



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PROGRAMA DE POSGRADO DE ALIMENTOS DEL CENTRO DE LA
REPÚBLICA (PROPAC)**

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIDIABÉTICAS DE PRODUCTOS
DE SÁBILA (*Aloe vera*) SOMETIDOS A TRATAMIENTOS DE ELIMINACIÓN DE
ALOÍNA”**

TESIS

Como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencia y
Tecnología de Alimentos.

PRESENTA

I.BQ. Mayra Paloma Macías Acosta

DIRIGIDO POR

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Centro Universitario
Septiembre, 2015
Querétaro, Qro.
México

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Evaluación de la propiedades antidiabéticas de productos de sábila (*Aloe vera*) sometidos a tratamientos de eliminación de aloína”

TESIS

Como parte de los requisitos para la obtención de grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.B.Q. Mayra Paloma Macías Acosta

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente

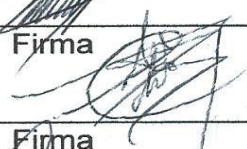
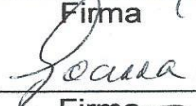
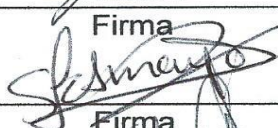
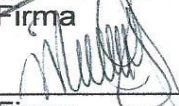
Dr. Eduardo Castaño Tostado
Secretario

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Vocal

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Suplente

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente


MSP. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad


Firma

Firma

Firma

Firma

Firma


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Septiembre, 2015
México

RESUMEN

Una de las alternativas para el control de la diabetes es el consumo de productos a base de sábila (*Aloe vera*), debido a sus fitoquímicos y contenido de fibra. Sin embargo, dentro de su composición se encuentra la aloína, una antraquinona asociada con efectos carcinogénicos; por esta razón, la FDA ha catalogado a la sábila como un alimento no reconocido como seguro (NO GRAS). Las empresas que elaboran productos a base de sábila, han implementado una operación adicional para la eliminación de este compuesto, lo que podría modificar su composición química y así comprometer su capacidad antidiabética. El objetivo de este trabajo fue determinar las propiedades antidiabéticas de productos de sábila sometidos a procesos de eliminación de aloína. Se utilizaron tres productos: jugo de la hoja completa sin procesar (HCSP), jugo de la hoja completa procesada (HCP) y jugo interior de la hoja (gel) procesado (HIP). A las cuales se les cuantificaron algunos fitoquímicos relacionados con salud y propiedades funcionales. En los resultados obtenidos se encontró que HCP e HIP, en comparación con HCSP, presentaron menor concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Por otra parte, HIP presentó el mayor porcentaje de fibra dietaria tanto soluble como insoluble, así como la mayor inhibición *in vitro* de las enzimas digestivas α -amilasa y α -glucosidasa. Además, se observó una hidrólisis de los polisacáridos en los productos de sábila con eliminación de aloína (HCP e HIP). Para los estudios *in vivo*, se emplearon ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina, a las que se les administraron los tres productos de sábila: HCSP, HCP y HIP en dosis de 60 y 80 mg/día cada uno, durante 4 semanas. No se observaron efectos sobre la disminución de glucosa en suero, ni un incremento en los niveles de insulina con ninguno de los tratamientos de sábila. Sin embargo, si se observó una disminución de los triglicéridos en suero e hígado con HIP a una dosis de 80 mg/día y se mejoró la esteatosis hepática; así mismo, este tratamiento presentó una menor actividad de la enzima alanino aminotransferasa sérica. En conclusión, HCSP y HCP no mostraron efectos hipoglucemiantes pero HIP disminuyó las alteraciones hepáticas relacionadas con el almacenamiento de triglicéridos, pero dicho tratamiento podría ocasionar daño al riñón, por lo tanto, este tipo de productos podría ocasionar efectos adversos a la salud.

Palabras clave: aloína, diabetes, *Aloe vera*, sábila

SUMMARY

An alternative for the control of diabetes is the consumption of aloe (*Aloe vera*), due to its phytochemicals and fiber content. However, aloe contains the anthraquinone aloin, which has been associated with carcinogenic effects; for this reason, the FDA declared aloe products as not generally recognized as safe (NOT GRAS). Therefore, industries that produce aloe-based products must include additional operations to reduced aloin content. Nevertheless, the effect of this process on aloe chemical composition and its antidiabetic properties is unknown. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antidiabetic properties of aloe products undergoing aloin elimination procedure, which included the unprocessed whole leaf juice (UWL), the processed whole leaf juice (PWL) and the processed inner leaf juice (PIL). Several compounds with health benefits and functional properties were spectrophotometrically quantified and the results showed that PIL and PWL had lower concentration of total polyphenolic compounds and antioxidant capacity compared with UWL. Moreover, PIL had the highest percentage of both soluble and insoluble dietary fiber, as well as the highest *in vitro* inhibition of digestive enzymes (α -amylase and α -glucosidase). Furthermore, higher polysaccharide hydrolysis products were determined after aloin elimination procedure (PWL and PIL). For *in vivo* studies, the streptozotocin-induced diabetic model was used to evaluate the aloe products (UWL, PWL and PIL) at doses of 60 and 80 mg/day each, for 4 weeks. No effects on lowering serum glucose and increased insulin levels with any of aloe treatments were observed. Interestingly, serum and liver triglycerides were decreased with HIP treatment at a dose of 80 mg/day. Moreover, this treatment also improved hepatic steatosis and the alanine aminotransferase levels in serum. In conclusion, UWL and PWL did not exert antidiabetic activity while PIL ameliorated hepatic disorders related to triglyceride storage, however this treatment may cause kidney damage. Therefore, these products may cause adverse health effects.

Keywords: aloin, diabetes, *Aloe vera*, aloe

DEDICATORIAS

A mis padres por todo su cariño y apoyo durante este tiempo, sin ustedes no hubiera culminado con este proyecto.

A mi hermana, por ser siempre “Karen”.

AGRADECIMIENTOS

Al H. Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de estos estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República, por el apoyo para el desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Rosalía Reynoso, que aunque aún le tengo miedo, logré conocer a la gran persona que es y le agradezco especialmente por sus consejos, terapia y apoyo durante todo este tiempo.

A los miembros de mi comité: a la Dra. Minerva Ramos, Dra. Silvia Amaya, Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca y al Dr. Castaño por cada una de sus aportaciones y observaciones para la mejora de este proyecto.

A TODOS mis compañeritos de generación de maestría, por la amistad que surgió entre nosotros. Especialmente a Omar y Francisco, con ustedes aprendí muchas cosas de la vida y aunque son una muy mala influencia: los quiero mucho!!!!!!!!!!!!!!.

A Juan Carlos, por siempre escucharme y alentarme.

A todos mis compañeros de laboratorio, en especial a mi hermanito Julio, sin ti la estancia en el laboratorio no hubiera sido TAN alegre. Por la amistad y cariño que recibí por parte de Marely, Diana, Sarahí, Dalia y Magda.

A la Dra. Marcela Ramírez por la amistad que siempre me ha brindado, y en especial por cada uno de sus consejos que siempre fueron para mejorar como persona.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	ii
SUMMARY	iv
DEDICATORIAS.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES.....	3
2.1 Diabetes mellitus (DM).....	3
2.1.2 Clasificación de DM.....	3
2.1.3 Prevalencia.....	3
2.1.4 Complicaciones de la DM.....	4
2.1.5 Estrés oxidativo en la DM.....	6
2.1.6 Alternativas terapéuticas para el control de la DM	6
2.2 Sábila (<i>Aloe vera</i>).....	7
2.2.2 Generalidades	7
2.2.3 Distribución nacional de la sábila	8
2.2.4 Composición química	8
2.2.5 <i>Aloe vera</i> y diabetes	9
2.2.6 Toxicidad de <i>Aloe vera</i>	11
2.2.6 Tratamientos de los productos de sábila	12
3 JUSTIFICACIÓN.....	14
4 HIPÓTESIS.....	15
5 OBJETIVOS.....	16
5.1 Objetivo general.....	16
6 MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
6.1 Materiales	17
6.1.2 Material Químico	17
6.1.3 Material Biológico	17
6.1.4 Materia prima	17

6.2 Métodos	17
6.2.2 Caracterización de los productos derivados de los tratamientos de eliminación de aloína	18
6.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante	21
6.2.4 Evaluación <i>in vivo</i>	22
6.2.5 Evaluación de daño renal	25
6.2.6 Evaluación de daño hepático.....	26
7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
8 RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
8.1 Caracterización de los productos de sábila.	28
8.1.1 Determinación de la concentración de aloína.	28
8.1.2 Contenido de compuestos fenólicos.....	29
8.1.3 Capacidad antioxidante de los productos de sábila.....	30
8.1.4 Contenido de fibra soluble e insoluble en los productos de sábila	32
8.1.5 Inhibición <i>in vitro</i> de la enzimas digestivas α -amilasa y α -glucosidasa .	33
8.1.6 Cuantificación de polisacáridos	35
8.1.7 Identificación de monosacáridos y disacáridos.....	36
8.2 Evaluación <i>in vivo</i>	39
8.2.1 Efecto de los productos de sábila sobre el peso corporal en ratas diabéticas	39
8.2.2 Efecto de los productos de sábila sobre la concentración de glucosa sanguínea en ratas diabéticas	40
8.2.3 Efecto de los productos de sábila sobre la concentración de insulina en suero en ratas diabéticas	42
8.2.4 Efecto de los productos de sábila sobre los lípidos en ratas diabéticas	43
8.2.5 Efecto de los productos de sábila sobre marcadores de daño hepático en ratas diabéticas	45
8.2.6 Efecto de los productos de sábila sobre marcadores de daño renal en ratas diabéticas	51
9 CONCLUSIONES	55
10 REFERENCIAS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA

1	Corte trasversal de una hoja de <i>Aloe vera</i>	7
2	Diagrama del proceso para la eliminación de aloína de los productos de sábila.....	13
3	Concentración de aloína de los productos de sábila.....	29
4	Concentración de polisacáridos en los productos de sábila con eliminación de aloína.....	36
5	Cromatograma de los productos de sábila sometidos a tratamientos de eliminación de aloína, comparados con los estándares.....	38
6	Evolución del peso corporal de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila.....	40
7	Evaluación de glucosa sanguínea en ratas diabéticas tratadas con productos de sábila.....	42
8	Concentración de insulina en suero de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila.....	43
9	Concentración de triglicéridos en hígado de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila.....	47
10	Microfotografías representativas del análisis histopatológico de los hígados de ratas diabéticas suplementadas con productos de sábila.....	49

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO

1	Composición química de la sábila (<i>Aloe vera</i>).....	8
2	Grupos experimentales de los tratamientos de los productos de Aloe vera	23
3	Concentración de compuestos fenólicos de los productos de sábila	30
4	Capacidad antioxidante de los productos de sábila.....	32
5	Contenido de fibra soluble e insoluble de los productos de sábila	33
6	Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa y α -glucosidasa de los productos de sábila.....	34
7	Valores de la constante Rf (Retardation factor) de los estándares y productos de sábila.....	38
8	Lípidos en suero, hígado y heces de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila con eliminación de aloína.....	44
9	Evaluación de las transaminasas y fosfatasa alcalina en ratas diabéticas tratadas por productos de sábila.....	50
10	Parámetros de daño de renal en suero y orina de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila con eliminación de aloína	52

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica degenerativa que se caracteriza por un aumento de los niveles de glucosa en sangre. Esta enfermedad es una de las principales causas de mortalidad en México y actualmente, existen entre 6 y 10 millones de diabéticos (con una prevalencia nacional de 10.7 % en personas entre 20 y 69 años). La DM se clasifica en 2 tipos: la diabetes mellitus tipo I, en la que existe una destrucción total de las células β , lo que conlleva una deficiencia absoluta de insulina; la diabetes mellitus tipo II, que se genera como consecuencia de una resistencia periférica a la insulina. La mayoría de los pacientes son clasificados con diabetes tipo II. En ambos casos, la disminución de la captación de glucosa en el tejido muscular y adiposo conduce a la hiperglucemia crónica en torrente sanguíneo, lo que resulta en daño tisular y sus complicaciones (Aguilar Salinas, 2001).

Recientemente, se ha sugerido que la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno generadas principalmente dentro de la mitocondria, puede ser la clave central en muchas de las patologías de la diabetes. Por lo tanto, la generación de estas especies reactivas y el daño oxidativo pueden contribuir a la aparición y progresión de las complicaciones de la diabetes (Pérez Matute, 2009).

Debido a lo anterior es necesario el desarrollo de diversas alternativas con propiedades antidiabéticas y que además ayuden a contrarrestar el estrés oxidativo generado durante el desarrollo de la esta enfermedad, lo que puede disminuir el riesgo de complicaciones (FMD, 2012).

Una de estas alternativas es el consumo de sábila (*Aloe vera*), la cual ha reportado que tiene efectos antidiabéticos debido a su capacidad antioxidante y a su alto contenido de fibra. Los compuestos a los que se les atribuye dichas propiedades incluyen las antraquinonas, cromonas y los polisacáridos compuestos de glucosa y manosa. Sin embargo, en 2002 la "Food and Drug Administration" (FDA) catalogó a la sábila como un alimento No Generalmente Reconocido Como

Seguro (NO GRAS, por sus siglas en inglés), debido a su contenido de aloína, una antraquinona presente en la sábila a la cual se le ha atribuido un efecto cancerígeno. Por dicha razón, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) en México ha solicitado a las empresas generadoras de suplementos alimenticios a base de sábila, implementar nuevas tecnologías para la eliminación de aloína. No obstante, estas modificaciones al proceso original para la obtención de estos suplementos podrían producir cambios en la composición química de la sábila y estar comprometiendo su actividad antidiabética, lo cual hace necesario llevar a cabo una evaluación de estos productos para verificar que sus propiedades se conserven después del tratamiento (FDA, 2002; IMPROVE USA, 2014).

En este trabajo se pretendió evaluar la composición nutracéutica, características antioxidantes y antidiabéticas de los productos derivados de sábila antes y después del tratamiento para la eliminación de aloína, así como su efecto *in vivo* en un modelo de diabetes.

2 ANTECEDENTES

2.1 Diabetes mellitus (DM)

La DM es una enfermedad crónica caracterizada por una hiperglucemia que se desencadena cuando el organismo pierde su capacidad de producir suficiente insulina o de utilizarla con eficacia. Ya que la insulina es una hormona que permite que la glucosa de los alimentos entre a las células del organismo. Una alteración es esta hormona da como resultado que la glucosa no se absorba adecuadamente y quede circulando en la sangre, dañando a los tejidos con el paso del tiempo y así generando complicaciones (Aguilar Salinas *et al*, 2001; IDF, 2015).

2.1.2 Clasificación de DM

2.1.2.1 Diabetes Mellitus Tipo I

Este tipo de diabetes es causada por una reacción autoinmune, en la que el sistema de defensas del organismo ataca a las células productoras de insulina (células β pancreáticas) y como consecuencia, el organismo deja de producirla. Por lo tanto, se requiere la administración de esta hormona (OMS, 2014).

2.1.2.2 Diabetes mellitus Tipo II

La diabetes tipo 2 es el tipo más común de diabetes. El organismo puede producir insulina pero, en ocasiones esta no es suficiente o el organismo no responde a sus efectos, provocando una acumulación de glucosa en la sangre.

Este tipo de diabetes, generalmente, aparece en la vida adulta y se relaciona frecuentemente con la obesidad de la parte media del cuerpo, inactividad física, mala alimentación y dislipidemia (OMS, 2014).

2.1.3 Prevalencia

La diabetes tipo II representa el 90% de los casos a nivel mundial y se debe en gran medida a un excesivo peso corporal e inactividad física. Sólo hasta

hace poco, la diabetes tipo II se presentaba únicamente en adultos pero ahora se ha manifestado también en niños (FMD, 2012).

La DM se encuentra entre las primeras causas de muerte en México debido a las complicaciones que genera esta enfermedad y en 2012, México ocupó el sexto lugar a nivel mundial en muertes relacionadas con la diabetes (IDF, 2014).

2.1.4 Complicaciones de la DM

2.1.4.1 Daño renal

Se le llama nefropatía diabética al daño ocurrido en el riñón asociado a las altas concentraciones de glucosa en el organismo; ésta se define como un aumento de albúmina, una proteína abundante en el organismo, mayor de 300 mg/24 h y por una disminución de la tasa de filtración glomerular (Torres Vilorio y Zacarías Castillo, 2002).

El riñón está conformado por nefronas y éstas en su interior contienen a los glomérulos, cuya función es filtrar la sangre y eliminar productos de desecho. Debido al aumento de glucosa en el organismo, ésta interactúa con las proteínas formando productos de glicación avanzada que se acumulan en el glomérulo, lo que provoca cambios en su estructura, evitando la correcta filtración del riñón e incrementando los productos de desecho como lo son creatinina y urea en suero. El efecto anterior, también se observa en los túbulos proximales del riñón, cuya función es reabsorber de manera controlada algunos compuestos útiles para el organismo, pero cuando los túbulos se dañan debido a la glucosa, hay un aumento en suero de otros productos de desecho como el ácido úrico (Jiménez Cocco *et al.*, 2003; Fierro, 2009; Zenteno *et al.*, 2011).

2.1.4.2 Daño hepático

La enfermedad hepática grasa no alcohólica se define como una acumulación excesiva de grasa en el hígado en forma de triglicéridos, denominada esteatosis (histológicamente infiltración mayor del 5% de los

hepatocitos). La clasificación del grado de esteatosis se determina por la cantidad de triglicéridos encontrados en el hígado; se tienen cuatro grados: Grado 0, no se encuentra ninguna lesión; Grado 1, el porcentaje de triglicéridos es menor del 33% en el hígado; Grado 2, el porcentaje se encuentra entre 33-66% y el Grado 3, el porcentaje es mayor al 66% (Bernal Reyes, 2010).

La esteatosis es una complicación de la diabetes como consecuencia de la resistencia a la insulina, pues existe una hiperinsulinemia que contribuye a una lipogénesis en el hígado lo que conlleva a un aumento de ácidos grasos, estos se pueden esterificar dando como resultado un incremento en la formación de triglicéridos en el hepatocito. Debido a lo anterior, se promueve la lisis celular y por lo tanto se incrementan en suero, enzimas que se encontraban en el hepatocito (Postic y Girad, 2008).

Una de estas enzimas es la alanina aminotransferasa, la cual cataliza la transferencia de grupos amino para formar el metabolito oxaloacetato. Se encuentra en abundancia en el citoplasma de los hepatocitos y, por lo tanto, se considerada una enzima hígado-específica, aunque también está presente en el riñón y, en cantidades menores, en el miocardio y en el músculo esquelético (Tejos *et al.*, 2013).

La otra enzima es la aspartato aminotransferasa, que cataliza la transferencia del grupo amino del aspartato al 2-oxoglutarato, formando oxalacetato y glutamato. Es más inespecífica en comparación con la alanina aminotransferasa. Se encuentra en altas cantidades en las células del hígado, el corazón y los músculos (Rodríguez y Martín, 2002).

Finalmente, la fosfatasa alcalina es una fosfomonoesterasa ligada a la membrana celular, constituida por un grupo de isoenzimas que catalizan la liberación de fosfato de ésteres monofosfóricos a pH alcalino. La enzima está involucrada en el transporte de metabolitos a través de las membranas celulares, se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo, pero es mayor su presencia en el hígado, las vías biliares y los huesos (Briozzo *et al.*, 2008).

2.1.5 Estrés oxidativo en la DM

Se define como estrés oxidativo a la pérdida del equilibrio entre la producción de radicales libres y los agentes antioxidantes en el organismo (Rösen, 2000).

Recientemente, se ha sugerido que la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) generadas principalmente dentro de la mitocondria, pueden ser la clave central en la diabetes, ya que éstos causan interferencia en la cascada de señalización de la insulina y el transporte de glucosa en las células. Se ha observado que en pacientes que presentan estrés oxidativo tienen una mayor resistencia a la insulina que los pacientes que no presentaban dicha alteración. Esto se debe a que los radicales libres que promueven el estrés oxidativo impiden la secreción de insulina por parte de las células β del páncreas, afectando el transporte de glucosa en el tejido muscular y el tejido adiposo. Además se ha encontrado que en una condición crónica de hiperglicemia se favorece la producción de radicales libres (Maritim *et al.*, 2003; Pérez Matute *et al.*, 2009; Roberts y Sindhub, 2009).

Se ha reportado que durante el desarrollo de la DM, el sistema antioxidante del organismo disminuye y no es suficiente para contrarrestar los efectos deletéreos del estrés oxidativo, por lo que se sugiere consumir antioxidantes para equilibrar dicho sistema (Jaramillo Juárez *et al.*, 2012).

2.1.6 Alternativas terapéuticas para el control de la DM

La diabetes representa un problema para la población ya que cada vez son más las personas que padecen este trastorno, por lo tanto, es necesario tener diversas alternativas para el tratamiento de esta enfermedad; tal es el caso de la sábila (*Aloe vera*), la cual presenta propiedades antidiabéticas debido a su capacidad antioxidante y alto contenido de fibra.

2.2 Sábila (*Aloe vera*)

2.2.2 Generalidades

La sábila es una planta originaria de África y puede encontrarse en todo el mundo, especialmente en las zonas tropicales y subtropicales. Es una planta con gran interés terapéutico, existen alrededor de 300 especies de *Aloe* pero son cuatro tipos las que presentan propiedades medicinales, siendo *Aloe barbadensis* la más popular y llamada comúnmente por los taxónomos como *Aloe vera*. De acuerdo a la Figura 1, las hojas se componen de tres capas: a) La capa exterior y gruesa, que tienen la función de protección, b) La capa intermedia que está compuesta de un látex, el cual es una savia amarilla y amarga, y c) La capa interna que compuesta de gel. De las plantas adultas (3-5 años), se recolectan las hojas más externas de la base para obtener una pulpa de aloe. Las partes de la sábila que se utilizan para procesar y fabricar productos, son el gel y el látex (Shelton, 1991; Surjushe *et al.*, 2008; Shengal *et al.*, 2013).

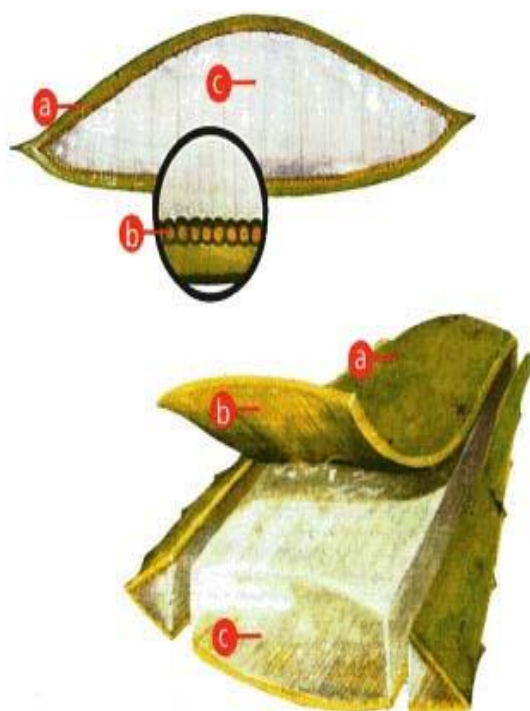


Figura 1. Corte transversal de una hoja de Aloe vera
(Tomado de <http://www.consultatodo.com/aloeVera/paginaAloe3.htm>)

2.2.3 Distribución nacional de la sábila

México aporta el 56% de las hectáreas cultivadas y se posiciona como el mayor agricultor de sábila en el mundo (Álvarez Moreno, 2007).

En México se cuenta con una vasta distribución de sábila, siendo Tamaulipas el principal productor aportando un 75 % de la producción nacional. En ese estado se encuentra una de las empresas más importantes para la comercialización de productos a base de sábila (SAGARPA, 2009).

2.2.4 Composición química

La sábila en su mayoría contiene antraquinonas, carbohidratos en su mayoría polisacáridos y cromonas; además de otros componentes que se encuentran en menor cantidad (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición química de la sábila (*Aloe vera*)

Componentes	Elementos
Antraquinonas	Aloe-emodin, ácido aloético, antranol, aloína A y B (ambos son llamados barbaloina), isobarbaloina, emodina, éster de ácido cinámico.
Carbohidratos	Manano, manano acetilado, glucomanano, glucogalactomanano, galactano, galactogalacturano, arabinogalactano, galactoglucoarabinomanano, pectina, xilano y celulosa.
Compuestos inorgánicos	Calcio, cloro, cromo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, fosforo, sodio, zinc.
Cromonas	8-C-glucosil-(2'-O-cinnamoil)-7-O-metilaloediol A, 8-C-glucosil-(S)-aloesol, 8-C-glucosil-7-O-metil-(S)-aloesol, 8-C-glucosil-7-O-metilaloediol, 8-C-glucosil-noreugenin, isoaloeresin D, isorabaicromona, neoaloesin A.
Enzimas	Fosfatasa alcalina, amilasa, carboxipeptidasa, catalasa, cyclooxygenasa, ciclooxigenasa, lipasa, oxidase, fosfoenolpiruvato carboxilasa y superóxido dismutasa.
Varios	Ácido araquidónico, ácido γ -linolenico, esteroides, trigliceridos, triterpenoides, ligninas, sorbato de potasio, ácido salicílico y ácido úrico.
Vitaminas	B1, B2, B6, C, β -caroteno, colina, ácido fólico y α -tocoferol.

(Hamman, 2008)

2.2.4.1 Polisacáridos

La sábila es una fuente rica en polisacáridos que forman parte de la fibra soluble, éstos se encuentran en mayor proporción en el gel; el glucomanano es uno de los principales polisacáridos (Choi y Myung-Hee, 2003; Ni *et al.*, 2004).

El glucomanano es un polímero formado por la unión de glucosas y manosas en una proporción 5:8 con enlaces β (1-4) y un alto peso molecular; posee la capacidad de captar agua, formando soluciones muy viscosas. Proporciona una sensación de saciedad, así mismo, disminuye los niveles de glucosa e insulina, debido a que retrasa el vaciado gástrico y por lo tanto, dificulta el acceso de la glucosa a la mucosa intestinal (González Canga *et al.*, 2003).

2.2.4.2 Cromonas

La principal cromona encontrada en la sábila es la aloesina (Choi y Myung-Hee, 2003). Las cromonas son componentes bioactivos que han demostrado tener efecto antidiabético debido a su poder antioxidante, esto puede contribuir a la disminución de los efectos del estrés oxidativo durante la diabetes (Yimam *et al.*, 2014).

2.2.4.3 Antraquinonas

Las antraquinonas son metabolitos que se componen de anillos aromáticos con dos grupos acetona. En la sábila se encuentran las siguientes antraquinonas: aloe emodina, emodina y en mayor cantidad la aloína. Diversos estudios han demostrado que las antraquinonas son importantes por su capacidad antioxidante (Park *et al.*, 1998).

2.2.5 Aloe vera y diabetes

Existen estudios donde se han reportado que el extracto pulverizado de las hojas de sábila disuelto en agua en una dosis entre 300-500 mg/kg, induce un efecto hipoglucémico en ratas diabéticas inducidas con aloxano, debido a que la

sábila previene la muerte de las células β , además de inducir su recuperación e iniciar la proliferación de éstas (Sharma *et al.*, 2013).

En otras investigaciones se ha demostrado que existe un efecto antidiabético del gel de aloe. El tratamiento fue suministrado a pacientes obesos con prediabetes; a los pacientes se les dio dos cápsulas que contenían 147 mg de gel por cápsula después del desayuno y cena. Los resultados no fueron muy claros debido a que no se manejó una dieta estricta para los pacientes y no se controlaron otros factores. Sin embargo, en estudios anteriores realizados por el mismo grupo de trabajo, se demostró que el gel redujo los niveles de insulina en ratas diabéticas por la activación de AMP, una protein quinasa del músculo, la cual es un regulador importante del metabolismo de glucosa y lípidos (Choi *et al.*, 2013).

Abo-Youssef y Messiha (2013) reportaron que al administrar el gel directo de la pulpa de la sábila, en concentraciones de 10 mL/kg a ratas diabéticas mostraron efectos hipoglucémicos; dicho efecto se relacionó con las propiedades antioxidantes del extracto sobre las células β del páncreas, promoviendo su reparación. Así mismo, se sugirió que la protección de la sábila puede estar relacionada con su efecto antiinflamatorio, pues ellos proponen que la inflamación participa en la progresión de la diabetes, los principales componentes antiinflamatorios son la emodina y la manosa 6-fosfato.

Extractos del gel de las hojas de sábila fueron administrados a ratas diabéticas en una dosis de 300 mg/kg; se observó una mejora en los niveles de actividad de las enzimas antioxidantes hepáticas. Estos resultados se les atribuyó a los polisacáridos debido a su capacidad antioxidante y a que éstos estimulan la secreción de insulina a partir de las células β remanentes y regeneradas (Ramachandraiahgari *et al.*, 2012).

En otro trabajo se utilizó el gel de *Aloe vera* y éste se sometió a digestión de cinco proteasas para eliminar todo aquello que no fuesen polisacáridos. A este extracto se le realizó un estudio de radicales libres a través de un inductor llamado

AAPH y se observó la disminución de la concentración de radicales libres proporcional al aumento de la concentración de este extracto de polisacáridos. Posteriormente, se identificó el polisacárido que resultó ser una mezcla de ramnosa y arabinosa (Misawa *et al.*, 2008).

2.2.6 Toxicidad de *Aloe vera*

La aloína es un componente de la sábila y se le han atribuido efectos benéficos debido a que tiene capacidad antioxidante (Park *et al.*, 1998). Sin embargo, se ha propuesto que los productos alimenticios a base de sábila no deben contener aloína dado sus propiedades laxantes y alergénicas (FDA, 2002).

Adicionalmente, se han evaluado las propiedades antioxidantes y prooxidantes de diferentes concentraciones de aloína, sobre plásmidos de ADN en un estudio *in vitro*; el daño al ADN se midió a través de irradiación UV. Se encontró que concentraciones de 1.25 hasta 2.5 mM de aloína inducían rupturas en el ADN de 5-30%, mientras que concentraciones de 8–300 μ M tenían efecto prooxidante, ocasionando un daño de 29-35% en el ADN (Tian y Hua, 2005).

En un estudio realizado por Pandiri *et al.* (2011), se evaluaron los extractos de las hojas de *Aloe vera*. Se administró el jugo de las hojas a ratas sanas F344 en concentraciones de 0.5, 1 y 1.5% por dos años *ad libitum* y estas desarrollaron tumores intestinales similares a tumores colaterales en humanos, además se relacionó positivamente el aumento de estos tumores con la dosis del jugo de sábila.

A bebidas suplementadas con gel de sábila se les realizó evaluaciones toxicológicas usando ratones B6C3F1 sanos. En este caso, las hojas de sábila se trataron con carbón activado y un estudio de HPLC demostró que se contaba con una concentración menor de 10 ppm de aloína después del tratamiento. Se suministraron estas bebidas en una dosis del 1% del peso corporal del ratón por día. Después de 13 semanas no se observaron patologías intestinales, por lo que se atribuyó éstos efectos a la disminución en la concentración de aloína (Sehgal *et al.*, 2013).

Posteriormente, el Headquartered at the National Institute of Environmental Health Sciences (NIHHHS) en 2011 estableció que en la elaboración de productos a base de sábila, el límite permitido de aloína es menor a 1 ppm para productos líquidos y hasta 10 ppm en productos sólidos o semisólidos. En mayo de 2002, la FDA definió a la aloína como un alimento NO GRAS y los productos que contienen aloína ya no son viables para medicamentos o suplementos de venta libre (FMD, 2012).

2.2.6 Tratamientos de los productos de sábila

Debido a lo anterior, se debe de procesar a la sábila con tratamientos que eliminen a la aloína, para continuar con su consumo y seguir utilizando a esta planta como una alternativa al tratamiento de la diabetes. En México, la COFEPRIS ha solicitado a las empresas que generan productos a base de sábila la implementación de alguna tecnología para la eliminación de aloína.

Una de las alternativas ha sido el empleo de carbón activado, el cual se mezcla y se deja reposar, posteriormente se añade tierra de diatomeas para generar un sistema de filtrado y eliminar el carbón activado, después el jugo continua con las etapas sucesivas del proceso para finalizar con el secado del producto (IMPROVE, 2014).

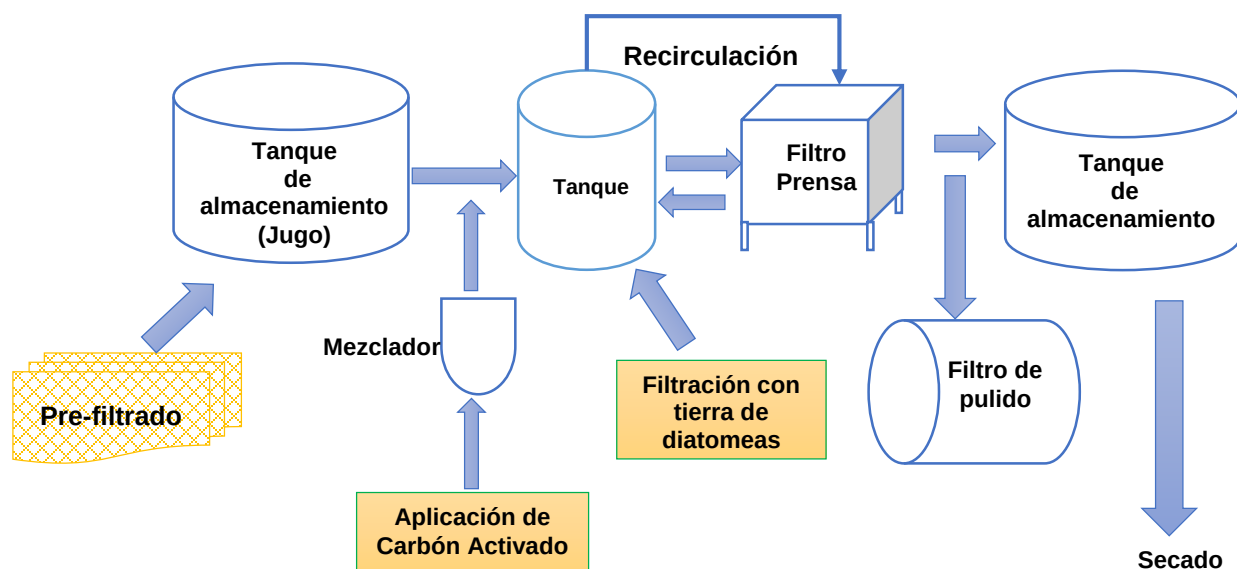


Figura 2. Diagrama del proceso para la eliminación de aloína de los productos de sábila

Sin embargo, el empleo de estas tecnologías para eliminar aloína podría modificar la composición química de los productos y, por lo tanto, se podría modificar las propiedades benéficas.

3 JUSTIFICACIÓN

Una de las principales causas de muerte en México es la diabetes, por lo tanto se requiere encontrar alternativas para el tratamiento de esta enfermedad. La sábila se ha recomendado como un coadyuvante debido a sus propiedades antidiabéticas, las cuales han sido demostradas en estudios científicos.

Cabe destacar que México es el principal productor de sábila a nivel mundial, y en el estado de Tamaulipas se encuentra una de las empresas más importante, ya que cosecha más de 120 toneladas al día ofreciendo un importante ingreso para este estado y el país.

Sin embargo, debido a que existen estudios donde se ha relacionado a la sábila con inducción de cáncer de colón atribuido a la aloína. En el 2013, se estableció que los productos de sábila para consumo humano deberán tener menos de 1 ppm para productos líquidos y hasta 10 ppm de aloína para productos sólidos o semisólidos. En base a lo anterior, se ha optado por implementar nuevos procesos tecnológicos que eliminen este compuesto.

No obstante, es necesario demostrar que los productos a base de sábila que han sido sometidos a dichos procesos para la eliminación de aloína, conservan sus propiedades antidiabéticas.

Por tal motivo, en este estudio se planteó evaluar las propiedades de productos de sábila, los cuales fueron generados empleando carbón activado y tierras diatomeas para disminuir la concentración de aloína.

4 HIPÓTESIS

El proceso industrial para la eliminación de aloína de los productos a base de sábila, disminuye las propiedades antidiabéticas de dichos productos, ya que los materiales empleados retienen algunos de los fitoquímicos con beneficios a la salud.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antidiabético de productos comerciales de sábila obtenidos con una tecnología adicional a lo convencional para la eliminación de aloína.

Objetivos específicos

- 1.** Determinar el efecto del tratamiento para eliminación de aloína sobre el contenido de compuestos bioactivos en los productos comerciales de sábila.
- 2.** Evaluar la capacidad antioxidante de los productos de sábila en estudio.
- 3.** Determinar las propiedades antidiabéticas de los productos en un modelo animal de diabetes.
 - 3.1** Propiedades hipoglucemiantes.
 - 3.2** Protección de daño renal.
 - 3.3** Protección de daño hepático.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

6.1.2 Material Químico

Tiras reactivas para la determinación de glucosa sanguínea fueron de la marca ACCUTREND. Kits enzimáticos para la determinación de glucosa, triglicéridos, creatinina, urea y ácido úrico de la marca Spinreact. Kits para la determinación de las enzimas hepáticas AST, ALT y fosfatasa alcalina fueron de la marca Randox. Kit para cuantificación de insulina de la marca ALPCO. Kit para la fibra dietética de la marca Sigma-Aldrich. Y para la capacidad antioxidante se utilizaron la 2 desoxi-d- ribosa, ácido ascórbico, pirogallol, DPPH, catequina, Tris-HCl y trolox de la marca Sigma-Aldrich. EDTA de la marca BioRad. HCl de la marca Fermont. La enzima α -amilasa de *Bacillus subtilis* y la enzima α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* fueron de la marca Sigma-Aldrich. Membrana de celulosa para tubo de diálisis de 76 mm de la marca Sigma-Aldrich.

6.1.3 Material Biológico

Ratas machos Wistar de 180-200 g fueron adquiridas en el bioterio de la UNAM campus Juriquilla.

6.1.4 Materia prima

La harina molida proveniente de los productos del jugo de la hoja completa sin procesar (HCSP), jugo en polvo de la hoja completa procesada (HCP) y jugo en polvo del interior de la hoja procesada (HIP) fueron obtenidas de la empresa Improve S. A de C.V localizada en el estado de Tamaulipas, México. El producto HCSP fue liofilizado.

6.2 Métodos

6.2.2 Caracterización de los productos derivados de los tratamientos de eliminación de aloína

6.2.2.1 Identificación de aloína

Este compuesto fue cuantificado por la empresa IMPROVE S.A de C.V, utilizando HPLC. Las muestras se diluyeron en 10 ml de etanol, se dejó reposar durante 1 hora con 50 min en agitación y después se centrifugó a $300 \times g$ por 10 min; el sobrenadante se utilizó para el análisis de cromatografía. Se usó una columna de 150×3.9 mm y para la separación se realizó utilizando el siguiente protocolo de elución: 25-30 % de metanol (5 min; gradiente lineal), 30-35 % de metanol (10 min; gradiente lineal), 35-70 % de metanol (35 min; gradiente lineal), 70 % de metanol (10 min; isocrático). El flujo del disolvente se mantuvo constante a 0.7 ml/min a temperatura ambiente en todo el análisis y la detección se llevó a cabo por UV a 293 nm (Park *et al.*, 1998).

6.2.2.2 Determinación de compuestos fenólicos totales

Se realizó una extracción metanólica, pesando 0.5 g de los productos de sábila y 20 mL de metanol:agua (50:50), pH 2. Se agitó por una hora a $500 \times g$ a temperatura ambiente. Después, se centrifugó a $3\,000 \times g$ por 10 min se recolectó el sobrenadante, al cual se le añadieron 20 mL de acetona:agua (70:30) y se agitó por una hora a 50 rpm a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó a $3\,000 \times g$ por 10 min y se recolectó el sobrenadante; ambos sobrenadantes se mezclaron.

Para la reacción se agregaron 66 μ L de agua, 9 μ L del extracto metanólico, 37.5 μ L de la solución de Folin-Ciocalteu 1N; se agitó y se dejó reposar por 5 min. En seguida, se agregó 187.5 μ L de Na_2CO_3 al 20%, se agitó y dejó reposar por 30 min. Se usó una solución de ácido gálico 0.1 mg/mL como estándar para la realización de la curva patrón (Singleton y Rosi, 1965).

6.2.2.3 Cuantificación del contenido de fibra de los productos procesados de *Aloe vera*

Se utilizó un kit de fibra dietética total, se pesó 1 g de muestra y se incubó α -amilasa termoestable a 100 °C, pH 6 por 15 min y luego se realizó la digestión enzimática con proteasa a 60 °C, pH 7.5, 30 min, la muestra se incubó en seguida con α -amiloglucosidasa a 60 °C, pH 4.5, para eliminar las proteínas y el almidón.

Posteriormente, la muestra se filtró y se lavó con agua, se secó y pesó para determinar la fibra soluble. Cuatro volúmenes de etanol al 95% (previamente calentado a 60 °C) se agregaron para el filtrado y los lavados de agua. A continuación, el precipitado se filtró y se lavó con etanol al 78% y acetona al 95%. Después de esto, el residuo fibra insoluble se secó y se pesó. La fibra dietética total se determinó mediante la fórmula:

$$FDT = \text{Peso residuo} - (\text{peso proteína} + \text{peso ceniza})$$

6.2.2.4 Inhibición *in vitro* de la enzima α -amilasa

Se preparó una solución de cada uno de los productos de sábila con una concentración de 1 mg/mL. Se pesaron 0.025 g de la enzima (50 U/mg) y se le agregó 160 μ L de la solución de los productos de sábila y 5 mL de la solución de almidón al 4%. El control sólo contenía almidón y la enzima, sin muestra. Los tubos se colocaron en un baño con agitación a 37 °C por 30 min. Después de este tiempo, se tomaron 2 mL de la solución y se colocaron en un tubo Falcón de 15 mL, se agregó 2 mL de etanol absoluto, se colocaron en un vortex y posteriormente se centrifugaron a 100 $\times$ g durante 15 min. Finalmente, en el sobrenadante se cuantificó la concentración de glucosa con un kit enzimático colorimétrico (Kandra *et al.*, 2005).

Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición, el cual se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs. muestra}}{\text{Abs. patrón}} * 100$$

6.2.2.5 Inhibición *in vitro* de la enzima α -glucosidasa

Se preparó una solución de cada uno de los productos de sábila con una concentración de 1 mg/mL, el jugo de la hoja entera sin procesar se liofilizó.

A 100 μ L de la muestra se le agregaron 100 μ L de la enzima α -glucosidasa a una concentración de 1 U/mL; en el caso del blanco se agregó 100 μ L de la muestra y 100 μ L de la solución de fosfatos 100 mM, pH 6.9; para la muestra de 100% de actividad de la enzima se agregaron 100 μ L de gua y 100 μ L de la enzima.

Posteriormente, las muestras se agitaron e incubaron por 10 min a 25 °C y se les agregó 50 μ L de nitrofenil glucopiranosido 5 mM; se agitaron nuevamente e incubaron por 5 min a 25 °C y se leyó la absorbancia a 405 nm (Liu *et al.*, 2011).

Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición, el cual se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs. muestra}}{\text{Abs. patrón}} * 100$$

6.2.2.6 Cuantificación de los polisacáridos

Se preparó el jugo interior de la hoja (gel) procesado a una concentración de 0.05 g/mL y los otros dos productos a una concentración de 0.1 g/mL. Se colocaron 400 μ L de cada uno de los productos de sábila en micro tubos de 2 mL, se adicionaron 500 μ L de NaOH 0.2 M y finalmente se agregaron 100 μ L del colorante 3,3'-([1,1'-bifenil]-4,4'-diil) bis (4-aminonaftalen-1-sulfonato) de sodio (rojo congo) 2×10^{-4} M a cada una de las muestras. Se dejó reposar por 20 minutos para finalmente leer a una longitud de onda de 540 nm (Eberendu *et al.*, 2005).

Se realizó una curva patrón utilizando inulina.

6.2.2.7 Identificación de monosacáridos y disacáridos mediante cromatografía en placa fina

Se realizó una cromatografía en capa fina usando como estándares: glucosa, manosa, fructosa, sacarosa e inulina. Tanto los estándares como los productos de sábila se prepararon a una concentración de 1 mg/mL.

Se colocaron 0.5 µL de los estándares y las muestras en una placa de sílica dejando 1 cm de separación de la parte inferior de la placa, con un espacio de 0.75 cm entre cada muestra. La placa con las muestras se puso en contacto con la fase móvil que consistió en una mezcla de 2-propanol, 1-butanol y agua en una relación 12:3:4; ésta se mantuvo tres veces en contacto con la fase móvil; la primera vez por un tiempo de 3 h, la segunda vez por 1.5 h y finalmente por 1 h, dejando un tiempo de secado de 10 min entre cada intervalo de contacto con la fase móvil. Posteriormente, la placa se roció por 3 min con un líquido revelador compuesto por 0.1 g de difenilamina en 10 mL de acetona, 0.6 mL de ácido fosfórico y 0.1 mL de anilina. Finalmente, la placa se dejó secar y se calentó en una parrilla hasta la aparición de color (Robyt, 2000).

6.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante

6.2.3.1 Determinación de la capacidad antioxidante por el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Este método, desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995), se basa en la disminución de la absorbancia medida a 515 nm debido a la reducción del radical DPPH por la acción de los antioxidantes. Se preparó una solución 0.1 mM de DPPH en metanol, 1 mL del radical se adicionó a 12 µL de los extractos metanólicos de los productos de sábila como los preparados de acuerdo a la sección 6.2.2.2. Las muestras se mezclaron y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente y protegidos de la luz, una vez terminado este tiempo se leyó la absorbancia de la mezcla a 517 nm. La actividad para secuestrar radicales de los extractos se determinó en base a la disminución de los valores de absorbancia calculando el porcentaje de inhibición, realizando una curva patrón

con catequina y posteriormente los resultados son expresados como equivalentes de catequina por gramo de producto.

6.2.3.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de la actividad de captación de radicales superóxido (O_2^-)

La capacidad de los productos de sábila de secuestrar aniones superóxido se evaluaron a través del método de inhibición de la autooxidación del pirogalol. El pirogalol en medio básico se autooxida generando aniones superóxido, de esta forma la reacción mediada por radicales libres se propaga acelerando la autooxidación del pirogalol cuya forma oxidada absorbe la luz a 420 nm. La presencia de un secuestrador de dichos radicales en el medio, inhibirán la autooxidación al evitar las reacciones de propagación.

En un volumen final de reacción de 3 mL se adicionaron los siguientes reactivos en las concentraciones finales indicadas: 50 μ L tampón Tris-HCl pH - 8.2 50 mM, 50 μ L EDTA 1 mM, 100 μ L de la muestra y 50 μ L de solución de pirogalol 0.124 mM. Se dejó reposar por 20 min y se leyó la absorbancia a 420 nm (Bermúdez Camps *et al.*, 2000; Kanga *et al.*, 2013; Ray y Gupta, 2013). Se realizó una curva patrón utilizando trolox, los resultados se expresaron como equivalentes de trolox por gramo de producto.

6.2.4 Evaluación *in vivo*

6.2.4.1 Aclimatación de los animales de experimentación

Las ratas Wistar macho con un peso de 180-200 g se sometieron a un periodo de adaptación aproximadamente de una semana en el bioterio, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 h cada uno y con acceso libre a comida y agua.

6.2.4.2 Inducción de diabetes

Una vez aclimatados los animales y con un estado de ayunas de 12 h, se realizó la inducción de diabetes con estreptozotocina (STZ) y el grupo sano fue inyectado únicamente con 0.5 mL de una solución salina. Para los grupos

inducidos con STZ vía intraperitoneal con dosis única de 35 mg/kg de peso corporal disuelta en una solución de citrato de 0.1 M, pH 4.5.

Después de cinco días se midió la glucosa sanguínea en un estado de ayuno de 12 h y se seleccionaron aquellos animales que presentaron niveles mayores a 180 mg/dL.

6.2.4.3 Grupos experimentales

Los animales posteriormente se distribuyeron en ocho grupos de ocho ratas cada uno. El grupo uno (control sano) se mantuvo con un consumo de alimento estándar y agua *ad libitum*. Los animales del grupo control diabético tuvieron acceso a una dieta alta en grasa desde el comienzo del experimento hasta su sacrificio; los grupos a los que se les administraron los tratamientos además de la dieta alta en grasa, se les incorporó en al agua de beber los productos procesados de sábila, a dos diferentes dosis durante cuatro semanas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Grupos experimentales de los tratamientos de los productos de Aloe vera

Grupo	Tratamiento
Control negativo (sano)	Dieta estándar
Control positivo (diabético)	Dieta 28 % grasa + STZ
HCSP	Dieta 28 % grasa + STZ + 60 mg/día
	Dieta 28 % grasa + STZ + 80 mg/día
HCP	Dieta 28 % grasa + STZ + 60 mg/día
	Dieta 28 % grasa + STZ + 80 mg/día
HIP	Dieta 28 % grasa + STZ + 60 mg/día
	Dieta 28 % grasa + STZ + 80 mg/día

HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada

6.2.4.4 Determinación de glucosa semanal

Los niveles de glucosa se midieron semanalmente en sangre extraída de la vena caudal de las ratas (localizada en el extremo de la cola del animal) semanalmente, con un mínimo de 12 h en estado de ayuno. La medición se realizó con tiras reactivas y un glucómetro ACCU CHEK Performa. En esta técnica, el glucómetro mide la corriente generada al convertir la glucosa de la muestra de sangre (colocada sobre la tira) en glucolactona por la enzima glucosa deshidrogenasa, indicando así la concentración de glucosa en mg/dL.

6.2.4.5 Evaluaciones semanales

Posterior a la inducción, se midieron semanalmente los siguientes parámetros semanalmente: glucosa, consumo de alimento y peso para evaluar la evolución de la enfermedad.

6.2.4.6 Sacrificio

Las ratas se sacrificaron utilizando éter etílico para anestesarlas y se les extrajo sangre por punción cardíaca. El suero se separó inmediatamente de las muestras de sangre por centrifugación, se congelaron y almacenaron a -70°C hasta su análisis. Finalmente, se extrajeron los riñones y el páncreas, se lavaron con amortiguador de fosfatos salino frío; una parte se almacenó en solución de formaldehído para análisis histopatológico; la otra parte se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -70°C para posteriores análisis.

6.2.4.7 Determinación de glucosa

Se realizó la determinación de glucosa del suero obtenido de la extracción por punción cardíaca de las ratas, utilizando un kit de la marca Spinreact.

6.2.4.8 Determinación de insulina

Se determinó la insulina en suero usando un kit de Elisa de Insulina para rata.

6.2.4.9 Determinación del perfil lipídico en sangre

En las muestras obtenidas de sangre se obtuvo el suero para cuantificar el perfil lipídico: Colesterol total y triglicéridos mediante kits enzimáticos de la marca Spinreact.

6.2.4.10 Determinación de triglicéridos en heces

100 a 300 mg de heces se colocaron en un tubo, se le adicionaron 350 µL de una solución etanólica KOH (2 partes de etanol y una parte de KOH 30%). Se dejó incubar durante 18 h. Posteriormente, la muestra se llevó a un volumen de 1000 µL con una solución etanol:agua (1:1), se centrifugó a 3 000 × g durante 5 min y se colocó el sobrenadante en otro tubo. Enseguida, la muestra se llevó a un volumen de 1200 µL con la solución etanol:agua (1:1) y se mezcló. Después, se tomaron 200 µL y se colocaron en un nuevo tubo y se le agregaron 215 µL de MgCl₂ 1 M y se mezclaron. Se incubaron los tubos en hielo por 10 min y, finalmente, se centrifugaron a 3 000 × g durante 5 min y el sobrenadante se colocó en otro tubo (Norris *et al.*, 2002). Se cuantificó la concentración de triglicéridos mediante kit enzimático.

6.2.5 Evaluación de daño renal

6.2.5.1 Determinación de urea, creatinina y ácido úrico

Para evaluar daño renal se analizaron urea y creatinina en suero y orina utilizando kits. Con estos valores se determinó el aclaramiento de creatinina y urea con la siguiente fórmula para ambos casos:

$$\text{Aclaramiento} \left(\frac{\text{mL}}{\text{min}} \right) = \frac{\text{Creatinina ó urea en orina} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) * \text{Volumen orina (mL)}}{\text{Creatinina ó urea en suero} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) * \text{tiempo (min)}}$$

El volumen de orina fue recolectado durante 12 h y también se cuantificó los niveles de ácido úrico en suero y orina con un kit comercial.

6.2.6 Evaluación de daño hepático

6.2.6.1 Cuantificación de triglicéridos en hígado

Se procedió de la misma manera que para heces (6.2.4.10).

6.2.6.2 Cortes histológicos en hígado

Los hígados se colocaron en formaldehído al 4% con una solución de fosfatos, posteriormente se realizó un corte transversalmente que se sometió a una serie de lavados con alcohol a diferentes concentraciones (0.5% a 100%) para deshidratar el tejido, posteriormente se colocó en xilol para hacer el aclaramiento y finalmente se agregó la parafina, colocando la muestra en una estufa durante 30 min manteniendo la temperatura a 60 °C. Finalmente se dejó solidificar a temperatura ambiente, formándose un bloque sólido de parafina con el trozo de tejido incluido. A partir de este bloque se realizaron los cortes con el criostato con un espesor de 6 µm, los cuales se fijaron en un portaobjetos para posteriormente realizar las tinciones.

La tinción de ácido peryódico schiff (PAS) se realizó de la siguiente forma: los cortes se rehidrataron con agua destilada y se sumergieron en solución de ácido peryódico por 5 min a temperatura ambiente, se lavaron con agua destilada para posteriormente teñirse con solución de hematoxilina durante 90 s, nuevamente se lavaron los portaobjetos y finalmente se deshidrataron, aclararon y montaron los cortes en un medio con base de xileno.

6.2.6.3 Cuantificación de enzimas hepáticas ALT, AST y fosfatasa alcalina.

Se cuantificó la actividad en suero a las enzimas hepáticas como alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina utilizando kits enzimáticos.

7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se expresan como la media $\pm$ error estándar (EE). La evaluación estadística de los datos se determinó mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%, además se realizó un análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey-Kramer y cuando se comparó contra un control se utilizó la prueba de Dunnet ($P < 0.05$).

En el caso de los resultados de las técnicas *in vitro* no llevan comparación de medias, debido a que no se contó con el número suficiente de lotes para éste análisis estadístico.

8 RESULTADOS Y DISCUSIONES

8.1 Caracterización de los productos de sábila.

8.1.1 Determinación de la concentración de aloína.

Se ha reportado que la sábila genera beneficios a la salud, como en el caso de Pérez *et al.* (2007) donde observaron que un extracto metánolico de la sábila disminuyó la resistencia a la insulina en ratones ICR y ésta disminución se relacionó con su capacidad antioxidante; además, el extracto se caracterizó y entre los compuestos mayoritarios se encontró a la aloína. Sin embargo, existen estudios contradictorios que señalan que la aloína actúa como un prooxidante, ocasionando rupturas en las hebras de ADN (Tian y Hua, 2005).

Por su parte, Pandiri *et al.* (2011) demostraron que el consumo *ad libitum* de jugo de sábila en ratas sanas durante dos años, induce adenomas en el intestino grueso, dichas alteraciones se atribuyeron a la aloína.

En base a lo anterior, el NIHHS en 2011 decretó que en la elaboración de productos a base de sábila, el límite permitido de aloína es menor a 1 ppm para productos líquidos y hasta 10 ppm en productos sólidos y semisólidos. La COFEPRIS (2012) estableció que las empresas que elaboren productos a base de sábila, deberán de aplicar tratamientos para la remoción de aloína.

En base a lo anterior, una de las empresas más importantes de Latinoamérica ubicada en el estado de Tamaulipas ha modificado el proceso para la obtención de productos a base de sábila, aplicando carbón activado para eliminar a esta antraquinona, en este estudio se evaluaron dichos productos. Los resultados de la concentración de aloína se presentan en la Figura 3. HCSP contiene 102 ppm de aloína. Por su parte, la concentración de aloína de los productos HCP y HIP disminuyó en un 95% en comparación con HCSP, por lo tanto, estos productos se encuentran dentro del límite permisible establecido por el NIHHS. Estos resultados indican la efectividad del tratamiento para la remoción

de aloína, ya que el carbón activado tiene una elevada capacidad de adsorción debido a su estructura porosa (Mohammad-Khah y Ansari, 2009).

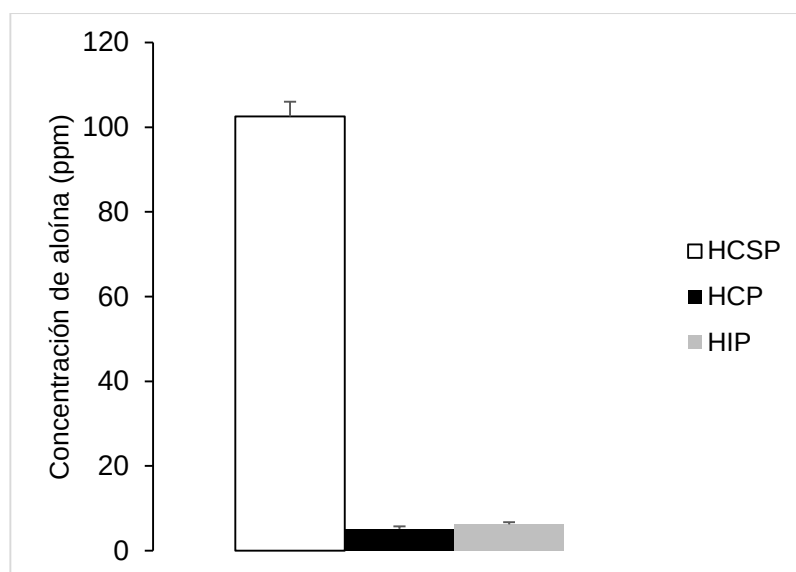


Figura 3. Concentración de aloína de los productos de sábila. Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar ($n=3$). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.1.2 Contenido de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos. Existe evidencia del papel de los compuestos polifenólicos en la prevención de enfermedades crónico degenerativas, como es el caso de la diabetes; debido probablemente a la actividad antioxidante. Esta actividad se debe a su estructura, ya que favorece la captación de radicales libres, neutralizando a las ERO e iones metálicos (Manach *et al.*, 2005). Esto es conveniente pues en un estado de diabetes, se genera la formación de radicales libres que van generando procesos oxidativos, por lo que la inhibición de estos procesos puede prevenir la aparición y el desarrollo de complicaciones en la diabetes (Bahadoran *et al.*, 2013). Como lo demuestran Yin *et al.* (2011) donde la presencia de compuestos fenólicos encontrados en *Castanea mollissima* generan un efecto antioxidante y, por lo tanto, disminuye la concentración de glucosa en ratas Wistar.

En el Cuadro 3 se presenta la concentración de compuestos fenólicos. Ésta concentración fue 5.7 veces en el producto HCSP al compararse con su contraparte sin procesar HCP; ambas muestras procesadas (HCP y HIP) presentaron tendencias similares, lo que indica que este proceso además de disminuir la aloína, elimina compuestos fenólicos.

Cuadro 3. Concentración de compuestos fenólicos de los productos de sábila.

Producto de sábila	Compuestos fenólicos (mg equivalente de ácido gálico/g de producto)
HCSP	23.36 ± 1.11
HCP	4.04 ± 0.21
HIP	2.71 ± 0.62

Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (n=3). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

Los resultados de la concentración de compuestos fenólicos del jugo de la hoja sin procesar (HCSP) fueron similares a los obtenidos por Miladi y Damak (2008), usando acetato de etilo como solvente de extracción.

El carbón activado es el principal componente para la remoción de la aloína; sin embargo, han surgido estudios donde demuestran que el carbón activado posee la capacidad de adsorción de compuestos orgánicos de bajo peso molecular tales como los compuestos fenólicos. Esta puede ser una de las causas de la baja concentración de estos compuestos en los productos a los que se les ha removido la aloína (Dabrowski *et al.*, 2005).

8.1.3 Capacidad antioxidante de los productos de sábila

Existen varios métodos para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia. Un método muy usado se basa en la estabilidad del radical DPPH, esta estabilidad se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una coloración violeta. Cuando una disolución de DPPH interacciona con una sustancia que puede donar un átomo de

hidrógeno se produce la forma reducida DPPH-H, que tiene como consecuencia la pérdida del color violeta (Brand-Williams *et al.*, 1995; Padmanabhan y Jangle, 2012).

No obstante, aunque el radical DPPH nos da información acerca del comportamiento de una sustancia, este radical es de origen sintético; por lo tanto también se cuantificó la capacidad antioxidante utilizando un radical que se produce en el organismo como lo es el anión superóxido (O_2^-). La formación de este radical ocurre por la reducción del oxígeno; es decir, cuando el oxígeno acepta un electrón (Fridovich, 1997). Esta especie es relativamente inestable y tiene una función importante *in vivo*, ya que puede generarse durante la función catalítica normal de diversas enzimas y durante la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (Jaramillo Juárez *et al.*, 2012). La formación *in vitro* de O_2^- se genera utilizando pirogalol que al oxidarse origina anión superóxido y una forma oxidada del pirogalol, la cual genera la coloración que se cuantifica espectrofotométricamente (Ray y Gupta, 2013).

Los resultados de la capacidad antioxidante para la inhibición de los radicales DPPH y anión superóxido se muestran en el Cuadro 4. La capacidad antioxidante es mayor en el producto HCSP usando ambas técnicas y existe una reducción de aproximadamente de un 55-65% cuando la hoja completa fue procesada (HCP), mostrando valores similares a HIP. Esto nos indica que existen pérdidas de compuestos donadores de electrones durante el proceso para eliminar a esta antraquinona, lo cual coincide con los resultados del contenido de compuestos fenólicos, pues se tiene una correlación positiva de 0.78 y 0.87 para el radical DPPH y O_2^- , respectivamente; debido a que hay un aumento de la capacidad antioxidante conforme aumenta el contenido de compuestos fenólico en HCSP; ya que estos son compuestos con potencial antioxidante y su concentración disminuye durante el proceso para eliminar aloína (Manach *et al.*, 2005).

Cuadro 4. Capacidad antioxidante de los productos de sábila

Producto de sábila	DPPH· (mg equivalente catequina/g)	O ₂ ⁻ (mg equivalente trolox/g)
HCSP	0.37 ± 0.06	1.97 ± 0.37
HCP	0.13 ± 0.01	0.88 ± 0.02
HIP	0.15 ± 0.01	0.94 ± 0.54

Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (n=3). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.1.4 Contenido de fibra soluble e insoluble en los productos de sábila

La fibra dietaria se clasifica en fibra soluble e insoluble, según la solubilidad de las sustancias que componen la fibra en agua. La fibra representa la porción no digerible de los alimentos y ésta llega intacta al colon donde puede ser hidrolizada y fermentada por la biota colónica. El interés por la fibra en la nutrición humana aparece por la relación que existe entre el consumo inadecuado de fibra y el aumento progresivo de enfermedades degenerativas, debido a que existe una clara relación entre la actividad biológica de las bacterias, los metabolitos producidos en la fermentación de la fibra y la fisiología del ser humano (Escudero Álvarez y González Sánchez, 2006).

En el cuadro 5 se muestran los resultados obtenidos de fibra soluble e insoluble. Al examinar los porcentajes de ambos tipo de fibra en los productos de la hoja completa sin procesar (HCSP) y procesada (HCP), no se observan cambios en la fibra soluble, pero si una menor concentración en la fibra insoluble de un 84%; mientras que el producto HIP presenta las mayores concentraciones tanto de fibra soluble como insoluble.

La sábila es rica en polisacáridos que forman parte de la fibra soluble, entre estos podemos mencionar al acemanano y glucomanano, ambos se encuentran localizados principalmente en el tejido parenquimatoso en concentraciones importantes (Choi y Myung-Hee, 2003). El glucomanano se ha asociado con el control de la diabetes, pues éste incrementa la viscosidad del contenido del tracto gastrointestinal, lo que retrasa el vaciado gástrico a nivel del estómago e intestino

generando una barrera que evita la acción de las enzimas sobre el contenido gástrico (Doi *et al.*, 1981; González Canga *et al.*, 2004).

Además, la sábila contiene celulosa, la cual forma parte de la fibra insoluble; este tipo de fibra aunque no se disuelve en agua, sí la retiene, lo que le permite aumentar el volumen de las heces y acelerar el tránsito intestinal. Finalmente, la fibra insoluble llega al intestino grueso donde las bacterias del colon pueden hidrolizarla, debido a sus enzimas. Este proceso de digestión se produce en condiciones anaerobias, por lo que se le denomina fermentación. Los principales productos de la fermentación de la fibra son ácidos grasos de cadena corta: ácido acético, ácido butírico y el ácido propiónico. El ácido propiónico influye en la neoglucogénesis reduciendo la producción hepática de glucosa. El ácido butírico puede actuar reduciendo la resistencia periférica a la insulina al disminuir la producción de TNF α (Eckel *et al.*, 2005; Escudero Álvarez y González Sánchez, 2006).

Cuadro 5. Contenido de fibra soluble e insoluble de los productos de sábila

Producto de sábila	Fibra soluble (%)	Fibra insoluble (%)	Fibra total (%)
HCSP	14.85 $\pm$ 2.89	5.97 $\pm$ 1.36	20.82 $\pm$ 4.25
HCP	13.05 $\pm$ 2.19	0.95 $\pm$ 0.17	14.00 $\pm$ 2.36
HIP	27.90 $\pm$ 3.39	27.40 $\pm$ 0.28	55.30 $\pm$ 3.67

Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar (n=3). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.1.5 Inhibición *in vitro* de la enzimas digestivas α -amilasa y α -glucosidasa

La enzima α -amilasa se encuentra en la saliva y el jugo pancreático; esta enzima cataliza la hidrólisis de las cadenas lineales (amilosa) y las ramificadas (amilopectina) del almidón rompiendo enlaces α -1,4 para formar mono-, di- y oligosacáridos. En el caso de la enzima α -glucosidasa, ésta se encuentra en la superficie de la mucosa del intestino delgado y cataliza la etapa final de la digestión del almidón, hidrolizando los enlaces α -1,6. Los inhibidores de ambas enzimas impiden la hidrólisis del almidón en el intestino delgado y, por lo tanto, la

disminución de glucosa en sangre (Subramanian *et al.*, 2008; Michelle de Salas *et al.*, 2012).

Se muestran resultados similares en el caso del porcentaje de inhibición de los productos HCSP y HCP para ambas enzimas (Cuadro 6). Pero el mayor porcentaje de inhibición para ambas enzimas se presentó en el producto HIP con porcentajes de inhibición de 36% y 29%, para las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, respectivamente. La correlación entre fibra total y el porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa fue de 0.94 y 0.96 para α -glucosidasa; lo anterior sugiere que entre mayor cantidad de fibra tengan los productos de sábila, mayor es la inhibición de estas enzimas.

Cuadro 6. Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa y α -glucosidasa de los productos de sábila.

Producto de sábila	Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa	Porcentaje de inhibición de la enzima α -glucosidasa
HCSP	1.37 ± 0.15	0.39 ± 0.07
HCP	1.08 ± 0.19	4.52 ± 0.95
HIP	36.34 ± 2.30	29.47 ± 0.45

Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar (n=3). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

Se ha demostrado que los compuestos polifenólicos pueden inhibir a las enzimas digestivas debido a su capacidad para unirse a éstas, por lo tanto, las enzimas no se encuentran disponibles para la hidrólisis del almidón (Thilagam *et al.*, 2013). Sin embargo, los resultados obtenidos no sugieren que la inhibición se atribuya a la presencia de dichos compuestos, ya que la concentración de los compuestos fenólicos fué menor con los tratamientos para eliminar aloína.

Por otro lado, las fibras y polisacáridos de alta viscosidad pueden reducir los niveles de glucosa postprandial, debido a que la fibra puede atrapar al almidón y evitar la accesibilidad de las enzimas digestivas a éste (Ahmed *et al.*, 2011; Havrlentová *et al.*, 2011). Como lo demuestran Jenkins *et al.* (2002), donde la adición de fibra soluble a diversos alimentos, mejoró en índice glicémico de pacientes con diabetes tipo II. En ese sentido, el producto HIP tiene la mayor

cantidad de fibra soluble lo cual se relaciona con el mayor porcentaje de inhibición de las enzimas digestivas ($R^2=0.95$ para α -amilasa y $R^2=0.88$ para α -glucosidasa); esto nos indica que la fibra presente en este producto puede disminuir la concentración de glucosa a través de la inhibición de las enzimas digestivas.

8.1.6 Cuantificación de polisacáridos

Una de las diferencias que existen en el jugo de la hoja completa procesada y sin procesar es la disminución del porcentaje de fibra; esto podría estar relacionado con una hidrólisis de los polisacáridos. Para evaluar este efecto se realizó una cuantificación de los polisacáridos totales presentes en los productos de sábila usando el colorante 3,3'-([1,1'-bifenil]-4,4'-diil) bis (4-aminonaftalen-1-sulfonato) de sodio, comúnmente llamado Rojo congo.

Se eligió usar al colorante rojo congo, porque se puede unir de manera no covalente a las cadenas de polisacáridos en los enlaces β (1-4), debido a las interacciones por puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. De igual manera, se ha visto que existe interacción hidrofóbica entre los grupos hidroxilo de los polisacáridos y los grupos azo del colorante; además, el exceso de rojo congo protege electrostáticamente la interacción entre los iones de este mismo y los polisacáridos (Yuguchi *et al.*, 2005).

En la Figura 4 se presentan los resultados obtenidos. La concentración de polisacáridos de la hoja completa procesada (HCSP) fue menor en un 16% en comparación con la hoja completa sin procesar (HCP). Esto sugiere que los polisacáridos se están eliminando con los tratamientos empleados para disminuir la concentración de aloína. No obstante, se ha demostrado que el carbón activado tiene afinidad por los monosacáridos y disacáridos, incluso puede llegar a remover oligosacáridos de 20 unidades (Ruiz-Matute *et al.*, 2008; Kuhn *et al.*, 2014). Esto sugiere que el carbón activado no podría remover a los polisacáridos presentes en la sábila, especialmente al glucomanano, ya que tiene un peso molecular alto y ramificaciones cada 60 unidades (González Canga *et al.*, 2004).

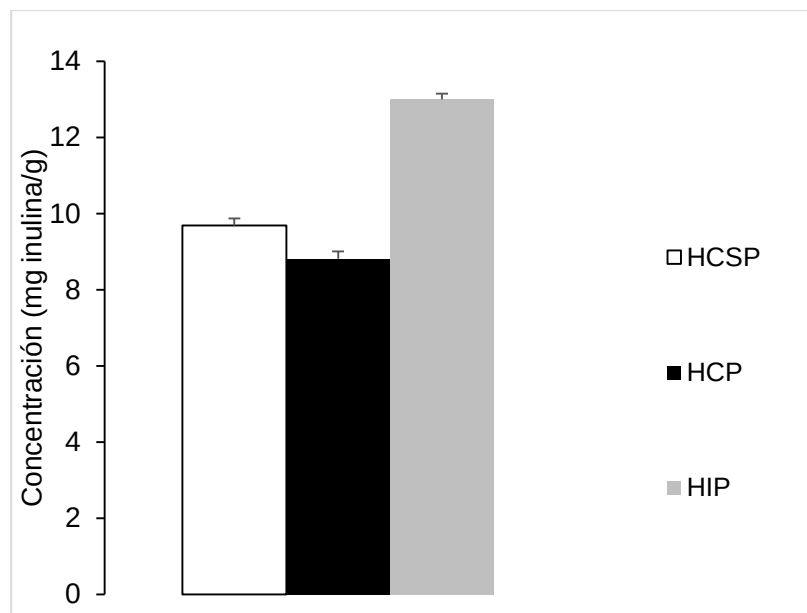


Figura 4. Concentración de polisacáridos en los productos de sábila. Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar ($n=3$). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

Por su parte, el producto de la hoja interior procesada (HIP) presentó la mayor concentración de polisacáridos; lo que coincide con los resultados de fibra reportados anteriormente, ya que este producto mostró los mayores porcentajes tanto de fibra dietaria. Éstos resultados eran de esperarse, pues el tejido parenquimatoso es la parte de la sábila que presenta la mayor concentración de polisacáridos (Lucini *et al.*, 2013) y la composición mayoritaria del producto HIP es el tejido paranquimatoso.

8.1.7 Identificación de monosacáridos y disacáridos

Se realizó una cromatografía de placa fina utilizando los productos de sábila y se compararon con los productos de una hidrólisis de polisacáridos: monosacáridos y disacáridos. Este tipo de cromatografía es una técnica analítica donde la muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una placa aluminio que ha sido recubierta de una capa de adsorbente (fase estacionaria). Después, la placa se pone en contacto con una mezcla de disolventes (eluyente o fase móvil); a medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente. Al final el líquido

revelador deshidrata a las pentosas y hexosas originando furfural o hidroximetilfurfural, los cuales son compuestos coloreados (Robyt, 2000; Gocan, 2002).

Uno de los parámetros que se miden en este tipo de cromatografía es la constante R_f (Retardation factor). Esta constante es una manera de expresar la posición numérica de un compuesto sobre una placa y se define como: la distancia de la muestra desde el origen / la distancia del eluyente desde el origen (Robyt, 2000). Como esta constante es característica de cada compuesto, los estándares tendrán un R_f único que se podrá comparar con los R_f de las muestras en estudio y así determinar su composición.

Las constantes R_f de los estándares de monosacáridos y de los productos de sábila se encuentra en el Cuadro 7 y en la Figura 5. Los valores de R_f varían entre 0.69-0.74 para los estándares; estos valores son similares a los reportados por Skalska-Kaminska (2009). Por su parte, la inulina presenta un R_f inferior al de los monosacáridos debido a que su peso molecular no le permite recorrer una distancia mayor (Bohm *et al.*, 2005).

En el producto HCSP no se observa una mancha en comparación con HCP; lo que coincide con los resultados obtenidos en la sección anterior, ya que una disminución en la concentración de polisacáridos concuerda con un aumento en la concentración de los monosacáridos y sacarosa. El producto HIP también contiene una mancha, pero su grosor es menor en comparación con HCP. Estos resultados demuestran que la hoja completa sometida a tratamiento de eliminación de aloína presenta mayor cantidad de mono y disacáridos.

Existen trabajos donde se aplicaron tratamientos para eliminar aloína usando carbón activado con diferentes caudales de alimentación, encontrándose que los azúcares reductores disminuyeron al aplicar el carbón activado (Lozano Urbina *et al.*, 2011). Esto sugiere que existe otra etapa del proceso que genera la hidrólisis de los polisacáridos después de la aplicación de carbón activado.

Cuadro 7. Valores de la constante Rf (Retardation factor) de los estándares y productos de sábila

Muestra	Rf
Glucosa	0.69
Fructosa	0.68
Manosa	0.74
Sacarosa	0.71
Inulina	0.27
HCSP	0.71
HCP	0.72
HIP	0.72

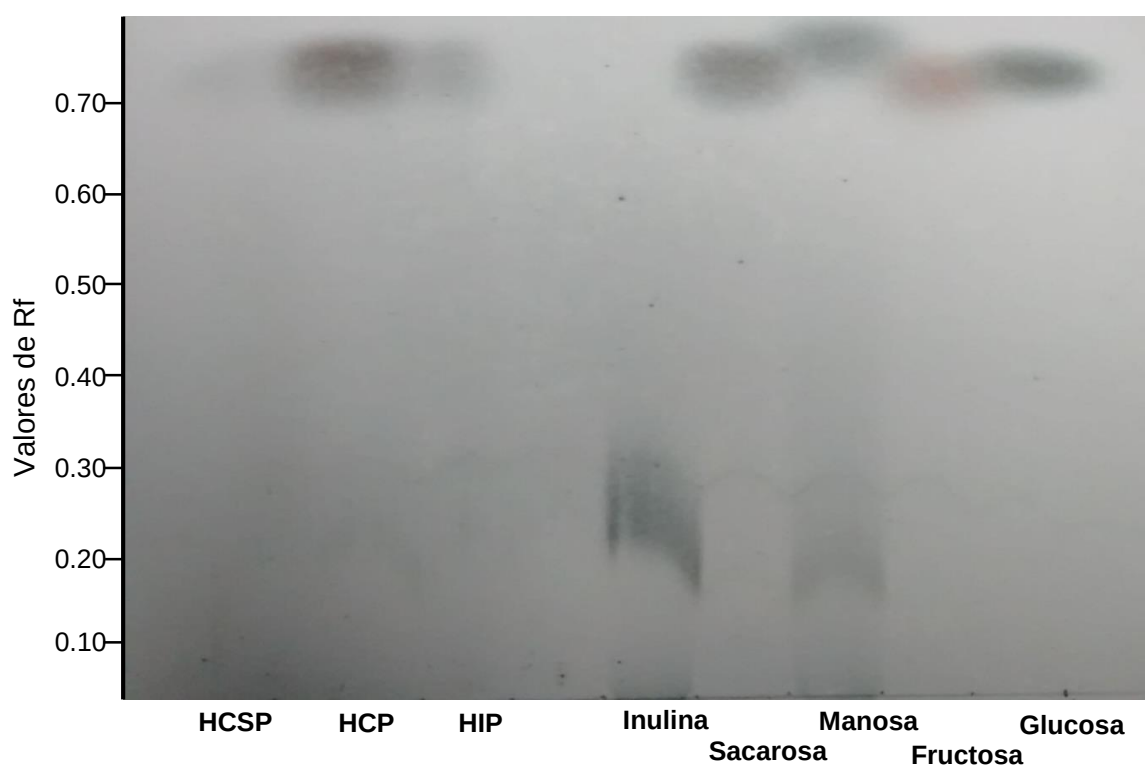


Figura 5. Cromatograma de los productos de sábila sometidos a tratamientos de eliminación de aloína, comparados con los estándares. HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.2 Evaluación *in vivo*

Después de las evaluaciones *in vitro*, fue necesario corroborar la capacidad antidiabética de los productos de sábila posterior a la remoción de aloína, usando un modelo *in vivo*.

8.2.1 Efecto de los productos de sábila sobre el peso corporal en ratas diabéticas

En la Figura 6, se observa la relación de peso corporal de las ratas diabéticas, desde el día de la inducción (semana cero) hasta el final del experimento. En la semana cero y uno, no hubo diferencia significativa en los pesos de los animales.

A partir de la semana dos, se puede distinguir que los animales del control diabético disminuyeron de peso de manera significativa en un 10% en comparación con el control sano. Esta tendencia es similar a la observada en un trabajo desarrollado por Muhammad y Naqvi (2010) en donde hubo una asociación entre la progresión de la enfermedad y la disminución de peso corporal de los animales a lo largo del tiempo. No obstante, los pesos de los animales tratados con los productos de sábila fueron muy similares entre ellos, ya que no hay diferencia significativa al compararlo con el control sano y diabético.

La relación entre la diabetes y la pérdida de peso corporal se debe a que una disminución en la concentración de insulina genera la liberación de ácidos grasos a partir de triglicéridos del tejido adiposo para utilizarlos como fuente de energía (Flores *et al.*, 2005).

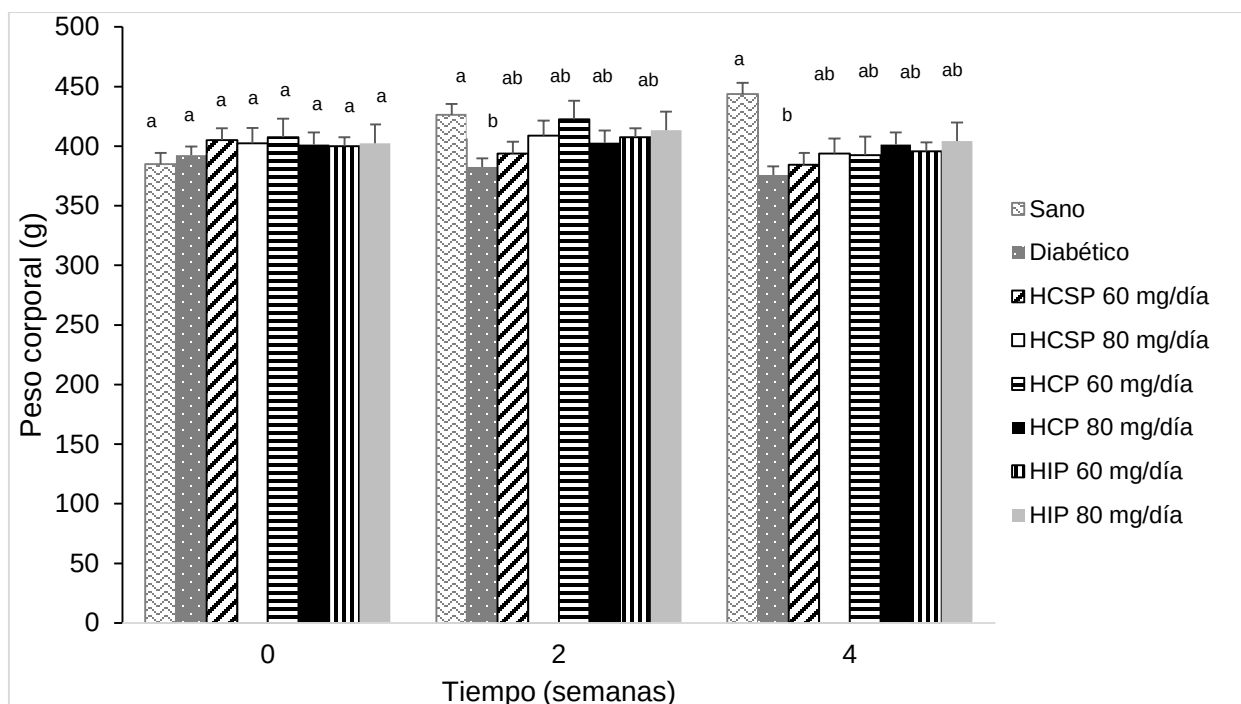


Figura 6. Peso corporal de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila. Los resultados se expresan como la media $\pm$ error estándar ($n=8$). Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.2.2 Efecto de los productos de sábila sobre la concentración de glucosa sanguínea en ratas diabéticas

La inducción de diabetes se realizó con estreptozotocina, la cual es un glucosa-nitrosourea que genera citotoxicidad sobre las células β del páncreas, debido a su afinidad por estas células; su mecanismo de acción se basa en la generación de radicales libres que causan la fragmentación del ADN en las células pancreáticas. Cabe destacar que la citotoxicidad de este compuesto es progresiva (Ling, 2001).

En la Figura 7 se muestran los resultados de la concentración de glucosa durante el experimento; las concentraciones de glucosa para animales sanos varían entre 77 a 109 mg/dL, lo que coincide con los resultados obtenidos por Fook Chen *et al.* (2012). Existe una diferencia en la concentración de glucosa entre los grupos del control sano y diabético desde la semana cero, no obstante, no existe diferencia significativa en la concentración de glucosa a lo largo del

experimento para los animales que fueron tratados con los productos de sábila, en comparación con el control diabético. En el caso de HCSP, estos resultados son contradictorios a los presentados en otros trabajos, donde se muestra que la sábila tiene efectos antidiabéticos en ratas inducidas con estreptozotocina o aloxano.

Abo-Youssef y Shehata (2013) mezclaron la pulpa y el látex de hojas de sábila y esta mezcla disminuyó los niveles de glucosa en ratas diabéticas inducidas con STZ a una dosis de 10 mL/Kg durante 3 semanas. También se ha usado el gel de las hojas de sábila en este mismo modelo, y éste disminuyó la glucosa a concentraciones similares a las de un medicamento antidiabético (glibenclamida) (Bolkent *et al.*, 2005). En otro estudio se utilizó el gel de la sábila al que se le aplicó un pre-tratamiento con celulasa y, posteriormente, se pasó por una columna de carbón activado para eliminar antraquinonas; las dosis de 10, 25 y 100 mg/Kg del gel tuvieron efecto antidiabético sobre ratones a los que se les indujo diabetes a través de una dieta alta en grasa, el experimento duró 8 semanas (Kim *et al.*, 2009).

En los trabajos anteriores es evidente que la manera de obtención de las muestras de sábila mostró tener efectos antidiabéticos. En el presente estudio, los procesos industriales a los que es sometida la sábila para la obtención de los tres productos pueden ser una de las causas para la falta del efecto antidiabético; además, los tratamientos para la remoción de aloína modifican la composición química de la sábila, al disminuir compuestos polifenólicos y polisacáridos e incrementar monosacáridos y disacáridos.

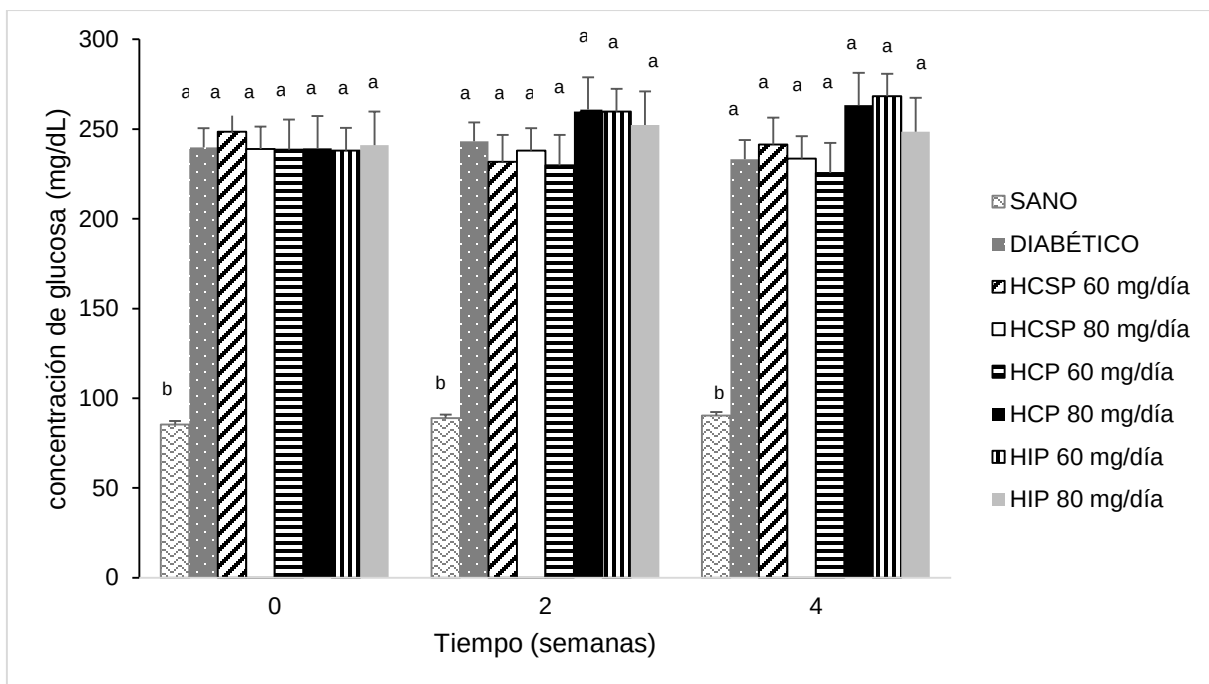


Figura 7. Niveles de glucosa sanguínea en ratas diabéticas tratadas con productos de sábila. Los resultados se expresan como la media $\pm$ error estándar (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.2.3 Efecto de los productos de sábila sobre la concentración de insulina en suero en ratas diabéticas

La insulina es la hormona reguladora de los niveles de glucosa sanguínea. Por esta razón, se evaluó los niveles de esta hormona en suero de los animales al término de los tratamientos.

En la Figura 8, se puede observar que existe una disminución significativa entre la concentración de insulina entre el grupo control sano y diabético. Como se mencionó en la sección anterior, esta disminución de insulina se debe a la citotoxicidad de la estreptozotocina por las células β pancreáticas, y al haber una disminución de estas células, se reduce la producción de insulina.

Ninguno de los tratamientos aumentó de manera significativa la secreción de insulina, lo que coincide con los resultados de la concentración de glucosa del punto anterior. Existen diversos estudios donde se muestran resultados contradictorios a los presentados en este trabajo, como Yimam *et al.* (2014)

quienes demuestran que una mezcla de la aloesina (una cromona presente en la sábila) y polisacáridos, a 80 mg/Kg durante 4 semanas, aumentaron los niveles plasmáticos de insulina en ratas diabéticas.

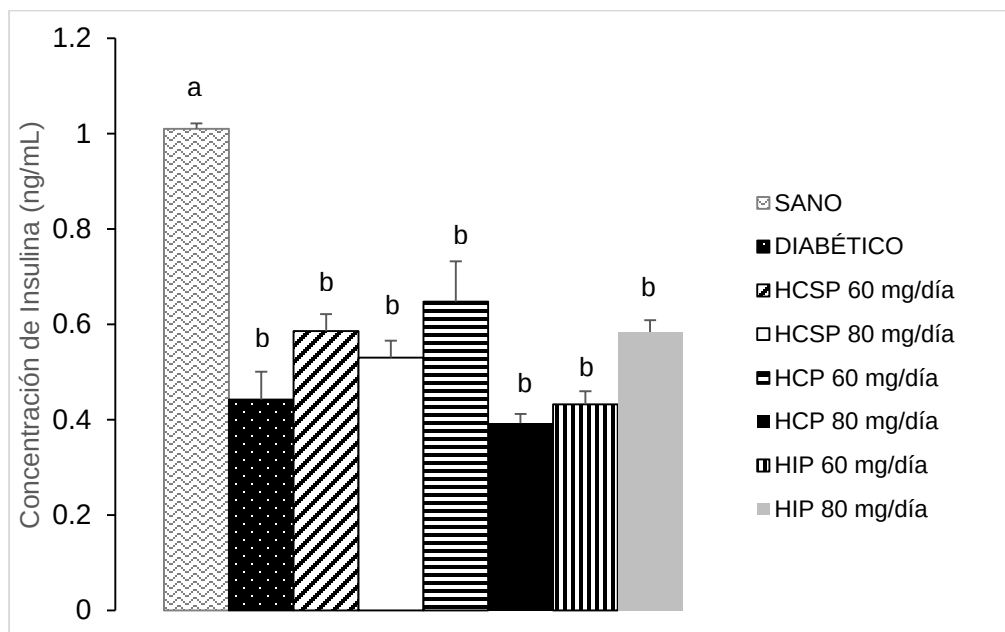


Figura 8. Concentración de insulina en suero de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila. Los resultados se expresan como la media $\pm$ error estándar (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

8.2.4 Efecto de los productos de sábila sobre los lípidos en ratas diabéticas

Las alteraciones en el metabolismo de lípidos en pacientes diabéticos son una consecuencia común, y esto es de considerable importancia ya que existe una asociación entre la hiperlipidemia y el desarrollo de arterosclerosis. El patrón más común asociado a pacientes diabéticos es la elevación de los niveles de triglicéridos (ADA, 2007; Abbate and Brunzell, 1990).

En el Cuadro 8 se muestran los resultados de la concentración de colesterol y triglicéridos. En el caso del colesterol total, no hubo diferencia significativa entre el grupo control sano y el control diabético ni tampoco con los tratamientos. Además, para presentar una alteración en los niveles de colesterol la concentración debe ser mayor de 200 mg/dL (ADA, 2007).

En cuanto a los niveles de triglicéridos en suero, el control diabético presentó un aumento en más de dos veces su concentración en comparación con el control sano. Como ya se había mencionado anteriormente, esta alteración es muy común en el desarrollo de la diabetes y se asocia principalmente a una disminución en los niveles de insulina, ya que en condiciones normales esta hormona promueve el almacenamiento de los triglicéridos en el tejido adiposo; si ésta se encuentra disminuida, los triglicéridos no se almacenan y quedan circulando en torrente sanguíneo (ADA, 2007).

A pesar de que los animales tuvieron acceso a una dieta alta en grasa, HIP a la dosis de 80 mg/día fue el único tratamiento que tuvo la menor concentración de triglicéridos séricos, con una disminución del 30% en comparación con el control diabético, esto puede disminuir el riesgo de padecer problemas cardiovasculares.

Los animales que forman parte de los tratamientos HCSP 80 mg/día, HCP 80 mg/día y HIP 60 mg/día tuvieron las concentraciones más altas de triglicéridos en suero (inclusive más alto que el control diabético), sin embargo no fueron estadísticamente significativas. Esto sugiere que existe mayor síntesis de los triglicéridos o que éstos son absorbidos casi por completo en el intestino y no son desechados en heces.

Cuadro 8. Lípidos en suero, hígado y heces de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila con eliminación de aloína.

Tratamiento	Colesterol total (mg/dL)	Triglicéridos en suero (mg/dL)	Triglicéridos en heces (mg/g heces)
SANO	92.62 ± 6.86 ^a	72.54 ± 8.51 ^c	1.31 ± 0.09 ^a
DIABÉTICO	86.20 ± 9.68 ^a	168.02 ± 9.32 ^{ab}	1.13 ± 0.04 ^{ab}
HCSP 60 mg/día	82.57 ± 9.74 ^a	146.07 ± 11.67 ^{ab}	1.04 ± 0.09 ^{ab}
HCSP 80 mg/día	99.88 ± 4.54 ^a	168.35 ± 19.03 ^a	1.14 ± 0.05 ^{ab}
HCP 60 mg/día	80.34 ± 9.78 ^a	168.61 ± 11.12 ^{ab}	1.06 ± 0.05 ^{ab}
HCP 80 mg/día	86.86 ± 9.27 ^a	187.57 ± 18.17 ^a	0.91 ± 0.04 ^b
HIP 60 mg/día	87.30 ± 12.0 ^a	191.05 ± 15.01 ^a	0.92 ± 0.02 ^b
HIP 80 mg/día	84.40 ± 12.1 ^a	107.89 ± 8.36 ^{bc}	1.17 ± 0.03 ^{ab}

Los resultados se expresan como la media $\pm$ error estándar (n=8). Letras diferentes por columna indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

Resultados opuestos a los presentados por la mayoría de los tratamientos en este trabajo fueron observados por Moniruzzaman *et al.* (2012), quienes usaron extractos del gel de la sábila y de la corteza en ratas inducidas con STZ, los animales tratados disminuyeron los niveles de triglicéridos en suero. De igual manera, Mohapatra *et al.* (2013) administraron el gel de la sábila en animales diabéticos por 21 días y los niveles de triglicéridos séricos disminuyeron de manera significativa. Uno de los mecanismos que se asocia con la disminución de triglicéridos séricos es el contenido de fibra, ya que se ha reportado que esta puede atrapar a los lípidos provenientes de la dieta impidiendo su absorción en el intestino (Iwata *et al.*, 2012). Cabe resaltar que el producto HIP tiene el mayor porcentaje de tanto de fibra soluble como insoluble.

Para demostrar el efecto de los tratamientos sobre la eliminación de triglicéridos, éstos se cuantificaron en heces y los resultados indican que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos comparados con el control diabético. Por lo tanto, el mecanismo del tratamiento que tuvo la menor concentración de triglicéridos en suero (HIP 80 mg/día), no está relacionado con una mayor eliminación de estos lípidos en heces.

8.2.5 Efecto de los productos de sábila sobre marcadores de daño hepático en ratas diabéticas

Durante la progresión de la diabetes se puede desarrollar esteatosis no alcohólica. Ésta es una enfermedad crónica que se define como una acumulación excesiva de triglicéridos en el hígado, además, se clasifica en cuatro estadios según la cantidad de triglicéridos acumulados (Barba Evia, 2008).

Por lo anterior, se cuantificaron los niveles de triglicéridos en el hígado de los animales en estudio. En la Figura 9 se puede observar que la concentración de triglicéridos del grupo control diabético aumentó dos veces en comparación con el control sano; como ya se había mencionado en secciones anteriores, la insulina promueve el almacenamiento de triglicéridos en el tejido adiposo; sin embargo, los

bajos niveles de esta hormona provocan que los triglicéridos queden circulando en torrente sanguíneo y pueden llegar al hígado para ser hidrolizados y ser utilizados como fuente de energía (ADA, 2007). Asimismo, la dieta es otro factor importante para el desarrollo de hígado graso no alcohólico, ya que existen estudios donde ratas sanas con acceso a dietas con diferentes porcentajes de grasa y, hubo un aumento en el desarrollo de esteatosis al incrementar el porcentaje de grasa (Kerpe *et al.*, 2011; Krugner-Higby *et al.*, 2011). En el presente estudio, los animales también tuvieron acceso a una dieta alta en grasa, lo cual puede ser otro de los factores para el desarrollo de esteatosis.

En cuanto a los tratamientos, el único producto que tuvo la menor concentración de triglicéridos en hígado fue HIP a una dosis de 80 mg/día, hasta en un 35% ($p < 0.05$) estadísticamente igual al grupo control sano. Este producto contiene el mayor porcentaje de fibra dietaria tanto soluble como insoluble. La fibra evita que los triglicéridos sean absorbidos por el intestino para ser desechados en heces, como lo comprueban Villanueva *et al.* (2011) en donde suministraron diversas dietas variando la cantidad de fibra a hámsteres sanos, la concentración de triglicéridos en hígado disminuyó y aumentó en heces. No obstante, en este presente estudio la concentración de triglicéridos en heces no presentó un decremento significativo para este producto (Cuadro 8).

Se ha reportado que fitoesteroles extraídos de la sábila disminuyen la concentración de triglicéridos hepáticos en ratas diabéticas Zucker y este efecto se relacionó a una menor expresión de genes relacionados con enzimas lipogénicas, tales como acetil CoA carboxilasa (ACC) y sintasa de ácidos grasos (FAS); así mismo, se reportó un incremento en la expresión de enzimas que participan en la oxidación de ácidos grasos como la acil CoA oxidasa (ACO) y la carnitin Palmitoil CoA tranferasa (CPT-1) (Misawa *et al.*, 2012). En base a lo anteriormente mencionado, el efecto producido por el producto HIP puede estar relacionado con los fitoesteroles.

Para demostrar el grado de daño generado en el hígado se tomaron microfotografías representativas de cortes histológicos, realizados en el hígado de

los animales en estudio (Figura 10). Las imágenes del lado izquierdo corresponden a un aumento 200x y las del lado derecho 400x; el grupo control sano presenta grado cero de esteatosis (Figura 10 a, b) y el control diabético grado 2 (Figura 10 c, d) lo que coincide con la cuantificación de triglicéridos en hígado.

Para los grupos tratados con HCSP y HCP se ve que hay una relación dosis dependiente, pues las dosis de 60 mg/día presentan grado 1 de esteatosis (Figura 10-e, f, i, j), mientras que las dosis de 80 mg/día presentan grado 2 (Figura 10-g, h, k, l). El tratamiento HIP 60 mg/día tiene grado 1 (Figura 10-m, n), se puede confirmar que el hígado de los animales que fueron tratados con HIP 80 mg/día presenta grado de esteatosis semejante al grupo control sano (10-ñ, o).

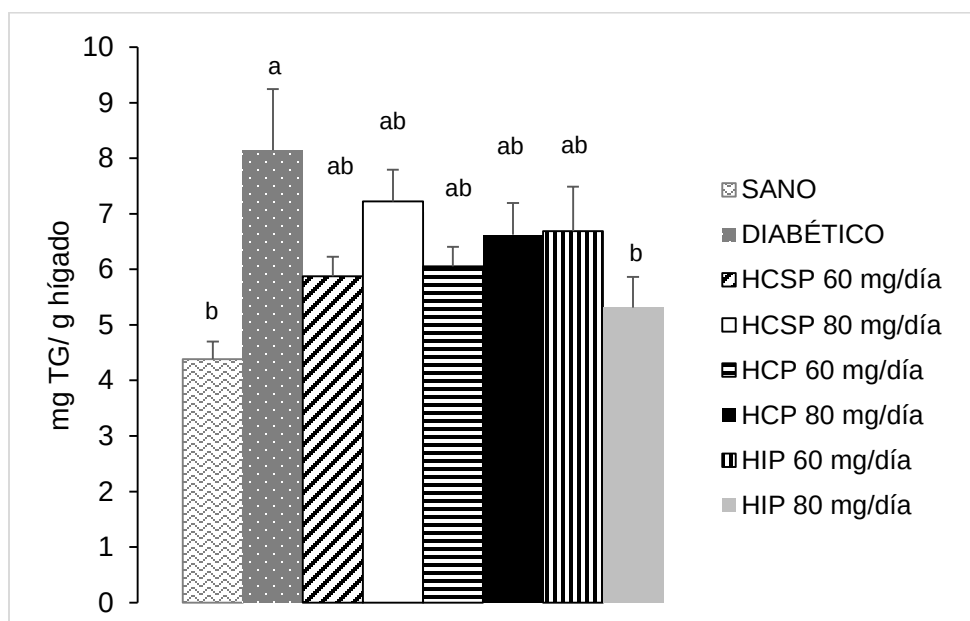
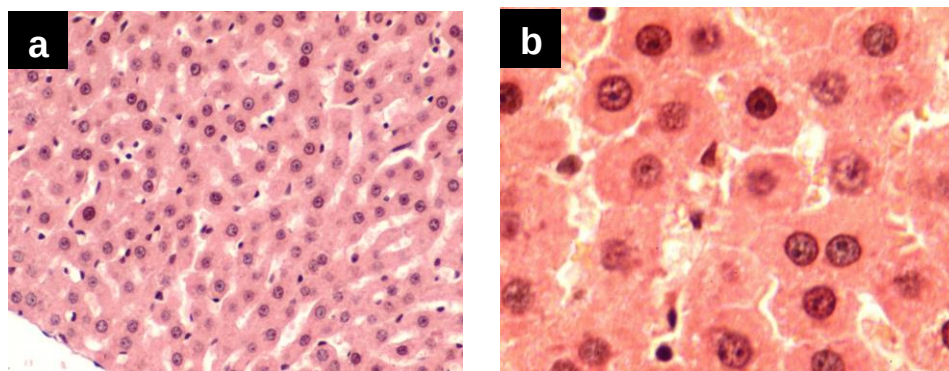
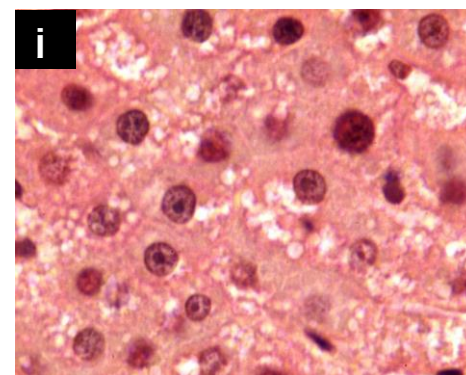
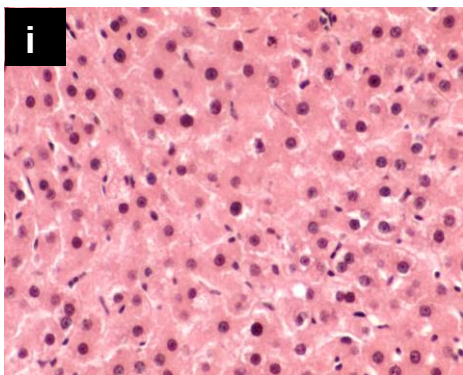
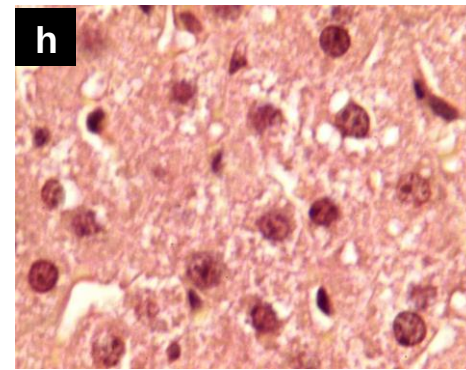
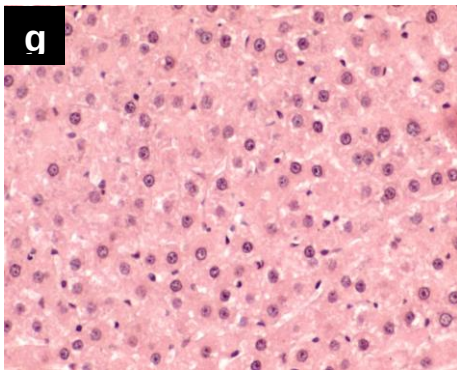
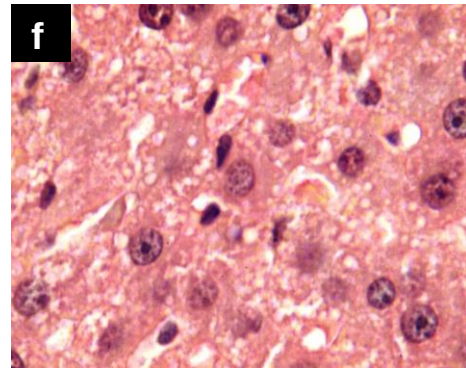
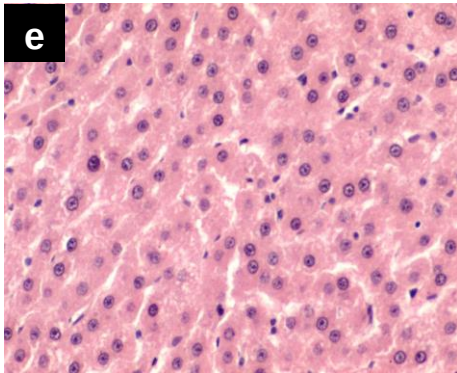
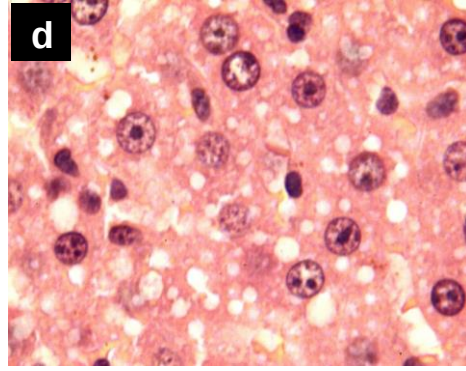
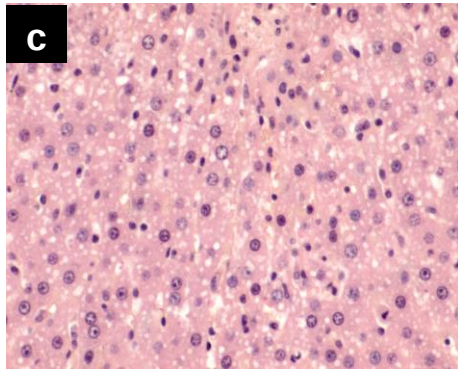


Figura 9. Concentración de triglicéridos en hígado de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila. Los resultados se expresan como la media $\pm$ error estándar (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada, HIP: Hoja interior procesada.





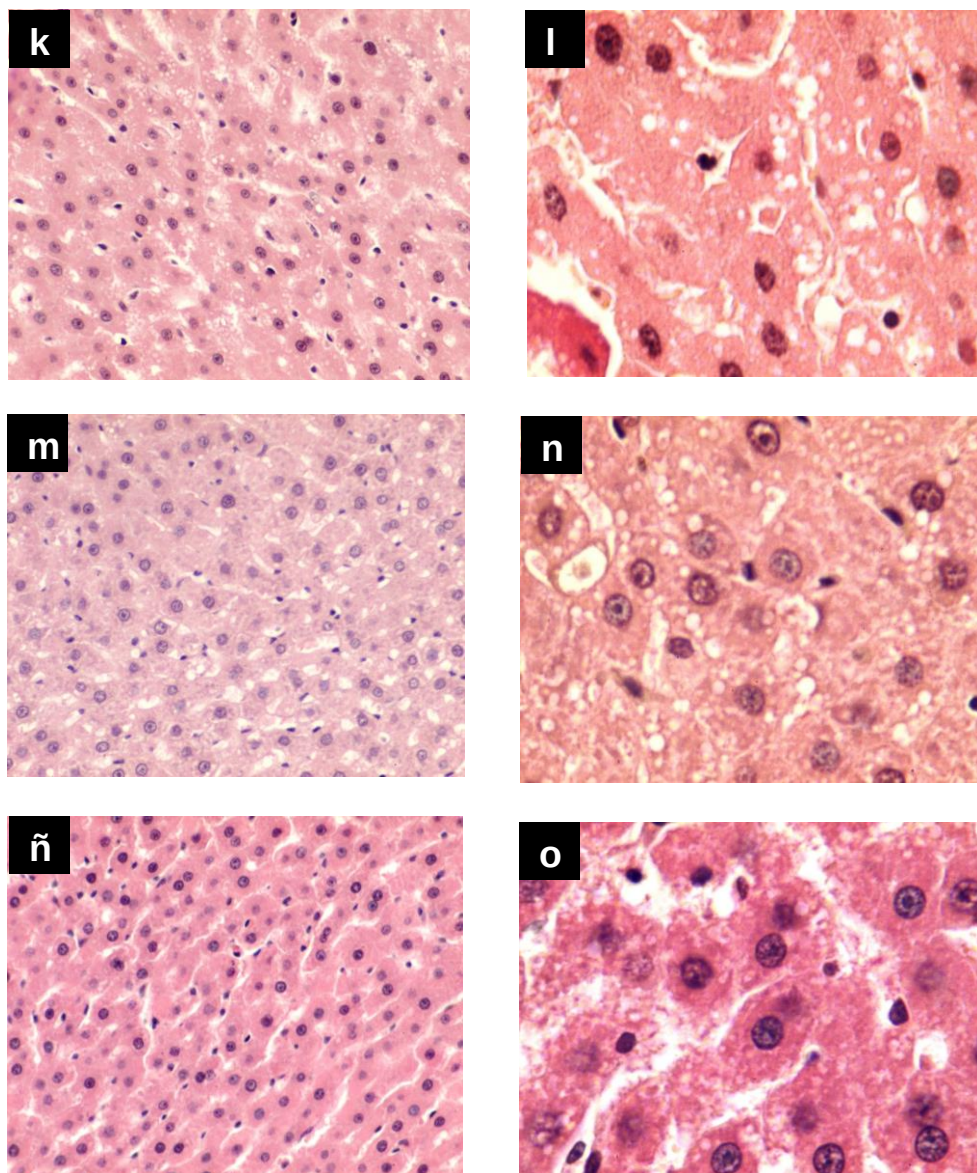


Figura 10. Microfotografías representativas del análisis histopatológico de los hígados de los animales en estudio. (a: control sano 200x; b: control sano 400x; c: control diabético 200x; d: control diabético 400x; e: HCSP (60 mg/día) 200x; f: HCSP (60 mg/día) 400x; g: HCSP (80 mg/día) 200x; h: HCSP (80 mg/día) 400x; i: HCP (60 mg/día) 200x; j: HCP (60mg/día) 400x; k: HCP (80 mg/día) 200x; l: HCP (80 mg/día) 400x; m: HIP (60 mg/día) 200x; n: HIP (60 mg/día) 400x; ñ: HIP (80 mg/día) 200x; o: HIP (80 mg/día) 400x).

Otros de los parámetros que indican daño hepático son las transaminasas y la fosfatasa alcalina; por lo tanto, se procedió a medir su actividad catalítica en el suero de los animales tratados con los productos de sábila. Los resultados se observan en el Cuadro 9.

Al evaluar la enzima alanino aminotransferasa se ve que no hay diferencia significativa entre el control sano y el control diabético; pero el tratamiento HCP 80

mg/día presentó un aumento en su actividad hasta en un 65% en comparación con el grupo control diabético, lo que indica que este producto no solamente ejerce una protección sobre el hígado, sino que puede inducir daño. El grupo tratado con HIP 80 mg/día tiene valores estadísticamente similares al grupo control sano, lo que coincide con la cuantificación de triglicéridos en hígado y con las observaciones en las microfotografías del estudio histopatológico.

En el caso de la aspartato aminotransferasa, tampoco se observa diferencia entre los controles, sin embargo, el tratamiento HCSP 80 mg/día incrementó en un 34% su valor al compararlo con el grupo control diabético, lo que confirmó el resultado anterior, un posible daño hepático.

Finalmente, la actividad de la fosfatasa alcalina muestra diferencia significativa entre el grupo control sano y diabético, ya que este último incrementa su actividad considerablemente, pero no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

Cuadro 9. Actividad de las transaminasas y fosfatasa alcalina en ratas diabéticas tratadas por productos de sábila

Tratamientos	Alanino aminotransferasa (U/L)	Aspartato aminotransferasa (U/L)	Fosfatasa alcalina (U/L)
SANO	13.79 ± 0.96 ^c	19.20 ± 1.11 ^b	128.58 ± 10.82 ^b
DIABÉTICO	16.51 ± 2.33 ^{bc}	23.88 ± 2.32 ^{ab}	447.31 ± 69.94 ^a
HCSP 60 mg/día	20.62 ± 1.54 ^{ab}	20.37 ± 1.35 ^{ab}	447.74 ± 22.23 ^a
HCSP 80 mg/día	20.37 ± 1.25 ^{ab}	25.69 ± 1.23 ^a	398.35 ± 22.29 ^a
HCP 60 mg/día	17.65 ± 2.46 ^{bc}	24.53 ± 1.21 ^{ab}	381.03 ± 39.03 ^{ab}
HCP 80 mg/día	22.76 ± 1.19 ^a	22.59 ± 1.92 ^{ab}	495.35 ± 20.73 ^a
HIP 60 mg/día	21.79 ± 0.62 ^{ab}	20.17 ± 1.59 ^{ab}	464.20 ± 75.38 ^a
HIP 80 mg/día	16.42 ± 0.83 ^c	24.22 ± 0.47 ^{ab}	402.04 ± 19.27 ^{ab}

Los resultados se expresan como la media ± error estándar (n=8). Letras diferentes por columna indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

El producto HIP, debido a su alta composición en fibra dietética, presenta una menor concentración de triglicéridos en hígado y decrementa la actividad de la enzima alanino aminotransferasa. De acuerdo a los mecanismos mencionados anteriormente, esto es importante ya que esta enzima es específica de daño

hepático en comparación con las otras dos; sin embargo, los otros productos al parecer generan daño hepático. Estos resultados coinciden con los reportados por Yang *et al.* (2010), observaron una hepatotoxicidad directa de los productos de sábila en pacientes que consumieron suplementos alimenticios a base de sábila, debido al aumento considerable de las transaminasas en suero.

8.2.6 Efecto de los productos de sábila sobre marcadores de daño renal en ratas diabéticas

La nefropatía diabética es una complicación relativamente frecuente durante el desarrollo de la diabetes, es una enfermedad irreversible y progresiva que culmina con la insuficiencia renal crónica (Martín López *et al.*, 2002).

Uno de los parámetros que se evalúa para determinar si existe daño renal es la creatinina. Éste compuesto es un producto de desecho del metabolismo muscular pues proviene de la creatina, una molécula que participa en la producción de energía en el músculo (Jabary *et al.*, 2006). Otro parámetro que también se evalúa es la urea, ésta se sintetiza en el hígado como producto de desaminación de los aminoácidos y se excreta en la orina (Caravaca *et al.*, 1996). En una condición normal, los riñones filtran a la creatinina y urea de la sangre, para posteriormente desecharlos en la orina; si los riñones no funcionan bien, ambos elementos se acumulan en suero. Para obtener información acerca del funcionamiento renal se calcula el aclaramiento de creatinina y urea, ya que éste mide la eficiencia con la que los riñones pueden remover a ambos parámetros de la sangre (Zenteno *et al.*, 2011).

Los resultados del aclaramiento de creatinina y urea se muestran en el Cuadro 10. En el caso del valor de aclaramiento de creatinina, se observa que existe diferencia significativa entre el grupo control sano y diabético, ya que este último tuvo una menor concentración en su tasa de aclaramiento al disminuir en un 56% en comparación con el control sano; sin embargo, no existe diferencia significativa entre los tratamientos con los productos de sábila. Por otro lado, los resultados para el aclaramiento de urea indican diferencia significativa entre ambos controles, pues el control diabético tuvo una menor tasa de aclaramiento

de urea (38%) en comparación con el control sano, no obstante, los grupos que fueron tratados con los productos de sábila tampoco mostraron diferencia significativa.

La diferencia que existe entre los controles para ambos parámetros, se debe en caso del control diabético a que la glucosa interacciona con las proteínas formando productos de glucosilación avanzada que se acumulan en el glomérulo y provoca cambios estructurales en éste, lo que conlleva a una alteración en su capacidad para filtrar productos de desecho y, por ende, hay un incremento de estos productos en suero. En el caso del control sano, al no haber alteraciones en el glomérulo, puede filtrar adecuadamente a ambos productos, desechándolos en orina y así su tasa de aclaramiento aumenta (Torres Vilorio y Zacarías Castillo, 2002).

Saka *et al.* (2012), administraron el gel de la sábila a ratas sanas por 28 días y se observó un aumento en la concentración de urea, creatinina y bicarbonato en suero; por lo que concluyó que la sábila promueve nefrotoxicidad. Por su parte, Yagi *et al.* (2009) evaluaron fracciones de alto peso molecular de la sábila con menos de 10 ppm de antraquinonas en ratas diabéticas, y no se presentaron cambios en los niveles de creatinina y urea en suero. Este último trabajo coincide con los resultados obtenidos en este estudio, pues no hubo cambios favorables sobre el efecto de los productos de sábila en el aclaramiento de creatinina y urea.

El ácido úrico es un compuesto de desecho de las purinas. Cuando este compuesto está en contacto con altos niveles de sodio, forma cristales de urato monosódico que son la estructura biológica activa del ácido úrico. Los cristales se reabsorben en los túbulos del riñón, pero si existe alguna alteración estructural a nivel tubular, principalmente asociado a la generación de productos de glucosilación avanzada, los cristales no son excretados a través de la orina y quedan circulando en torrente sanguíneo (Torres Vilorio y Zacarias Castillo, 2002; Jiménez Cocco *et al.*, 2003).

Los resultados (Cuadro 10) muestran que no hay diferencia significativa entre los grupos controles sano y diabético para las concentraciones de ácido úrico, tanto en orina como en suero, pero existe una tendencia con los tratamientos de los productos de sábila; ya que en el caso de la cuantificación en suero, hay un incremento del ácido úrico conforme aumenta la dosis de los productos de sábila, y el efecto contrario se observa en orina, sin embargo para suero sólo fue estadísticamente significativo el tratamiento de 80 mg/día de HCSP y HCP. Mientras que para orina no hubo diferencia estadística significativa entre ninguno de los tratamientos y los controles (sano y diabético).

Cuadro 10. Parámetros de daño de renal en suero y orina de ratas diabéticas tratadas con productos de sábila con eliminación de aloína

Tratamiento	Aclaramiento de creatinina (mL/min)	Aclaramiento de urea (mL/min)	Ácido úrico en suero (mg/dL)	Ácido úrico en orina (mg/12h)
SANO	1.65 ± 0.40 ^a	1.34 ± 0.57 ^a	1.75 ± 0.16 ^b	1.80 ± 0.14 ^a
DIABÉTICO	0.72 ± 0.21 ^b	0.83 ± 0.27 ^b	2.21 ± 0.19 ^b	2.02 ± 0.11 ^a
HCSP 60 mg/día	1.40 ± 0.17 ^{ab}	0.67 ± 0.07 ^b	1.77 ± 0.09 ^b	1.98 ± 0.24 ^a
HSCP 80 mg/día	0.89 ± 0.25 ^{ab}	0.68 ± 0.11 ^b	3.32 ± 0.32 ^a	1.35 ± 0.11 ^{ab}
HCP 60 mg/día	0.86 ± 0.11 ^{ab}	0.45 ± 0.03 ^b	2.14 ± 0.28 ^b	1.68 ± 0.16 ^a
HCP 80 mg/día	0.94 ± 0.17 ^{ab}	0.64 ± 0.11 ^b	3.31 ± 0.26 ^a	1.26 ± 0.11 ^b
HIP 60 mg/día	0.85 ± 0.04 ^{ab}	0.44 ± 0.04 ^b	1.99 ± 0.17 ^b	1.95 ± 0.25 ^a
HIP 80 mg/día	0.92 ± 0.17 ^{ab}	0.55 ± 0.03 ^b	2.62 ± 0.25 ^{ab}	1.57 ± 0.09 ^{ab}

Los resultados se expresan como la media ± error estándar (n=8). Letras diferentes por columna indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (prueba de Tukey). HCSP: Hoja completa sin procesar, HCP: Hoja completa procesada y HIP: Hoja interior procesada.

Estos resultados son contradictorios a los mostrados por Kirdpon *et al.* (2006), ellos administraron el gel de sábila en adultos sanos y no hubo ningún cambio en la concentración de ácido úrico en orina.

Como lo muestran los resultados los productos de sábila pueden generar un daño a nivel tubular, por lo que el ácido úrico no se reabsorbe adecuadamente, entonces éste aumenta en suero y por lo tanto disminuye en orina. Sin embargo, para considerar una alteración a nivel tubular las concentraciones de ácido úrico deben ser mayores a 8 mg/dL (Sivakumar *et al.*, 2014). Estos resultados sugieren que el daño renal asociado al desarrollo de la diabetes se encuentra en etapas

tempranas, ya que tampoco existe una alteración en los parámetros de creatinina y urea.

9 CONCLUSIONES

- Los tratamientos para la eliminación de aloína disminuyen a esta antraquinona de acuerdo a la norma establecida por el NIHHS.
- Los nuevos procesos para la obtención de los productos de sábila disminuyen la capacidad antioxidante *in vitro*, lo cual puede estar relacionado con la menor concentración de compuestos fenólicos.
- El porcentaje de fibra insoluble disminuye con el proceso para eliminar aloína en el producto de hoja completa; sin embargo, el producto HIP tiene las mayores concentraciones de fibra dietética tanto soluble como insoluble.
- HIP es el único producto con capacidad de inhibir las enzimas digestivas α -amilasa y α -glucosidasa *in vitro*, lo cual se puede atribuir al alto porcentaje de fibra de este producto.
- Durante el procesamiento de los productos de sábila existe una hidrólisis de los polisacáridos presentes en la planta.
- Los productos de sábila suplementados en ratas diabéticas no disminuyen la concentración de glucosa en sangre ni mejoraron la secreción de insulina.
- La dosis de 80 mg/día del producto HIP disminuyó la concentración de triglicéridos en suero e hígado, y mejoró la esteatosis hepática por un mecanismo no relacionado con eliminación de triglicéridos en heces. Así mismo, este tratamiento presentó una menor actividad de la enzima alanino aminotransferasa sérica.
- Los productos de sábila de la hoja completa procesada y sin procesar no mostraron actividad antidiabética, mientras que el producto HIP disminuyó las alteraciones hepáticas relacionadas con el almacenamiento de triglicéridos.

10 REFERENCIAS

Abbate, S.L and Brunzell, J.D. 1990. Pathophysiology of hyperlipidemia in diabetes mellitus. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 16:S1-S7.

Abo-Youssef, A.M.H and Sheta Messiba, B.A. 2013. Beneficial effects of *Aloe vera* in treatment of diabetes –Comparative in vivo and in vitro studies. *Bolletín of Faculty of Pharmacy*. 51:7-11.

American Diabetes Association (ADA). 2007. Management of dyslipidemia in adults with diabetes. *Diabetes Care*. 26:83-86.

Aguilar Salinas, C.A., Reyes Rodríguez, E., Ordoñez Sánchez, M.L., Arellano Torres, M., Ramírez Jiménez, S., Domínguez López, A. and Tosié Luna, M.A. 2001. Early-onset type 2 diabetes: Metabolic and genetic characterization in the mexican population. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 86:220-226.

Ahmed, F.; Sairam, S. and Urooj, A. 2011. *In vitro* hypoglycemic effects of selected dietary fiber sources. *Journal of Food Science and Technology*. 48:285-289.

Álvarez Moreno, G. 2007. Competitividad de México en la producción de sábila (*Aloe barbadensis Miller*). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Barba Evia, J.R. 2008. Esteatosis hepática, esteatohepatitis y marcadores de lesión hepática. *Revista Mexicana de Patología Clínica*. 55:216-232.

Bermúdez Camps, I., Reyes Hernández, I. y León Fernández, O.S. 2000. Evaluación de la actividad antioxidante del propóleo de la región de Manzanillo. *Bioquímica*. 25: 69-74.

Bernal Reyes, R. 2010. Hígado graso no alcohólico. *Revista de gastroenterología de México*. 75:181-183.

Bohadoran Z., Mirmiran, P. and Azizi, F. 2013. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 12:43-51.

Bohm, A., Kaiser, I., Trebstein, A. and Henle, T. 2005. Heat-induced degradation of inulin. *European Food Research and Technology*. 220:466–471

Bolken, S., Akev, N., Can, A., Yanardag, R. and Okyar, A. 2005. Immunohistochemical studies on the effect of *Aloe vera* on the pancreatic β -cells in neonatal streptozotocin-induced type-II diabetic rats. *Egyptian Journal of Biology*. 7:14-19.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. 28:25-30

Briozzo, G., Perego, M. y Moirón, M. 2008. Fosfatasa Alcalina: valores de referencia en la paciente embarazada. *Bioquímica y patología clínica*. 72:32-36.

Caravaca, F., Cid, C., Galán, J., García, M.C., Cubero, J.J., Arrobas, M., Domínguez, C. y Pizarro, J.L. 1996. Relación entre el aclaramiento de urea y la tasa de catabolismo proteico en pacientes en DPCA: importancia de la función renal residual. *Nefrología*. 3:228-235.

Choi, H.C., Kim, S.J., Son K.Y., Oh, B.J., Cho, B.L. 2013. Metabolic effects of *Aloe vera* gel complex in obese prediabetes and early non-treated diabetic patients: Randomized controlled trial. *Nutrition*. 29:1110-1114.

Choi, S. y Myung-Hee, C. 2003. A review on the relationship between *Aloe vera* componentes and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine*. 1:53-62.

Dabrowski, A., Podkosierny, P., Hubicki, Z. and Barczak, Z. 2005. Adsorption of phenolic compounds by activated carbon—a critical review. *Chemosphere*. 58:1049-1070.

Doi, K., Matsuura, M., Kawara, A., Uenoyama, R. and Baba, S. 1981. Effect of glucomannan (konjac fiber) on glucose and lipid metabolism in normal and diabetic subjects. *International Congress Series Genetic Enviromental Interaction in Diabetes mellitus*. 549:306-312

Eberendu, A.R., Luta, G., Edwards, J.A., McAnalley, B.H. and Davis, B. 2005. Quantitative colorimetric anaysis of polysaccharides as a measure of *Aloe vera* quaiity in comercial products, *Journal of AOAC International*. 88:684-691.

Eckel, R.A., Grundy, S.M. and Zimmet, P.Z. 2005. The metabolic syndrome. *Lancet*. 365:1415-1428.

Escudero Álvarez, E. y González Sánchez, P. 2006. La fibra dietética. *Nutrición hospitalaria*. 21:61-72.

Fierro, J.A. 2009. Nefropatía diabética: Fisiopatología, dignóstico, evaluación clínica y epidemiología. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 20:639-650.

Food and Drug Agency (FDA). 2002. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/050902a.htm>.

Federación Mexicana de Diabetes (FMD). 2015. http://www.fmdiabetes.org/fmd/pag/diabetes_numeros.php.

Flores, S.E., Machorro, M.V., García, A.G., López, M.G., Morán, M.C. y Sánchez, J. 2005. Diabetes mellitus. Epidemiología molecular en la diabetes mellitus y sus complicaciones. 3º edición. Editorial MacGraw-Hill, Sección I. Cap 3. p35-69.

Fook Chen, D.K., Wah Mak, J., Shen Ooi, S. and Hoe Chang, K. 2012. Blood glucose level and other biochemical changes induced in normal mice by oral

Traditional Chinese Medicine complex for diabetes. International Medical University. 2:24-31.

Fridovich, I. 1997. Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), superoxide dismutases, and related. The Journal of Biological Chemistry. 272:18515-18517.

Gocan, S. 2002. Stationary phases for thin-layer chromatography. Journal of Chromatographic Science. 40:1-12.

González Canga, A., Fernández Martínez, N., Sahagún, A.M., García Vietez, J.J., Díez Liébana, M.J., Calle Pardo, A.P., Castro Robles, L.J. y Sierra Vega, M. Glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas. Nutrición Hospitalaria. 19:45-50.

Hamman, J.H. 2008. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. Molecules.13:1599-1616.

Hanhineva, K., Torronen R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H. and Poutanen, K. 2010. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. International Journal of Molecular Sciences. 11:1365-1402.

Havrlentová, M., Petrušáková, Z., Burgárová, A., Gago, F., Hlinková, A. and Šturdík, E. 2011. Cereal β -glucans and their significance for the preparation of functional foods a review. Czech Journal of Food Sciences. 29:1-14.

IMPROVE USA A division of Pharmachem Laboratories. 2014. <http://www.pharmachemlabs.com/divisions/improve-usa>.

International Diabetes Federation (IDF). 2015. <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/es/mortalidad>.

Iwata, E. Hotta, H. and Gotto, M. 2012. Hypolipidemic and bifidogenic potentials in the dietary fiber prepared from Mikan (Japanese Mandarin Orange: *Citrus unshiu*) Albedo. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 58:175-180.

Jabary, N.S., Martín, D., Miñóz, M.F., Santos, M., Herruzo, J., Gordillo, R. y Bustamante, J. 2006. Creatinina sérica y aclaramiento de creatinina para la valoración de la función renal en hipertensos esenciales. Nefrología. 26:64-73.

Jaramillo Juárez, F., Rincón Sánchez, A.R. y Martínez Saldaña, M.C. 2012. Estrés oxidativo y su impacto en la salud. Departamento Editorial de la Dirección General de Difusión y Vinculación de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Jenkins A.L., Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S., Regovik, A.L., Jovanovski, E., Božikov, V., Rahelić, D. and Vuksan, V. 2008. Comparable postprandial glucose reductions with viscous fiber blend enriched biscuits in healthy subjects and patients with diabetes mellitus: Acute randomized controlled clinical trial. Croatian Medical Journal. 49:722-782.

- Jenkins A.L., Jenkins, D.J.A., Zdravkovic, U., Wursch, P. and Vuksan, V. 2002. Depression of the glycemic index by high levels of β -glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56:622-628.
- Jimenez Cocco, R.A., López Mena, J.L. y Barranco, J. 2003. Nivel de conocimiento sobre el ácido úrico en médicos, enfermeras y estudiantes de diferentes centro de salud y universidades de Santo Domingo. *Ciencia y Sociedad*. 28:524-538.
- Kandra, L., Zajácz, A., Remenyik, J. and Gyémánt, G. 2005. Kinetic investigation of a new inhibitor for human salivary alpha-amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 4:824-828.
- Kang, M.C., King, Y.C., Kim, Y.T., Kim, E.A., Lee, S.H., Ko, S.C, Wijesinghe, M.A.J.P, Samarakoon, K.W., Cho, J.H., Jang, H.S., Jeon Y.J. 2013. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of polysaccharide purified from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) gel. *Carbohydrate Polymers*. 99:365–371.
- Kerpe, F., Dickmann, J.R. and Frayn, K.N. 2011. Fatty acids, obesity, and insulin resistance: Time for a reevaluation. *Perspectives in Diabetes*. 60:2441-2449.
- Kirdpon, S., Kirdpon, W., Airanat, W., Trevanich, A. and Nanakorn, S. 2006. Effect of *Aloe* (*Aloe vera* Linn.) on healthy adult volunteers: Changes in Urinary Composition. *Journal of the Medical Association of Thailand*. 89:S9-S13.
- Krugner-Higby, L., Caldwell, S., Coyle, K., Bush, E., Atkinson, R. and Joers, V. 2011. The effects of diet composition on body fat and hepatic steatosis in an animal (*Peromyscus californicus*) model of the metabolic syndrome. *Comparative Medicine*. 61:31-38.
- Kim, K., Kim, H., Kwon, J., Lee, S., Kong, H., Im, S., Lee, Y., Oh, S. Jo, T., ark, Y and Lee, C. 2009. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of processed *Aloe vera* gel in a mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Phytomedicine*.16:853-863.
- Kuhn, R.C., Mazutti, M.A., Albertini, L.B. and Filho, F.M. 2014. Evaluation of fructooligosaccharides separation using a fixed-bed column packed with activated charcoal. *New Biotechnology*. 31: 237-241.
- Ling, L. 2001. Streptozotocin. *Free Radicals in Biology and Medicine*.77:1-10.
- Liu, M., Zhang, W., Wei, J. and Lin, X. 2011. Synthesis and α -glucosidase inhibitory mechanisms of bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) ether, a potential marine bromophenol α -glucosidase inhibitor. *Marine Drugs Journal*. 9:1554-1565.
- Lozano Urbina, L., Muvdi Nova, C. y Mejía Uribe, L.D. 2011. Estabilización del gel de *Aloe barbadensis* Miller y disminución de su concentración por adsorción en columna con carbón activado. *Revista ION*. 24:61-67.

- Lucini, L., Pellizoni, M. and Molinari, G.P. 2013. Anthraquinones and β -polysaccharides content and distribution in Aloe plants grown under different light intensities. *Biochemical Systematics and Ecology*. 51:264-268.
- Manach C., Williamson G., Morand, C., Scalbert, A. and Remésy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*.81:230S-242S
- Maritim, A.C., Sandres, R.A. and Watkins, J.B. 2003. Diabetes, Oxidative stress, and antioxidant: A review, *Biochemical Molecular Toxicology*. 17:24-38.
- Martin López, A., Soto Montenegro, M.L y Jarrá Albarán, A. 2002. Nefropatía diabética. *Medicina Clínica*. 118:312-317.
- Matos Acuero, A. 2011. Producción de aloína en callos y en hojas de brotes de sábila (*Aloe vera* L.) regenerados *in vitro*. *Bioagro*. 23:79-86.
- Michelle de Salas, P., Monteior de Souza, P., Simeoni, L.A., Oliveira Magalhães, P. and Silveira, D. 2012. α -Amylase inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 15: 141-181.
- Miladi S. and Damak, M. 2008. *In vitro* antioxidant activities of *Aloe vera* leaf skin extracts. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*. 10:101-109.
- Misawa, E., Nomaguchi, M., Yamada, M., Toida, T. and Kawada, T. 2008. Administration of phytosterols isolated from *Aloe vera* gel reduce visceral fat mass and improve hyperglycemia in Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. *Obesity Research and Clinical Practice*. 2:239-245.
- Misawa, E., Tanaka, M., Nomaguchi, K., Nabeshima, K. Yamada, M., Toida, T. and Iwatsuki, K. 2012. Oral ingestion of *Aloe vera* phytosterols alters hepatic gene expression profiles and ameliorates obesity-associated metabolic disorders in Zucker diabetic fatty rats. *J Agric Food Chem*. 60:2799-2806.
- Mohammad-Khah, A. and Ansari, R. 2009. Activated charcoal: Preparation, characterization and Applications: A review article. *International Journal of ChemTech Research*. 1:859-864
- Mohapatra, S., Rath, B., Maharana, S.C., Pradhan, S and Tripathy, S. 2013. Hypoglycemic, hypolipidemic properties of *Aloe vera* in streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Biological & Medical Research*. 4: 2783-2787.
- Moniruzzaman, M. Royeca, M., Ahmed, S. Bhowmink, A. Khail I. and Hua Gan, S. 2012. *In vitro* antioxidant effects of *Aloe barbadensis* Miller extracts and the potential role of these extracts as antidiabetic and antilipidemic agents on streptozotocin-induced type 2 diabetic model rats. *Molecules*. 17: 12851-12867.

Muhammad, Z. and Naqvi, S. 2010. Effects of STZ-induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: A Comparative study. *International Journal of Morphology*. 28:135-142.

Ni, Y., Turner, D., Yates, K.M. y Tizard, I. 2004. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *Internacional Immunopharmacology*. 4:1745:1755.

NIEHS, National Institute of Environmental Health Sciences. 2011. National Toxicology Program. https://www.niehs.nih.gov/health/materials/aloe_vera_508.pdf.

Norris, A.W. and Spector, A.A. 2002. Very long chain n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids bind strongly to liver fatty acid-binding protein. *The Journal of Lipid Research*. 43: 646-653.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/.

Padmanabhan, P. and Jangle, S.N. 2012. Evaluation of DPPH radical scavenging activity and reducing power of four selected medicinal plants and their combinations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 2:143-146

Pandiri, A.R., Sills, R.C., Hoenerhoff, M.J., Peddada, S.D., Ton, T.T., Hong H.L. y Gordon P. 2011. Aloe vera non-decolorized whole leaf extract-induced large intestinal tumors in F344 rats share similar molecular pathways with human sporadic colorectal tumors. *Toxicologic Pathology*. 39:1065-1074.

Park, M.K., Park, J.H., Na Young, K., Young Geun, S., Yong Seok, C., Jin Gyun, L., Kyeong Ho, K., y Seung Ki, L. 1998. Analysis of 13 phenolic compounds in Aloe species by high performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis*. 9:186-191.

Pérez Matute, P., Zulet, M.A. y Martínez, J.A. 2009. Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health. *Current Opinion in Pharmacology*. 9:771–779.

Pérez, Y., Jiménez Ferrer, E., Zamilpa, A., Hernández Valencia, M., Alarcón Aguilar F.J., Tortoriello, J. and Román Ramos, R. 2007. Effect of a polyphenol-rich extract from *Aloe vera* gel on experimentally induced insulin resistance in mice. *The American Journal of Chinese Medicine*. 35:1037-1042.

Postic, C and Girard, J. 2008. Contribution of *de novo* fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 118:829-838.

- Ramachandraiahgari, R.M.Y., Somesul, S.R., Jangampalli, P. y Mannur, I.S. 2012. Protective role of ethanolic extract of *Aloe vera* antioxidant properties on liver and kidney of streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 7:175-184.
- Ray, A and Gupta, S.D. 2013. A panoptic study of antioxidant potential of foliar gel at different harvesting regimens of *Aloe vera* L. *Industrial Crops and Products*. 51:130-137.
- Roberts, C.K. y Sindhub, K.K. 2009. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*. 84:705-712.
- Robyt, J.F. 2000. Thin-Layer (Planar) Chromatography. *Academi Press, Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Enzymology*. 1:2235-2244.
- Rodríguez, C y Martín, L. 2002. Sistemática diagnóstica de la hipertransaminasemia. *Medicina Guiada*. 1:345-347.
- Rösen, P. 2000. Antioxidants in Diabetes Management. Editorial Marcel Dekker, USA 10461-1602.
- Ruiz-Matute, A.I., Ramos, I., Martínez-Castro, I. and Sanz, M.L. 2008. Fractionation of honey carbohydrates using pressurized liquid extraction with activated charcoal. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56:8309-8313.
- Saka, W.A., Akhigbe, R.E., Popoola, O.T. and Oyekunle, O.S. 2012. Changes in serum electrolytes, Urea, and Creatinine in *Aloe Vera*-treated Rats. *Journal of Young Pharmacists*. 4: 78-81.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2014
- Sharma, B., Siddiqui, S., Ram, G., Chaudhary, M. y Sharma, G. 2013. Hypoglycemic and hepatoprotective effects of processed *Aloe vera* gel in a mice model of alloxan induced diabetes mellitus. *Diabetes and Metabolism*. 4:1-6.
- Shelton, M.R., 1991. *Aloe vera*, its chemical and therapeutic properties. *International Journal of Dermatology*. 30:679-683.
- Shengal, I. Winters, WD, Scott, M y Kousoulas, K. 2013. An *in vitro* and *in vivo* toxicologic evaluation of a stabilized aloe vera gel supplement drink in mice. *Food Chemical Toxicology*. 55:363-370.
- Shengal, I., Winters, W., David, A., Gillis, G., Nair, A., Stouffet, T. 2013. Toxicologic assessment of a commercial decolorized whole leaf *Aloe vera* juice, lily of the desert filtered whole leaf juice with aloe sorb. *Journal of Toxicology*. 2013:1-12.

Sivakumar, K., Thamarai, R. y Pragatha, R.J. 2014. Screening of serum uric acid in obese individuals in rural population. International Journal of Scientific Study. 2:1-4.

Singleton, V.L. and Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal on Enology and Viniculture. 16:148-158.

Skalska-Kaminska, A., Matysik, G., Wojciak-Kosior, M., Donika, H. and Sowa, I. 2009. Thin-layer chromatography of sugars in plant material. Annales Universitatis Marie Curie. 22:17-24.

Subramanian, R., Asmawi, M.Z. and Sadikum, A. 2008. *In vitro* α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. The Journal of the Polish Biochemical Society and of the Committee of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences. 55:391-398.

Surjushe, A., Vasani, R. and Saple D.G. 2008. *Aloe vera*: A short review. Indian Journal of Dermatology. 53:163-166.

Tejada Cifuentes, F. 2010. Hepatotoxicidad por Fármacos. Revista Clínica Médica Familiar. 3:177-191.

Tejos, R., Padilla, O., Pizarro, M., Solís, N., Arab, J.P., Margozzini, P., Miquel, J.F., Riquelme, A. y Arrese, M. 2013. Niveles séricos de alaninoamino transferasa en población chilena: análisis de los resultados de la encuesta nacional de salud 2009-2010. Revista médica de Chile. 141: 909-916.

Thilagam, E., Parimaladevi, B., Kumarappan, C. and Mandal, S.C. 2013. α -Glucosidase and α -Amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*. Journal of Acupuncture and Meridian Studies. 6:24-30.

Tian, B. and Hua, Y. 2005. Concentration-dependence of prooxidant and antioxidant effects of aloin and aloe-emodin on DNA. Food Chemistry, 91:413-418.

Torres Vilorio A. y Zacarías Castillo, R. 2002. Nefropatía diabética. Revista del Hospital General Dr. Manuel Gea González. 5:24-32

Villanueva, M.J., Yokoyama, W.H., Hong, Y.J., Bartley, G.E. and Repuerez, P. 2011. Effect of high-fat diets supplemented with okara soybean by-product on lipid profiles of plasma, liver and faeces in Syrian hamsters. Food Chemistry. 124:72-79.

Yagi, A., Hegazy, S., Kabbash, A. and Wahab, E. 2009. Possible hypoglycemic effect of *Aloe vera* L. high molecular weight fractions on type 2 diabetic patients. Saudi Pharmaceutical Journal. 17:210-218.

Yang, H.N., Kim, D.J., Kim, Y.M., Kim, B.H., Sohn, K.M. Choi, M.J. and Choi, Y.H. 2010. Aloe-induced toxic hepatitis. *Journal of Korean Medical Science*. 25:492-495.

Yimam M., Zhao, J., Corneliusen B., Pantier, M., Browel, L. and Jia, Q., 2014. Blood glucose lowering activity of aloe based composition, UP780, in alloxan induced insulin dependent mouse diabetes model. *Diabetology and Metabolic syndrome*.6:61-69

Yin, P., Zhao, S., Chen, S., Liu, J., Shi, L., Wang, W., Liu, Y. and Ma, C. 2011. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of polyphenols from burs of *Castanea mollissima* blume. *Molecules*. 16:9764-9774.

Yuguchi, Y., Hirotsu, T. and Hosokawa, J. 2005. Structural characteristics of xyloglucan – Congo red aggregates as observed by small angle X-ray scattering. *Cellulose Chemistry and Technology*.12:469–477.

Zenteno, J., Sosa, L., Samudio, M., Ruíz, I., Stanley, J. y Funes, P. 2011. Correlación entre el aclaramiento de creatinina y la fórmula MDRD-4 en la estimación del filtrado glomerular. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*. 9:35-42.