

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL CENTRO
DE LA REPÚBLICA

EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIHIPERGLICÉMICO
DEL TÉ DE LA HOJA DE CHAYA (*Cnidioscolus chayamansa*) EN RATAS
SPRAGUE DAWLEY Y WISTAR SANAS Y DIABÉTICAS

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Presenta:

ALMA ELVIA VERGARA DURÁN

Dirigido por:

DRA. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

Santiago de Querétaro, Qro. México 2005

No. Adq. ~~1189777~~

No. Título _____

Clas 616.462

V494c

2005



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

EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIHIPERGLICÉMICO
DEL TÉ DE LA HOJA DE CHAYA (*Cnidioscolus chayamansa*) EN RATAS
SPRAGUE DAWLEY Y WISTAR SANAS Y DIABÉTICAS

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Presenta

Q.F.B. Alma Elvia Vergara Durán

Dirigido por:

Dra Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente

Dr. Teódulo Quezada Tristán
Secretario

Dr. Horacio Guzmán maldonado
Vocal

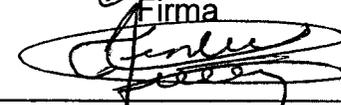
Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Dra. Eva González Jasso
Suplente

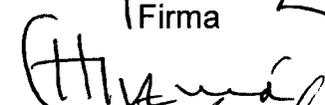
M. en C. Gustavo Pedraza Abortes
Director de la Facultad de Química



Firma



Firma



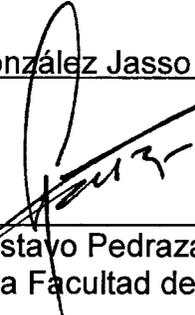
Firma



Firma



Firma



Firma



Firma

Dr. Sergio Quesada Aldana
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Marzo, 2005
México

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

RESUMEN.

La Diabetes representa uno de los principales problemas de salud pública, actualmente es la primera causa de muerte en nuestro país, ésta es una enfermedad caracterizada por hiperglicemia. Existen dos tipos principales de diabetes: en la tipo 1, la causa es una absoluta deficiencia de la secreción de insulina; en la tipo 2, la causa es una combinación de resistencia a la acción de la insulina y una inadecuada secreción compensatoria de la misma. La hiperglicemia crónica de la diabetes está asociada con un largo periodo de daño, disfunción y falla de varios órganos. La información etnobotánica reporta cerca de 800 plantas usadas en el control de la diabetes a nivel mundial, y cerca de 150 de éstas existen en México, aunque solo un pequeño número ha sido estudiado. La chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) ha sido ampliamente utilizada para el tratamiento de la diabetes en México, sin embargo, su uso está basado en una tradición y con pocos antecedentes científicos. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad hipoglucemiante y antihiperglicémica del té de la hoja de chaya en animales sanos y diabéticos inducidos con estreptozotocina. Se trabajó con tres diferentes isotipos de hojas de chaya (AGS1, AGS2 y AGS3), siendo AGS3 la que presentó el mayor efecto hipoglucemiante, por lo que fue usada en el resto del experimento. La dosis que presentó el mayor efecto, tanto hipoglucemiante como antihiperglicémico fue de 0.6 g hoja/kg de peso corporal. Así mismo, el estado de maduración de la hoja influyó en la capacidad de disminuir la glucosa sanguínea. De acuerdo a los resultados obtenidos, la disminución de glucosa es por un mecanismo diferente al de la inhibición de la absorción de este carbohidrato. En animales diabéticos tratados con té de chaya no se observó disminución en el nivel de glucosa durante el tratamiento crónico, tampoco tuvo efecto en la ingesta de alimento, consumo de agua, peso corporal, sólo en la concentración de triglicéridos., Los grupos tratados con té sobrevivieron más que el grupo control. Por lo anterior, se puede concluir que el té de chaya sólo aumenta el tiempo de sobrevivencia de ratas diabéticas y esto podría ser debido a que actúa a nivel de disminución de triglicéridos en sangre o bien a una protección antioxidante de los compuestos presentes en ésta.

Palabras clave: diabetes, chaya, hipoglucemiante, antihiperglicémico, triglicéridos.

SUMMARY

Diabetes represents one of the principal problems of public health. Currently it is the first cause of death in our country, diabetes is a disease characterized for hyperglycemia. Two principal types of diabetes exist: in type 1, the cause is an absolute deficiency of the insulin secretion; in type 2, the cause is a combination of resistance to the action of the insulin and an inadequate compensatory secretion of the same one. The chronic hyperglycemic of the diabetes is associated with a long period of damage, dysfunction and failure of several organs. The ethnobotanic information reports about 800 plants used in the control of diabetes worldwide, and close to 150 of these exist in Mexico, although only a small number has been studied. Chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) has been widely used for the treatment of diabetes in Mexico, nevertheless, its use is based on a tradition and with few scientific precedents. For this reasons objective of this work was to evaluate the hypoglycemic and antihyperglycemic capacity of the tea of the leaf of chaya in healthy animals and diabetics induced with streptozotocin. We worked with three different isotypes of leaves of chaya (AGS1, AGS2 and AGS3), being AGS3 the one that presented the major hypoglycemic effect, this being the reason for its use in the rest of the experiment. The dose that presented the major hypoglycemic and antihyperglycemic effect was of 0.6 g/kg. Likewise, the state of maturation of the leaf influenced in the capacity to diminish the blood glucose. According to the obtained results, the decrease of glucose is by a mechanism different from the one of the inhibition of the absorption of this carbohydrate. In diabetic animals treated with tea of chaya a decrease was not observed in the level of glucose during the chronic treatment, neither did it have an effect in the ingestion of food, consumption of water and corporal weight. However it did cause a decrease in the concentration of triglycerides. The groups treated with tea lived longer than the control group. For that reason, it is possible to conclude that the tea of chaya only increases the time of survival of diabetic rats and this might be due to the fact that it acts to level on decrease triglycerides in the blood or to serve as a antioxidant protection of the present compounds in this one.

Key words: diabetes, chaya, hypoglycemic, antihyperglycemic, triglycerides.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca económica otorgada para la realización de los estudios de maestría durante el período julio 2002 a Julio 2004.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química - PROPAC, por la oportunidad de realizar la Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

A mi asesora de Tesis, la Doctora Rosalía Reynoso Camacho por haberme permitido trabajar en su laboratorio, por proporcionarme todo lo que estuvo a su alcance para poder llevar a cabo todos los experimentos, por el apoyo que me brindó y por confiar en mí.

A mis sinodales, a la Dra. Eva González, a la Dra. Minerva Ramos, al Dr. Teodulo Quezada y al Dr. Horacio Guzmán por su apoyo para las correcciones de mi tesis y por aceptar formar parte de mi comité.

A Elisse por ser un apoyo muy grande desde que estoy en Querétaro, muchas gracias por ayudarme tanto en todos los trabajos que teníamos que entregar durante el primer año de la maestría.

A quienes me ayudaron mucho en mi experimento cuando me encontraba sola, especialmente a Lorenzo por ayudarme a realizar el análisis estadístico de mis datos y a Estela por ayudarme a inyectar a mis ratitas.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio de Bioquímica Molecular, por todos los momentos que compartimos. A Luisa, Gisela y Ceci por ayudarme a obtener y procesar mis muestras para la determinación de triglicéridos, también quiero agradecer a Ross por la convivencia que tuvimos, a Víctor por haber compartido conocimientos conmigo, a Brisia por apoyarme en todo lo que necesite en el laboratorio, a Rogelio por ayudarme en muchos de los experimentos y por cuidar a mis ratitas, también gracias a ustedes Bere, Arde, Robert y Bricia por permitirme conocerlos.

DEDICATORIAS

Especialmente a Dios, por el don de la vida, gracias por haberme regalado una familia, también por toda la gente que he conocido porque a través de ellos me has mostrado tu cariño y bondad. Gracias por todos los momentos de gozo, de tristeza, de soledad y de trabajo, por las pruebas de la vida porque eso me ha acercado más a Tí, por una nueva oportunidad de vida y porque se que siempre estás a mi lado.

A mis padres por ser un gran ejemplo para mí, por cuidarme por tanto tiempo y porque gracias a ustedes he logrado las metas que me he propuesto. Los quiero mucho.

A mis hermanos Norma, Gustavo, Edith y Héctor Miguel por todo el apoyo que me han dado siempre, por tolerarme en situaciones difíciles y por tantos buenos momentos que hemos vivido.

A todos mis compañeros y amigos de la maestría porque de todos he aprendido muchas cosas. A ti Elisse porque se que Dios te puso en mi camino en momentos muy difíciles y siempre estuviste dispuesta a ayudarme y a escucharme. A Flavio por ser tan bueno y comprensivo conmigo, por todos los consejos y por todos los momentos que pasamos juntos y que nunca olvidaré, ya sabes que eres una persona muy especial para mí. A Lorenzo por ser una persona que vale la pena tener como amigo ya que siempre estas dispuesto a ayudar a quienes te necesitan. A Estela e Iván de verdad que los quiero mucho, gracias por su apoyo y porque me han demostrado ser unos buenos amigos. A Ernesto por los ratos alegres que nos has hecho pasar a todos los de la casa. A Pilar, Cuau, Tania, Chepis, Roberto, Grethel, Gisela, Francisco, Edmundo y Lupita por permitirme conocerlos y compartir tantos momentos.

A la doctora Evita porque siempre estuvo dispuesta a ayudarme durante mi experimento, por escucharme, por el interés que tuvo siempre que tenía problemas y por ayudarme a resolverlos, y además por ser una muy buena persona.

A todos mis amigos de Puebla, especialmente a Gaby por ser un grande apoyo, durante muchos años y a Josué por darme ánimo a través de correos para continuar con la maestría.

Y a mis ratitas porque sin ellas no hubiera podido llevar a cabo esta tesis, por haber sido como mis mascotas, porque siempre se portaron bien y porque he aprendido que a los animalitos siempre se les debe tratar de la mejor forma porque entienden y sienten.

ÍNDICE

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIAS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. Insulina	3
2.1.1 Vía de secreción de la insulina	3
2.1.2. Mecanismos de acción de la insulina	5
2.1.3. Regulación del transporte de glucosa vía insulina	6
2.2. Resistencia a la insulina	11
2.3 Diabetes	12
2.3.1. Definición	12
2.3.2 Tipos de diabetes	12
2.3.2.1 Diabetes tipo 1	13
2.3.2.2 Diabetes tipo 2	13
2.4. Hipertrigliceridemia en la diabetes	15
2.5. Estudios en modelos animales	16
2.6. Tratamientos	19

2.6.1. Sulfonilureas	19
2.6.2. Insulina	19
2.7. Plantas tradicionales antidiabéticas	21
2.7.1. <i>Cnidocolus chayamansa</i>	22
2.7.1.1. Generalidades	22
2.7.1.2. Composición de la chaya	24
2.7.1.3. Efecto hipoglucemiante	24
III. JUSTIFICACIÓN	28
IV. OBJETIVOS	29
4.1. General	29
4.2. Específicos	29
V. MATERIALES Y MÉTODOS	30
5.1. Planta	30
5.2. Animales	30
5.3. Elaboración del té	30
5.4. Determinación de glucosa	32
5.5. Curva de tolerancia a la glucosa	32
5.6. Determinación de triglicéridos	32
5.7. Preparación de la solución de estreptozotocina	33
5.8. Tratamientos	33
5.8.1. Tratamiento con té de chaya a animales normoglicémicos	33
5.8.1.1 Elección del isotipo de hoja de chaya con mejor actividad hipoglucemiante	33
5.8.1.2. Determinación de la dosis efectiva con mayor capacidad hipoglucemiante y antihiperглиcémica	33
5.8.1.3. Estado de maduración de la hoja sobre la actividad antihiperглиcémica	34

5.8.1.4.Efecto antihiperglicémico del té de la hoja de chaya en glucosa administrada por vía intraperitoneal	34
5.8.2. Pruebas de inducción de diabetes	34
5.8.3. Tratamiento subcrónico con té de chaya plazo a ratas Wistar diabéticas y normoglicémicas	35
5.9. Análisis estadístico	36
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	37
6.1. Tratamiento con té de chaya en animales normoglicémicos	37
6.1.1. Elección del isotipo de hoja de chaya con mayor actividad hipoglucemiante	37
6.1.2. Determinación de la dosis con mayor capacidad hipoglucemiante y antihiperglicémica	39
6.1.3. Estado de maduración de la hoja sobre la actividad antihiperglicémica	43
6.1.4. Efecto antihiperglicémico del té de la hoja de chaya en glucosa administrada por vía intraperitoneal	45
6.2. Pruebas de inducción de diabetes	47
6.2.1. Inducción de diabetes en ratas Sprague Dawley	47
6.2.2. Inducción de diabetes en ratas Wistar	49
6.3. Tratamiento subcrónico con té de chaya a ratas Wistar diabéticas y normoglicémicas.	51
6.3.1. Cambio en el nivel de glucosa	51
6.3.2. Consumo de líquido	57
6.3.3. Ingesta de alimento	61
6.3.4. Cambio en peso	65

6.6.5. Concentración de triglicéridos	68
6.3.6. Supervivencia	70
VII. CONCLUSIONES	74
VIII. BIBLIOGRAFÍA	77

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de los transportadores de glucosa GLUT.	10
Cuadro 2. Composición nutrimental de tres isotipos de chaya.	25
Cuadro 3. Efecto del té de chaya sobre el nivel de glucosa en conejos normoglicémicos y diabéticos inducidos con estreptozotocina.	26
Cuadro 4. Efecto del tratamiento con el té de chaya en el consumo de líquido de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento subcrónico.	58
Cuadro 5. Efecto del tratamiento con el té de chaya en el consumo de líquido de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento subcrónico.	60
Cuadro 6. Efecto del tratamiento subcrónico con el té de chaya en la ingesta de alimento de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento.	62
Cuadro 7. Efecto del tratamiento subcrónico con el té de chaya en la ingesta de alimento de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Liberación de insulina por la célula β .	5
Figura 2. Regulación del transporte de glucosa mediado por insulina a través de diferentes proteínas de señalización.	7
Figura 3. Productos de la descomposición de la estreptozotocina al ingresar a las células β del páncreas.	18
Figura 4. Mecanismo de acción de las sulfonilureas.	20
Figura 5. Hoja de chaya utilizada en medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes.	23
Figura 6. Muestras representativas de los isotipos de hoja de chaya empleadas en el presente estudio	31
Figura 7. Efecto hipoglucemiante del té elaborado con hojas de chaya de tres diferentes isotipos AGS1, AGS2 y AGS3 en ratas Sprague Dawley.	38
Figura 8. Efecto hipoglucemiante del té de chaya (AGS3) administrado a diferentes dosis a ratas Sprague Dawley.	40
Figura 9. Capacidad antihiper glucémica del té de chaya (AGS3) administrado a diferentes dosis a ratas Sprague Dawley.	42
Figura 10. Efecto del estado de maduración de la hoja de chaya en la capacidad antihiper glucémica del té.	44

Figura 11. Efecto antihiperглиcémico del té de la hoja de chaya AGS3 en el nivel de glucosa administrada por vía intraperitoneal.	46
Figura 12. Concentraciones de glucosa sanguínea en ratas Sprague Dawley después de la administración intraperitoneal de estreptozotocina.	48
Figura 13. Concentración de glucosa sanguínea en ratas Wistar después de la administración intraperitoneal de estreptozotocina.	50
Figura 14. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el nivel de glucosa de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento.	53
Figura 15. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el nivel de glucosa de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.	56
Figura 16. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el cambio en peso de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento	66
Figura 17. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el cambio en peso de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.	67
Figura 18. Efecto del tratamiento del té de chaya en la concentración de triglicéridos evaluados al final de la segunda fase de tratamiento.	69

- Figura 19. Efecto del tratamiento subcrónico con el té de chaya en la supervivencia de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento. 71
- Figura 20. Efecto del tratamiento subcrónico con el té de chaya en la supervivencia de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento. 73

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónico degenerativas responden a la sobrepoblación, pero principalmente al proceso social, crisis económica, hábitos y déficit de conocimientos que denotan desviaciones en la salud.

Una de las grandes transformaciones en el perfil epidemiológico registrada en las últimas décadas ha sido sin duda el notable incremento de las defunciones por enfermedades crónico degenerativas, en gran medida consecuencia de las acciones en el control de las enfermedades infecciosas y el aumento en la esperanza de vida. La importancia relativa que tales patologías han cobrado como causa de muerte es incuestionable, ya que actualmente ocupan los primeros lugares de la mortalidad general.

La Federación Internacional de Diabetes (FID) considera que hay 177 millones de personas con diabetes en el mundo. Esta cifra se basa en reportes proporcionados por 140 países. Los diez países con mayor prevalencia de esta enfermedad en orden de importancia son: India, China, Estados Unidos, Rusia, Japón, Brasil, Indonesia, Pakistán, México y Ucrania. Se estima que en el año 2025 México ocupará el séptimo lugar mundial con 12 millones de enfermos (FMD, 2003). La diabetes representa uno de los principales problemas de salud pública y actualmente es la primera causa de muerte en nuestro país, (Secretaría de Salud, 2004). El 10.75% de los mexicanos de 20 a 69 años tienen algún tipo de diabetes mellitus, lo que equivale a una población de más de 5 millones y medio de personas con la enfermedad (FMD, 2003). La diabetes se ha hecho estadísticamente significativa desde la década de los 80 y ha ido incrementando rápidamente.

Esta enfermedad es más frecuente en los grupos sociales con estilo de vida urbano. La esperanza de vida de un individuo diabético es de dos tercios de

la esperada; mientras que los pacientes con complicaciones crónicas tienen el doble de posibilidades de morir con referencia a la población general.

Para el control de la diabetes existen medidas dietéticas y cambios de estilo de vida, además de medicamentos, lo que sumado a una vigilancia adecuada, su aparición y desarrollo de complicaciones se pueden reducir de una manera importante.

Conocer esta enfermedad, su tratamiento y prevención ayudará a buscar formas de mantener el nivel de glucosa cerca de lo normal para disminuir la manifestación de complicaciones.

Investigaciones etnobotánicas realizadas en México reportan que la población ha utilizado más de 150 especies de plantas para el control de la diabetes. La chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) ha sido tradicionalmente recomendada para diversas enfermedades además de la diabetes como son: obesidad, enfermedades del riñón, hemorroides, acné y problemas de los ojos (Díaz-Bolio, 1975). La chaya es un arbusto originario de México el cual produce hojas en cantidades abundantes, prospera en una amplia variedad de suelos y climas además de ser considerada como una hortaliza rica en proteínas, calcio, hierro y vitamina A. La chaya también ha resultado ser también uno de los productos naturales ampliamente utilizado en varias regiones de nuestro país debido a que se le ha atribuido un efecto hipoglucemiante. Por lo que, es importante realizar estudios más exhaustivos que demuestren dicha capacidad y justifiquen su uso en el control empíricamente de esta enfermedad.

II. ANTECEDENTES

2.1. Insulina

2.1.1. Vía de secreción de la insulina.

Para que las células incorporen la glucosa, es necesario que la insulina esté presente en la sangre, ésta actúa en la superficie de las células para permitir la entrada de este carbohidrato.

La homeostasis de la glucosa depende del balance entre su producción por el hígado y su utilización por los tejidos dependientes de insulina, tales como el tejido adiposo y el músculo; y por los tejidos no dependientes de insulina, tales como el cerebro y el riñón (Ronald, 1994). La forma de utilización de la glucosa es altamente regulada, particularmente por hormonas secretadas por los islotes pancreáticos, la insulina de las células β y el glucagón de las células α .

La glucosa plasmática se incorpora a las células β de los islotes pancreáticos y actúa como señal metabólica, elevando el nivel de ATP intracelular. Este aumento del nucleótido induce el bloqueo de los canales de potasio sensibles a ATP, la célula se despolariza y permite el ingreso de iones calcio a través de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. El Ca^{2+} intracelular interactúa con el AMP, el cual constituye un estímulo para la formación de AMPc y éste activa a la proteína cinasa A (PKA), de modo que Ca^{2+} y PKA, modulan la liberación de insulina al plasma (Williams, 1997) (Figura 1).

Para que la célula β sea capaz de liberar insulina ante el estímulo que significa la presencia de glucosa plasmática, ésta debe tener la facultad de sintetizarla. La insulina se sintetiza en los ribosomas ligados al retículo endoplásmico en forma de preproinsulina, la cual consta de cuatro segmentos: la

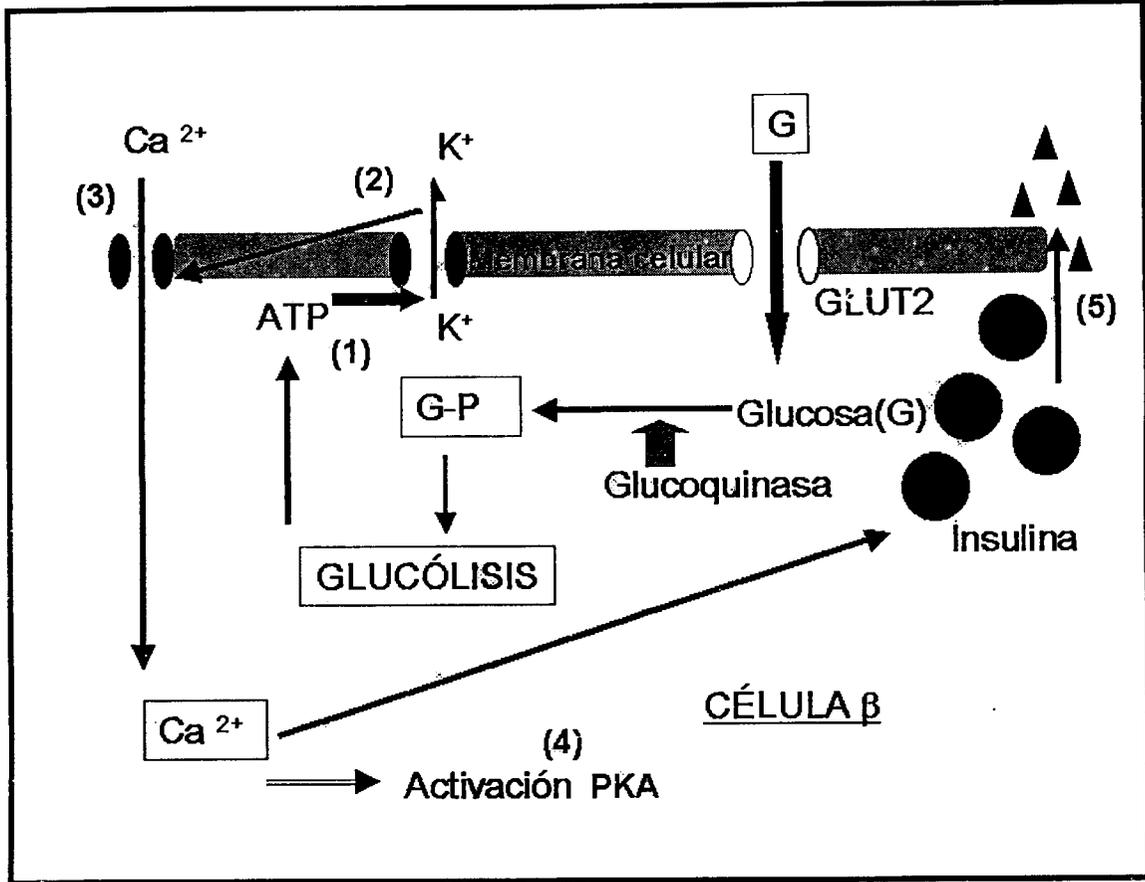


Figura 1. Liberación de insulina por la célula β. El aumento de ATP intracelular (1) induce el bloqueo de canales de K⁺ (2), la célula se despolariza e ingresa Ca²⁺ (3) el cual activa a PKA (4) para provocar la liberación de insulina (5) (Williams, 1997).

cadena A, el péptido C, la cadena B y una secuencia aminoacídica denominada PRE. Esta preprohormona tiene un peso molecular inicial de 11500 daltones, pero se escinde a continuación en el retículo endoplásmico; mediante la acción de enzimas específicas, el segmento PRE es cortado de la estructura dando origen a la proinsulina de un peso molecular de 9000 daltones aproximadamente. Existen dos puentes disulfuro que mantienen ligadas las cadenas A y B y un tercer puente disulfuro entre los residuos aminoacídicos número 6 y 11 de la cadena B. La mayor parte de la proinsulina es escindida todavía más en el aparato de Golgi. Enzimas específicas cortan la estructura a nivel del residuo aminoacídico 1 de la cadena A y 30 de la cadena B, liberando al péptido C, el cual es posible detectar en plasma. Al perder el péptido C, la proinsulina se convierte en insulina, la cual se encuentra biológicamente activa y en condiciones de ser secretada (Morimoto, 2000).

De esta forma, la insulina es secretada por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas en respuesta al incremento en los niveles de glucosa. Además, en el hígado (a través de la disminución de la gluconeogénesis y glucólisis) disminuye la salida de glucosa y en el tejido muscular y adiposo promueve la incorporación de glucosa al interior de la célula. La vida media de la insulina en plasma es de cinco a seis minutos en sujetos normales y en pacientes con diabetes no complicada (Sodoyez y col., 1983).

2.1. 2. Mecanismos de acción de la insulina.

La insulina endógena, como aquella que es administrada exógenamente con fines farmacológicos, tiene diversos mecanismos de acción, como se puede deducir por la gran diversidad de respuestas biológicas y el desarrollo temporal de éstas.

Las respuestas celulares van desde la regulación del flujo iónico con tiempos de respuesta del orden de los milisegundos, a la estimulación de la división celular, con una temporalidad de decenas de horas.

En términos generales podemos distinguir diferentes tipos de respuestas celulares a la insulina: Regulación del flujo de iones de Na^+ , K^+ y Ca^{++} , estimulación del receptor cinasa de tirosina, fosforilación de proteínas mediada por receptores, estimulación del transporte celular de glucosa, activación de enzimas (glucógeno sintetasa, piruvato deshidrogenasa, acetil-CoA-carboxilasa), estimulación del transporte de aminoácidos y de la síntesis proteica, regulación de la transcripción génica y estimulación de la división celular.

2.1.3. Regulación del transporte de glucosa vía insulina

El principal rol de la insulina es controlar la concentración de la glucosa, al estimular el transporte de este monosacárido al interior de las células musculares y adiposas, así como al reducir la producción de glucosa por el hígado (Bimbaum, 1993). La acción de la insulina se inicia a través de la unión de esta hormona a los receptores de la superficie de las células, esto produce una cascada de eventos de fosforilación intracelular (Figura 2).

Los eventos después de la unión de la insulina a su receptor son altamente regulados y específicos. El primer paso de la acción de la insulina a nivel celular es la unión de la hormona a su receptor. El receptor de la insulina (IR) solamente se expresa en músculo, tejido adiposo, hígado y páncreas. Éste es una proteína tetramérica compuesta por dos subunidades α (peso molecular ~135 kDa) ricas en cisteínas y glicinas que interactúan con la insulina y se unen por puentes disulfuro a dos subunidades β (peso molecular ~95 kDa) que atraviesan la membrana plasmática y cerca de la región carboxilo terminal se encuentran los residuos de tirosinas. Además IR es un miembro de una familia de enzimas llamadas cinasas de tirosina (Kasuga y col., 1982).

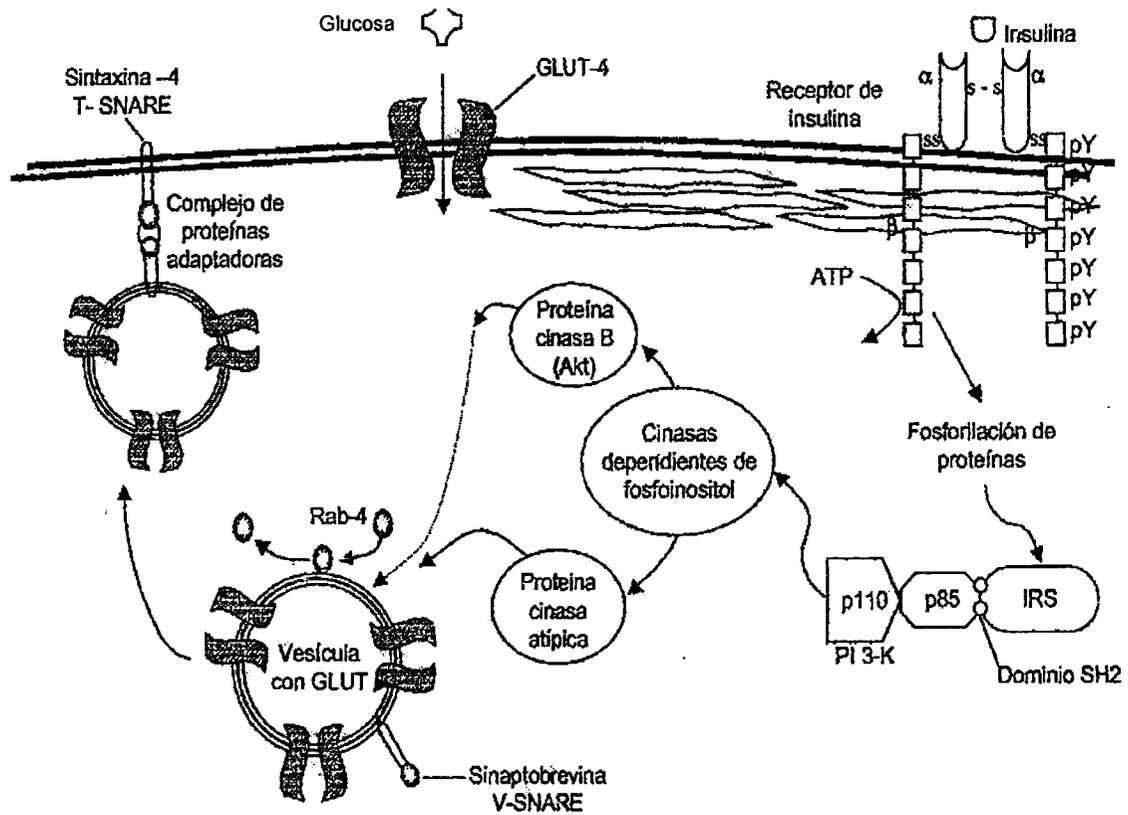


Figura 2. Regulación del transporte de glucosa mediado por insulina a través de diferentes proteínas de señalización (Cruz y col., 2000)

Cuando la insulina se une a la subunidad α del receptor de la insulina, ocurre un cambio conformacional en estas subunidades y tanto la autofosforilación como la actividad cinasa en la subunidad β son estimuladas. Esto permite la transferencia de grupos fosfato del ATP a múltiples residuos de tirosina en el receptor de la insulina, así como la fosforilación de sustratos de proteínas intracelulares (Ronald, 1994).

Después de la autofosforilación del receptor, se inicia la activación de las cinasas de tirosina sobre los sustratos del receptor de la insulina (IRSs). Se han identificado cuatro proteínas de IRS, siendo IRS-1 e IRS-2 (185 y 195 kDa, respectivamente) responsables del control de la glucosa. Las proteínas IRS contienen en su región NH_2 -terminal un grupo homólogo a pleckstrina (PH) que se asocia con fosfolípidos de membrana y/o proteínas intracelulares, seguido de un sitio de unión a fosfotirosina (PTB), la cual interactúa con la tirosina 960 en el motivo NPXY del receptor de la insulina (Morris, 1998). Otra región conservada es el motivo YXXM que se une al dominio SH2 de la subunidad p85 de la cinasa de 3 fosfatidilinositol (PI3-cinasa) (Cruz y col., 2000).

La primera molécula puesta abajo que fue asociada con IRS-1 es la PI3-cinasa, que pertenece a la familia de proteínas con actividad enzimática que fosforilan a lípidos de inositol de la membrana. Esta enzima está compuesta de una subunidad catalítica de 110 kDa y una subunidad reguladora de 85 kDa, fosforila la posición D-3 del anillo de inositol de fosfoinosítidos y produce fosfatidil inositol 3 fosfato, fosfatidil inositol 3,4-bifosfato y fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato (Goodyear y col., 1995). Estos lípidos especializados sirven para reclutar dominios de homología a pleckstrina contenidos en proteínas como la proteína cinasa D (PDK), la cual tiene un dominio catalítico en la región N-terminal y un dominio PH en la región C-terminal que sirve como sitio de unión a fosfoinosítidos con una alta afinidad (Cantrell, 2001). Después del reclutamiento a la membrana, Akt es fosforilada y consecuentemente activada, por PDK.

La cinasa de serina-treonina Akt (también conocida como proteína cinasa B, PKB) es mediadora de muchos efectos de PI3K y consecuentemente juega un papel central en la vía de señalización de ésta.

La activación de Akt es un proceso de múltiples pasos que involucran tanto la unión a la membrana como la fosforilación de la misma. Cuando PI3K se activa e induce la formación de fosfoinosítidos, Akt es reclutada a la membrana donde se une con estos fosfoinosítidos a través de su dominio PH (Franke y col., 1997). Su activación involucra un cambio conformacional y fosforilación en dos residuos. Uno de los sitios de fosforilación se encuentra en el dominio de cinasa (Thr 308 en Akt1) y es fosforilada por otro dominio PH contenido en la proteína PDK1. Se cree que este es el mayor evento de fosforilación. En adición, una segunda fosforilación en el sitio C-terminal (Ser 473 en Akt1) es requerido para tener su máxima actividad. Después de su activación, Akt puede fosforilar a diversos sustratos en el citoplasma y en el núcleo. La fosforilación de PKB correlaciona con la translocación de los transportadores de glucosa (GLUT4) a superficie celular.

Los transportadores GLUT están encargados del ingreso de los monosacáridos a todas las células del organismo. Se han identificado trece de ellos enumerados desde el GLUT 1 hasta el GLUT 13 (Díaz y col., 2003) (Cuadro 1). Sin embargo, se demostró años mas tarde que GLUT7 no tenía función de transportador de glucosa (Uldry y col., 2001; Rogers y col., 2002).

La proteína GLUT 4 se expresa en tejidos donde el transporte de glucosa depende de insulina: el músculo (cardíaco y esquelético) y el tejido adiposo. El GLUT 4 es una proteína que atraviesa 12 veces la membrana plasmática y es entre los dominios seis y siete donde se localiza el sitio de entrada de la glucosa.

Cuadro 1. Características de los transportadores de glucosa GLUT (Díaz y col., 2002)

ISOFORMAS	NÚMERO DE AA	MONOSACÁRIDOS QUE TRANSPORTA	LOCALIZACIÓN EN LOS TEJIDOS	FUNCIÓN
GLUT 1	664	Glucosa, Galactosa	Eritrocito, barreras hematoencefálica, placentaria y de la retina, astrocito, nefrona	Ingreso basal de glucosa
GLUT 2	522	Glucosa, Galactosa, Fructosa	Células β pancreáticas, hígado, intestino delgado, nefrona proximal.	Sensor de glucosa en páncreas, transporte de glucosa en la membrana basolateral de intestino y riñón
GLUT 3	596	Glucosa, Galactosa	Cerebro, placenta, hígado, riñón y corazón	Ingreso basal de glucosa
GLUT 4	509	Glucosa	Músculo esquelético y cardiaco y tejido adiposo	Ingreso de glucosa estimulado por insulina
GLUT 5	501	Glucosa	Yeyuno, espermatozoides, riñón, células de la microglia	Transporte de fructosa
GLUT 6	507	Glucosa	Cerebro, bazo y leucocitos	Ingreso de glucosa estimulado por insulina
GLUT 7	No existe			Sin función
GLUT 8	477	Glucosa	Testículos y placenta	Ingreso de glucosa
GLUT 9	540	Glucosa	Riñón e hígado	Ingreso de glucosa
GLUT 10	541	Glucosa	Hígado y páncreas	Ingreso de glucosa
GLUT 11	496	Glucosa	Músculo esquelético y corazón	Ingreso de glucosa
GLUT 12	617	Glucosa	Músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado	Ingreso de glucosa
GLUT 13	629	Glucosa	Cerebro	Ingreso de glucosa y mioinositol

En ausencia de insulina, alrededor del 90% de GLUT 4 se encuentra secuestrado en vesículas intracelulares que son llevadas hacia la membrana plasmática por la activación previa del complejo proteico PI3-cinasa y las proteínas PKB/Akt. Las vesículas transportadoras contienen proteínas V-SNARE (conocida como sinaptobrevina), VAMP2 y VAMP3 que interactúan físicamente con las proteínas T-SNARE (conocida como syntaxina 4 y SNAP23) que se encuentran localizadas en la cara interna de la membrana plasmática. Otras proteínas accesorias del tipo Munc18c, Synip y NSF se requieren en los eventos de anclaje y fusión de las vesículas de GLUT con la membrana. Además, en esta asociación participan las proteínas del citoesqueleto como la actina y la tubulina que interactúan con los complejos proteicos para la movilización y anclaje de los GLUT en la membrana plasmática (Cruz y col., 2000).

2.2. Resistencia a la insulina

La resistencia insulínica (RI) es un estado caracterizado por disminución de la acción de la insulina, lo que implica una respuesta biológica alterada a las acciones de la hormona en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y lípidos.

Existen evidencias de que los ácidos grasos libres (AGL) constituyen un vínculo importante entre la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. La elevación del nivel de AGL inhiben el transporte de glucosa y/o la fosforilación del receptor de insulina, lo que trae como consecuencia la reducción tanto en la velocidad de oxidación de la glucosa como de la síntesis de glucógeno en músculo (Roden y col., 1996). Las moléculas participantes en el mecanismo de señalización de lípidos pueden derivarse de los AGL y entre ellas se incluyen el diacilglicerol. Se ha reportado que en ratas Zucker (modelo de diabetes tipo 2) el mecanismo por el cual niveles elevados de 1,2-diacilglicerol pueden reducir la respuesta a la insulina involucran efectos en la unión y fosforilación del receptor (Turinsky y col., 1990). El diacilglicerol activa a la cinasa de proteína C θ (PKC θ)

(Itani y col., 2000), el mecanismo por el cual esta proteína puede contrarregular uno o más pasos involucrados en el transporte de glucosa y metabolismo incluyen la disminución de la autofosforilación y actividad de cinasa de tirosina del receptor de la insulina, la inactivación de la sintasa de glucógeno, la inhibición de la actividad de Akt1 y Akt3 y el incremento de la degradación del receptor de insulina (Proietto y col., 1999; Qu y col., 1999).

2.3. Diabetes

2.3.1. Definición.

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizada por hiperglicemia, la cual es el resultado de defectos en la secreción de insulina, en la acción de la insulina o ambos (The Expert Committee, 2002). Ocasionalmente la diabetes produce síntomas desde su inicio y otras veces no presenta ninguno por lo que puede pasar totalmente inadvertida. La hiperglicemia crónica de la diabetes está asociada con un largo período de daño y disfunción de varios órganos, especialmente de los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos.

2.3.2. Tipos de diabetes

La mayoría de los casos de diabetes se encuentra dentro de dos categorías etiopatogénicas. La primera llamada diabetes tipo 1, que es causada por una absoluta deficiencia de la secreción de insulina y la segunda, denominada como diabetes tipo 2 que es de mayor prevalencia que la anterior, causada por una combinación de resistencia a la acción de la insulina y una inadecuada secreción compensatoria de la misma.

2.3.2.1 Diabetes tipo 1

Esta forma de diabetes llamada previamente diabetes insulino-dependiente, diabetes tipo 1, o diabetes juvenil resulta de una destrucción autoinmune de las células β del páncreas (The Expert Committee, 2002).

En esta forma de diabetes, la velocidad de destrucción de las células β es totalmente variable, siendo rápida en algunos individuos (principalmente niños) y lenta en otros (principalmente adultos). Algunos pacientes, particularmente los niños y adolescentes, pueden presentar cetoacidosis como primera manifestación de la enfermedad. Otros desarrollan moderada hiperglicemia en ayuno que puede cambiar a hiperglicemia severa y/o cetoacidosis en presencia de infección o estrés. Otra forma silenciosa, particularmente en adultos, es aquella en la que las células β pueden tener función residual, suficiente para prevenir la cetoacidosis por muchos años. La gran mayoría de individuos que presentan diabetes tipo 1 empiezan a ser dependientes de insulina para sobrevivir y presentan un alto riesgo de desarrollar cetoacidosis. Posterior a este estado de la enfermedad, hay poca o nula secreción de insulina, la cual se pone de manifiesto por bajos o indetectables niveles del péptido C en plasma. La diabetes autoinmune comúnmente ocurre en niños y adolescentes, pero puede ocurrir a cualquier edad.

2.3.2.2 Diabetes tipo 2

Esta forma de diabetes, previamente llamada diabetes no insulino-dependiente, diabetes tipo 2, o diabetes del adulto, es el término usado para individuos quienes presentan resistencia a la insulina y usualmente deficiencia de insulina, aunque a veces es absoluta. Al menos al inicio y casi durante toda su vida, estos individuos no necesitan tratamiento con insulina para sobrevivir. Aunque las etiologías de esta forma de diabetes no son conocidas completamente, la destrucción autoinmune de las células β no ocurre.

La diabetes tipo 2 o diabetes no insulino-dependiente representa más del 90% de los casos y se caracteriza por: 1) resistencia a la acción de la insulina para la apertura de canales de glucosa en tejidos periféricos, especialmente en músculo esquelético y adipocitos, 2) disminución de la acción de la insulina para inhibir la producción de glucosa hepática, y 3) alteración en la secreción de insulina. Inicialmente, el incremento en la secreción de insulina compensa la resistencia a esta hormona, pero cuando la enfermedad comienza la compensación por las células β se altera (The Expert Committee, 2002).

Muchos pacientes con ésta forma de diabetes son obesos y esta obesidad causa cierto grado de resistencia a la insulina. Los pacientes que no son obesos pueden tener un incremento en porcentaje de grasa distribuida predominantemente en la región abdominal (Kissebah, 2000). La cetoacidosis puede ocurrir espontáneamente en este tipo de diabetes, cuando se observa, se asocia usualmente con el estrés o con infecciones. Esta forma de diabetes frecuentemente no es diagnosticada en varios años porque la hiperglicemia se desarrolla gradualmente, en estados tempranos no es severa y el paciente no presenta ninguno de los síntomas clásicos de diabetes. Sin embargo, tales pacientes van incrementando el riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares.

Las anomalías en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas en la diabetes es debida a la deficiente acción de la insulina en tejidos blanco. El daño en la secreción y defectos en la acción de la insulina frecuentemente coexisten en el mismo paciente. Los síntomas de una marcada hiperglicemia incluyen poliuria, polidipsia, pérdida de peso, algunas veces polifagia, y visión borrosa. Las complicaciones a largo plazo incluyen retinopatía con una potencial pérdida de la visión; nefropatía que conduce a falla renal; neuropatía periférica, con riesgo de úlceras en los pies.

El riesgo de desarrollar la diabetes tipo 2 incrementa con la edad, obesidad y pérdida de la actividad física. Ocurre frecuentemente en individuos con hipertensión o dislipidemia, y varía en diferentes subgrupos raciales/étnicos, por lo tanto está asociada con una fuerte predisposición genética (The Expert Committee, 2002)

2.4. Hipertrigliceridemia en la diabetes

Además de los trastornos del metabolismo de la glucosa que caracterizan la diabetes, en los pacientes diabéticos suelen asociarse cambios en el patrón de los lípidos séricos que constituyen un riesgo importante desde el punto de vista vascular. El daño vascular aterosclerótico es la complicación más común en los diabéticos.

La enfermedad coronaria y la enfermedad cerebrovascular ocurren en una frecuencia de 2 a 3 veces mayor en el diabético que en aquellas personas que no padecen esta enfermedad. Estudios epidemiológicos destacan de manera especial que la frecuencia de insuficiencia arterial periférica es de 20 a 40 veces superior en los diabéticos en relación con las personas no diabéticas. La frecuencia de los trastornos cardiovasculares en el diabético es no sólo mayor que en las personas no diabéticas, sino que además resulta más letal, sobre todo si se presenta acompañada de hipertensión arterial y albuminuria (Illnait, 1997).

La hipertigliceridemia es la dislipidemia más frecuente en la diabetes. Es bien conocido que en la diabetes tipo 1, la deficiencia aguda de insulina produce un aumento rápido de la movilización de ácidos grasos desde los tejidos periféricos hacia el hígado lo que determina un aumento en la formación y liberación de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) en este órgano. Al mantenerse el déficit de insulina, se inhibe la síntesis de triglicéridos hepáticos y la formación y liberación de VLDL. Por otro lado, existe una deficiencia de la depuración de triglicéridos plasmáticos, bien por disminución de la actividad de la

lipoproteína lipasa (LpL), enzima estimulada por insulina, o por una posible modificación estructural de las VLDL (que las hace menos susceptibles a la acción de la enzima), e incrementa la concentración plasmática de esta lipoproteína. En la diabetes mellitus tipo 2, la insulinemia es normal o algo elevada en la mayoría de los pacientes (aunque bajos en relación con la alta concentración plasmática de glucosa). En estos casos, la presencia de insulina en el hígado aumenta la formación y la liberación de VLDL, por lo que también se detecta hipertrigliceridemia. Sin embargo, a pesar de los niveles elevados de insulina, persiste un defecto del catabolismo de la VLDL por inhibición de la LpL al nivel del tejido adiposo (Illnait, 1997).

2.5. Estudios en modelos animales

En las investigaciones biomédicas se precisa la utilización de animales de laboratorio como biomodelos naturales o inducidos de diversas enfermedades, los cuales ayudan al estudio y la comprensión de la patogenia, fisiología y posibilidades de tratamiento de las mismas. Los animales diabéticos han contribuido a entender las causas, consecuencias y tratamiento de este síndrome metabólico, aunque no representen exactamente los aspectos de la enfermedad en el ser humano.

En los animales de laboratorio, la diabetes se puede presentar de forma espontánea o inducida experimentalmente por distintos métodos, mediante el empleo de drogas o sustancias químicas que son capaces de provocar la diabetes ya que algunas de estas drogas pueden inducir a la resistencia de la insulina o al daño de las células β y provocar la enfermedad.

Dentro de las sustancias utilizadas para el desarrollo de la enfermedad se encuentra la estreptozotocina (STZ) que es un antibiótico de amplio espectro citotóxico. La STZ ha sido empleada en ratas, ratones, perros, hámsteres, ovejas y monos (Hugues y col., 2001). La STZ es utilizada para inducir diabetes tipo 1 y 2.

La dosis única frecuentemente utilizada por vía intraperitoneal en ratas adultas es de 40-60 mg/kg de peso corporal (Szkudelski, 2001). La acción de la STZ en las células β está acompañada de alteraciones en las concentraciones de insulina y glucosa en la sangre. Dos horas después de la inyección, se observa hiperglicemia con una concomitante caída en la concentración de insulina. Alrededor de las seis horas, ocurre una hipoglicemia con un alto nivel de insulina en sangre. Finalmente, la hiperglicemia se desarrolla y el nivel de insulina disminuye (West y col., 1996).

La diabetes tipo 2 puede ser fácilmente inducida en ratas por tratamiento de 90 mg/kg de peso corporal de STZ al segundo día del nacimiento. Esto induce daño en las células β , seguido de una limitada regeneración como resultado de un proceso de mitosis. La degranulación de las células β causan al inicio un aumento en los valores de insulina sérica, resultando en una fase de hipoglicemia seguida después de una hiperglicemia persistente. A las 6-15 semanas de edad se manifiesta la enfermedad, aunque no es exactamente igual que en el humano ya que por ejemplo la resistencia a la insulina no es inducida (Verspohl, 2002).

Una vez que la STZ ingresa a la célula β por medio del transportador de glucosa GLUT2, está disponible para su descomposición espontánea a isocianato y metildiazohidróxido. El isocianato puede sufrir carbamilación intramolecular o puede carbamilar otros componentes celulares. El metildiazohidróxido puede descomponerse a una forma altamente reactiva que es el ion carbonio, el cual causa alquilación del DNA (Murata y col., 1999) (Figura 3).

Asimismo estudios recientes han sugerido que las especies reactivas del oxígeno, incluyendo el ion superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y óxido nítrico, juegan un papel crítico en el mecanismo de daño y citotoxicidad del DNA por STZ (Bolzan y Binchi, 2002).

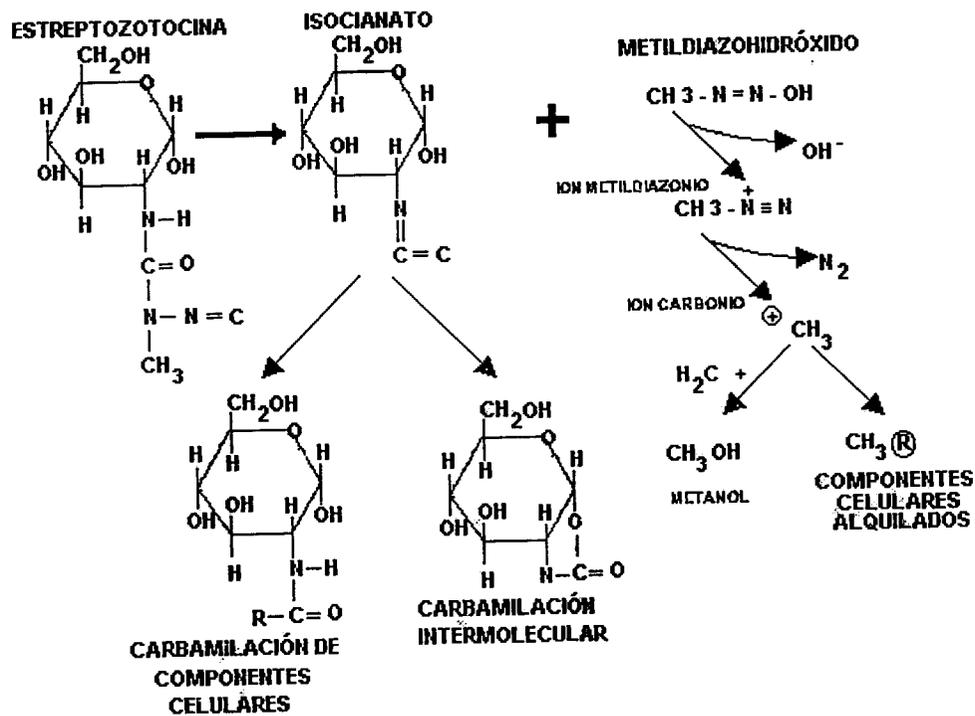


Figura 3. Productos de la descomposición de la estreptozotocina al ingresar a las células β del páncreas (Murata y col., 1999).

2.6. Tratamientos

El objetivo prioritario del tratamiento farmacológico en la diabetes es la disminución de la hiperglicemia. Por lo tanto, los medicamentos a utilizar son los hipoglucemiantes orales (sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de alfa-glucosidadas) y la insulina.

2.6.1. Sulfonilureas

Las sulfonilureas tal como la clorpropamida, la glibenclamida, la gliclazida, la glimepirida, la glipizida, la gliquidona, la glisentida y la tolbutamida, son agentes que estimulan la secreción de insulina al actuar sobre receptores pancreáticos. Son los fármacos de elección para el tratamiento de diabéticos tipo 2.

El mecanismo de acción de las sulfonilureas se inicia a partir de la unión a un receptor específico, provocando el bloqueo de los canales de salida de potasio dependientes de ATP. Esto provoca a una disminución del flujo de potasio y despolarización de la membrana celular, lo que incrementa el flujo de calcio al interior de la célula, activando un sistema celular que causa desplazamiento de los gránulos secretores a la superficie celular, con expulsión de insulina a través de exocitosis (Ruiz y col., 2002) (Figura 4).

2.6.2. Insulina.

El tratamiento con insulina es obligado para los pacientes con diabetes tipo 1 y se administra a pacientes con diabetes tipo 2 cuando ni la dieta ni los hipoglucemiantes orales son capaces de lograr el control del nivel de glucosa. La insulina es asimismo el tratamiento de elección para la diabética gestante, ya que la insulina no atraviesa la barrera placentaria.

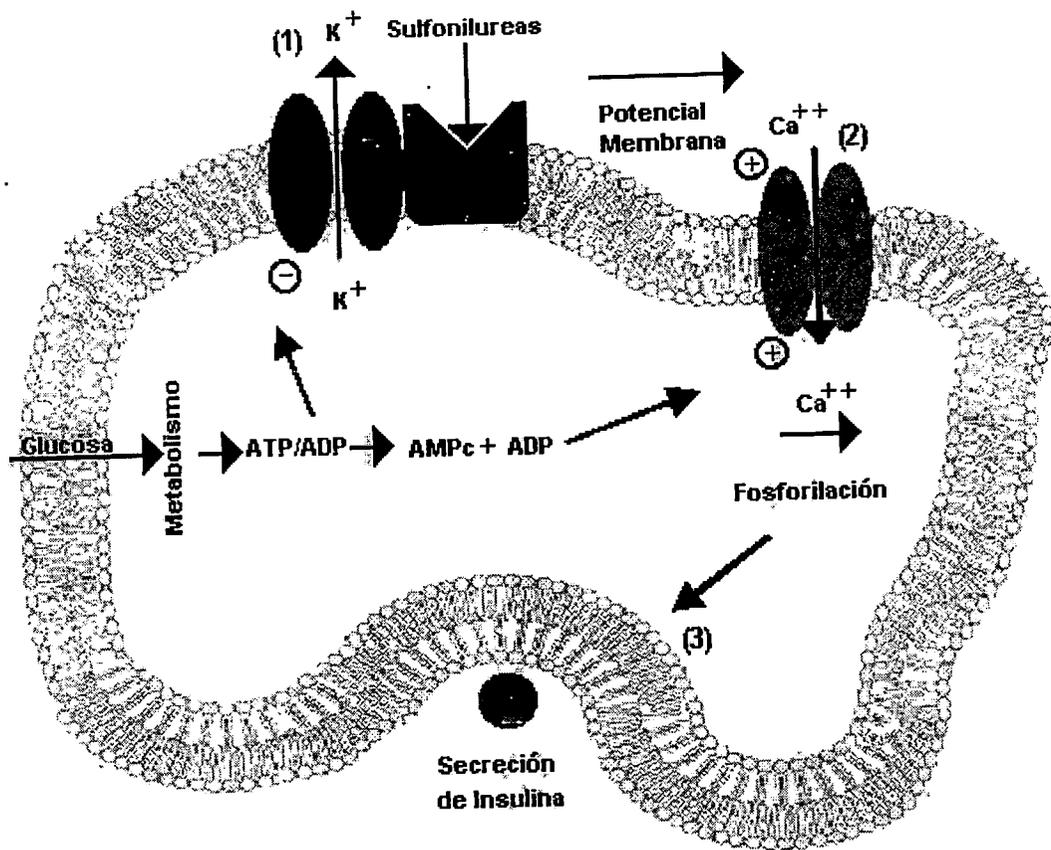


Figura 4. Mecanismo de acción de las sulfonilureas. Provocan el bloqueo de los canales de salida de potasio (1), se despolariza la membrana e incrementa la entrada de calcio a la célula (2), lo que provoca la expulsión de insulina (3) (Ruiz y col., 2002).

La insulina es degradada por vía oral, lo que obliga a que su uso se haga por inyección. Por lo general se usa por vía subcutánea o intramuscular, siendo la subcutánea la vía más usada. La vida media de la insulina en plasma es corta, aunque puede extenderse por formación de complejos con protamina. Existen diferentes preparados comerciales cuya acción va desde una respuesta rápida hasta una respuesta ultralenta y que permiten realizar las combinaciones de modo que se ajusten a las características del paciente. Estos preparados se diferencian en las sustancias añadidas con objeto de modificar sus características farmacocinéticas (inicio de la acción, tiempo de vida media y máxima concentración plasmática).

La insulina NPH (Neutral Protamine Hagedorn) se sintetiza a partir de una cepa especial de laboratorio, no patógena de la bacteria *E. coli*, la cual ha sido modificada genéticamente mediante la adición de un gen humano para producción de insulina. Este producto es una modificación de una solución de cristales de insulina-zinc que proporciona una duración de acción diferente de la insulina regular. El resultado es una insulina de acción intermedia de comienzo más lento (2 horas) que el de la insulina regular y con acción más prolongada (18 a 24 horas).

2.7. Plantas tradicionales antidiabéticas.

La información etnobotánica en el mundo reporta cerca de 800 plantas usadas en el control de la diabetes. Aproximadamente 150 de éstas existen en México. Sin embargo, solo un pequeño número de ellas han sido estudiadas (Alarcon, 1998).

2.7.1 *Cnidoscolus chayamansa*

2.7.1.1. Generalidades

En nuestro país existe una gran diversidad de especies de plantas que constituyen una fuente inexplorada de sus principios activos, tal es el caso de la chaya, la cual ha sido considerada un valioso recurso natural por su utilización en la alimentación y medicina tradicional desde épocas precolombinas (Figura 5). Esta planta es nativa de la Península de Yucatán y actualmente se cultiva en varios Estados de la República Mexicana, Estados Unidos y en América central. La planta está perfectamente adaptada a regiones tropicales húmedas y secas con distintas clases de suelo, desde el nivel del mar hasta 1500 metros sobre el nivel del mar (msnm).

Estimaciones realizadas por algunos centros de investigación agrícola han reportado que una hectárea de cultivo puede producir aproximadamente 39,204 plantas. Su cultivo presenta varias ventajas ya que es tolerante a altas precipitaciones pluviales, resistente a sequías y a enfermedades que normalmente atacan a vegetales de clima tropical (Díaz, 1975).

Se conocen cinco variedades de chaya, tres de las llamadas mansas y dos silvestres. De las tres primeras una es de hoja más delgada y contiene menos vellosidades urticantes, la cual es la más utilizada para consumo humano. La variedad silvestre contiene hojas más largas y presenta más espinas que la variedad mansa (Díaz, 1975).



Figura 5. Hoja de chaya utilizada en medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes.

2.7.1.2. Composición de la chaya

La chaya puede ser considerada como un suplemento alimenticio por su alto contenido de proteínas (5.7% base húmeda), fibra cruda (1.9%), calcio (199.4 mg/100g), potasio (217.2 mg/100g), hierro (11.4 mg/100g), vitamina C (164.7 mg/100g) y caroteno (0.085 mg/100g). En términos de valores nutricios la chaya es superior a la acelga, la lechuga, los berros y la col (Kuti y Torres, 1996). Otro estudio realizado por Ventura (2004) demostró que existe diferencia en la composición nutrimental en tres diferentes isotipos de hojas de chaya (Cuadro 2).

Por otro lado se ha reportado que las hojas crudas contienen glucósidos cianogénicos, los cuales son tóxicos pues forman ácido cianhídrico, pero este es eliminado en el vapor y no permanece en el agua de cocción (Molina y col., 1999). Los mayas usaban las hojas de chaya junto con el maíz para obtener una dieta rica en proteínas, vitaminas y otros compuestos (Booth y col., 1992).

Las infusiones de la hoja de chaya se han usado desde tiempos precolombinos para el tratamiento de la arteriosclerosis, cálculos renales, hemorroides, obesidad, para combatir la pelagra, para mejorar la función del hígado, de la circulación y de la digestión. La chaya se ha recomendado tradicionalmente para el tratamiento de la diabetes (Díaz, 1975).

2.7.1.3. Efecto hipoglucemiante

En un estudio realizado por Kuti y Torres (1996) se evaluó el efecto del té de chaya (10 g de hojas por litro de agua) administrado *ad libitum* a conejos sanos y diabéticos inducidos con estreptozotocina, en este experimento se observó que el nivel de glucosa en ayuno disminuyó gradualmente después de 6 horas de iniciado el experimento (Cuadro 3). Sin embargo, la dosis eficaz y el mecanismo de actividad hipoglucemiante no fueron evaluados.

Cuadro 2. Composición nutricional de tres isotipos de chaya (Ventura, 2004)

Componente	Isotipo		
	AGS1	AGS2	AGS3
Proteína (%)	20.9±0.8	21.8±1.2	23.7±0.2
FDT (%)	4.26±0.14	3.83±0.05	4.08±0.08
Fe (mg/100 g)	21±1.1	14±1.3	20±0.4
Se (mg/100 g)	0.38±0.3	0.43±0.3	0.34±0.1
Ca (mg/100 g)	754±8.2	1446±37.6	1666±41.3
Zn (mg/100 g)	4.5±0.1	2.4±0.1	2.9±0.1
Compuestos fenólicos totales (mg/g)	31±1.6	39±0.9	51±4.6
Vitamina C (mg/100 g)	1.9±0.08	17±1.0	15±1.4

Todos los resultados son presentados como la media ± DE.

El contenido de proteína se expresa en base seca.

FDT= Fibra Dietética Total.

Fe, Se, Ca, Zn: mg/100 g de material liofilizado

Los valores de compuestos fenólicos totales están expresados como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (base seca).

La cuantificación de vitamina C es en extracto acuoso liofilizado.

Cuadro 3. Efecto del té de chaya sobre el nivel de glucosa en conejos normoglicémicos y diabéticos inducidos con estreptozotocina (Kuti y col., 1996).

Concentración de glucosa en sangre (mg/dL) ± SE				
	ño diabéticos		Diabéticos	
Tiempo (horas)	agua	"chaya"	agua	"chaya"
0	87±3.1	85±2.5	112±8.3	118±13.2
1	86±2.7	91±3.9	138±4.6	114±7.3
2	87±2.6	99±4.3	143±6.4	103±8.7
3	87±3.1	82±1.6	139±8.0	96±9.3
4	88±3.0	85±2.1	153±6.3	92±5.8
5	87±4.7	84±4.2	158±7.4	89±3.6
6	87±3.1	82±2.7	162±9.0	87±2.7

En otro estudio realizado por Alarcon y col. (1998) se utilizó la chaya (*Cnidoscolus multilobulus*) para determinar su efecto antihiperглиcémico. En este experimento se utilizaron dos grupos de conejos sanos, machos, adultos de Nueva Zelanda, el primer grupo fue el control y el segundo fue el grupo tratado con el preparado de la planta. Se practicó una curva de tolerancia a la glucosa, la glucosa fue administrada vía subcutánea y el preparado de la planta (40 g de hoja seca en 300 mL de agua a ebullición por 10 minutos) se administró por vía intragástrica. Se tomaron muestras de sangre cada 60 minutos durante 5 horas, los resultados mostraron que el té de chaya no tiene efecto antihiperглиcémico.

III. JUSTIFICACIÓN.

El interés por las posibilidades terapéuticas que ofrecen ciertas plantas ha crecido en los últimos años, por consiguiente, el marco de la terapia medicinal tiene cada día mayor relevancia. Sin embargo, se debe mencionar que existe una falta de información de carácter científico, lo que provoca una cierta inseguridad en cuanto al empleo de estas plantas como una forma de terapia.

La necesidad de alternativas en el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas ha crecido día a día y el empleo de medicina tradicional sigue siendo una práctica común en la población mexicana. La chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) es una planta que ha sido ampliamente utilizada para el tratamiento de diabetes. Sin embargo, su uso está basado en una tradición y con pocos antecedentes científicos, por lo que resulta evidentemente importante estudiar la forma en que podría reducir o controlar la diabetes a corto y mediano plazo.

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar la capacidad hipoglucemiante y antihiperглиcémica del té de la hoja de chaya en animales sanos y en animales diabéticos inducidos con estreptozotocina.

4.2. Específicos

- ❖ Comparar la capacidad hipoglucemiante y antihiperглиcémica del té preparado con tres diferentes isotipos de hoja de chaya.
- ❖ Determinar la dosis de té más efectiva en base a su efecto hipoglucemiante y antihiperглиcémico.
- ❖ Evaluar el efecto del estado de maduración de la hoja de chaya sobre la actividad antihiperглиcémica.
- ❖ Determinar el efecto del té de chaya sobre la absorción de glucosa a nivel gastrointestinal.
- ❖ Analizar el efecto de la administración subcrónica del té de la hoja de chaya en animales normoglicémicos y diabéticos.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Planta

Se trabajó con tres diferentes isotipos de hojas de chaya: AGS1, AGS2 y AGS3 (Figura 6). Éstas fueron proporcionadas por el Campo Experimental del Bajío en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Así como del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA).

5.2. Animales

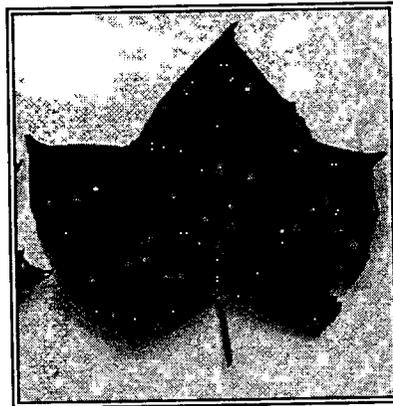
Para llevar a cabo los estudios en condiciones de normoglicemia, se utilizaron ratas macho Sprague Dawley con un peso entre 150-250 g. Para el estudio con animales diabéticos, se utilizaron ratas macho Wistar y Sprague Dawley con un peso entre 150-250 g. Todos los animales fueron obtenidos del bioterio del CINVESTAV-México y se sometieron a un período de adaptación de una semana bajo un ciclo de luz-obscuridad de 12 horas y con acceso libre a comida y agua.

5.3. Elaboración del té

Para evaluar diferentes dosis del té de chaya (0.3, 0.6 y 1.2 g de hoja / kg de peso corporal) se elaboraron de manera independiente tres diferentes concentrados de té con el objeto de administrar el mismo volumen de té por kg de rata.

La elaboración del té consistió en adicionar 10, 20 y 40 g (correspondiente a las dosis antes mencionadas) de hojas de chaya en un litro de agua a ebullición durante 15 minutos, posteriormente se filtró el té y se aforó al volumen inicial.

AGS₁



AGS₂



AGS₃



Figura 6. Muestras representativas de los isotipos de hoja de chaya empleadas en el presente estudio.

5.4. Determinación de glucosa

La glucosa se cuantificó utilizando muestras de sangre obtenidas de la vena caudal de las ratas en estado de ayuno empleando un glucómetro de la marca ROCHE el cual tiene un rango de sensibilidad que va de 20 a 600 mg/dL de glucosa, además del uso de tiras reactivas de la marca Accutrend.

La medición de la prueba se lleva a cabo a través de bioamperometría, ésta mide la corriente generada por la reacción de la enzima glucosa deshidrogenasa de la tira reactiva al convertir la glucosa de la muestra de sangre en gluconolactona.

5.5. Curva de tolerancia a la glucosa (CTG)

La CTG consistió en administrar a las ratas una dosis de glucosa (3 g/kg PC por vía oral y 2 g/kg PC por vía intraperitoneal) en ayuno y posteriormente cuantificar los niveles de glucosa en sangre a diferentes intervalos de tiempo.

5.6. Determinación de triglicéridos.

Las muestras de sangre se obtuvieron por medio de una punción cardiaca a las ratas anestesiadas, la sangre se centrifugó y posteriormente se obtuvo el suero.

Para medir la concentración de triglicéridos en las muestras se utilizó un kit de la marca Sera-Pack Plus de Bayer. El fundamento de este método es que los triglicéridos presentes en la muestra de sangre reaccionan con la enzima lipoproteína lipasa (LPL) para formar glicerol. El glicerol es convertido a glicerol-3-fosfato por la enzima glicerol cinasa, el cual interactúa con la enzima glicerol fosfato oxidasa para formar fosfato de dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno. Finalmente el peróxido de hidrógeno interactúa con 4-aminoantipirina/p-clorofenol y a través de la enzima peroxidasa se lleva a cabo la formación de un compuesto de color rojo, la intensidad del color es medida en el espectrofotómetro.

5.7. Preparación de la solución de estreptozotocina (STZ)

Para determinar la dosis de STZ (45, 50 y 60 mg/kg) Sigma, No. 242-646-8, que sería utilizada para la inducción de diabetes en las ratas para llevar a cabo el experimento a largo plazo se prepararon tres diferentes soluciones disolviendo por separado 45, 50 y 60 mg de ésta en 1.2 mL de buffer de citrato 0.1 M, pH 4.5.

5.8. Tratamientos

5.8.1. Tratamiento con té de chaya a animales normoglicémicos

5.8.1.1. Elección del isotipo de hoja de chaya con mejor actividad hipoglucemiante

Se seleccionaron 20 ratas macho Sprague Dawley que fueron distribuidos al azar en cuatro tratamientos de cinco animales cada uno. El primer grupo fue el control, y a los tres restantes se les administró el té elaborado con cada uno de los isotipos de hoja de chaya (AGS1, AGS2 y AGS3), el cual fue administrado en condiciones de ayuno por medio de una sonda por vía intragástrica a una dosis de 0.6 g de hoja/ kg de PC, el grupo control solo recibió agua. Para la determinación de glucosa se tomaron muestras de sangre a los tiempos 0, 30, 60 y 120 minutos posterior a la administración del té y se eligió el isotipo de hoja de chaya que mostró el mayor efecto hipoglucemiante.

5.8.1.2. Determinación de la dosis efectiva con mayor capacidad hipoglucemiante y antihiperглиcémica

En la segunda etapa se formaron cuatro grupos de cinco ratas, el primer grupo fue el control al que solo se le administró agua y para los grupos restantes se administró el té de la hoja de chaya AGS3 en condiciones de ayuno a tres diferentes dosis (0.3, 0.6 y 1.2 g de hoja/kg PC). Se tomaron muestras de sangre a los tiempos 0, 30, 60, 120 y 180 minutos.

Para el efecto antihiperглиcémico se trabajó en forma similar al experimento anterior, sólo que en este caso además de administrar el té en condiciones de ayuno, se les administró al mismo tiempo una carga de glucosa a una dosis de 3 g/kg de peso (Curva de Tolerancia a la Glucosa).

Las pruebas antes mencionadas se realizaron para determinar la dosis de té con mayor efecto tanto hipoglucemiante como antihiperглиcémico para llevar a cabo las siguientes pruebas.

5.8.1.3. Estado de maduración de la hoja sobre la actividad antihiperглиcémica

Para esta evaluación se formaron tres grupos de ratas. El primer grupo fue el control al que solamente se le dió una carga de glucosa y agua. El segundo grupo recibió además de la carga de glucosa, el té elaborado con hojas jóvenes. El tercer grupo recibió la carga de glucosa y el té elaborado con hojas maduras. Posteriormente se midió la glucosa a diferentes intervalos de tiempo (0, 30, 60, 120 y 180 minutos).

5.8.1.4. Efecto antihiperглиcémico del té de la hoja de chaya en glucosa administrada por vía intraperitoneal

Para esta prueba se formaron dos grupos de cinco animales cada uno. El primero fue el grupo control al cual se le administró agua por vía oral y glucosa (2 g/kg) por vía intraperitoneal. El segundo grupo recibió té de chaya por vía oral y glucosa por vía intraperitoneal a la misma dosis. Se tomaron muestras de sangre a los 0, 30, 60, 120 y 180 minutos para medir el nivel de glucosa.

5.8.2. Pruebas de inducción de diabetes.

Se realizaron diferentes pruebas con STZ para inducir la diabetes en ratas Sprague Dawley (45, 50 y 60 mg/kg PC) y Wistar (40 y 45 mg/kg PC).

En ambos casos la solución de STZ fue administrada por vía intraperitoneal (dosis única). Para corroborar la presencia de hiperglicemia (concentración de glucosa mayor a 180 mg/dL) se determinó la concentración de glucosa sanguínea a diferentes intervalos de tiempo (días).

5.8.3. Tratamiento subcrónico con té de chaya a ratas Wistar normoglicémicas y diabéticas.

Para la primera parte del estudio subcrónico se utilizaron ratas normoglicémicas y diabéticas. Los animales normoglicémicos fueron divididos en dos grupos: a) control, que solo recibió agua y b) té de chaya *ad libitum*.

Los animales diabéticos fueron divididos en cuatro grupos a) control, que solo recibió agua, b) grupo tratado con té de chaya vía intragástrica (0.6 g de hoja/kg PC), c) grupo tratado con té de chaya *ad libitum*, y d) grupo tratado con fármaco, (glibenclamida, 3 mg/kg PC). Cada semana se determinó: concentración de glucosa en ayuno, consumo de líquido (agua y té), ingesta de alimento, peso y sobrevivencia.

Para la segunda parte del experimento, el tratamiento b con animales diabéticos se modificó, tratando a las ratas con té de chaya *ad libitum* junto con la administración de insulina NPH (3 UI/100 g) de actividad intermedia; mientras que en el cuarto grupo el uso de glibenclamida fue remplazado por insulina (3 UI/100 g).

Se midieron los mismos parámetros que en el experimento anterior. Al finalizar los experimentos, los animales fueron anestesiados para la obtención de muestras de sangre por punción cardiaca para la cuantificación de triglicéridos.

5.9. Análisis estadístico

Los datos son expresados como la media \pm SEM. Se determinó el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95% y se realizó el análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey-Kramer para la comparación entre diferentes tratamientos así como también la prueba de Dunnet en los casos en los que sólo se compararon tratamientos con respecto a un control.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Tratamiento con té de chaya a animales normoglicémicos.

6.1.1. Elección de la colecta de chaya con mejor actividad hipoglucemiante.

Debido a que los resultados obtenidos por Ventura (2004) muestran que existe diferencia en cuanto a la composición química y nutrimental de diferentes isotipos de chaya, y dado que dichos isotipos son los mismos que se utilizaron en el presente experimento, fue importante saber si en cuanto al efecto hipoglucemiante y antihiperглиcémico también presentan diferencias.

Es por esto que la primera prueba se realizó para determinar cual de los isotipos AGS1, AGS2, o AGS3 es el que tiene la mayor capacidad hipoglucemiante. En la Figura 7 se muestran los cambios de glucosa sanguínea con respecto al tiempo transcurrido a partir de la administración del té elaborado con cada una de los isotipos de hoja de chaya. Como se puede observar, el nivel de glucosa en sangre disminuyó con el té preparado de los tres isotipos empleados. Los isotipos que presentaron un efecto hipoglucemiante significativo con respecto al grupo control tanto a los 120 y a los 180 min fueron AGS1 y AGS3 ya que hubo una disminución de aproximadamente entre 15 y 25 mg/dL del nivel de glucosa, este efecto se observó en AGS2 sólo a los 180 min.

Los resultados anteriores sugieren que estos isotipos de chaya presentan diferentes compuestos responsable del efecto hipoglucemiante o que dicho compuesto se encuentra en diferente proporción, lo que se puede correlacionar con el estudio realizado por Ventura (2004) al encontrar diferencias en la composición química de los isotipos de hoja de chaya.

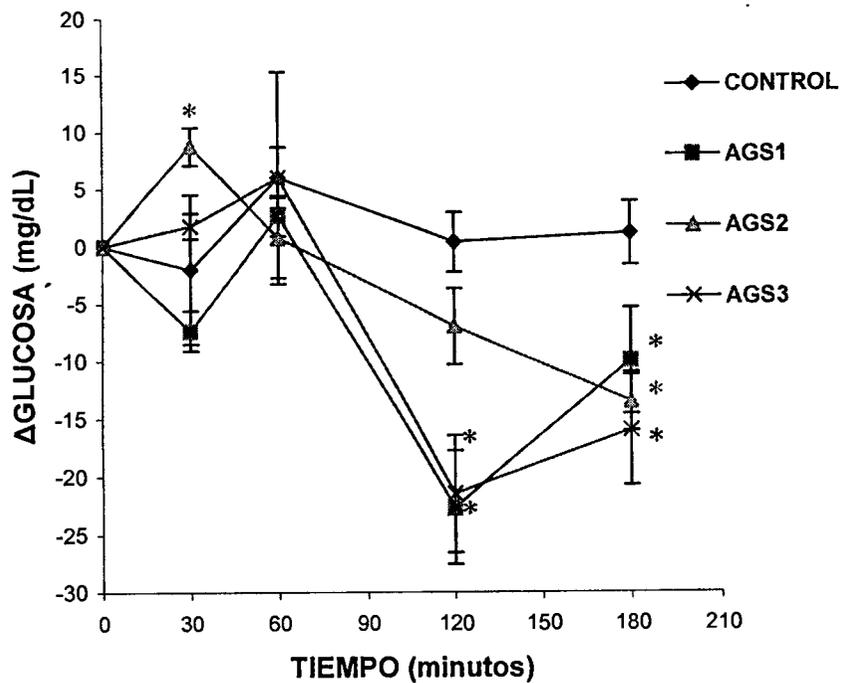


Figura 7. Efecto hipoglucemiante del té elaborado con hojas de chaya de tres diferentes isotipos AGS1, AGS2 y AGS3 en ratas Sprague Dawley.

Los valores son presentados como media del incremento o decremento de la concentración de glucosa \pm SEM, n= 5. ANOVA $\alpha < 0.05$. Prueba de Dunnet *, significativos $P < 0.05$.

En otro estudio realizado con extractos de ginseng se encontró que la respuesta hipoglucemiante depende de la especie de la planta, y esto se atribuye a la diferencia en concentración de los ginsenosidos, compuesto considerado como principio activo (Sievenpiper y col., 2004).

De acuerdo a lo anterior se decidió utilizar el isotipo AGS3 para los siguientes experimentos ya que fue uno de los que presentó mayor efecto hipoglucemiante.

Por otro lado, el efecto hipoglucemiante producido por el té de chaya en condiciones de ayuno sugiere que el o los compuestos presentes en el té tienen la capacidad de modular los niveles de glucosa endógena por diferentes mecanismos, entre los que se encuentran: disminución de gluconeogénesis, estimulación de la secreción de insulina o actividad similar a la insulina.

6.1.2. Determinación de la dosis con mayor capacidad hipoglucemiante y antihiperглиcémica

Con la finalidad de determinar la dosis con mayor efecto hipoglucemiante del té de hoja de chaya preparado a partir de AGS3, se analizaron tres diferentes dosis del té: 0.3, 0.6 y 1.2 g de hoja/kg PC (Figura 8).

Como se puede observar, para la dosis de 0.3 g/kg hay una disminución significativa de tres y cuatro veces el nivel de glucosa con respecto al control en los tiempos 120 y 180 minutos.

En cambio, las dosis de 0.6 y 1.2 g/kg mostraron que disminuyó significativamente de dos a tres veces aproximadamente el nivel de glucosa con respecto al control en todos los tiempos evaluados.

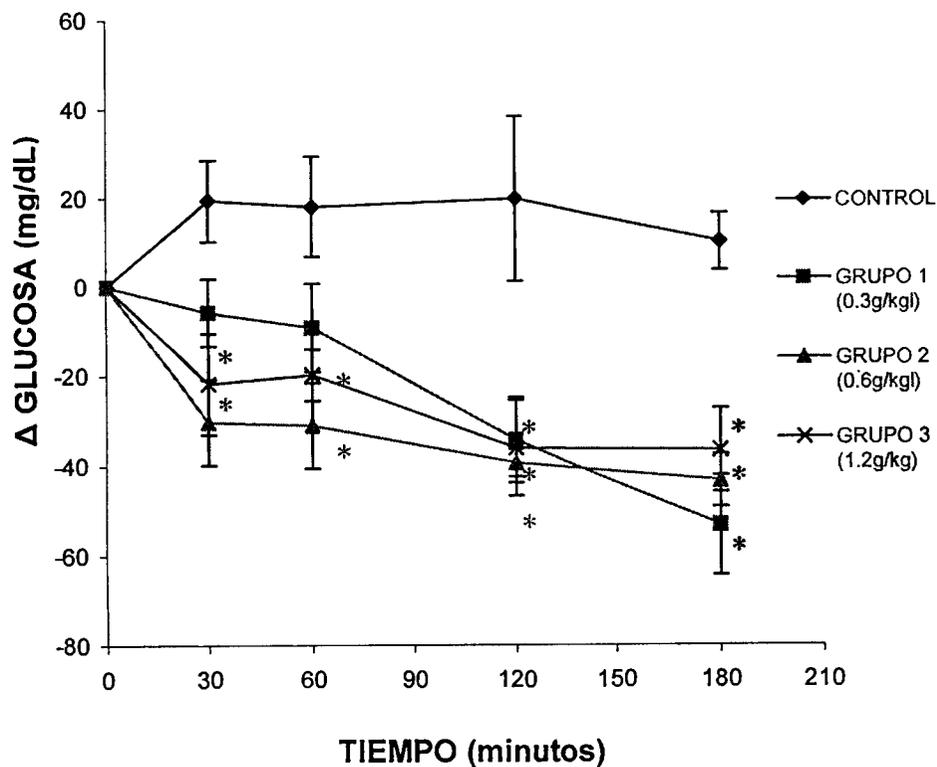


Figura 8. Efecto hipoglucemiante del té de chaya (AGS3) administrado a diferentes dosis a ratas Sprague Dawley.

Los valores son presentados como media del incremento o decremento de la concentración de glucosa \pm SEM, n = 5. * P < 0.05, estadísticamente diferente respecto al control por la prueba de Dunnet.

Con base a lo anterior se puede deducir que una dosis mayor a 0.6 g de hoja/kg PC no incrementa la actividad hipoglucemiante. De esta forma, se consideró la dosis de 0.6 g/kg para los estudios posteriores ya que es la dosis mínima con la que se logra el mayor efecto.

La capacidad antihiperglicémica es utilizada en los estudios de diabetes para evaluar la acción de ciertos componentes sobre el efecto de una alimentación simulada a través de una carga de glucosa. Para esto es necesario recurrir al uso de una curva de tolerancia a la glucosa.

En la figura 9 se muestra la capacidad antihiperglicémica del té de chaya. La dosis de 0.6 g/kg presentó una reducción del pico hiperglicémico en un 50% aproximadamente (31 ± 10.8 mg/dL) a los 30 min con respecto al control (61 ± 14.01 mg/dL), mientras que las otras dosis (0.3 y 1.2 g/kg) presentaron el mayor pico hiperglicémico a los 60 min de forma similar al control. Además, a los 120 y 180 min la disminución significativa del nivel de glucosa de la dosis 0.6 g/kg (-10 ± 5.8 y -11.2 ± 13.4 mg/dL respectivamente) fue aproximadamente tres veces menor con respecto al control (33.6 ± 15.2 , 20.3 ± 11.3 mg/dL), cabe mencionar que este efecto fue semejante en las otras dosis evaluadas. Por lo anterior, la dosis empleada para impedir el incremento de glucosa, es un factor importante a considerar cuando es consumido el té.

Existen estudios en plantas sobre el efecto que ejerce la dosis en la disminución del nivel de glucosa sanguínea, por ejemplo, Pérez y colaboradores (1998) observaron que existe un efecto dosis-dependiente al utilizar 100, 200 y 300 mg/kg del extracto hexánico de *Brickellia veronicaefolia* en ratones normoglicémicos, presentando el mayor efecto la dosis de 300 mg/kg.

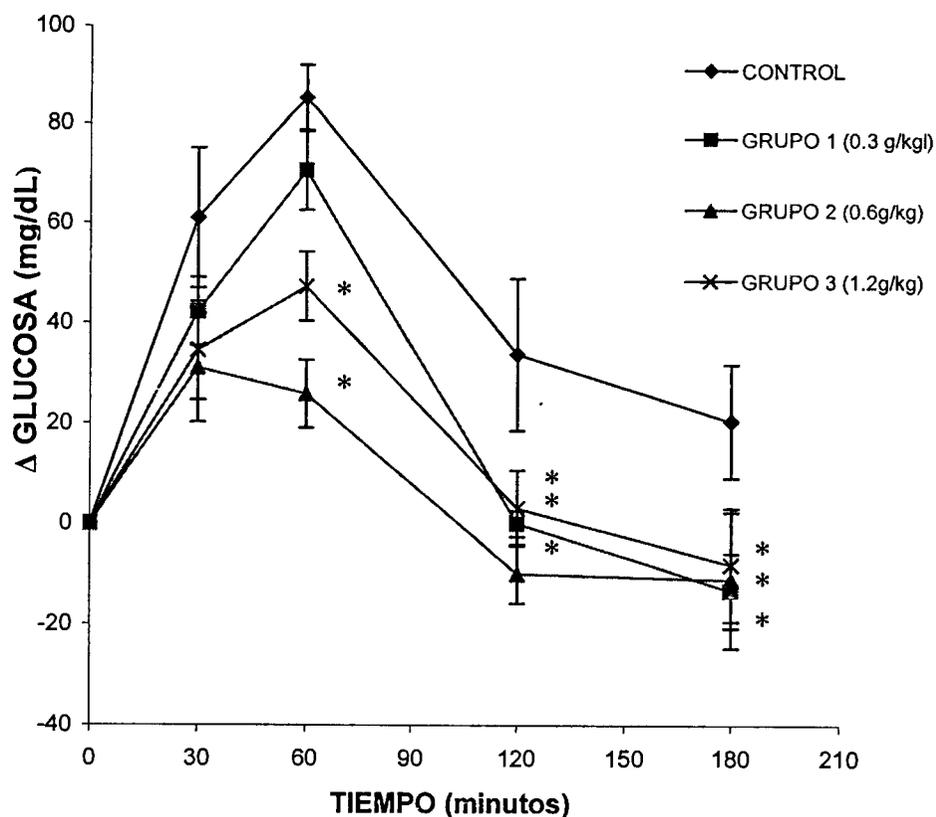


Figura 9. Capacidad antihiper glucémica del té de chaya (AGS3) administrado a diferentes dosis a ratas Sprague Dawley.

Los valores son presentados como media del incremento o decremento de la concentración de glucosa \pm SEM, $n= 5$. * $P < 0.05$, estadísticamente diferente respecto al control por la prueba de Dunnet.

Alarcon y colaboradores (2000) en otro estudio también muestran que existe un efecto hipoglucemiante dependiente de la dosis al utilizar el extracto acuoso de *Psacalium descompositum* para las dosis de 50, 100 y 200 mg/kg administradas a ratones normoglicémicos, sin embargo a dosis mas elevadas(400 y 800 mg/kg) el efecto dosis-dependiente no se observa.

Sugiriendo que altas dosis pueden causar efectos tóxicos, por otros compuestos que no son hipoglucemiantes, los cuales pueden alterar la capacidad del extracto para disminuir los niveles de glucosa. Este resultado concuerda con el efecto observado en este estudio de té de chaya, en el cual dosis mayores no muestran efecto hipoglucemiante

6.1.3. Estado de maduración de la hoja sobre la actividad antihiperглиcémica

Se ha reportado que en ciertas plantas utilizadas para el tratamiento de la diabetes la edad influye en la concentración de compuestos hipoglucemiantes, tal es el caso del ginseng (*Panax ginseng*) en el cual se encontró que tanto la composición química así como su capacidad para la reducción del nivel de glucosa son dependientes de la edad (Dey y col., 2002).

En esta prueba, el estado de maduración de la hoja fue un factor importante que intervino en la propiedad antihiperглиcémica del té. Las hojas jóvenes resultaron tener un efecto significativo al impedir el aumento de glucosa en todos los tiempos evaluados al realizar la curva de tolerancia a la glucosa, presentando el mayor pico hiperглиcémico a los 30 min (46.25 ± 10.9 mg/dL) y siendo aproximadamente 3 veces menor que el presentado por el grupo control (129.0 ± 8.6) (Figura 10). En comparación, la hoja madura sólo tuvo un efecto antihiperглиcémico significativo a los 30 min (52.6 ± 23.2 mg/dL) y a los 180 min (-4.6 ± 13.6 mg/dL) con respecto al control (129 ± 8.6 y 20.6 ± 3.7 mg/dL respectivamente). Lo anterior sugiere que el compuesto responsable del efecto biológico se encuentra en mayor proporción en la hoja joven.

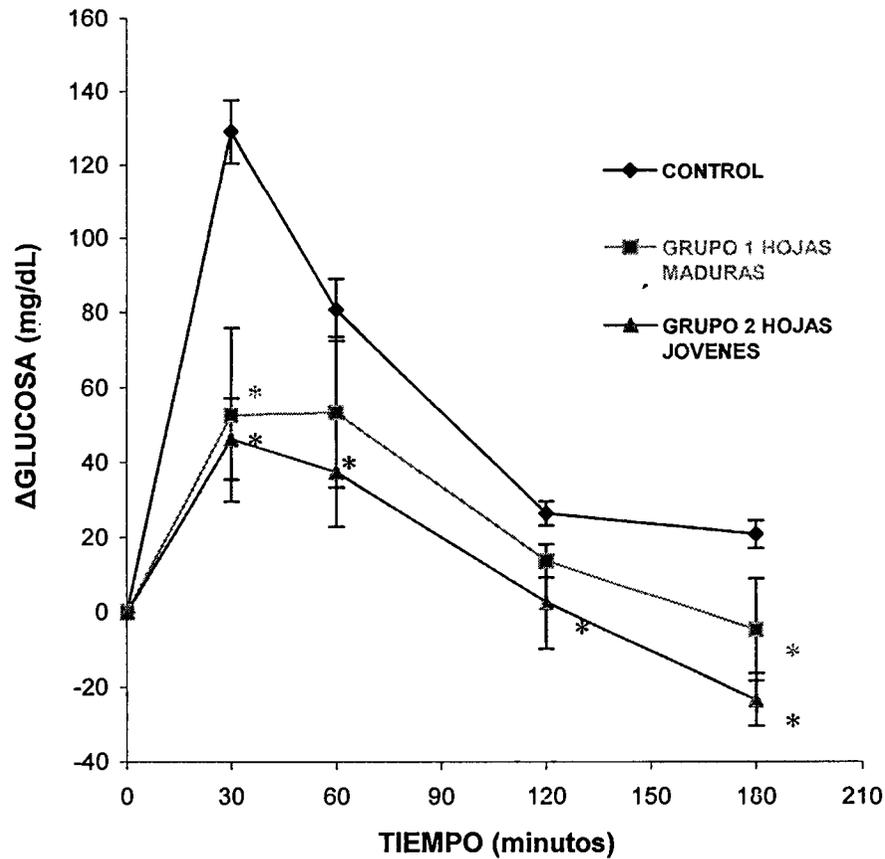


Figura 10. Efecto del estado de maduración de la hoja de chaya en la capacidad antihiperglicémica del té.

Los valores son presentados como media del incremento o decremento de concentración de glucosa \pm SEM, $n = 5$. * $P < 0.05$, estadísticamente diferente respecto al control por la prueba de Dunnet.

En un estudio realizado para determinar la composición química de las hojas de chaya (*Cnidoscolus acotifolius*) en función de su crecimiento, se reportó que existe diferencia en la concentración de metabolitos secundarios entre plantas de diferente edad, por lo que es probable que los compuestos presentes en la hoja dependen del estado fenológico de ésta (Sarmiento y col., 2003).

6.1.4. Efecto antihiper glucémico del té de la hoja de chaya en el nivel de glucosa administrada por vía intraperitoneal.

Con respecto a los resultados anteriores se pudo demostrar que el té de chaya tiene un efecto hipoglucemiante. Además, el mecanismo involucrado para producir dicho efecto parece ser por el aumento de la secreción de insulina, inhibiendo la gluconeogénesis o bien incrementando la entrada de glucosa a las células. Para corroborar lo anterior y con la finalidad de comprobar que el té tiene la capacidad de disminuir este monosacárido cuando ya se encuentra en circulación al introducir la glucosa a los animales por una vía diferente a la oral, se realizó una curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal. La administración de glucosa por una vía diferente a la oral es ampliamente utilizada en estudios en los que se quiere probar que el mecanismo por el que actúa algún compuesto de alguna planta ejerce su efecto cuando la glucosa ya se encuentra en circulación sanguínea. En estudios realizados por Ihara y colaboradores (2000) la glucosa es administrada por vía intraperitoneal para probar el efecto del α -tocoferol sobre la disminución del nivel de glucosa en un modelo animal de diabetes tipo 2. Mientras que Hsu y colaboradores (2003) administraron la glucosa por vía intravenosa para probar la capacidad de la puerarina para eliminar la glucosa de la circulación sanguínea.

En la figura 11 se puede observar que al administrar la glucosa por vía intraperitoneal, junto con el té administrado por vía oral, hubo un efecto antihiper glucémico significativo a los 30 min (44.4 ± 3.0 mg/dL) y a los 60 min (35.4 ± 4.0 mg/dL) comparado con el grupo control (67.5 ± 9.5 y 66.25 ± 8.1 mg/dL respectivamente).

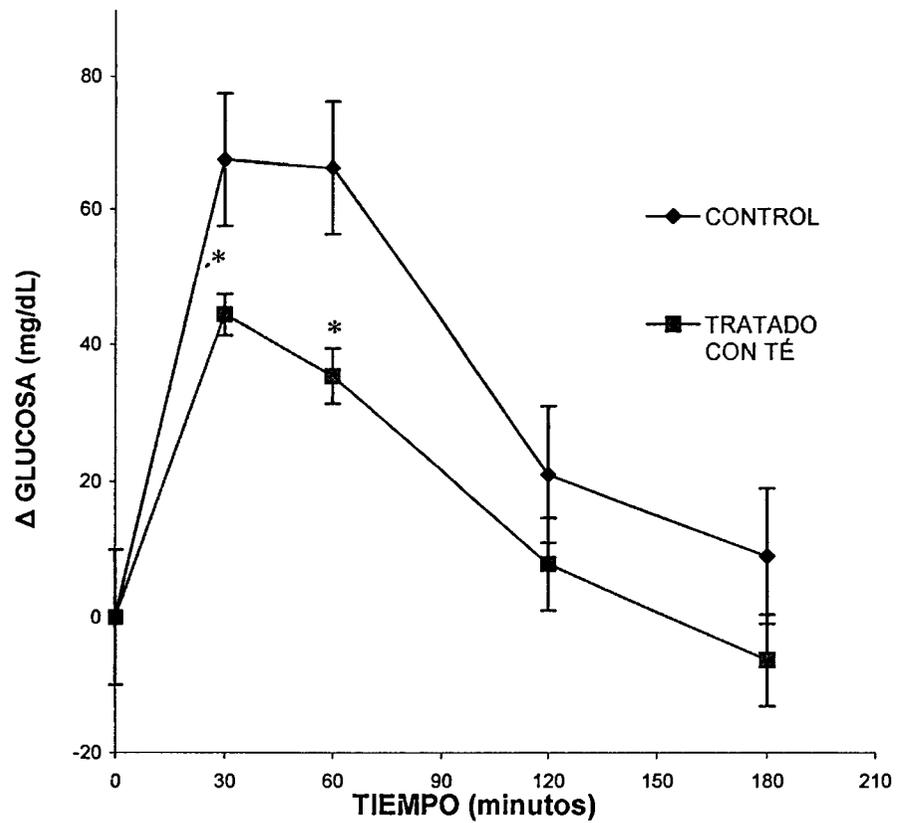


Figura 11. Efecto antihiper glucémico del té de la hoja de chaya AGS3 en el nivel de glucosa administrada por vía intraperitoneal.

Los valores son presentados como media del incremento o decremento de concentración de glucosa \pm SEM, $n= 5$. * $P < 0.05$, estadísticamente diferente respecto al control por la prueba de Dunnet.

Lo anterior sugiere que la forma en que se impide el aumento en la concentración de glucosa sanguínea podría ser a través de un mecanismo diferente al de la inhibición de la absorción intestinal de glucosa.

6.2. PRUEBAS DE INDUCCIÓN DE DIABETES

6.2.1. Inducción de diabetes en ratas Sprague Dawley

Para la segunda parte del presente estudio fue importante realizar pruebas de inducción de diabetes en ratas Sprague Dawley para obtener el modelo en el cual el nivel de glucosa fuera superior a 180 mg/dL. Para lo anterior se probaron tres dosis (45, 50 y 60 mg/kg PC) de STZ vía intraperitoneal de acuerdo a la información reportada en la literatura. En la figura 12 se muestra el cambio en el nivel de -glucosa durante quince días de observación a partir de la inducción de diabetes. Para la dosis de 45 mg/kg PC (ratas 1-4) sólo se observó una ligera hiperglicemia con un nivel máximo de 154 mg/dL durante los días de estudio. Para la de 50 mg/kg PC, dos ratas murieron durante el transcurso del experimento, de los animales restantes uno no presentó hiperglicemia (rata 5) y el otro mostró variaciones muy fluctuantes a lo largo del período de observación, que van desde niveles normales, hasta niveles extremadamente elevados, por ejemplo, 509 mg/dL (rata 6). En el caso de la dosis de 60 mg/kg PC también murieron dos ratas y las que sobrevivieron (ratas 7 y 8) presentaron niveles de glucosa muy inestables al igual que en el caso anterior. La cepa de ratas Sprague Dawley es utilizada para la inducción de diabetes, tal es el caso del estudio realizado por Bwititi y colaboradores (2000), en el experimento que realizan, llevan a cabo la inducción de enfermedad con STZ en esta cepa de ratas, sin embargo no reportan fluctuaciones en el nivel de glucosa ni mortalidad.

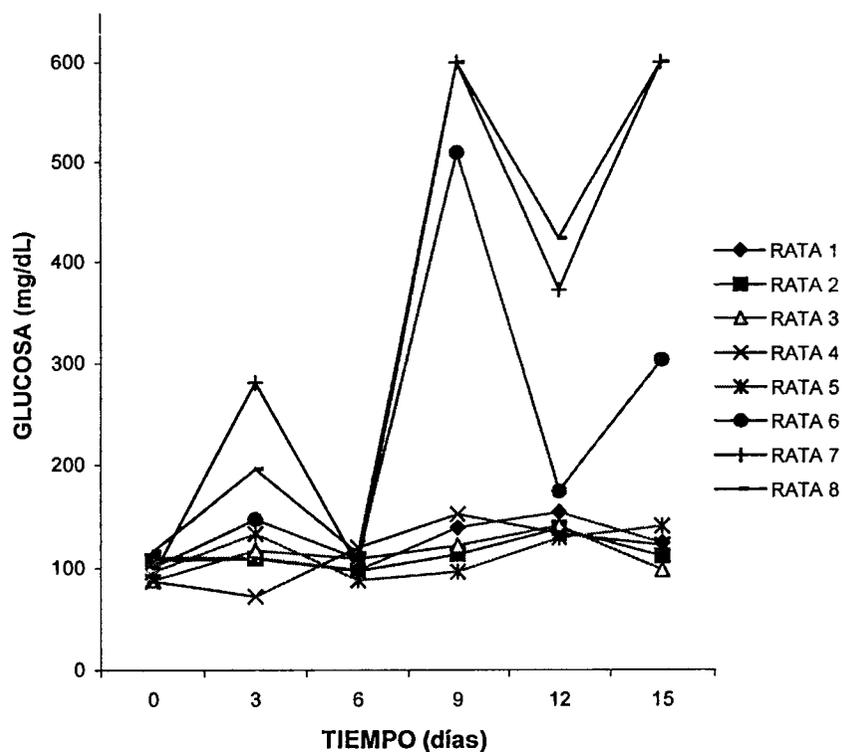


Figura 12. Concentraciones de glucosa sanguínea en ratas Sprague Dawley después de la administración intraperitoneal de estreptozotocina: 45 mg/kg (Rata 1, 2, 3 y 4), 50 mg/kg (Rata 5 y 6) y 60 mg/kg (Rata 7 y 8).

6.2.2. Inducción de diabetes en ratas Wistar.

Debido a que las ratas Sprague Dawley mostraron niveles de glucosa inestables y una mortalidad, se evaluó la inducción de diabetes en la cepa de ratas Wistar, de acuerdo a la literatura, esta cepa también es empleada para modelos de diabetes. Para la inducción de diabetes en ratas Wistar se utilizó inicialmente la dosis de 40 mg/kg PC de STZ vía intraperitoneal (datos no presentados), sin embargo las ratas no mostraron hiperglicemia.

Por lo tanto se decidió probar otra dosis (45 mg/kg PC STZ) para la inducción de la enfermedad.

Con el incremento de la dosis de STZ, se observó que al tercer día posterior a la inducción de la enfermedad todas las ratas presentaron hiperglicemia (216-400 mg/dL de glucosa), existen fluctuaciones en el nivel de glucosa, sin embargo, es mucho menor en ratas Wistar con respecto a las ratas Sprague Dawley. Además, todas las ratas utilizadas para la prueba sobrevivieron. Por lo tanto, se utilizó este modelo (ratas Wistar, 45 mg/kg PC STZ) para la inducción de la enfermedad para llevar a cabo el tratamiento subcrónico con el té de chaya.

En la literatura se ha reportado que el uso de una dosis baja de STZ (45 mg/kg PC) provoca una destrucción parcial de las células β del páncreas en ratas Wistar adultas (Kamalakkanan y col., 2003). En otro estudio se reporta que con una dosis de 50 mg/kg PC utilizando la misma cepa se produce una ligera hiperglicemia (Andrade y col., 2000). Ambos estudios afirman que se obtiene un modelo de diabetes tipo 2 con las dosis de 45 y 50 mg de STZ. Sin embargo Szkudelski (2001) afirma que se obtiene un modelo de diabetes tipo 1 utilizando ratas adultas a las cuales se les administra una dosis de 40-60 mg/kg PC de STZ, mientras que un modelo de diabetes tipo 2 se obtiene a partir de ratas recién nacidas a las cuales se les administra una dosis elevada de STZ (100 mg/kg PC).

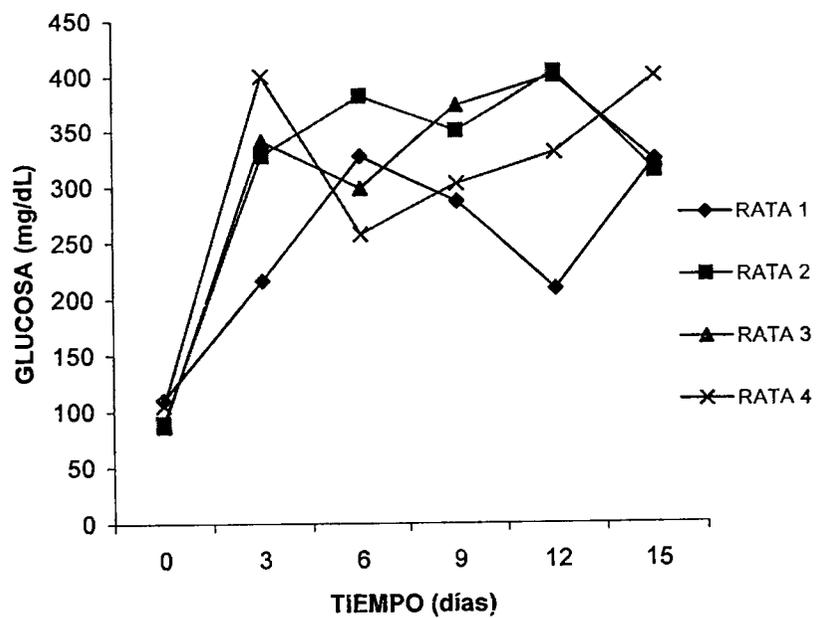


Figura 13. Concentración de glucosa sanguínea en ratas Wistar después de la administración intraperitoneal de estreptozotocina (45 mg/kg).

Estos animales regeneran parcialmente su páncreas y presentan cierta resistencia a la insulina.

En el presente estudio aún no se puede decir que modelo de diabetes se obtuvo, ya que no se conoce el nivel del daño de las células β pancreáticas, aunque por el nivel de glucosa que presentaron las ratas podría especularse que se trate de diabetes tipo 1 ya que supera los 250 mg/dL de glucosa en estado de ayuno, en el caso de diabetes tipo 2 se espera que el nivel de glucosa sea menor.

6.3. Tratamiento subcrónico con té de chaya a ratas Wistar diabéticas y normoglicémicas.

Se ha reportado que algunas plantas sólo presentan actividad hipoglucemiante y/o antihiperглиcémica cuando se someten a estudios por períodos prolongados de tiempo (Alarcon y col., 1998). Por otro lado, se sabe que plantas tales como *E. prostrata* (Akhtar y col., 1984) y *L. caulescens* (Roman y col., 1992) tienen efecto hipoglucemiante en animales sanos pero no presentan ninguna actividad en animales diabéticos. Por lo que es importante conocer si el té de la hoja de chaya presenta efecto hipoglucemiante y antihiperглиcémico en animales tanto sanos como diabéticos durante un tratamiento subcrónico, ya que en el estudio realizado por Kuti y colaboradores (1996) el efecto del té de chaya sólo fue evaluado durante 6 horas.

Para el presente experimento se decidió someter a las ratas a un tratamiento subcrónico (siete semanas), y observar el efecto que tiene el té en distintos parámetros, siendo el principal el nivel de glucosa en sangre. A su vez se dividió el tratamiento en dos fases. Durante la primera fase (primeras cuatro semanas), se administró el té de chaya y la glibenclamida. Durante la segunda fase (últimas tres semanas), los animales fueron tratados con té de chaya e insulina.

6.3.1. Cambio en el nivel de glucosa

Primera fase

Este experimento se realizó con el fin de conocer el efecto que tiene el consumo de té de chaya sobre el comportamiento en los niveles de glucosa en animales diabéticos y normoglicémicos, tratados por tiempos prolongados (cuatro semanas) como primera parte del tratamiento.

La figura 14 muestra que no existe diferencia significativa en el nivel de glucosa entre los grupos de ratas normoglicémicas, así como tampoco entre los grupos de ratas diabéticas durante las cuatro semanas en que se evaluó este parámetro.

Como se esperaba, sólo hubo diferencia en el nivel de glucosa de los grupos normoglicémicos con los diabéticos. Los resultados obtenidos en la primera fase del experimento muestran que el tratamiento con glibenclamida no fue capaz de disminuir la concentración de glucosa sanguínea en animales diabéticos. Dado que esta sulfonilurea actúa aumentando la liberación de insulina, se puede afirmar que el páncreas sufrió un daño severo y, por tanto, aparentemente las células β fueron destruidas en su totalidad (modelo de diabetes tipo 1).

Otra posibilidad es que se hayan empleado bajas concentraciones del fármaco y de esta manera no se pudo observar un efecto hipoglucemiante, aunque de acuerdo a lo reportado por la literatura, la dosis de glibenclamida utilizada en el presente experimento es una de las más altas.

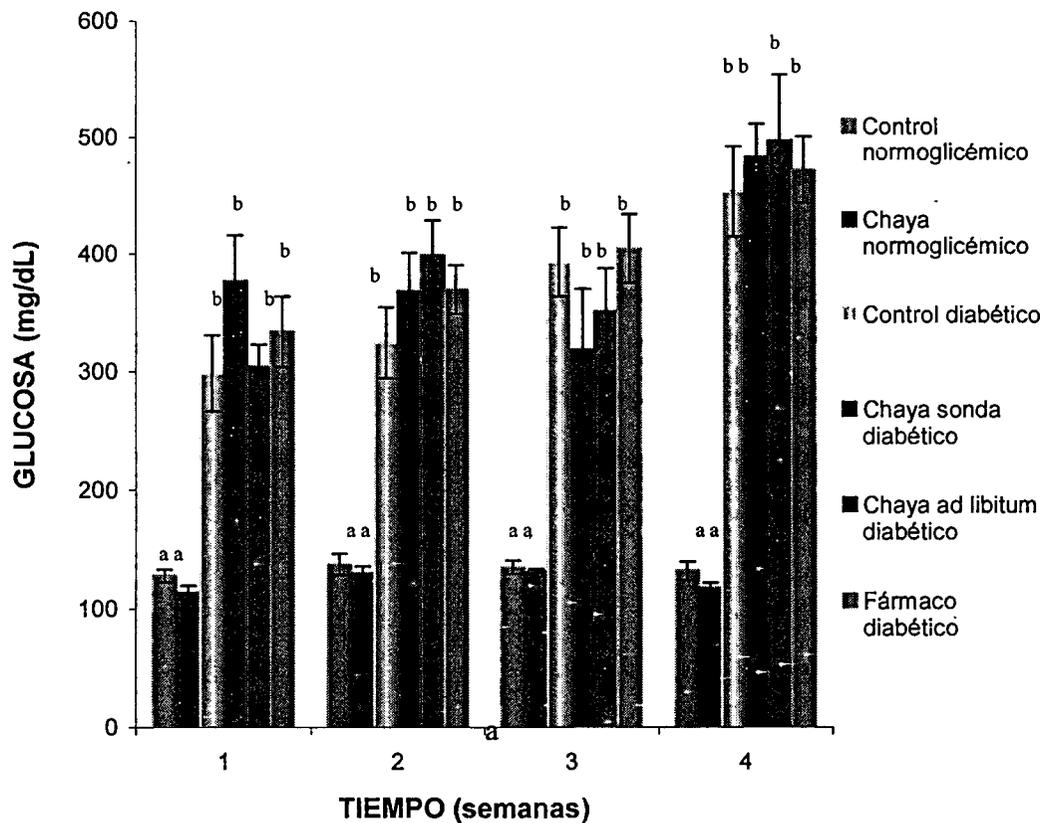


Figura 14. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el nivel de glucosa de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento.

Dosis del té: 20 g hoja/kg PC

Fármaco: Glibenclamida 3 mg/kg vía oral.

Los valores son presentados como la media de la concentración de glucosa \pm SEM, n= 6-7, * P < 0.05, estadísticamente diferentes por la prueba de Tukey-Kramer.

a, b, c, d : Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre los grupos.

De la misma manera, no se observó ninguna disminución significativa en el nivel de glucosa en los grupos diabéticos tratados con té de chaya, por lo que podría existir la posibilidad que el compuesto presente en el té pueda tener un mecanismo de acción similar a una sulfonilurea, es decir, que aumente la secreción de insulina, y dado que al parecer el páncreas fue destruido en su totalidad, es posible que el metabolito no haya tenido órgano blanco para actuar.

Por otro lado, Kuti y Konuro (2004) demostraron que extractos de dos especies de chaya (*Cnidocolus aconitifolius* y *C. chayamansa*) contienen una elevada cantidad de flavonoides, principalmente kaempferol y quercetina. Esto es importante mencionarlo ya que en un estudio realizado con una planta llamada "cola de caballo" (*Equisetum myriochaetum*), en un modelo de diabetes tipo 2, se sugiere que el compuesto responsable de la actividad hipoglucemante podría ser un derivado del kaempferol y el mecanismo propuesto es el aumento en la secreción de insulina (Andrade y col., 2000). Existen otras plantas con capacidad hipoglucemante tales como *Bahuvia variegata* (Andrade, 1999) y *Zizyphus rugosa* (Khosha y col., 1983) en las que se encontraron glicósidos de kaempferol que corresponden a los que también están presentes en las dos especies de chaya arriba mencionadas. Sousa y col. (2004) reportaron que un glicósido de kaempferol presente en la hojas de *Bauhinia forficata* también disminuye el nivel de glucosa en ratas diabéticas; pero en un estudio realizado por Matsui y col. (2002) se menciona al kaempferol como un flavonoide capaz de inhibir a una α -glucosidasa, es decir, que por medio de este mecanismo bloquea la absorción de glucosa a través del intestino.

Segunda fase

Debido a que no se observó una disminución significativa por efecto de la chaya y glibenclamida en la concentración de glucosa, se decidió cambiar el tratamiento sustituyendo el uso de glibenclamida por el uso de insulina, ya que al utilizar insulina se espera una respuesta en la disminución del nivel de glucosa.

En la figura 15 se observa que no existe diferencia significativa en el nivel de glucosa entre los grupos normoglicémicos. Sin embargo en los estudios agudos que se presentan al inicio de este experimento, se muestra que el té tiene efecto tanto hipoglucemiante como antihiperглиcémico, en este caso hay que recordar que es un tratamiento *ad libitum* del té, y es muy posible que un efecto de dosis esté influyendo.

De los grupos diabéticos, el tratado sólo con insulina fue el que presentó niveles de glucosa menores en la mayoría de los tiempos evaluados, la menor concentración de glucosa alcanzó los 149.6 ± 31.2 mg/dL en la tercera semana, comparado con todos los grupos diabéticos cuyos valores van de 399.7 ± 48.1 a 489.3 ± 43.8 mg/dL de glucosa. En los grupos diabéticos tratados con té no se observó diferencia significativa con respecto al control, posiblemente el mecanismo por el cual actúa el compuesto responsable de disminuir la glucosa es a través del aumento en la secreción de insulina y debido a que las células β del páncreas están dañadas por la inducción de la enfermedad, el efecto en la disminución de glucosa no se observa.

Por otro lado, el nivel de glucosa en el grupo tratado con chaya e insulina se mantuvo en un nivel superior durante la primera y tercera semana (451.7 ± 31.9 y 489.3 ± 43.8 mg/dL) comparado con el grupo diabético tratado solo con insulina (260.6 ± 59.5 y 149.6 ± 31.2). Lo anterior sugiere que la chaya no es un coadyuvante apropiado en individuos insulino-dependientes.

Por otro lado, es posible que el compuesto responsable de la disminución de glucosa se encuentre en una baja concentración y que ésta concentración sea dependiente de la estación del año en que se colecte y por esta razón no se observe ningún efecto hipoglucemiante, cabe mencionar que la primera parte del experimento (estudios agudos en ratas normoglicémicas) se realizó en un período comprendido entre invierno y primavera.

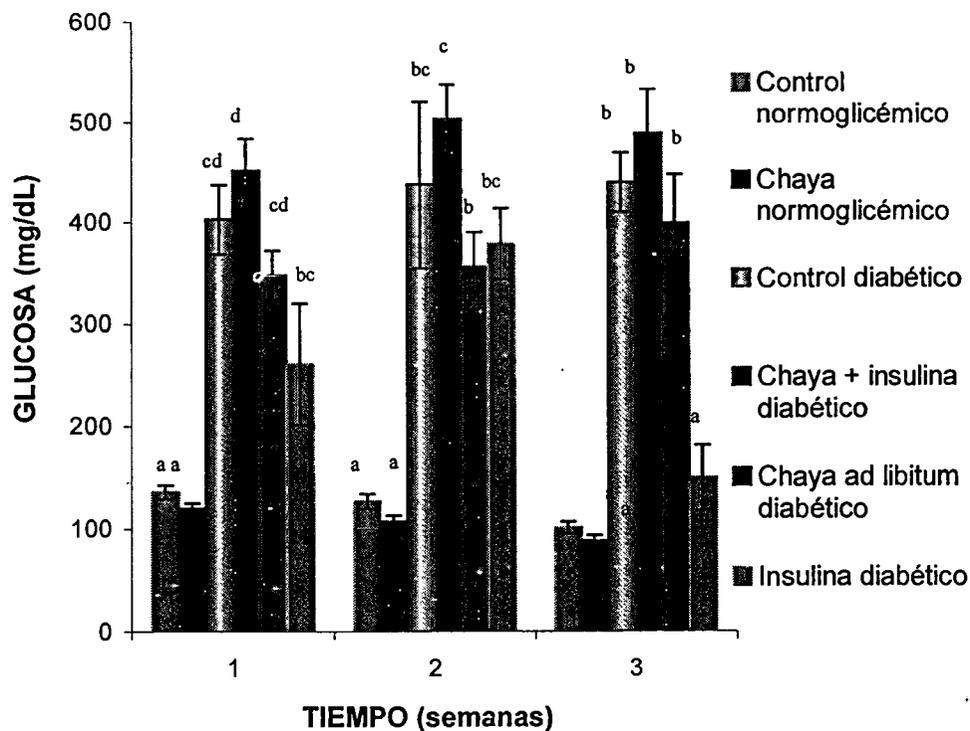


Figura 15. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el nivel de glucosa de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.

Dosis del té: 20 g hoja/kg PC

Dosis insulina: 3 UI/100 g

Los valores son presentados como la media de la concentración de glucosa \pm SEM, n= 5-7, * P < 0.05, estadísticamente diferentes por la prueba de Tukey-Kramer

a, b, c, d : Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre los grupos.

Kuti y col. (2004) reportan que el contenido de compuestos fenólicos es mayor antes del inicio del verano, por lo que también toma importancia la estación del año como un parámetro a considerar al realizar este tipo de experimentos. El presente estudio se realizó en un período que comprende la última parte de la primavera y el inicio del verano.

6.3.2. Consumo de líquido

Primera fase

La diabetes es una enfermedad que se caracteriza por polidipsia (sed excesiva), lo anterior se debe a una deshidratación por aumento en la salida de glucosa vía urinaria y el arrastre de líquido. Por lo tanto, en el presente experimento se determinó el consumo de líquido (té o agua) como un indicador de la evaluación del control de la enfermedad.

Debido a que el líquido fue medido semanalmente y por grupo, no se presenta análisis estadístico, sólo se presenta un análisis cualitativo de los datos obtenidos.

Los grupos normoglicémicos consumieron menos líquido (1.47 a 1.88 L) comparado con los grupos diabéticos (5.72 a 7.27 L) (Cuadro 4). Estos resultados están relacionados con los obtenidos cuando se evaluó el nivel de glucosa, el cual no disminuyó por la administración del té, por tanto los animales diabéticos sufrieron deshidratación y esto provocó a que el consumo de líquido fuera mayor. Entre los grupos normoglicémicos se puede observar que el grupo tratado con chaya tiende a disminuir el consumo de líquido durante el transcurso del mes de tratamiento.

Cuadro 4. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el consumo de líquido en animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento subcrónico.

Cantidad estimada de líquido consumido por rata (L/semana)						
Semana	Grupo					
	Normoglicémicos		Diabéticos			
	Control	Chaya	Control	Chaya-S	Chaya ad	Fármaco
1	1.59	1.57	6.66	6.01	5.72	5.75
2	1.70	1.54	6.28	6.77	6.42	6.00
3	1.88	1.55	6.25	6.17	6.76	6.31
4	1.66	1.47	7.27	5.47	6.68	5.64

Dosis de té de chaya: 20g hoja/kg PC

Chaya-S: Chaya administrada con sonda

Chaya-ad: Chaya *ad libitum*

Fármaco: Glibenclamida (3mg/kg)

Con respecto a los grupos diabéticos, en general el grupo tratado con glibenclamida fue el que consumió una menor cantidad de agua, podría ser que hayan quedado sin ser afectadas un pequeño número de células β y por lo tanto que el fármaco haya tenido un leve efecto y aumentar la secreción de insulina y por tanto también una disminución del nivel de glucosa aunque ésta no resultó disminuida significativamente; mientras que el té de chaya no tuvo una influencia directa en la disminución de esta característica.

En un estudio realizado por Ananthan y colaboradores (2003) sobre el efecto del extracto etanólico de *Gymnema montanum* en el nivel de glucosa de animales diabéticos con respecto al consumo de líquido, se demostró que existe una relación entre estos dos parámetros, ya que al disminuir el nivel de glucosa, la ingesta de líquido también disminuyó.

En el presente experimento, no se observó un efecto del té de chaya sobre los niveles de glucosa, lo cual se refleja en altas cantidades de líquidas consumida por los animales enfermos.

Segunda fase.

En el Cuadro 5 se muestra que el grupo normoglicémico control en las tres semanas mostró un mayor consumo de líquido (1.74, 2.58 y 1.56 L) en comparación con el grupo normoglicémico tratado con chaya (1.30, 1.33 y 1.07 L). Únicamente el grupo diabético tratado con insulina mostró un consumo de líquido menor (4.49, 5.07 y 4.85 L) con respecto al control diabético (5.02, 7.71 y 5.84L) durante las tres semanas de tratamiento. Lo anterior pudo deberse a que existió una menor concentración de glucosa en sangre, con lo que la eliminación de ésta por orina fue menor y, por tanto, también la deshidratación disminuyó. Sólo en la segunda semana el grupo control diabético fue el que consumió más líquido.

Cuadro 5. Efecto del tratamiento con el té de chaya en el consumo de líquido de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.

Cantidad estimada de líquido consumido por rata (L/semana)						
	Grupo					
	Normoglicémicos		Diabéticos			
Semana	Control	Chaya	Control	Chaya+ Insulina	Chaya-ad	Insulina
1	1.74	1.30	5.02	5.53	6.04	4.49
2	2.58	1.33	7.71	6.01	6.61	5.07
3	1.56	1.07	5.84	5.75	5.76	4.85

Dosis de té de chaya: 20g hoja/kg PC

Chaya-ad: Chaya *ad libitum*

Insulina: 3UI/100 g

6.3.4. Cambio en peso

La pérdida de peso es común en individuos con diabetes tipo 1 debido al gasto de reservas de triglicéridos que son utilizados como fuente de energía al no haber glucosa en el interior de las células. En el presente estudio desde que se realizó la inducción de diabetes en las ratas, éstas empezaron a perder peso.

Primera fase

En la figura 16 se observa una diferencia significativa en el peso entre los grupos normoglicémicos y diabéticos. Los primeros tienden a incrementar su peso, de 11.2 ± 2.3 g en la primera semana a 108.2 ± 3.8 g en la cuarta semana, para el grupo control normoglicémico y de 11.5 ± 1.2 en la primera semana a 108.5 ± 8.4 g en la cuarta para el grupo normoglicémico tratado con chaya. A diferencia de los segundos en los cuales se observó siempre una pérdida de peso que va desde los 28 a los 74 g aproximadamente. Con respecto a los grupos diabéticos sólo se observó en la tercera semana que el grupo tratado con glibenclamida perdió significativamente menos peso (40.6 ± 4.1 g) que el grupo tratado con té de chaya vía intubación intragástrica (74.3 ± 4.7 g). Sin embargo, no existe diferencia con los grupos diabéticos restantes.

Segunda fase.

El peso registrado durante la segunda fase del experimento subcrónico se muestra en la figura 17. Se puede observar que los grupos normoglicémicos aumentaron y todos los grupos diabéticos disminuyeron de peso. En los segundos esto se debe a que la glucosa no es utilizada como fuente de energía por lo que las reservas de triglicéridos son usadas y por tanto se presenta una disminución de peso.

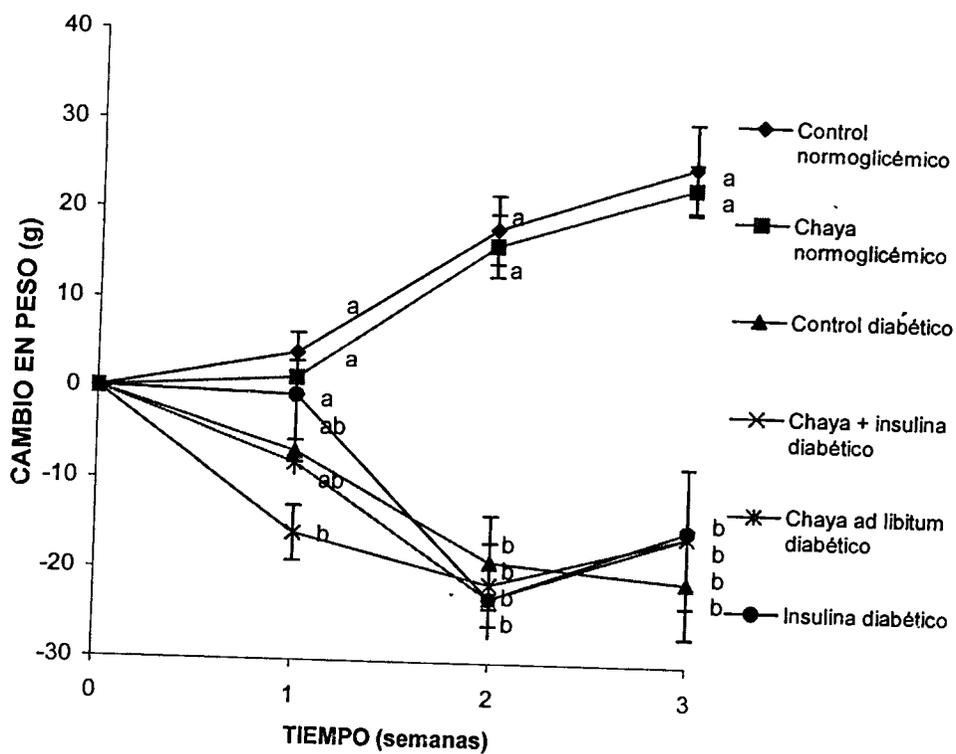


Figura 17. Efecto del tratamiento del té de chaya sobre el cambio en peso de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.

Té de chaya: 20 g hoja/kg PC

Insulina: 3 UI/ 100 g

Los valores son presentados como media de la concentración de glucosa \pm SEM, n= 5-7

* P < 0.05, estadísticamente diferentes por la prueba de Tukey-Kramer

a, b : Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre los grupos.

También se observó que durante la primera semana el grupo diabético tratado con té de chaya más insulina fue el que presentó una pérdida de peso significativa (15.8 ± 3.1 g) comparada con el grupo diabético tratado con insulina, cuya pérdida de peso fue menor (0.5 ± 5.6 g). Se aprecia que el grupo tratado con té de chaya más insulina fue el más afectado, por lo que se puede deducir que la chaya está contrarrestando el efecto de la insulina.

6.3.5. Concentración de Triglicéridos.

La diabetes es una enfermedad que de no tratarse adecuadamente puede resultar en graves alteraciones a largo plazo. Éstas son silenciosas y su monitoreo es importante. Por ejemplo, un elevado nivel en la concentración de triglicéridos puede provocar alteraciones vasculares que pueden conducir a infartos.

Los individuos diabéticos se caracterizan por presentar hipertrigliceridemia. En este estudio al final del tratamiento a largo plazo se evaluó la concentración de triglicéridos en todos los grupos (Figura 18). Se observó similitud en el nivel de éstos entre los grupos normoglicémicos control y tratado con té de chaya (72.8 ± 4.8 y 86.6 ± 11.6 mg/dL respectivamente) con el grupo diabético tratado con insulina (93.8 ± 13.2 mg/dL).

El grupo de té de chaya + insulina (113.6 ± 16.7 mg/dL) y el grupo tratado solo con té (120 ± 10.1 mg/dL) mostraron ser similares tanto a los grupos normoglicémicos como al control diabético, siendo el grupo control diabético el que presento una mayor concentración de triglicéridos (162.9 ± 12.1 mg/dL) por lo que se puede deducir que la chaya está ejerciendo cierta influencia para la disminución de este parámetro, lo que se puede asociar también en una mayor sobrevivencia de los grupos tratados con el té (como se mostrará en el análisis de sobrevivencia), ya que el aumento en estos suele ser una causa de las complicaciones en los pacientes diabéticos.

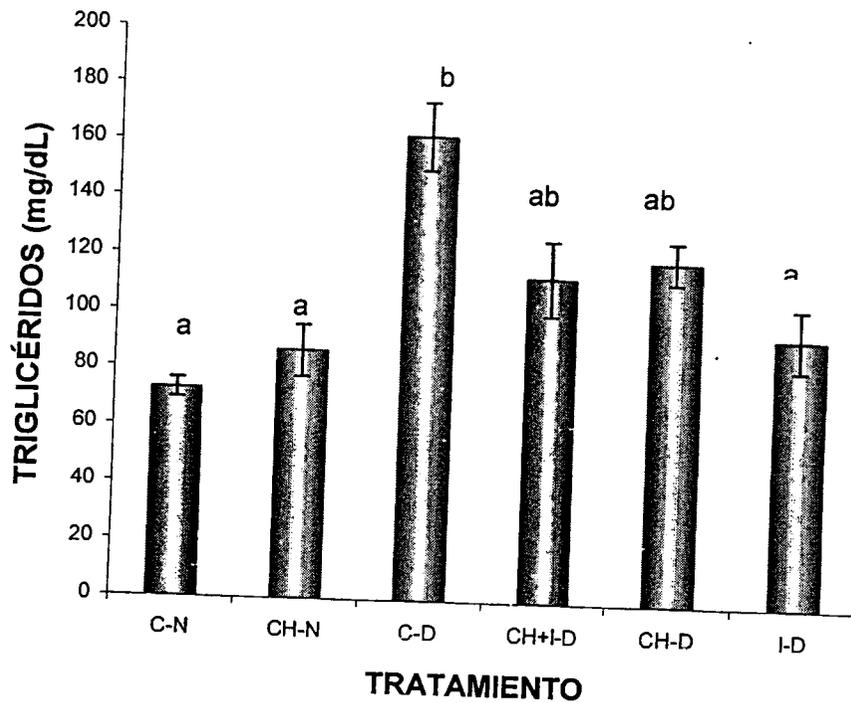


Figura 18. Efecto del té de chaya en la concentración de triglicéridos evaluado al final de la segunda fase de tratamiento. Control normoglicémico (C-N), Chaya normoglicémico (CH-N), Control diabético (C-D), Chaya + Insulina diabético (CH+I-D), Chaya consumo continuo diabético (CHCC-D), Insulina diabético (I-D).

Té de chaya: 20 g hoja/kg PC

Insulina: 3 UI/ 100 g

Los valores son presentados como media de la concentración de glucosa \pm SEM, n= 3-6,

* P < 0.05, estadísticamente diferentes por la prueba de Tukey-Kramer

a, b : Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre los grupos.

6.3.6. Supervivencia

Primera fase.

El porcentaje de supervivencia de ratas normoglicémicas y diabéticas fue evaluado semanalmente. En la figura 19 se observa que durante las cuatro semanas de tratamiento no murió ningún animal en ambos grupos normoglicémicos ni tampoco en el grupo tratado con glibenclamida. En este último grupo, posiblemente la glibenclamida porque está ejerciendo un efecto mínimo sobre las células pancreáticas que no fueron dañadas después de la inducción de la enfermedad. El grupo control diabético fue el que resultó más afectado, ya que durante la segunda y tercera semana se registraron muertes (85.7 y 71.4 % de supervivencia), mientras que en el grupo tratado con chaya con sonda se registraron muertes en la primera semana pero se mantuvo este porcentaje (85.7%) de ratas supervivientes durante las semanas restantes. En el grupo tratado con chaya *ad libitum* se registraron muertes sólo en la segunda y cuarta semana (85.7 y 71.4% de supervivencia respectivamente).

De acuerdo a estos resultados se puede deducir que aunque la chaya no está disminuyendo la concentración de glucosa sanguínea, tal vez sean otras propiedades las que permitieron que sobrevivieran más tiempo las ratas tratadas con té de chaya. Las hojas de chaya contienen una elevada cantidad de flavonoides (Kuti, y Konuru, 2004). Dichos compuestos han sido reportados por tener múltiples efectos biológicos incluyendo actividad antioxidante (Shahidi y col., 1992). Así mismo varios estudios han mostrado que los tratamientos con antioxidantes reducen las complicaciones de la diabetes ya que atenúan el desarrollo de disfunción nerviosa periférica, normalizan la función endotelial y ejercen efectos benéficos en la hiperagregación plaquetaria (Soo-Yeul y col., 2002).

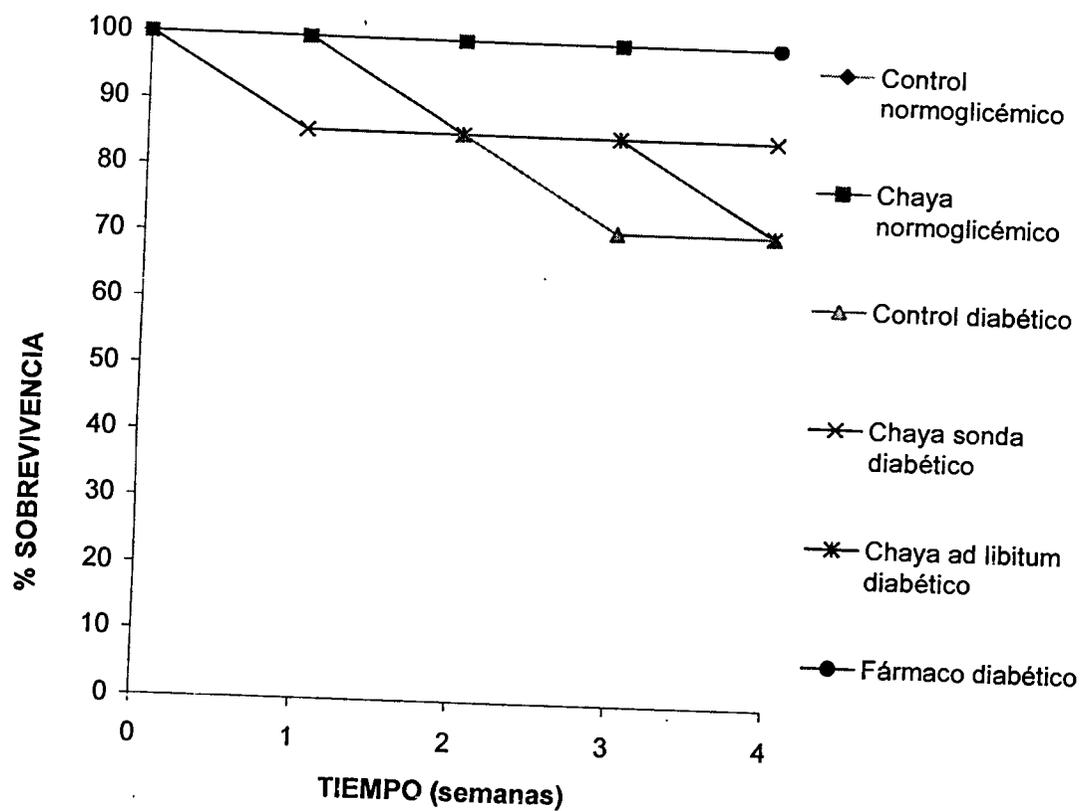


Figura 19. Efecto del tratamiento subcrónico con el té de chaya en la sobrevivencia de animales sanos y diabéticos durante la primera fase del experimento.

Dosis del té de chaya: 20 g hoja/kg PC
 Dosis de fármaco (glibenclamida): 3 mg/kg

Segunda fase

En la figura 20 se muestra el porcentaje de sobrevivencia de ratas Wistar normoglicémicas y diabéticas en la segunda fase del experimento a largo plazo. El 100% de los animales sobrevivió durante esta fase en los grupos normoglicémicos, en el grupo diabético de té de chaya en consumo continuo, así como en el diabético tratado con insulina. Dicho resultado podría atribuirse al efecto de los flavonoides anteriormente mencionado o bien a la disminución de la concentración de triglicéridos. En el caso de la insulina, la sobrevivencia (100%) pudo deberse a que la disminución de glucosa en sangre no permitió que las complicaciones provocadas por la diabetes no fueran muy severas. El grupo control de animales diabéticos terminó con tan sólo un 60% de ratas vivas, mientras que el 83.3% de los animales del grupo chaya+insulina se mantuvo vivo durante esta etapa. Los resultados anteriores sugieren que el tratamiento de manera individual resulta mas ventajoso que al usar terapias combinadas (chaya junto con insulina).

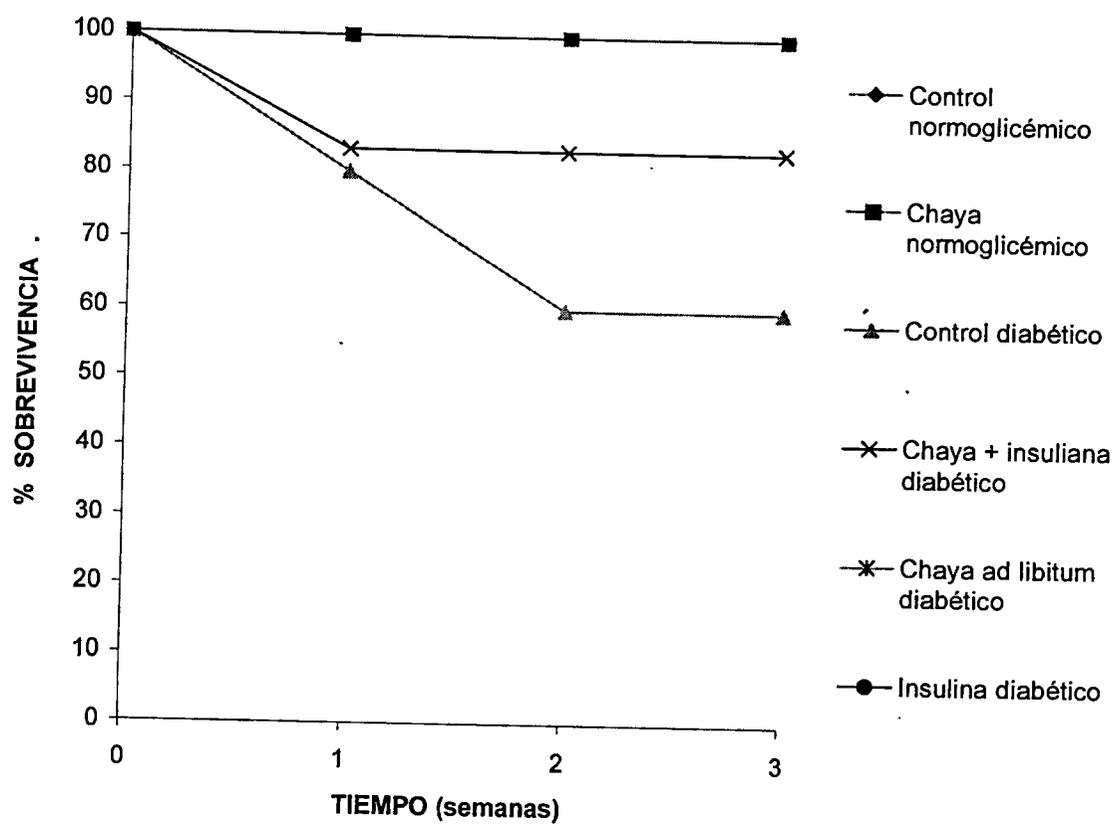


Figura 20. Efecto del tratamiento subcrónico con el té de chaya en la sobrevivencia de animales sanos y diabéticos durante la segunda fase del experimento.

Dosis del té de chaya: 20 g hoja/kg PC
 Dosis de insulina: 3 UI/ 100 g

VII. CONCLUSIONES

- ❖ Se pudo demostrar que las tres colectas de chaya AGS1, AGS2 y AGS3 presentaron efecto hipoglucemiante en ratas Sprague Dawley normoglicémicas. Observándose un mayor efecto para las colectas AGS1 y AGS3, por lo cual es muy probable que el metabolito responsable de tal efecto se encuentre en diferente proporción en cada una de las colectas.
- ❖ La dosis de 0.6 g de hoja/kg PC de AGS3 tuvo la mayor capacidad tanto hipoglucemiante como antihiperglicémica. Dosis mayores no contribuyen a una mayor disminución del el nivel de glucosa en ratas Sprague Dawley normoglicémicas.
- ❖ En el presente estudio al evaluar la diferencia entre hojas de diferente estado de maduración, se pudo observar un mejor efecto de las hojas jóvenes sobre la disminución del nivel de glucosa.
- ❖ La curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal nos muestra que el mecanismo por el cual la chaya ejerce su acción es por un mecanismo diferente a la absorción intestinal de glucosa.
- ❖ Existe diferencia al utilizar diferentes cepas de ratas como modelo de diabetes por inducción química con STZ. Las ratas Sprague Dawley mostraron ser inestables en el nivel de glucosa y más sensibles al diabetógeno STZ que las ratas Wistar.

- ❖ Durante el tratamiento a largo plazo no hubo diferencias en el nivel de glucosa entre el grupo de ratas diabéticas control y el grupo de ratas diabéticas tratadas con chaya o glibenclamida. Al no funcionar la glibenclamida se puede concluir que el páncreas fue destruido en su totalidad, y que probablemente el mecanismo de acción de la chaya sea igual al de esta sulfonilurea y por tal motivo no se observó efecto en la disminución del nivel de glucosa sanguíneo en ambos casos.

- ❖ Con respecto a la ingesta de alimento, consumo de líquido y peso no se observaron diferencias entre los grupos diabéticos tratados con chaya con respecto al control diabético. Estos parámetros están relacionados tanto con la presencia de insulina como con la disminución en el nivel de glucosa, y de acuerdo a nuestros resultados, el té de chaya no mostró un aumento en la secreción de insulina debido a que el páncreas fue destruido en su totalidad, ni tampoco provocó aumento en la entrada de glucosa a la célula.

- ❖ El tratamiento combinado de chaya e insulina durante un período prolongado resulta en una disminución de la acción de esta hormona, por lo que no es recomendable.

- ❖ Se observó un efecto en la disminución del nivel de triglicéridos al administrar té de chaya por un período prolongado, esto podría estar relacionado con el porcentaje de sobrevivencia, ya que un nivel alto de triglicéridos en sangre está asociado a infartos.

- ❖ El efecto tanto hipoglucemiante como antihiperглиcémico del té de la hoja de chaya administrado a ratas normoglicémicas depende de varios factores como el tipo de colecta, la concentración del té y el estado de maduración fisiológica de la hoja. En base a los resultados obtenidos se sugiere que el mecanismo por el que el metabolito presente en el té disminuye la glucosa es diferente al de la inhibición de la absorción intestinal de glucosa y es posible que sea similar al de las sulfoniluréas, es decir, aumentando la secreción de insulina. El tratamiento con el té aumentó el tiempo de sobrevivencia debido posiblemente a la disminución de triglicéridos en sangre o bien a un efecto antioxidante del té. Además es importante mencionar que el tratamiento de té con insulina resulto ser menos efectivo que el tratamiento en el que solo se utilizó insulina por lo que no es recomendable el tratamiento combinado.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Alarcon, A. F.J., Roman, R. R., Perez, G. S., Aguilar, C. A., Contreras, W. C., Flores, S. J. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *J. Ethnopharmacol.* 61:101-110.

Alarcon, A. F. J., Jimenez, E. M., Reyes C. R., Roman, R. R. 2000. Hypoglycemic effect of extracts and fractions from *Psacaliu decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.* 72:21-27.

Akhtar, M. S., Khan, Q. M., Khaliq, T. 1984. Effects of *Euphorbia prostrata* and *Fumaria parviflora* in normoglycaemic and alloxan-treated hyperglycaemic rabbits. *Planta Med.* 50:138-142.

Andrade, C., A. 1999. Estudio etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis doctoral, Escuela de ciencias. Universidad Autónoma de México.

Andrade, C., Wiedenfeld, H., Revilla, M., Islas, A. 2000. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 72:129-133.

Bimbaum, M.J. 1993. The insulin-sensitive glucose transporter. *Int. Rev. Cytol.* 137:239-297, 1993.

Bolzan, A.D., Bianchi, M.S. 2002 Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat. Res.* 512:121-134.

Booth, S., Bressani, R., Johns, T. 1992. Nutrient content of selected indigenous leafy vegetables consumed by Kekchi people of Alta Verapaz, Guatemala. *J. Food Compos Anal.* 5:25-34

Bwititi, P., Musabayane, C., Nhachi, C. 2000. Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 69:247-252.

Cantrell, D. 2001. Phosphoinositide 3-kinase signalling pathways. *J. Cell Sci.* 114:1439-1445.

Cruz, M., Velasco, E., Kumate, J. 2000 Señales intracelulares que intervienen en el control de la glucosa. *Gac. Méd. Méx.* 137:135-144.

Dey, L., D, M. Attele, A., D, D. S., Yuan, C., M, D., D. P. 2002. Alternative Therapies for Type 2 Diabetes. *Alternative Medicine Review.* 7:45-58.

Díaz, B. J. 1975. La chaya, planta maravillosa: alimenticia y medicinal. *Crónica Etnobotánica. Etnobotánica Maya. Mérida, Yuc. México.* 48.

Díaz, H. D., Burgos, H. L. 2002. ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. *IATREIA* 15:179-189.

Federación Mexicana de Diabetes. 2003. Control total de la diabetes para el médico tratante. Editorial Intersistemas, SA de CV. México, DF.

Franke, T. F., Kaplan, D. R., Cantley, L. C., & Toker, A. 1997. Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate. *Science.* 275(5300), 665-668.

Goodyear, L., Giorgino, F., Sherman, L., Carey, J., Smith, R., Dohm, G. 1995. Insulin Receptor Phosphorylation, Insulin Receptor Substrate-1 Phosphorylation, and Phosphatidylinositol 3-Kinase Activity Are Decreased in Intact Skeletal Muscle Strips from Obese Subjects. *J. Clin. Invest.* 95:2195-2203.

Hugues, B., Rodríguez, G.J., Rodríguez, G. J., 2001. Animales de laboratorio en la endocrinología: Biomodelos de la diabetes mellitus tipo 1. *Rev. Cubana Endocrinol.* 12(3):168-177.

Hsu, F., Liu, I., Kuo, D., Chen, W., Su, H., Cheng, J. 2003. Antihyperglycemic Effect of Puerarin in Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. *J. Nat. Prod.* 66: 788-792.

Ihara, Y., Yamada Y., Toyokuni, S., Miyawaki K., Nobuhiro, B., Adachi, T., Kuroe, A., Iwakura, T., Kubota, A., Hiai, H., Seino, Y. 2000. Antioxidant α -tocopherol ameliorates glycemic control of GK rats, a model of type 2 diabetes. *FEBS Letters* 473:24-26.

Illnait, P. J. 1997. La dislipidemia en el paciente diabético. Parte I: Bioquímica patológica. *Rev. Cubana Med. Gen. Integr.* 13(4):372-377.

INEGI/SSA, Dirección General de Información y Evaluación del Desempeño. CONAPO, 2002. Proyecciones de la Población de México, 2000-2050.

Itani, S., Zhou, Q., Pories, W., MacDonald, K., Dohm, G. 2000. Involvement of Protein Kinase C in Human Skeletal Muscle Insulin Resistance and Obesity. *Diabetes* 49:1353-1358.

Kamalakkanan, N., Rajadurai, M., Stanley P. 2003. Effect of *Aegle marmelos* Fruits on Normal and Streptozotocin-Diabetic Wistar Rats. *J. Med. Food* 6:93-98.

Kasuga, M., Karlsson, F.A. , Kahn, C.R. 1982. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95000-dalton subunit of its own receptor. *Science* 215:185-187.

Khosa, R.L., Pandacy, V.B., Singh, J. P. 1983. Experimental studies on *Zizyphus rugosa* (lam) bark. *Indian Drugs* 20:241-243.

Kissebah, A.H., Vydellingum, N., Murray, R., Evans, D.F., Hartz, A.J., Kalkhoff, R.K., Adams, P.W. 2000. Relationship of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54:254 –260.

Kuti, J., Torres, E.S. 1996. Potential Nutritional and Health Benefits of Tree Spinach. In J. Janick (ed.), *Progress in new crops*. Arlington, VA: ASHS Press, 516-520.

Kuti, J., Konuru, H. B. 2004. Antioxidant Capacity and phenolic Content in Leaf Extracts of Tree Spinach (*Cnidocolus spp.*). *J. Agric. Food Chem.* 52:117-121.

Matsui, T., Kobayashi, M., Hayashida, S., Matsumoto, K. 2002. Luteolin, a favone, does not suppress postprandial glucose absorption through an inhibition of α -glucosidase action. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66:689-692.

Milagro, F., Marques-Lopes, I. 2002. Sistema nervioso y obesidad. *ANALES Sis San Navarra* 25:41-52.

Molina, C. A., Solórzano, M., Bressani, R. 1999. Procesamiento de las hojas de chaya (*Cnidocolus aconitifolius; Euphorbiaceae*) para consumo humano. Cocción en agua hirviente y almacenamiento de hojas frescas. *Ciencia en Acción* No. 6. Universidad del Valle de Guatemala.

Morimoto, S. 2000. Mecanismos moleculares que intervienen en la regulación de la síntesis de insulina por glucosa. Rev. Hosp. Gral. Dr. M. Gea. González.; 3: 118-120.

Morris, F. W. 1998. The IRS-signalling system: A network of docking proteins that mediate insulin action. Mol. Cell. Biochem. 182:3-11

Murata, M., Takahashi, A., Saito, I., Kawanishi, S. 1999. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozocin. Biochem. Pharm. 57:881-887.

Pérez, G. R., Pérez, G. C., Zavala, S. M., Pérez, G. S. 1998. Actividad hipoglucemiante de *Bouvardia terniflora*, *Brickellia veronicaefolia* y *Parmentiera edulis*. Salud Pública de México. 40:354-358.

Proietto, J., Filippis, A., Nakhla, C., Clark, S. 1999 Nutrient-induced insulin resistance. Mol. Cell. Endocrinol. 151:143-149.

Qu, X., Seale, J., Donnelly, R. 1999. Tissue and isoform-selective activation of protein C in insulin-resistant obese Zucker rats- effects of feeding. J. Endocrinol. 162:207-214.

Roman, R. R., Alarcon, A. F., Lara-L. A., Flores, S., J. 1992. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. Arch. Med. Res. 23:59-64.

Roden, M., Price, T., Perseghin, G., Petersen, K., Rothman, D., Cline, G. 1996. Mechanism of Free Acid-induced Insulin Resistance in Humans. J. Clin. Invest. 97:2859-2865.

Rogers, S., Macheda M. L., Doherty S. E., Carty, M. D., Henderson M. A., Soeller, W. C. 2002. Identification of a novel glucose transporter-like protein GLUT 12. Am. J. Physiol. 282: E733-738.

Sousa, E., Zanatta, L, Seifriz, I., Creczynski, P., Pizzolatti, M., Szpoganicz, B., Mena, B. 2004. Hypoglycemic Effect and Antioxidant Potential of Kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* Leaves. J. Nat. Prod. 67:829-832.

Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. Physiol. Res. 50:536-546.

The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 2002. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 25: S5-S20.

Turinsky, J., O'Sullivan, D., Bayly, B. 1990. 1,2-Diacylglycerol and Ceramide Levels in Insulin-resistant Tissues of Rat in Vivo. The J. Biol. Chem. 265:16880-16885.

Uldry, N., Ibberson, M., Horisberger, J. D., Chatton, J. Y., Riederer, B. M., Thorens, B. 2001. Identification of a mammalian H-myo-inositol syporter expressed predominantly in the brain. EMBO J. 20: 4.4667-4.477.

Ventura, P. R. 2004. Evaluación nutrimental y nutracéutica de la hoja de chaya (*Cnidoscolus chayamansa*). Tesis de Maestría. Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República. Universidad Autónoma de Querétaro.

Versphol, E.J .2002. Recommended Testing in Diabetes Research. Planta Med. 68:581-590.

West, E., Simon, O.R., Morrison, E.Y. 1996. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. W. Ind. Med. J. 45:60-62.

Williams, J.A. 1997. Pancreatic acinar cell intracellular signaling mechanisms. *Cur. Op. Gastroenterol.* 13: 369-74.