar la muestra 1 hora después de la administración del medicamento. Los valores de glucosa tras la administración de insulina se mantienen inferiores a 70 mg/dl aún luego de 2 horas de la administración, sobrepasando los 100 mg/dl luego de 4 horas. La acción de la insulina isofánica se caracteriza por una duración de acción de 4 a 12 horas, lo que corresponde a la duración observada y analizada en el grupo control positivo (Nolte, MD., 2010). El control negativo, grupo que fue tratado únicamente agua, muestra un aumento significativo de la glucosa a lo largo del tiempo de estudio, lo que se asocia con una pérdida de células beta de los islotes pancreáticos a causa de la STZ, disminuyendo así la secreción de insulina. El EARr a dosis de 750mg/kg de peso no presentó una disminución de los niveles de glucosa lo que refleja una ausencia de actividad hipoglicemiante. El EARr a una dosis de 1000 mg/kg de peso, si mostró una disminución de la concentración de glucosa, en relación

al valor de glucosa en sangre en ayunas y en comparación a la dosis de 750 mg/Kg de peso animal del mismo extracto, sin embargo esta disminución no representa una disminución significativa si se compara con los controles respectivos, como se discutirá más adelante. Los EARu administrados en dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso del animal demostraron una disminución de los valores de glucosa en sangre, siendo la disminución más evidente a la segunda hora de la administración del extracto.

Con base al análisis de límites de confianza el cual se observa en la Gráfica No.3 se observa que las dosis de EARr administradas no representan una diferencia significativa con el grupo control negativo, y si refleja una notable diferencia significativa con el grupo control positivo lo que denota que EARr en ambas dosis estudiadas no presenta actividad hipoglicemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina (STZ). En el caso del Grupo V y Grupo VI, las ratas tratadas con el extracto acuoso de *Rubusurticifolius* (EARu), en dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso animal, respectivamente, presentan una diferencia significativa con el grupo control positivo, sin embargo, la diferencia significativamente mayor con respecto al grupo control negativo, como se puede observar en la Gráfica No. 3. Estos resultados hacen ver que el EARu si presenta cierta actividad hipoglicemiante, la cual estadísticamente no es significativa con respecto al control positivo, más establece la necesidad de continuar los estudios de la actividad hipoglicemiante de la especie *Rubusurticifolius*, empleando hipoglicemiantes orales como medicamentos control con el fin de facilitar el análisis estadístico en futuros ensayos.

De acuerdo a los datos analizados se acepta la hipótesis que expone que el extracto acuoso de *Rubusurticifolius* posee actividad hipoglicemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina a dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso, y se acepta la hipótesis nula para el extracto acuoso de *Rubusrosaefolilus*, puesto que no se demostró la actividad hipoglicemiante en el modelo animal estudiado.

Por lo tanto se acepta que *Rubusurticifolius* posee actividad significativa leve para disminuir los valores de glucosa en sangre en ratas diabéticas inducidas químicamente con estreptozotocina, bajo condiciones ambientales adecuadas.

10. CONCLUSIONES

- 10.1.** La infusión del extracto acuoso de la hoja seca de *Rubusrosaefolius* no presenta la actividad hipoglicemiante a las dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso por vía oral en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina.
- 10.2.** La infusión del extracto acuoso de la hoja seca de *Rubusurticifolius* presenta una leve actividad hipoglicemiante a dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso por vía oral en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina.
- 10.3.** La hipótesis H_0 se acepta, para el extracto acuoso de las hojas de mora silvestre (*Rubusurticifolius*).
- 10.4.** La administración de 35 mg/Kg de estreptozotocina por vía intraperitoneal a ratas Wistar macho permite establecer un modelo animal para el estudio de la diabetes con valores de glucosa en sangre iguales o mayores de 200 mg/dl.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1.** Continuar la investigación de la actividad hipoglicemiante de la hoja de mora silvestre (*Rubusurticifolius*) utilizando diferentes métodos de extracción.

- 11.2.** Brindar la información de este estudio respecto a la actividad hipoglicemiante de la hoja de mora silvestre (*Rubusurticifolius*) a las áreas rurales que utilizan dicha planta para hacer un uso correcto de las misma.

- 11.3.** Fomentar la investigación de plantas medicinales nativas de Guatemala en beneficio de la salud y desarrollo de las áreas rurales que hacen uso de la medicina tradicional.

- 11.4.** Utilizar hipoglicemiantes orales como grupo control positivo, para comparar los resultados con tratamientos diferentes a la insulina.

12. REFERENCIAS

- American Diabetes Association (2007). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 30: S42–S47.
- Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU (2013) Diabetes tipo 1. Recuperado de: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000305.htm>
- Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU (2013) Diabetes tipo 2. Recuperado de: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000313.htm>
- Bougnères, P. (2002) Genetics of Obesity and Type 2 Diabetes Tracking Pathogenic Traits During the Predisease Period.
- Castroviejo, S., Aedo, C., Cirujano, S., et al (1993). Flora Ibérica. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid. Recuperado de: http://www.floraiberica.es/PHP/familias_lista_.php?familia=Rosacea
- Consejo General de Colegio Oficiales de Farmacéuticos. (2010) Guía rápida de Atención Farmacéutica al paciente diabético, especialmente Diabetes mellitus (DM) tipo 2 en tratamiento con antidiabéticos orales ADO. (1ª ed.). Madrid, España.
- Dart, A., Martens, P., et Al (2014) Earlier Onset of Complications in Youth With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 37, 436-443.
- Dunn, J. S.; Sheehan, H. L.; McLetchie, N. G. B. (1943). "Necrosis of Islets of Langerhans Produced Experimentally". *Lancet* 241 (6242): 484–487.

- Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus, (1999) Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. *Diabetes Care* 22(1), 5 –9.
- Isea, J., Vilorio, J.L., Ponte, N., et al. (2012) *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 10(1). Mérida, Venezuela. Recuperado de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S169031102012000400013&script=sci_arttext
- Kanegusuku, M., et al. (2002) Cytotoxic, hypoglycemic activity and phytochemical analysis of *Rubusimperialis* (Rosaceae) *Z. Naturforsch*, 57, 272-276.
- Katsumata, K., Katsumata Y., Ozawa, T., et al. (1993). Potentiating effects of combined usage of three sulfonylurea drugs on the occurrence of alloxan diabetes in rats. *Hormone Metabolism Research*, 25 pp. 125-126.
- Lara, S. (1983) contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de *Bixa-orellana* (achiote). Universidad San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia).
- Lawrence, A. & Campbell, C. (1999) Phylogeny of *Rubus* (Rosaceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *American Journal of Botany* 86(1), 81-97.
- Lemus, I., et al. (1999) hypoglycemic activity of four plants used in Chilean popular medicine. *Phytoterapy Research*, 13, 91-94.
- Libby, P., Theroux, P. (2005) Pathophysiology of Coronary Artery Disease. *Circulation*; 111:3481-3488 AHA.

- Low, T. (1990) *Bush medicine: A pharmacopoeia of natural remedies*. North Ryde, Australia.
- MacVean, A. (2006) *Plantas útiles de Sololá*. (1a ed.) Guatemala: Universidad del Valle de Guatemala.
- Martínez, B. (2013) *Diabetes afecta a más de un millón de guatemaltecos*. Prensa Libre, p. 54.
- Martinez, N. (1990) Efecto del extracto acuoso de las hojas de *Eupatorium semialatum* (Bacché) sobre la concentración de glucosa sanguínea en ratas normales y en diabéticas inducidas con aloxano. Universidad de San Carlos (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) p.58.
- Morales, J. F. Rosaceae. En: Hammel, B., M. Grayum, C. Herrera y N. Zamora (2006). *Manual de Plantas de Costa Rica*. Instituto Nacional de Biodiversidad, Santo Domingo de Heredia, Costa Rica. Recuperado de: <http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/FMPro?-DB=ubipub.fp3&-lay=WebAll&-error=norec.html&-Format=detail.html&-Op=eq&id=4571&-Find>
- Nach, DI & Dieterle, JVA. (1976) *Flora of Guatemala*. Chicago, US, Chicago Natural History Museum. *Fieldiana Botany*. 24(4), pp. 472-480.
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (2011). *Neuropatías diabéticas: el daño de los nervios en personas con diabetes*. Recuperado de: www.diabetes.niddk.nih.gov/spanish/indexsp.aspx.
- Nolte, M.S. (2007). Hormonas pancreáticas y fármacos antidiabéticos. *Farmacología básica y clínica*. (pp. 727-747). México: Distrito Federal.

- Rakieten, N. &Nadkarni, M.V. (1963) Studiesonthediabetogenicaction of streptozotocin. *CancerChemotherapy*, 29,91-98.
- Saravia, A. (2005) Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro. Guatemala, Editorial Universitaria.
- Silva, J. &Siqueira, A. (2000) Acción antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de *Rubusurticaefolius*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 5(1). Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962000000100007#x
- Sociedad Española de Medicina Interna (2010). *Protocolos, Diabetes Mellitus Tipo 2*. (1ª ed.). Madrid, España.
- Srinivasan, K., Ramarao, P. (2007) Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian Journal of Medicine Research*. 125, pp 451-472.
- Szkudelski, T. (2001) The mechanism of Alloxan and Sstreptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *PhysiologicalResearch*. 50, pp. 536-546.
- Universidad de California. (s.f.) Tipos de Insulina. Recuperado de: <http://dtc.ucsf.edu/es/tipos-de-diabetes/diabetes-tipo-2/tratamiento-de-la-diabetes-tipo-2/medicamentos-y-terapias-2/prescripcion-de-insulina-para-diabetes-tipo-2/tipos-de-insulina/>
- Universidad Nacional del Nordeste. (s. f.) Hipertextos del Área de la biología. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/macromoleculas/structup.htm>
- Valero, K., Marante, D., et Al (2012) Complicaciones microvasculares de la diabetes. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*.10 Mérida oct. 2012.

- Victoria, A. (1980) Investigación farmacológica de la acción hipoglicemiante de las hojas de *Solanum-nigrencens* Mart. & Gal. (Macuy, Quilete o Hierba-mora). Universidad San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia)
- Verma, A., Dewangan, P., et al. (2013) Hypoglycemic and hypolipidemic activity of Scopoletin (Coumarin derivative) in Streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Pharmacist Science*. 22(1), pp. 79-83.
- West, E., Simon, OR., et al (1996). Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *The West Indian Medical Journal*, 45(2), 60-62.
- Zarate, T.A. (1991). Diabetes Mellitus in Mexico. *Diabetes Care*, 14(3), pp. 672-675.

13. ANEXOS

ANEXO No.1: *Rubusurticifolius* Poir. en imágenes



Rubusurticifolius Poir. (Mora silvestre)
Fotografía tomada por Victor Mejía Castro.

ANEXO No.2: *Rubusrosaefolius* Sm.En imágenes



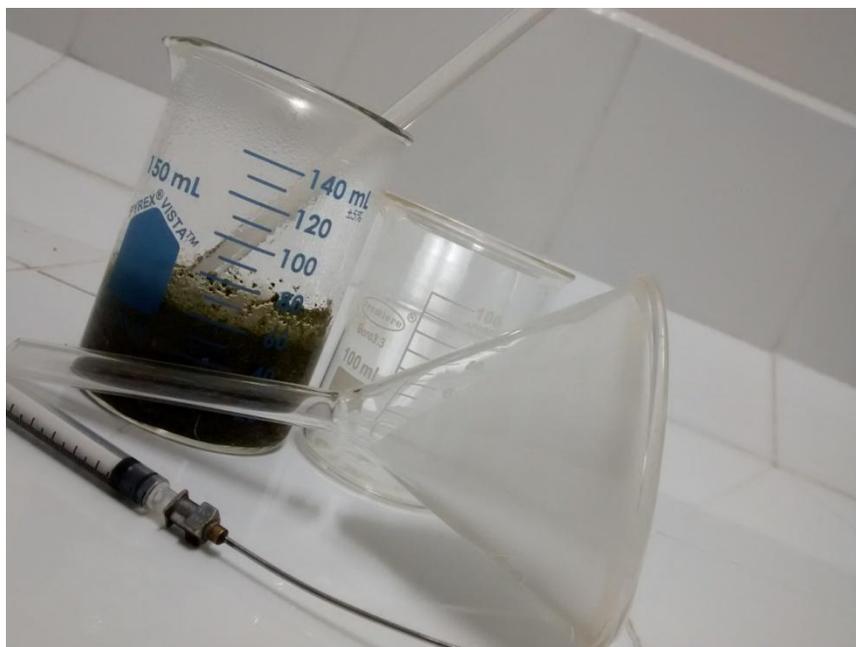
Rubusrosaefolius Sm. (Frambuesa silvestre)
Fotografía tomada por Victor Mejía Castro.

Anexo No. 3. Administración de los extractos por vía oral.



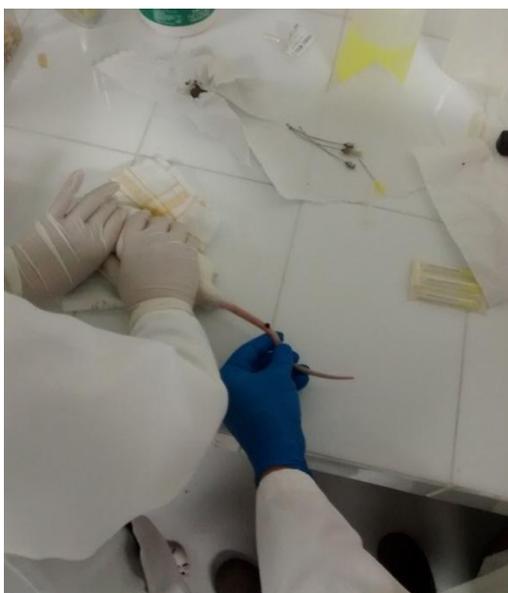
Administración de los extractos de las plantas estudiadas, por vía oral utilizando una sonda orogástrica especial para rata.





Preparación del extracto acuoso de Mora silvestre (*Rubusurticifolius*).

Anexo No. 4. Toma de muestra

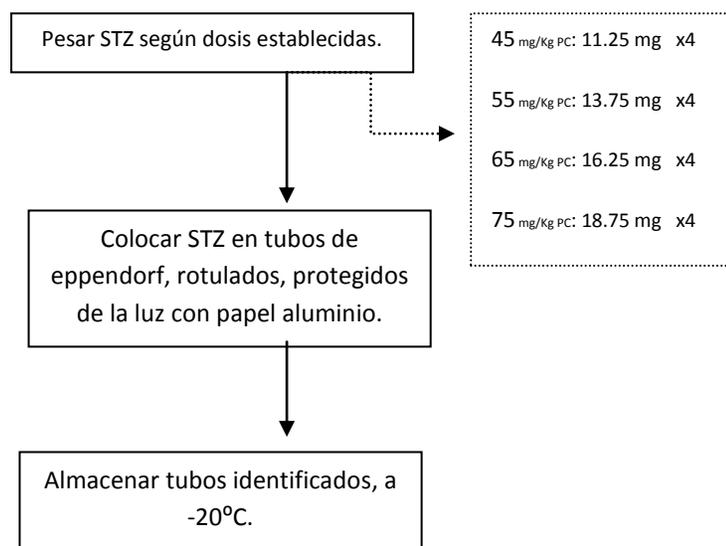


Toma de muestra de sangre, utilizando aguja 30G sobre el extremo terminal de la cola del animal. La gota obtenida se coloca en la tira reactiva de glucosa y se lee en el glucómetro. El glucómetro utilizado es un Glucómetro Accucheck Active de la casa Roche.

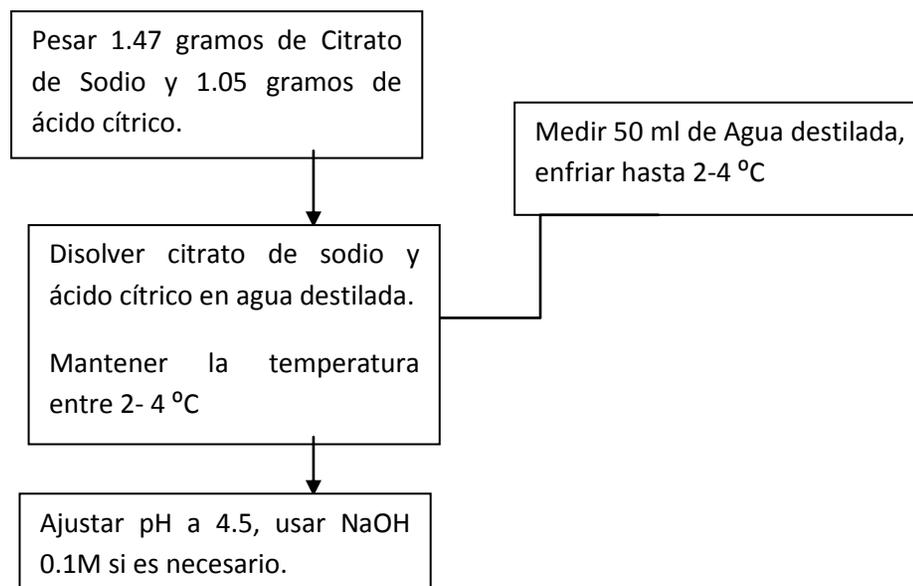
Anexo No. 5: Estreptozotocina

Anexo No. 5a:1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE INDUCCIÓN DE DIABETES CON ESTREPTOZOTOCINA EN RATAS WISTAR.

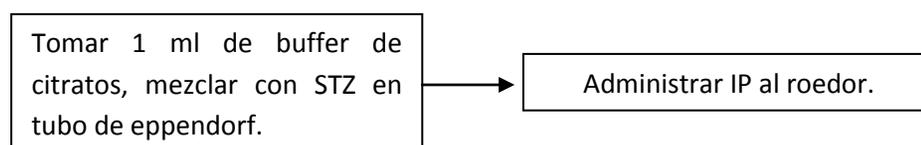
Parte I



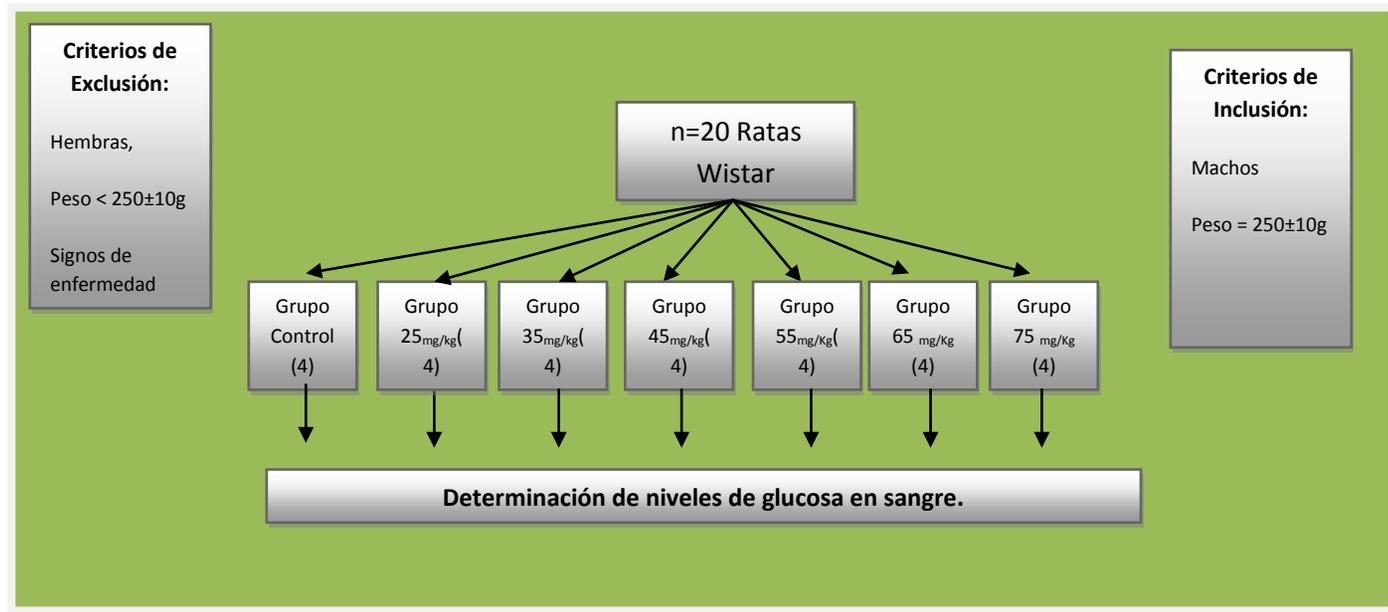
Parte II



Parte III



Anexo No. 5b: Esquema de la validación del método de inducción de diabetes en ratas wistar utilizando Estreptozotocina.



ANEXO No. 6b TIPOS DE INSULINA

Tipo de Insulina	Inicio	Pico de acción	Duración	Apariencia
Acción rápida				
Regular/Normal	½ - 1 hora	2-4 hs.	6-8 hs.	Clara
Lyspro/Aspart/Glulisina	<15 min.	1-2 hs.	4-6 hs.	Clara
Acción intermedia				
NPH	1-2 hs.	6-10 hs.	12 hs.	Turbia, opaca.
Acción Prolongada				
Glargina/Detemir	1.5 hs.	Efecto máx. a 5 hs.	24 hs.	Clara.

Fuente: Universidad de California, s.f.

ANEXO No. 7. ANTIDIABÉTICOS ORALES, CLASES Y MECANISMOS DE ACCIÓN.

Medicamentos utilizados en la diabetes			
Clasificación	Mecanismo de Acción	Efectos	Toxicología
Sulfonilureas	Actúan como secretagogos de insulina; cierran los conductos de potasio en las células beta, aumentando la liberación de insulina.	Aumento de la formación de glucógeno, grasa y proteínas.	Hipoglucemia, aumento de peso, lipodistrofia.
Glitinidas	Secretagogo de insulina. Similar a sulfonilureas.	Disminuye niveles de glucosa circulante; incrementa la formación de glucógeno, gasa y proteínas.	Hipoglucemia.
Biguanidas	Disminución de gluconeogénesis en hígado y riñones.	Menor producción de glucosa endógena.	Contraindicados en insuficiencia renal, hepática y/o cardíaca. Alteraciones gastrointestinales, acidosis láctica.
Inhibidores de la glucosidasa alfa	Inhiben la glucosidasa alfa del intestino.	Disminución de la conversión de almidones y disacáridos en el intestino; disminuyen la hiperglucemia posprandial.	Síntomas gastrointestinales;
Tiazolidinedionas	Regulan la expresión génica al fijarse a PPAR- γ	Disminuyen la resistencia a la insulina.	Retención de líquidos, edema, anemia, aumento de peso, edema macular, fracturas óseas en mujeres;
Incretinas	Análogos de GLP-1; se fijan a receptores GLP-1.	Lentifica vaciado gástrico, controla el apetito, disminuye las concentraciones de glucagón, disminuye las	Náusea, cefalea, vómitos, anorexia, disminución leve de peso, pancreatitis.

<p>Inhibidores DDP-4</p> <p>Bloqueo de la degradación de GLP-1 y aumento de concentraciones circulantes del péptido 1-glucagonoide.</p>	<p>oscilaciones de glucemia posprandial.</p> <p>Disminuye oscilaciones de glucemia posprandial; incrementa la liberación de inulina mediada por glucosa; lentifica el vaciamiento estomacal y aplaca el apetito.</p> <p>Rinitis, infecciones respiratorias, reacciones alérgicas.</p>
<p>Análogo de Amilina</p> <p>Fijación a receptores de amilina.</p>	<p>Disminución de las oscilaciones de glucemia posprandial; disminuye las concentraciones de glucagón, lentifica el vaciamiento gástrico y aplaca el apetito.</p> <p>Náuseas, anorexia, hipoglucemia, cefalea.</p>

Fuente: Nolte, M., 2007.

Br. Victor Manuel Mejía Castro

Autor

Licenciada Delia María Arriaza

Asesora

Dra. Amarillis Saravia Gómez

Revisora

Msc. Hada Marieta Alvarado Beteta

Directora Escuela

Dr. Rubén Velásquez

Decano