

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE

MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE LOS  
EXTRACTOS DE *Tamarindus indica* Linn EN RATONES.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA - BIÓLOGA  
P R E S E N T A  
YAZMIN GUADALUPE KALKECH CORDERO



MÉXICO, D.F.

2002



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO

**PRESIDENTE:** Profra. Rosa María Erendida Páez Aguirre

**VOCAL:** Profra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez.

**SECRETARIO:** Profr. Alejandro Ortiz Osornio

**1er. SUPLENTE:** Profra. María Eva González Trujano.

**2do. SUPLENTE:** Profra. Rosa Ventura Martínez.

### SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA.

SECCIÓN DE FARMACOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE FARMACIA  
LABORATORIO 1/ E EDIFICIO " A ", DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA  
EDIFICIO " B " DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO UNAM.

**ASESOR DEL TEMA**

  
Dra. ELIA BROS LA NARANJO RODRÍGUEZ

**SUPERVISOR TÉCNICO**

  
Dra. MARTHA ALBORES VELASCO

**SUSTENTANTE**

  
YAZMIN GUADALUPE KALKECH CORDERO

*" EL SECRETO DE LA FELICIDAD NO CONSISTE EN HACER  
LO QUE QUIERES, SI NO EN QUERER LO QUE HACES" ANÓNIMO*

*" DIOS SIEMPRE TE DA CAMINOS DE FELICIDAD, DEPENDE  
DE TI SER FELIZ" ANÓNIMO*

Agradezco a Dios por todas las oportunidades que me ha brindado y por las cosas que me hacen reflexionar cada día para ser mejor.

Agradezco a mi Madre por darme la vida, y por haberme formado como la persona que soy, por estar siempre y en cualquier momento a mi lado  
**GRACIAS POR TU AMOR.**

Agradezco a mi Padre y Hermano por darme la oportunidad de cumplir una meta y enseñarme que hay que luchar por todo lo que se quiere en la vida aun cuando siempre se tengan tropiezos **GRACIAS POR SU SABIDURÍA.**

Agradezco a Elias por su paciencia durante estos años y por todos los momentos felices que hemos pasado juntos **TE AMO.**

Agradezco a la Doctora Elia por darme un lugar en su laboratorio brindarme las herramientas necesarias para culminar este trabajo y toda la paciencia y la dedicación a este trabajo **GRACIAS.**

Gracias Alex y Ruth por brindarme su amistad y apoyarme.

Agradezco a la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme estudiar en sus instalaciones y ser una persona productiva.

## INDICE

## PÁGINAS

LISTA DE ABREVIATURAS-----	I
LISTA DE FIGURAS-----	II
LISTA DE TABLAS-----	III
LISTA DE GRÁFICAS-----	IV

## CONTENIDO

1.0 INTRODUCCIÓN-----	1
1.1 HISTORIA DE DM-----	2
1.1.1 HISTORIA DE DM EN MÉXICO-----	5
1.2.0 PÁNCREAS-----	7
1.2.1 FUNCIONES Y LOCALIZACIÓN-----	7
1.2.2 INSULINA-----	8
1.2.3 HIPERGLUCEMIA-----	10
1.3.0 DM-----	10
1.3.1 CLASIFICACIÓN DE DM-----	11
1.3.2 COMPLICACIONES DE DM-----	15
1.3.3 DIAGNÓSTICO-----	18
1.3.4 SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM-----	19
1.3.5 TERAPEÚTICA-----	20
1.3.6 EPIDEMIOLOGÍA-----	26
1.4.0 TAMARINDO-----	29
1.4.1 GENERALIDADES-----	29
1.5.0 MODELOS DE ESTUDIO-----	32
ESTREPTOZOTOCINA-----	35
2.0 JUSTIFICACIÓN-----	36
3.0 HIPÓTESIS-----	37
4.0 OBJETIVOS-----	38
5.0 MATERIAL-----	39
6.0 MÉTODOS-----	40
7.0 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO-----	42
8.0 RESULTADOS-----	43
9.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS-----	57
10.0 CONCLUSIONES-----	59
11.0 SUGERENCIAS-----	60
12.0 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	61
13.0 ANEXO-----	65

**ABREVIATURAS**

Cetoacidosis Diabética	-----	CAD
Curvas de Tolerancia a la Glucosa Oral	-----	CTGO
Diabetes Mellitus no insulino dependiente	-----	DM2
Diabetes Mellitus insulino dependiente	-----	DM1
Glucemia Basal Alterada	-----	IFG
Instituto Mexicano del Seguro Social	-----	IMSS
Organización Mundial de la Salud	-----	OMS
Rata no Obesa	-----	Rata BB
Ratón obeso	-----	ob
Ratón diabético	-----	db
Ratón amarillo	-----	AY
Secretaria de Salud	-----	S S
Tolerancia Alterada de la Glucosa	-----	IGT
Tolerancia a la Glucosa	-----	OGTT

**LISTA DE FIGURAS**

**PÁGINAS**

<b>FIGURA 1</b>	
Funciones y localización del páncreas-----	7
<b>FIGURA 2</b>	
Imagen de los islotes de Langerhans-----	8
<b>FIGURA 3</b>	
Diferencia de una persona sana y una diabética-----	9
<b>FIGURA 4</b>	
Tronco del árbol de tamarindo-----	28
<b>FIGURA 5</b>	
Flor y hojas del tamarindo-----	39
<b>FIGURA 6</b>	
Tamarindo con cáscara, el hueso y la pulpa-----	39
<b>FIGURA 7</b>	
Estructura química de la Estreptozotocina-----	45

## LISTA DE TABLAS

## PAGINAS

<b>TABLA 1</b>	
Diferencias entre DM 1 y DM 2-----	12
<b>TABLA 2</b>	
Otros tipos de diabetes-----	14
<b>TABLA 3</b>	
Complicaciones agudas de DM-----	16
<b>TABLA 4</b>	
Complicaciones crónicas de DM-----	17
<b>TABLA 5</b>	
Características de las sulfonilureas-----	21
<b>TABLA 6</b>	
Características de las biguanidas-----	22
<b>TABLA 7</b>	
Características de la alfa- glucosidasa-----	23
<b>TABLA 8</b>	
Preparados de insulina-----	24
<b>TABLA 9</b>	
Recomendaciones nutricionales-----	25
<b>TABLA 10</b>	
Fármacos que inducen DM-----	34
<b>TABLA 11</b>	
Concentración de glucosa 24 horas-----	43
<b>TABLA 12</b>	
Resultados del experimento I-----	46
<b>TABLA 13</b>	
Resultados del experimento II-----	52

**LISTA DE GRÁFICAS**

**PAGINAS**

**GRÁFICA 1**

Curva de concentración de glucosa durante 24 horas en ratones integros-----44

**GRÁFICA 2**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración del extracto I.-----47

**GRÁFICA 3**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración de la fracción IA-----47

**GRÁFICA 4**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración del extracto II-----48

**GRÁFICA 5**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración del extracto III-----48

**GRÁFICA 6**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración de la fracción IIIA-----49

**GRÁFICA 7**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración de la fracción IIIB-----49

**GRÁFICA 8**

Resultados de la concentración de glucosa después  
de la administración de la fracción IIIC-----50

**GRÁFICA 9**

Resultados del consumo de agua en los cuatro grupos  
De animales utilizados en el experimento II -----53

**GRÁFICA 10**

Resultados del consumo de alimento en los cuatro grupos  
De animales utilizados en el experimento II-----53

**GRÁFICA 11**

Resultado de los pesos de los cuatro grupos de animales

Utilizados en el experimento II-----54

**GRÁFICA 12**

Resultado de la concentración de glucosa durante 24 días

del grupo I integro utilizado en el experimento II-----54

**GRÁFICA 13**

Resultado de la concentración de glucosa durante 24 días

del grupo II vehiculo utilizado en el experimento II-----55

**GRÁFICA 14**

Resultados de la inducción de diabetes durante 5 días

y la concentración de glucosa del grupo III durante el tratamiento con el extracto I-----55

**GRÁFICA 15**

Resultados de la inducción de diabetes durante 5 días y la

Concentración de glucosa del grupo IV durante el tratamiento con el extracto I-----56

## 1.0. INTRODUCCIÓN.

La tolerancia a la glucosa es normal cuando la secreción de ella presenta un balance perfecto. Cuando las concentraciones séricas de glucosa aumentan (mayor a 140 mg/dL) sobre los niveles que se consideran normales (110-126 mg/ dL), la persona es diabética. Por lo que la DM es una enfermedad crónica causada por la deficiencia de insulina (en su producción o efectividad), la cual puede ser de origen hereditario o adquirido. Existen dos tipos de DM, la DM1 y DM2. En ambas el incremento de la concentración de glucosa en sangre origina alteración del metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas; su curso esta relacionado con complicaciones agudas (coma hiperosmolar, cetoacidosis diabética) y crónicas que causan daño en varios sistemas, como cardiovascular y nervioso (lo cual origina retinopatía diabética, neuropatía diabética, pie diabético, daño renal, enfermedad cardiovascular etc)(1) Los costos económicos asociados al tratamiento y sus complicaciones presentan una grave carga para los servicios de la salud y para los pacientes. En el (IMSS), el gasto promedio anual, durante el periodo 1991 a1996, para la atención de pacientes diabéticos fue de mas de 1650 millones de pesos. En todo el mundo la DM ha emergido como un problema de salud pública de proporciones pandémicas y es una de las enfermedades de mayor importancia si se considera su incremento paulatino, costos de tratamiento, afectación cada vez mayor a los grupos de edad de más productividad y su relación con muerte prematura.

El anuario de morbilidad para el año 2000, emitido por la S.S, ubica a la (DM 2) como la sexta causa de enfermedad en los grupos que van de 45 a más de 65 años de edad. En el IMSS la DM está en 2º lugar dentro de los principales motivos de demanda de consulta de medicina familiar y en 1º lugar en la de especialidades, por otra parte la mortalidad por esta causa muestra un incremento sostenido durante las últimas décadas, hasta llegar a ocupar el 3º lugar dentro de la mortalidad general. Frente a este panorama el objetivo de este trabajo es encontrar el tratamiento adecuado para los pacientes diabéticos, siendo el tratamiento de origen natural alternativo al de origen sintético, por lo cual se utilizaron en la primera fase diferentes extractos de *Tamarindus indica Linn*. De los cuales se probó el efecto hipoglucemiante y se seleccionó el que tuviera un efecto más significativo para posteriormente probar en un modelo de ratón diabético dando a estos un tratamiento durante cuatro semanas, con el extracto.(2)

## **1.1 HISTORIA DE LA DIABETES MELLITUS.**

### **PANORAMA INTERNACIONAL**

El principio y desarrollo de los estudios acerca de la diabetes fue lento, intermitente y casual y por supuesto, no los presidieron factores etiopatogénicos. Hay en su historia una fase clínica y una bioquímica. En cuanto a la primera, en el papiro de Ebers (1500 a.C.), se encuentra una descripción médica que se identifica con las manifestaciones clínicas de la diabetes (1)

En el siglo I (a.C.), el médico griego de Capadocia Arateo, observador sutil, escribió una obra magna llamada "De morborum dioturnorum et acutorum causis, signis et curatione", en la que aparece el término griego "Diabetes", que significa sifón. Arateo caracterizó la enfermedad expresando que "las carnes y los miembros se derriten en chorros de orina" y recomendó para el tratamiento de la Diabetes beber vino (3). Hacia 1650, el gran clínico inglés Thomas Willis (1621-1675), comprobó el sabor dulce de la orina de los diabéticos; describió la enfermedad manifestando que el cuerpo parecía tener azúcar o miel. En 1686, Richard Morton (1637-1698), médico inglés, noto la presencia de la diabetes entre familiares consanguíneos (3). El aspecto bioquímico se inició cuando F. Home (1719-1813) y M. Dobson (1828) determinaron la glucosa en la orina de diabéticos. En el año, 1857, el fisiólogo francés Claudio Bernard (1813-1878) descubrió la función glucogénica del hígado, poco después, el patólogo Paul Langerhans (1847-1888) descubrió en el páncreas los islotes que llevan su nombre, sitios productores de insulina (4).

En las últimas décadas del siglo XX, F. Allen Joslin, C. Von Noorden y B. Naunyn, una gran figura de la medicina de Estrasburgo, dio lugar a estudios experimentales en cuanto a diabetes (4). En 1889, el médico alemán Joseph Von Mering (1849-1908) y el médico lituano Oskar Minkowski (1858-1931) hicieron resecciones del páncreas, para iniciar con esta práctica, diversos estudios sobre el metabolismo en general. En 1893, E. G. Languesse menciona la secreción de los islotes de Langerhans y Ch. Dieckhoff hizo explícita la relación entre **diabetes** y **páncreas** (5).

Al finalizar la segunda década del siglo XX, el fisiólogo E. Hedon, hizo una revisión interesante sobre el conocimiento que se tenía entonces de la diabetes y escribió "El páncreas" además, del papel que desempeña en la digestión posee una función muy notable descubierta en 1889 por Von Mering y Minkowski los cuales demostraron que la extirpación completa en el páncreas determina, en los mamíferos, la aparición de todos los síntomas de diabetes azucarada en forma grave. Glucosuria, que es muy intensa (la orina puede contener de un 10 a 11 % de glucosa), aun con la exclusión de hidratos de carbono en la alimentación, y persiste hasta la muerte, se observa del mismo modo una gran hiperglucemia 3-5% de glucosa en sangre arterial y un aumento de la concentración de urea (5) La extirpación parcial del páncreas condiciona en ciertos casos una diabetes leve, de evolución lenta, que permite una larga supervivencia a los animales; esta glucosuria alimenticia puede transformarse en diabetes grave si el fragmento de glándula se atrofia (4) En 1921, el descubrimiento de la insulina por el médico canadiense Frederick G. Banting (1891-1941), Charles Best y el fisiólogo escocés Jonh R. MacCleo (1876-1935) es el hito que dio principio a la endocrinología contemporánea (5) En 1935 el médico danés Hans Christian Hagedorn descubrió la insulina de acción prolongada, la insulina protamínica, acontecimiento que sirvió de marco para sintetizar otros agentes químicos, de tipo oral, para reducir la glucosa en sangre (5) Al finalizar la década de los cincuenta, Franke, Fuch Berson y Yalow descubrieron los efectos hipoglucemiantes de algunos derivados sulfamídicos, lo que originó todo un grupo de sustancias hipoglucemiantes orales, las sulfonilureas antidiabéticas de primera generación, la segunda generación se manifestó hasta 1984, gracias a los trabajos Moxner (6)

En 1948 se le da importancia a las enfermedades cardiovasculares de la diabetes DM gracias a los estudios de Framingham. En 1963, Kipnis, Karam y Forsham manifiestan que la obesidad agrava a la diabetes (6). En 1960, Niell y Smith descubrieron la estructura química de la insulina humana, con lo cual se modifica la terapéutica de la diabetes. En 1953, F. Sanger determinó la estructura química de la insulina de buey (6).

Hacia 1972, por primera vez en la sangre de diabéticos se detectaron anticuerpos contra los islotes de Langerhans, lo que origino estudios de biología molecular. En 1982, en Estados Unidos se aprobó la insulina humana para uso general, antes de ese año la insulina se obtenía de cerdos y de vacas para producir insulina humana. Luego se descubrió cómo transferir el gen de la insulina a las bacterias de *Escherichia coli*, las cuales se convirtieron en fabricas vivas de insulina (6).

### 1.1.1 LOS TIEMPOS DE LA DIABETES EN MÉXICO

En México las primeras referencias explícitas de la enfermedad aparecen en la obra de J. Esteynefer, que se publican en el siglo XVIII. Titulado "Del demasiado flujo de orina" En Michoacán, hacia 1869, el doctor Juan Manuel González Ureña (1802-1854), fundador de la Escuela de Medicina de dicho estado escribió una monografía titulada "Memorias sobre diabetes en general y especialmente, el que se conoce con este nombre en Michoacán" (3).

En la segunda década de este siglo se recomendaba como tratamiento medicamentoso el bicarbonato de sosa, la antipirina, el opio (bajo la forma de extracto tabático en píldoras), arsenicales y opoterapia. El régimen alimenticio se refería a carnes y grasas; pequeñas cantidades de legumbre, harina de avena, y miel; se prohibían zanahorias, habas, frutos azucarados, lentejas, pan, pastas alimenticias, arroz, azúcar; para reemplazar a esta última debía usarse sacarina. El régimen higiénico era muy importante, se aconsejaban ejercicios físicos e hidroterapia templada y además debía llevarse una vida tranquila. Por la misma época se distinguían los siguientes tipos de diabetes : azotúria, oxalúrica, fosfátúrica, gotosa, hidrica y pancreática (3)

En 1944, en su libro de Anatomía Patológica General, el Doctor Luis Benítez Soto, expresa lo siguiente: Debemos aclarar que con el término diabetes se comprende un conjunto de síndromes clínicos, de los que el llamado diabetes azucarada (caracterizado por sed viva, hambre exagerada, eliminación de orina, es decir polidipsia, polifagia, poliuria y glucosuria) es en el que se presenta preferentemente la degeneración glucogénica (3). A partir de 1950, Salvador Zubirán, con un grupo de colaboradores del Hospital de Enfermedades de la Nutrición, empezó a interesarse por el estudio de DM y más tarde ampliaron los estudios médico sociales de carácter nacional.

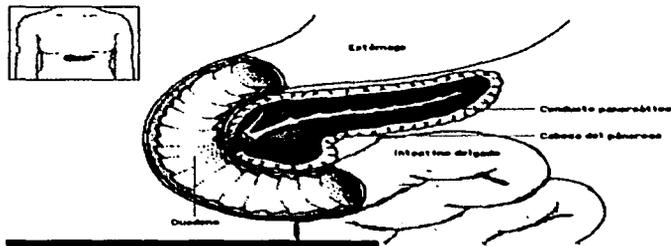
## 1.2 PÁNCREAS

### 1.2.1 FUNCIONES Y LOCALIZACIÓN

El páncreas se localiza entre el intestino delgado y el estómago y tiene tanto una función digestiva como hormonal. Está constituido por tejido exocrino que secreta enzimas al interior del intestino delgado; éstas ayudan a digerir las grasas, los hidratos de carbono y las proteínas. Las agrupaciones de células endocrinas, llamadas islotes de Langerhans, producen glucagon e insulina, hormonas relacionadas con la regulación de los niveles de glucosa en la sangre (9) *Figura 1*.

Los islotes de Langerhans es un grupo de células glandulares modificadas, las cuales tienen la función de secretar insulina, los contornos blancos y azules en los islotes corresponden a vasos sanguíneos que conducen la insulina al resto del organismo (8) *Figura 2*

*Figura 1*



La figura 1 muestra un corte histológico de la localización del páncreas en el cuerpo humano.

Figura 2



Esta imagen obtenida mediante un microscopio electrónico pertenece a una zona del páncreas humano y muestra uno de los islotes de Langerhans (*centro*).

### 1.2.2 INSULINA

La insulina es sintetizada y excretada en los islotes de Langerhans cuando existe un desorden metabólico en el páncreas la insulina no puede ser secretada y la glucosa no es transportada esto ocasiona un aumento en la concentración de glucosa en sangre y por lo tanto DM.

Existe una marcada diferencia entre una persona con DM y una persona sana. En una persona sana (I), la digestión del alimento (1) induce el aumento de la glucosa en sangre (2). El páncreas libera insulina (3), que estimula la absorción de glucosa por parte de las células. También transforma la glucosa en glucógeno, que se almacena en el hígado (4) y los músculos como reserva energética. Las hormonas regulan la liberación de insulina estimulando la disminución de la concentración de azúcar en sangre (5), lo que a su vez frena la secreción pancreática (6). En una persona con DM (II), el páncreas no produce insulina suficiente o el organismo no es capaz de utilizarla. Después de la digestión (4),

si el páncreas no segrega suficiente insulina (*B*), el organismo se ve obligado a descomponer las grasas, pues no puede utilizar la glucosa para obtener energía. Como consecuencia, se eliminan con la orina unos compuestos tóxicos llamados cetonas (*D*), que también se acumulan en la sangre (*E*) y provocan acidosis cetónica, que puede degenerar en coma o muerte. Si el organismo no es capaz de utilizar la insulina, la glucosa se acumula fuera de las células y circula sin ser absorbida. Las concentraciones elevadas de glucosa en sangre (*C*) y orina (*D*) deterioran la capacidad del organismo para combatir las infecciones y pueden provocar también acidosis cetónica (9).

Figura 3

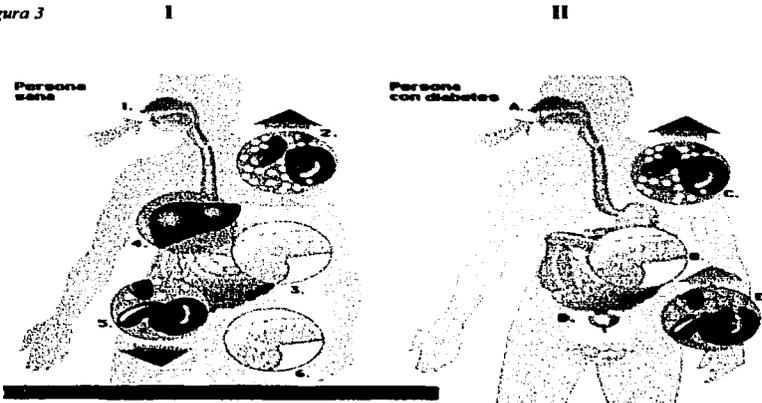


Figura 3. Representación esquemática de la diferencia entre una persona sana y una persona con DM.

### **1.2.3 HIPERGLUCEMIA**

Hay que aclarar que la hiperglucemia no es sinónima de diabetes mellitus, ya que este trastorno puede ser presentado por otro tipo de enfermedades que no se manifestarían precisamente como diabéticas. Más sin embargo, se define como el exceso de glucosa en sangre, en la cual se presentan los siguientes síntomas: cansancio progresivo, náuseas, vómito, dolor abdominal, sed intensa, piel y lengua secas etc (13, 14, 15, 16)

### **1.3 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS (DM)**

La mayoría de los pacientes pueden clasificarse en clínica como diabetes insulino dependiente (DMI o diabetes tipo 1) y en diabetes no insulino dependientes (DMNID o tipo 2) (17)

#### **1.3.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1**

Este tipo de diabetes es mediado por procesos autoinmunes. Es causada por una destrucción (mecanismos de auto inmunidad) de la célula beta pancreática, teniendo una tasa de velocidad de destrucción variable; puede ser rápida en algunos individuos (niños) mientras que en otros es más lenta (adultos) (18)

En cuanto a la edad de presentación puede ocurrir a cualquier edad aunque lo común es que comience en niños o adultos jóvenes. El comienzo puede ser brusco con aparición de cetoacidosis en niños y adolescentes en ocasiones debuta de forma de hipoglucemia basal moderada que puede evolucionar rápidamente a hiperglucemia grave y/o cetoacidosis en presencia de infección o estrés (18)

En algunos individuos, generalmente adultos, se conserva cierta función residual de las células beta que previene durante años la aparición de manifestaciones de cetoacidosis. En cualquier caso, los individuos afectados pueden convertirse en dependientes de la insulina, en las fases tardías hay una baja o nula secreción de insulina, precisando tratamiento insulínico para sobrevivir, de forma habitual presentan un peso normal, o ligeramente por debajo de lo normal, si bien la presencia de obesidad no es incompatible con el diagnóstico de esta forma de DM. Tales pacientes presentan con mayor frecuencia otras alteraciones de carácter autoinmune (18)

a) **Diabetes idiopática.**

Constituye una forma poco frecuente de DM1 de etiología desconocida, que se presenta mayoritariamente en sujetos de origen asiático o africano. Presenta un componente hereditario y entre los afectados no se presentan las alteraciones auto inmunes propias de las células beta (18)

### **1.3.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Es la forma más frecuente de DM, al presentar el 90-95 % de los casos, soliendo debutar con un comienzo insidioso. Aunque puede presentarse en cualquier etapa de la vida, generalmente comienza después de 40 años. Se dispone de considerables evidencias a favor de la existencia de una fuerte predisposición genética, también se encuentran relacionados factores ambientales que juegan un papel importante en el desarrollo de DM 2 en los sujetos susceptibles.

Así la obesidad más del 20 % del peso ideal o un índice de masa corporal superior a 27 Kg/m<sup>2</sup> es un factor importante predominando en un 80 % de los pacientes, en los que algunos presentan un aumento en el porcentaje de grasa en la región abdominal. Este tipo de diabetes se caracteriza por una resistencia a la acción de la insulina que se asocia con un déficit relativo de esta. Así se presentan casos en los que el factor predominante es la resistencia insulínica, mientras que en otros casos predomina el déficit de la secreción de insulina. Normalmente no suele presentarse cetoacidosis, aunque puede presentarse en situaciones de estrés o de infección. *Tabla 2 (19)*

TABLA No. 1 (19) PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES ENTRE DM1 Y DM2

	DIABETES MELLITUS 1	DIABETES MELLITUS 2
Sexo	Igual proporción de hombres y mujeres afectados	Mayor proporción de mujeres afectadas
Edad en la que se realiza el diagnóstico	< 30 años	> 40 años
Forma de presentación	Brusca	Sinónimo
Peso	No hay manifestaciones de obesidad	Obesidad frecuente (80%)
Propensión a la aparición de Cetois	Sí	No. Susceptible a la aparición de coma hiperosmolar
Tratamiento con insulina	Casi siempre indispensable*	Inicialmente no se precisa; si bien, puede ser necesario para mejorar el control metabólico
Carácter hereditario	Afectación en gemelos idénticos (40-50%)	Afectación en gemelos idénticos(90%)

### **OTROS TIPOS DE DIABETES (Tabla No. 3)**

Este subtipo de DM abarca un amplia variedad de tipos específicos de diabetes incluyendo defectos genéticos en la función de las células beta o en la acción de la insulina y alteraciones del páncreas exocrino (18)

### **DIABETES GESTACIONAL**

Son aquellas formas de diabetes que se diagnostican por primera vez en el embarazo, se presenta en el 2-6 % de las embarazadas si bien, tras ocurrir el parto pueden volver a la normalidad. Las mujeres con diabetes gestacional presentan a corto, medio o largo plazo y mayor riesgo de padecer DM (19, 20)

### **ALTERACIONES DEL METABOLISMO O ALTERACIONES DE LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA**

Bajo este apartado se incluyen dos categorías: la glucemia basal alterada IFG y la tolerancia alterada de la glucosa IGT. Estas alteraciones del metabolismo o la homeostasis de la glucosa suponen un estadio metabólico intermedio entre la normalidad y la DM, y constituye un factor de riesgo en un futuro para padecer DM y enfermedad cardiovascular (18,21)

### **GLUCEMIA BASAL ALTERADA**

Esta nueva categoría diagnosticada incorporada recientemente a la clasificación de DM, se caracteriza por niveles ligeramente elevados de glucemia basal (entre 110y126 mg/dL), que son valores inferiores a los requeridos para el diagnostico de la DM (140 mg/dL) (22).

<b>TABLA No. 2 OTROS TIPOS DE DIABETES ( 21, 22)</b>	
Defectos genéticos de la funcionalidad de la célula beta	De carácter hereditario autosómico dominante, se caracterizan por un comienzo de la hipoglucemia (de forma moderada) a edades precoces. Antes eran conocidas como MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young).
Defectos genéticos en la acción de la insulina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia insulínica tipo A.</li> <li>- Leprechaunismo.</li> <li>- Síndrome de Rabson-Mendenhall.</li> <li>- Diabetes lipotrófica.</li> </ul>
Enfermedades del páncreas exocrino	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pancreatitis.</li> <li>- Hemocromatosis.</li> <li>- Traumatismo, pancreatectomía.</li> <li>- Neoplasia.</li> <li>- Fibrosis quística.</li> <li>- Pancreatopatía fibrocalcúlosa.</li> </ul>
Endocrinopatías	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acromegalia.</li> <li>- Feocromocitoma.</li> <li>- Enfermedad de Cushing.</li> <li>- Glucagonoma.</li> <li>- Hipertiroidismo.</li> <li>- Somatostatínoma.</li> <li>- Aldosteronoma</li> </ul>
Fármacos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pentamidina.</li> <li>- Acido nicotínico.</li> <li>- Corticosteroides.</li> <li>- Hormonas tiroideas.</li> <li>- Diazóxido.</li> <li>- Agonistas beta-adrenérgicos.</li> <li>- Agonistas alfa-adrenérgicos.</li> <li>- Tiazidas.</li> <li>- Dilantin.</li> <li>- Interferón alfa</li> </ul>
Agentes infecciosos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rubéola</li> <li>- Citomegalovirus</li> </ul>
Formas infrecuentes de diabetes mediadas por procesos inmunes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome "stiff-man".</li> <li>- Anticuerpos antireceptor de insulina</li> </ul>
Otros síndromes genéticos ocasionalmente asociados con diabetes .	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome de Down.</li> <li>- Síndrome de Klinefelter.</li> <li>- Síndrome de Turner.</li> <li>- Síndrome de Wolfram ó DIDMOAD.</li> <li>- Ataxia de Friederich.</li> <li>- Corea de Huntington.</li> <li>- Síndrome de Lawrence Moon Beidel.</li> <li>- Distrofia miotónica.</li> <li>- Porfiria.</li> <li>- Síndrome de Parder Willi</li> </ul>

## **TOLERANCIA ALTERADA A LA GLUCOSA**

Son aquellos casos en los que, tras administrar una sobrecarga oral con 75 mg de glucosa, se detectan niveles de glucemia plasmática mayor que los niveles normales, pero menores que los requeridos para el diagnóstico de la DM (22)

### **1.3.2 COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS**

Hasta antes del descubrimiento de la insulina, el coma diabético constituía la causa principal de muerte en el paciente diabético. En la actualidad, aunque disminuyó, se sigue observando entre 5 y 20 %. Esta complicación puede presentarse como debut de la enfermedad y en otras ocasiones por la presencia de una serie de factores desencadenantes (23). La expresión coma diabético no debe emplearse, ya que solo el 20 % de los pacientes evolucionan hacia el coma y otro 20 % presentan alteraciones menores en estado de conciencia (23)

Las complicaciones agudas pueden dividirse en tres grupos 1) hipoglucemia, 2) cetoacidosis, 3) desequilibrio hiperosmolar *Tabla No. 3.*

1) La hipoglucemia se define como la asociación del descenso de la concentración plasmática de glucosa  $\leq 45$  mg/dL, se diagnostica cuando aparecen los siguientes síntomas : debilidad, temblor, hambre, nerviosismo, sudoración fría, piel pálida etc) y mejora con la administración de glucosa. Es la complicación más frecuente del tratamiento con insulina en la DM (10-13).

Tabla No. 3

COMPLICACIÓN / CAUSA	CUADRO CLÍNICO SIGNOS Y SÍNTOMAS	DIAGNÓSTICO	TRATAMIENTO	COMPLICACIONES
<p><b>Cetoacidosis diabética (CAD)</b> Es un trastorno metabólico causado por una deficiencia de Insulina y una hiperproducción de glucagón; lo cual ocasiona alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, generalmente se presenta en el paciente con (DM1) y en ocasiones en la (DMII), siendo las causas más frecuentes infecciones como: (respiratorias, urinarias, etc), la acción insulina deficiente ocasiona, hiperglucemia por la disminución en la utilización periférica de glucosa y el incremento en la producción hepática de glucosa, además de un aumento en la síntesis de cuerpos cetónicos a partir de ácidos grasos libres por incremento de lipólisis. Edema cerebral, hipoglucemia, choque hipovolémico y acidosis láctica.</p> <p><b><u>Desequilibrio Hiperosmolar no Acetósico.</u></b> Es una complicación frecuente en pacientes con DM2 y puede ser una manifestación inicial. Existe una grave deshidratación como resultado de la diuresis osmótica por elevación de los niveles séricos de glucosa</p>	<p><b><u>Sed y poliuria:</u></b> <b><u>Diuresis</u></b> Osmótica, deshidratación.</p> <p><b><u>Astenia y pérdida de peso</u></b> Deshidratación y catabolismo</p> <p><b><u>Hiperetonemia</u></b> Éxtasis gástrica</p> <p><b><u>Dolor abdominal</u></b> Ileo reflejo y déficit de potasio.</p> <p><b><u>Abdomen agudo</u></b> Acetosis</p> <p><b><u>Taquicardia</u></b></p> <p><b><u>hipotensión</u></b> y</p> <p><b><u>vasodilatación</u></b></p> <p>Deshidratación acidémica</p> <p>Es insidioso durante días, incluso semanas y en diabéticos de edad avanzada se presentan: vómitos, poliuria, polidipsia lo que lleva al paciente a una deshidratación y que además pueden presentar convulsiones hasta el estado de coma.</p>	<p>Son necesarios los datos del laboratorio para su confirmación además de diferenciar CAD del síndrome hiperosmolar.</p> <p>Uno de los datos importantes es que se puede ver una elevada hiperglucemia con cetoacidosis, además de hacer un diagnóstico diferencial con la cetoacidosis alcohólica.</p> <p>Se realizan exámenes clínicos de osmoralidad sérica y niveles de sodio además de insulina para controlar los niveles de glucosa.</p>	<p>Se recomienda para el tratamiento la administración de insulina, reposición de líquidos para reestablecer el volumen y permitir que la insulina llegue a los órganos blancos.</p> <p>La administración de potasio bicarbonato de sodio en aquellos pacientes con un p H arterial menor de 7.2.</p> <p>Se emplean soluciones hipotónicas, solución salina isotónica, glucosa al 5% en caso de que la glucemia descienda a 250 - 300 ml entre 100 ml, además de la administración de la insulina.</p>	<p>Las más importantes es la hiperglucemia pero se pueden presentar otras como hipopotasemia, edema cerebral y suficiencia respiratoria trombosis venosa infarto agudo de miocardio e infecciones mucormicosis</p> <p>Edema cerebral, hipoglucemia, choque hipovolémico y acidosis láctica.</p>

Los pacientes con DM son susceptibles de sufrir numerosas complicaciones crónicas, que dependen en gran medida de ciertos factores de riesgo que acentúan el daño macrovascular y microvascular como (hipertensión arterial, hiperlipidemia, hiperglucemia, sedentarismo y tabaquismo) (23) Los pacientes diabéticos son dos veces más propensos que los no diabéticos a morir de enfermedad arterial coronaria.

**COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DIABETES MELLITUS.(23)**

Tabla No. 4

<b>Dermatopatía Diabética (DD)</b>	<b>Pie Diabético (PD)</b>	<b>Piodermias</b>	<b>Micosis</b>
<p>Hay una lesión primaria entre 5 y 12 mm la que desencadena lesiones múltiples, circulares u ovals, se puede presentar vesícula, este tipo de lesiones aparecen tardamente, por lo que el paciente requiere de un constante chequeo clínico</p>	<p>Se presenta entre los 34 años de edad y se le considera como un marcador de la DM, se puede presentar al inicio con necrosis de la epidermis y de generación de la colágena. En ocasiones puede llegar hasta la amputación del miembro.</p>	<p>Se presenta deshidratación defecto de la fagocitosis de los polimorfo nucleares y desnutrición general; lo que ocasiona que los microorganismos como estafilococo y estreptococo provoquen enfermedades en la piel como erisipela, celulitis furunculosis, etc.</p>	<p>Es una infección provocada por hongos, la cual ocasionan tifa en el pie, la ingle y probablemente invaden las uñas, tanto de pies como de manos. <b>Virusis</b> Los pacientes manifiestan lesiones herpéticas provocadas por el virus de herpes simple y herpes zoster, que pueden ser hemorrágicas y necróticas, estas manifestaciones pueden ser recurrentes.</p>
<b>Rubeosis</b>	<b>Retinopatía Diabética</b>	<b>Nefropatía Diabética</b>	<b>Aparato digestivo</b>
<p>Se pone de manifiesto con una coloración rojiza en pies, manos y cara, además de tener una sensibilidad a la luz. <b>Dermatosis debidas a los medicamentos para el control de la Diabetes Mellitus</b> Esta manifestación aparece con urticaria en el área de inyección o generalizada, se puede presentar también una reacción inflamatoria, pigmentación local, lesiones y ampollas además de presentarse eritema multiforme fotosensibilidad prurito o piel seca</p>	<p>Se detecta con más frecuencia con diabetes tipo I, se comienza a presentar visión borrosa, debido a los niveles altos de glucosa por lo que se desarrolla un error en la refracción ocular, hemorragias, microaneurismas, se observan como una pequeña red (puntos) que se localizan en los capilares, lesiones con depósitos blanquecinos. El tratamiento de la retinopatía en con foto coagulación y es útil cuando existen hemorragias y edema.</p>	<p>Es la primera causa de muerte en la DM y ocasiona glomerulosclerosis nodular, difusión inter capilar hasta desarrollar síndrome nefrótico, en el cual el paciente tiene que recurrir a una diálisis continúa. <b>Neuropatía diabética</b> Se define como los síntomas de un trastorno nervioso(alteraciones de los estudios de conducción nerviosa), el 8% de los diabéticos tiene una neuropatía, las manifestaciones son la pérdida de la sensación dolorosa y térmica, pérdida del sentido y los reflejos. El tratamiento inicial es aspirina, paracetamol etc.</p>	<p>Disminución del reflejo nauseoso, diarrea o constipación. Se recomienda como tratamiento metoclopramida, tetraciclina, laxantes. <b>Aparato urinario</b> Se caracteriza por una vejiga retencionista por lo que el tiempo de micciones aumenta al mismo tiempo que el vaciamiento es más defectuoso por lo que el flujo de orina disminuye. Al ultrasonido se observa una vejiga llena después de la micción. Se puede presentar eyaculación retrógrada e importancia sexual.</p>

### **1.3.3 DIAGNÓSTICO Y SÍNTOMAS DE LA DM1 Y DM2**

#### **DIAGNÓSTICO DE DM 1**

El diagnóstico de DM 1 se hace cuando cualquiera de estos tres exámenes es positivo y es seguido por un segundo examen positivo obtenido en días diferentes:

Los niveles de glucosa plasmática en ayunas son mayores o iguales a 126 mg/dL., acompañados de síntomas de diabetes. Los niveles de glucosa obtenidos por casualidad (tomados a cualquier hora del día son mayores o iguales a 200 mg/dL., acompañados de síntomas de diabetes. En el examen de tolerancia a la glucosa oral (su sigla en inglés es OGTT) los valores medidos a las dos horas son mayores o iguales a 200 mg/dL. La OGTT se determina sobre un lapso de tres horas (24)

#### **DIAGNÓSTICO DE DM 2**

##### **DIABETES MELLITUS ADULTO**

Elevación equivocada de glucosa plasmática  $\geq 200$  mg/100ml y síntomas clásicos de DM (polidipsia, poliuria, polifagia y pérdida de peso). Glucosa plasmática en ayunas  $\geq 140$  mg/100 ml en dos o más ocasiones. Glucosa plasmática en ayunas  $< 140$  mg/100ml y dos curvas de tolerancia a la glucosa oral (CTGO) con glucosa plasmática a las dos horas o  $\geq 200$  mg/ dL después de la carga de 75 g en la DTGO(24)

### **ANORMALIDADES DE LA TOLERANCIA A LA GLUCOSA**

Glucosa plasmática en ayunas  $< 140$  mg/dL y glucosa plasmática no en ayunas  $\geq 140$  mg/dL y  $< 200$  mg/dL con un valor intermedio después de una carga de 75 g de glucosa (25)

### **DIABETES MELLITUS GESTACIONAL**

Dos o más de las siguientes concentraciones de glucosa plasmática con carga de 100 g de glucosa oral: glucosa plasmática en ayunas 105 mg/dL; a la hora 190 mg/dL; a las dos horas 165 mg/dL; a las tres horas 145 mg/dL. (25).

### **1.3.4 SIGNOS Y SÍNTOMAS DM**

#### **SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM 1**

A continuación, se enumeran los síntomas más comunes de DM 1. Sin embargo, cada individuo puede experimentar los síntomas de una forma diferente. La diabetes de tipo 1 a menudo aparece súbitamente, los signos y síntomas incluyen los siguientes: Los niveles de glucosa son altos cuando se examina la sangre, los niveles de glucosa son altos cuando se examina la orina. Sed inusual, orinar con frecuencia, hambre extrema, pero con pérdida de peso, Visión borrosa, náusea, vómito, debilidad y fatiga extrema, Irritabilidad y cambios de humor (24).

## **SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM 2**

Niveles altos de glucosa en sangre y orina, piel reseca con comezón, hormigueo y pérdida de sensibilidad en las manos y en los pies, orinar frecuentemente, náusea y vómito, irritabilidad y cambios en el estado de ánimo, visión borrosa, debilidad y cansancio extremo, sed inusual, demasiada hambre y pérdida de peso, infecciones frecuentes que no se curan fácilmente (25)

### **1.3.5 TERAPEÚTICA DE DM**

El tratamiento de elección para la DM2 y DM1 son fármacos orales entre los que destacan tres grupos: sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de las alfa-glucosidasas, Insulina dieta y el ejercicio. Los cuales son de importancia para un buen control de la glucemia (35)

#### **SULFONILUREAS**

Tiene un efecto hipoglucemiante agudo actuando sobre la célula  $\beta$  del páncreas en un estímulo de la secreción de insulina, y un efecto hipoglucemiante crónico que se debe a la potenciación de la acción de la insulina, a través de un aumento del número de receptores para insulina o en su unión a ellos en los tejidos sensibles de la misma, por lo que es necesario que dichos islotes puedan responder con la citada secreción insulínica (35).

Son los fármacos de elección en el paciente con DM2 no obeso, pero algunos pacientes no responden de entrada al tratamiento (fallo primario), esto es debido a la relación de hiperglucemia y en algunos casos los pacientes con el tiempo dejan de

responder (fallo secundario), esto se debe al agotamiento de la célula beta o por la presencia de otros factores (infecciones estrés etc) (16)

Estos fármacos y sus características se muestran en la *Tabla No. 5* (36)

Compuesto	Efectos secundarios	Contraindicaciones	Dosis inicial (mg/día)	Máximo (mg/día)	Duración (horas)
Clorpropamida	hipoglucemia	Diabetes tipo 1	125	500	24-42
Tolbutamida	Alteraciones hematológicas	Embarazo	1000	3000	4 - 8
Glibenclamida	Cutáneas, gastrointestinales Tiroideas.	Lactancia	2.5 - 5	15	10 - 16
			2.5 - 5	15	10 - 16
			2.5 - 5	15	10 - 16
			2.5 - 5	15	10 - 16
Gliclacida	Hiponatremia	Insuficiencia renal	80	320	12
Glipizida	Reacciones	Alergia a las	2.5 - 5	30	3 - 6
			2.5 - 5	30	3 - 6
Gliquidona	Pulmonares	Sulfonilureas	15 - 30	120	4
Glipentida	Difusas.	cetoacidosis	2.5 - 5	20	4

## BIGUANIDAS

Las biguanidas son medicamentos que no guardan ninguna relación con las sulfonilureas, son efectivas en el control de la hiperglucemia del paciente con DM2, obeso y no obeso, y pueden utilizarse solas o en combinación con sulfonilureas e insulina (37)

Estos medicamentos a diferencia de las sulfonilureas pueden actuar en presencia de insulina o de páncreas funcionante, el modo de acción es múltiple, inhiben la absorción intestinal de la glucosa, lo que explica la baja de peso en los pacientes, aumentan la captación de glucosa por el músculo, inhiben la gluconeogénesis hepática aumentada en los diabéticos, estimulan la gluólisis anaerobia con formación excesiva de ácido láctico, lo que puede provocar acidosis láctica que es un fenómeno tóxico importante. *Tabla No. 6 (38)*

Compuesto	Efectos secundarios	contraindicaciones	Dosis inicial (mg/día)	Máximo (mg/día)	Duración (horas)
Buformina *	Alteraciones gastrointestinales, Gustativas.	Tratamiento en DM1 Insuficiencia renal, hepática, respiratoria, Embarazo, lactancia.	200	400	12
Metformina **	Acidosis Láctica Efecto anorexígeno	Sepsis, alcoholismo, Insuficiencia cardiaca.	850	2550	12

\*: No se recomienda la utilización de fenformina y buformina, por su mayor relación con la acidosis láctica.

\*\* : Hasta Agosto de 1998 en que ha causado baja, la especialidad terapéutica era Glucophage 850.

**INHIBIDORES DE LAS ALFA-GLUCOSIDASAS.**

Actúan inhibiendo las alfa-glucosidasas intestinales (maltasa, sacarasa, dextrinas, glucoamilasas) presentes en las vellosidades intestinales, que son las enzimas que actúan en el desdoblamiento de la sacarosa, maltosa y otros oligosacáridos en monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa). El resultado es una demora en la digestión de los hidratos de carbono con reducción de los picos glucémicos posprandiales. También actúan disminuyendo la secreción de polipéptidos intestinales. Su utilidad clínica es la corrección de hiperglucemias posprandiales (39)

*Tabla No. 7*

Compuesto	Efectos secundarios	Contraindicaciones	Dosis inicial mg	Máximo mg
Acarbosa	Alteraciones gastrointestinales, dolor abdominal	Tratamiento de primera elección de la DM1	150	600
		Pacientes con trastornos gastrointestinales	150	600
Miglitol	diarreas	Embarazo, lactancia	150	300

**d) INSULINA**

El uso de insulina se requiere para la sobrevivencia de todos los pacientes con DM 1, ya que ellos tienen una deficiencia secretoria de insulina absoluta, y en muchos casos también se utiliza en pacientes con DM 2, que en periodos de estrés o enfermedad requieren suplementos de insulina exógena, para lograr el adecuado control de la glucemia y en ocasiones cuando fracasan la dieta y el ejercicio y los hipoglucemiantes orales.

La insulina, es una hormona producida por el páncreas que ayuda a disminuir la glucosa del cuerpo transportándola desde el torrente sanguíneo a las células del cuerpo y una vez que esta dentro de las células se convierte en la fuente esencial de energía para el organismo. Dentro de los diferentes tipos de insulina encontramos: Insulina de acción corta, Insulina de acción intermedia, Insulina de acción prolongada. *Tabla No. 8* (40)

*Tabla No. 8*

CLASE DE INSULINA	TIPO DE INSULINA	TOXICIDAD	COMIENZO DE ACCIÓN HORAS	ACCIÓN MAXIMA HORAS	DURACIÓN ACCIÓN HORAS
<u>ACCIÓN CORTA</u>	- Insulina zinc cristalina ( corriente ). - Insulina zinc amorfa ( semilenta )	HIPOGLUCEMIA TRASTORNOS ALÉRGICOS	½ a 1 1 a 2	2 a 4 4 a 6	6 a 8 12 a 16
<u>ACCIÓN INTERMEDIA</u>	-Insulina isofónica ( NPH ). - Insulina zinc ( lenta)	TRASTORNOS LOCALES NO ALÉRGICOS	1 a 3	8 a 12	12 a 24
<u>ACCIÓN PROLONGADA</u>	-Insulina zinc protamina -Insulina zinc cristalizada (ultra lenta )	EDEMA INSULÍNICO	4 a 7 5 a 8	16 a 24 20 a 26	24 a 36 30 a 40

**Insulina zinc protamina:** posee una acción hipoglucemiante rápida y corta lo que obliga a practicar repetidas inyecciones para mantener una glucemia conveniente en el paciente diabético, es por ello que se han preparado insulinas de acción prolongada todas insolubles y precipitadas al p H del tejido (41)

**Insulina isófana:** conocida también como insulina NPH que es una insulina zinc protaminica modificada, la cual contiene menos protamina y menos zinc, siendo el producto final cristalino e insoluble lo que le da un efecto de acción intermedia.

**Suspensiones de insulina zinc o insulinas lentas:** son insulinas de acción más prolongada que la insulina corriente pero sin agregado de ninguna sustancia proteica por lo tanto se han conseguido tipos de insulina de acción prolongada (41)

## DIETA

La dieta constituye la base fundamental sobre la que se ajusta cualquier otra medida complementaria del tratamiento y en ocasiones llega hasta ser la única terapia necesaria por lo que se debe establecer de manera individual de acuerdo con el estilo de vida del paciente, aproximadamente el 80% de los pacientes con DM 2 presentan sobrepeso pero, la mayoría de los pacientes no le da importancia siendo que la pérdida de peso puede mejorar la glucemia, la presión arterial y el perfil lipídico. Por lo que en el siguiente cuadro se dan algunas recomendaciones establecidas por los Consejos Europeos y Asociación Americana de la Diabetes. *Tabla No. 9* (42)

Tabla No. 9 RECOMENDACIONES NUTRICIONALES EN DM		
	Consensos europeos	Asociación Americana de Diabetes
Proteínas	15%	10 - 20%
Grasas saturadas	< 10%	< 10%
Grasas poliinsaturadas		10%
Grasa monoinsaturadas	15 - 25%	60 - 70 %

## **EJERCICIO**

Al igual que ocurre con la dieta, la práctica del ejercicio físico adecuado constituye un aspecto fundamental en el tratamiento de la DM, ya que ayuda a conseguir un mejor control metabólico disminuyendo las concentraciones de glucosa, aumenta la sensibilidad a la insulina, permite reducir de peso y los factores de riesgo cardiovascular al mejorar el perfil lipídico, la presión arterial, la fuerza y flexibilidad a demás de mejorar la sensación de bienestar y calidad de vida (42) Cabe señalar que si el paciente diabético tiene algún problema crónico es necesario que se verifique la glucosa antes del ejercicio y tenga una buena hidratación antes y durante este (42)

### **1.3.6 EPIDEMIOLOGIA.**

Los costos económicos, tratamiento y complicaciones de la Diabetes Mellitus representan una grave carga para los servicios de salud y para los pacientes. En los Estados Unidos Americanos (E.U.A.) los costos asociados con la atención de diabéticos en 1997 fueron estimados en 98 mil millones de dólares. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su último informe refiere que para el año 2000 existieron 154 392 000 personas con DM alrededor del mundo. Se espera que para el 2025 la cifra sea casi el doble (299 974 000). El 25% del total de diabéticos del mundo se encuentra en América Latina y la proporción aumentará a 45% en los próximos 10 a 15 años (31)

La Encuesta Nacional de Salud 2000, en su informe preliminar, refiere que en México alrededor de 11.8% de la población mayor de veinte años padece diabetes. La OMS estimó un total de 4 654 000 diabéticos en México para el año 2000, de los cuales poco más de un millón no han sido diagnosticados. El anuario de morbilidad para el año 2000, emitido por la Secretaría de Salud, ubica a la DM tipo 2 como la sexta causa de enfermedad en los grupos que van desde 45 hasta más de 65 años de edad, también reporta un total de 287 180 casos nuevos para este año con una tasa global de 2,88/1000 habitantes. El estado más afectado de la República Mexicana es Tamaulipas, con una tasa cruda de 5.21/1000 habitantes. En el IMSS la DM se sitúa en el segundo lugar dentro de los principales motivos de demanda de consulta de medicina familiar y en el primer lugar en la de especialidades. Por otra parte, la mortalidad por esta causa muestra un incremento sostenido durante las últimas décadas, hasta llegar a ocupar el tercer lugar dentro de la mortalidad general. En el IMSS, si bien la letalidad total por diabetes es de 9%, cifra que coincide con la correspondiente a la causada por complicaciones renales, ésta se eleva significativamente cuando la causa es por cetoacidosis (23%) o como hiperosmolar (43%) (32) En los próximos 25 años, la mayoría de los nuevos casos de diabetes se espera en los países en vías de desarrollo, como causas específicas sobresalen el envejecimiento poblacional, la mala alimentación, la obesidad y el sedentarismo.

Para el año 2025 la mayoría de los diabéticos en países desarrollados serán mayores de 65 años; sin embargo, en los países en vías de desarrollo, el grupo de 45-64 años de edad será el de más alta frecuencia, por lo que estará afectado uno de los periodos más productivos de la vida. Para ese mismo año, se espera que sean 11 684 000 diabéticos en México (33).

El panorama de DM para Latinoamérica es especialmente crítico. En México, la dimensión del problema hace que la intervención de la Salud Pública sea fundamental. Lograr mayor prevención y mejor control del progreso de esta enfermedad, requiere del refuerzo de la vigilancia epidemiológica, desde el primer nivel de atención hasta el nivel normativo. Para ello es necesario continuar con la detección oportuna, el diagnóstico y tratamiento adecuados; monitoreo y vigilancia de complicaciones crónicas; educación de la población, en la que sea incluida la difusión de los factores de riesgo, sintomatología, énfasis en los componentes específicos del tratamiento (como nutrición), medicación, auto monitoreo de glucosa y ejercicio); el desarrollo de investigación (médicos y unidades centinela) y la evaluación de programas. Todas ellas son intervenciones dirigidas a mejorar la calidad de la atención de los pacientes con DM (34).

## 1.4 TAMARINDO (43)

### 1.4.1 GENERALIDADES

Nombre científico: *Tamarindus indica* Linn.

Familia: Leguminosas.

Subfamilia: Caesal pinaide.

Tribu: Amberstice.

Genero: Tamarindus.

Especie: indica

Nombre en latín: Tamarindus indica.

### CARACTERÍSTICAS BOTANICAS

Es un árbol de leguminosa, vigoroso de copa compacta, redondeada y con una altura hasta de 20 m, el tronco es rugoso con corteza gris, hojas alternas con longitud de 7 cm y foliolos de 10 a 20 pares, opuestos de color verde pálido (43) *Figura No. 4*

Se cree que es nativo de África tropical, y que se ha adaptado en muchas partes del trópico. Las flores son de color blanco dispuestas en racimos terminales, el fruto es una vaina de color café de forma alargada o curva de 2 a 6 pulgadas de longitud y 0.75 a 1.0 pulgada de ancho. Los estrechamientos parciales de la vaina muestra el número de semillas contenidas en cada fruto, los hay de sabor ácido a dulce según la variedad (43)

### CLIMA

El tamarindo prospera mejor en lugares con clima cálido, semiseco, aunque puede prosperar en lugares con clima cálido y húmedo (44)

## SUELOS Y PROPAGACIÓN

Prefiere suelos profundos, con buen drenaje, de textura franco arcillo arenoso, con p H de 6.5 a 7.5 (45). El tamarindo se puede propagar por semilla o por injerto, para lo cual se deben seleccionar previamente los árboles madres que tengan las características de los altos productores, frutos de buena calidad y sanos. La siembra del tamarindo puede hacerse al cuadro o al tresbolillo, a una distancia que puede oscilar entre 7 y 10 m, dependiendo de la topografía del terreno, manejo y si la planta es injertada o proviene de la semilla (46).

## COSECHA

La cosecha se efectúa cuando los frutos alcanzan su madurez fisiológica, manifestando un cambio de color en su vaina, tornándose un café claro (47).

## USOS

La pulpa del fruto tiene un variado número de usos, que van desde la preparación de refrescos, confitería, conservas, salsas, hasta como medicina natural de esta forma se utiliza como laxante que retiene el líquido del intestino, en cuanto a DM no se encuentra nada reportado en la literatura, pero se sabe por tradición oral, es utilizado en Ixtlahuaca, Estado de México como tratamiento para DM, en esta zona las personas utilizan aproximadamente 8 semillas de *Tamarindus indica* Linn. trituradas y hervidas en un litro de agua, las personas lo toman como agua de tiempo y tienen una mejoría en la enfermedad (47,48). *Figura*

No. 5.6

**SUSTANCIAS ACTIVAS**

Los componentes de la pulpa son ácidos ( tartárico, cítrico), azúcar invertido y sustancias mucilaginosas (49)

*Figura No. 4*



*Figura No. 5*



*Figura No. 6*



### 1.5 MODELOS EXPERIMENTALES

El uso de animales representa enormes ventajas para el estudio de la diabetes, ya que se puede disponer de varias generaciones para estudiarlas con cuidado y en tiempo bastante corto, es un modelo excelente para el estudio de medidas que permitan prevenir la enfermedad y también da oportunidad de estudiar la interacción de factores hereditarios y ambientales como dieta, fármacos, tóxicos y agentes infecciosos (26)

Por regla general, cualquier nueva terapéutica para prevenir o revertir la enfermedad debe primero estudiarse en animales. Asimismo, las observaciones en éstos pueden extrapolarse al hombre después de un análisis riguroso (27)

#### a) Diabetes Espontánea.

Es conveniente señalar que se conoce el tipo de respuesta a la administración de estas sustancias y a otros fármacos que pueden inducir daño pancreático. Entre los animales, la diabetes espontánea es relativamente común, el primer caso se describió en 1851 en un mono. Esta enfermedad se presenta en una gran variedad de especies animales entre las que se encuentran los perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, ovejas, cabras y otros animales domésticos y silvestres. En la mayoría de los roedores, la diabetes es de origen genérico y se acompaña de marcada obesidad. Los pequeños roedores de laboratorio proporcionan una gran cantidad de información, por su gran variedad y bajo costo. En animales, la mayoría de los síndromes de diabetes espontánea se caracteriza por hiperglucemia y, por lo menos, hiperinsulinemia transitoria (26)

**b) Modelo de Animales con Diabetes espontánea .**

Existen diversos tipos de animales utilizados como un modelo experimental en la diabetes, como los animales no obesos entre los que se encuentra la Rata BB, en la que se desarrolla un síndrome agudo de hiperglucemia y cetoacidosis. Otra especie es el hámster chino que aunque no es obeso padece polifagia. Algunos otros, el Mono Macaca y una nueva especie de perro ( keeshond dog ) pueden también ser un buen modelo de animal diabético no obeso (27)

Existen animales que son obesos y que también son un buen modelo experimental, algunos ejemplos son: el ratón (ob), el c57Bl/6J (ob/ob), ratón diabético (db), el ratón amarillo (AY). Todos estos animales alrededor de las cuatro semanas de edad están hiperglucémicos, hiperinsulinémicos, hiperfágicos y obesos (27)

**c) Efectos de la dieta en Modelos Animales.**

La abundancia calórica parece facilitar el desarrollo de obesidad y diabetes en humanos. También los roedores se ha demostrado que los factores ambientales y de dieta desarrollan con más facilidad la DM, como se observa en los ratones híbridos Wellesley en los cuales la enfermedad es reversible con una restricción dietética (28)

**d) Diabetes inducida**

La inducción de la diabetes se logra por diversas técnicas experimentales. La pancreatectomía condujo a la diabetes y fue una observación clave en el estudio de esta enfermedad.

En la actualidad los avances científicos y tecnológicos permiten la realización de estudios, inclusive a nivel molecular (28). El uso de agentes químicos para producir diabetes permite realizar estudios precisos de los acontecimientos bioquímicos, hormonales y morfológicos que ocurren durante la inducción de un estado diabético y después de ésta. Existen varias clases de agentes químicos, que se clasifican en: sustancias tóxicas específicas que destruyen a las células beta y causan un estado de deficiencia primaria de insulina y en sustancias que actúan sobre células beta pero no las destruyen. Una tercera clase incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan el páncreas y como consecuencia se produce la diabetes, en particular el zinc. *Tabla No. 10* (29)

**e) Influencia del sexo.**

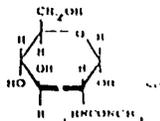
Se ha reportado que en la mayoría de los animales hay una franca diferencia entre los machos (45%) y las hembras(85%), en relación con la evolución y gravedad de la DM(29).

Tabla No. 10	
I. Químicos	III. Esteroides
I.1 Efecto irreversible	Glucocorticoides
Oxina-9-hidroxiquinolona	Hidrocortisona
Vacor	
I.2 Efecto reversible	IV. Otros
6-Aminonicotinamida	Ácido monometildialúrico
L-Asparaginasa	Nitrosufenil-hidroxi lamina de amonio
Azida	Glucosa
Cianuro	Virus
Yodoacetato	
Malonato	V. Potenciadores
Tiazidas	Sobrealimentación
2-Desoxiglucosa	Ayuno
	Dietas especiales
	Cortisol
	ACTH

### Estreptozotocina.

Es el agente de uso más amplio, es una sustancia química bastante selectiva para células beta que en ciertas especies animales causa diabetes permanente. La fijación a la membrana es el primer hecho en el proceso patológico. La toxicidad del fármaco está mediada por el reconocimiento específico de algunos receptores sobre la célula beta. Dentro de las células beta, la estreptozotocina produce disminución de los niveles de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), ya que puede disminuir su síntesis como incrementar su hidrólisis (29) La estreptozotocina inhibe la incorporación de precursores de la síntesis de DNA, RNA y proteínas. El grupo 1-metil-nitrosaurica es el responsable de la toxicidad celular, también afecta a algunas células alfa, esta toxicidad también se basa en el papel central de los nucleótidos de pirimidina en el metabolismo de las células beta *Figura*

*No. 4* (30).



La estreptozotocina ha sido utilizada para inducir la DM en un modelo "in vivo" el ratón adulto ( Charles River CD-1 Strain), en el cual se realizó un preparado con un buffer de citrato a pH 4.2 y a una dosis de 40 mg/kg , por vía intraperitoneal, de 12 a 25 días se obtuvieron concentraciones de glucosa en plasma de 396-657 mg/dL, al observar las células  $\beta$  del páncreas en el microscopio electrónico se observó una necrosis e infiltración de linfocitos y macrófagos (30)

## 2.0 JUSTIFICACIÓN

La DM es un trastorno crónico del metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas, debido a la falta absoluta o relativa de insulina. El tratamiento de la enfermedad adopta 4 formas principales: las 2 primeras dieta y ejercicio, las cuales no pueden ser el único tratamiento para controlar la diabetes, ya que tienen que ser combinados con medicamentos para poder controlarla, por lo que se recurre a la insulino terapia que sin embargo, a pesar de que es útil como tratamiento produce severos efectos adversos, además, es complicada en la administración, por lo que se tienen que combinar con medicamento orales los cuales también, presentan efectos adversos, son de un costo elevado y no son efectivos, ya que se tienen que combinar con insulino terapia, dieta y ejercicio. Por lo que una alternativa de tratamiento es encontrar formas efectivas de origen natural, plantas y/o extractos como el *Tamarindus indica Linn* y que probablemente en un futuro pueda ser utilizado para controlar esta enfermedad y/o constituir nuevos medicamentos mejorando la calidad de vida del paciente diabético.

### **3.0 HIPOTESIS**

En Ixtlahuaca, Estado de México, la tradición oral supone que las semillas de Tamarindo tienen un efecto hipoglucemiante. Es posible que algunos compuestos de la semilla controlen la concentración de glucosa en sangre.

#### **4.0 OBJETIVOS**

##### **OBJETIVO GENERAL**

- Determinar y caracterizar el efecto hipoglucemiante de los extractos acuosos y las fracciones orgánicas de *Tamarindus indica Linn* en ratones normales y diabéticos

##### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Realizar un estudio de cernimiento para determinar el efecto hipoglucemiante de los extractos acuosos y sus fracciones orgánicas de *Tamarindus indica Linn.* en ratones normales.
- Administrar diferentes concentraciones de los extractos acuosos y sus fracciones orgánicas y determinar con cuales se presenta el efecto hipoglucemiante.
- Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto I en ratones diabéticos

## **5.0 MATERIAL**

### **5.1 REACTIVOS BIOLÓGICOS:**

- 1) Para el estudio preliminar se utilizaron 325 ratones macho cepa CFW (25-30 +/- 2.5 g) en ayuno de 24 horas y con ingesta de agua.
- 2) para el estudio en un modelo de ratones diabéticos se utilizaron 32 machos cepa CFR-21 (25-30 +/- 2.5 g), que se alimentaron con alimento y agua ad-Libitum.

#### **5.1.1 MATERIAL DE LABORATORIO**

##### **a) Material de vidrio:**

Vidrio de reloj.

##### **b) Material de cirugía:**

Hoja de bisturí.

Cajas contenedoras.

Rejilla de metal.

Jeringa de insulina (plastipack)

Sonda para administración intra gástrica

#### **5.1.2 EQUIPO**

Balanza para pesar animales de laboratorio.

#### **5.1.3 REACTIVOS Y SOLUCIONES.**

Tiras reactivas Dextrostix II. ( Bayer)

Insulina acción rápida 100 regular (Eli Lilly).

Estreptozotocina anómera (Sigma Aldrich)

Extractos y fracciones de *Tamarindus indica* *Lim.* (proporcionado por la Dra. Martha Albores Facultad de Química Edificio "B" Posgrado) Ver ANEXO I.

Buffer de citratos pH 4.2-4.5 (Citrato de sodio marca Mallinckrof y para ajustar pH ácido cítrico marca Mallinckrof)

## **6.0 MÉTODOS**

### **6.1 EXPERIMENTO I**

Los ratones utilizados en esta fase del experimento se pesaron, marcaron y separaron en las cajas contenedoras de acrílico en grupos (control integro N= 8, Extracto I N=5, Extracto II N= 5, Extracto III N= 8, Fracción IA N= 8, Fracción IIIA, IIIB N= 8, Fracción IIIC N= 6).

Al grupo control se administro insulina de acción rápida 100 regular (neutra bovina) solución inyectable 100 U/ml, 0.1 ml por vía subcutánea.

A cada ratón se le cuantificó la glucosa inicial (antes de la administración intra gástrica de los extractos acuosos y sus fracciones orgánicas) y la glucosa final (30 minutos después de la administración de los extractos y sus fracciones orgánicas o insulina), está se cuantificó por el método de tiras reactivas, es una prueba que permite medir el nivel de glucosa en sangre en cualquier momento mediante un procedimiento sencillo. Todo lo que se debe de hacer es colocar una gota de sangre en la tira reactiva, para ello se coloca al ratón en la rejilla de metal y se coloca la cola en un vidrio de reloj en donde se realiza un pequeño corte en la parte final de la misma con una hoja de bisturí ejerciendo presión en la cola para permitir la salida de sangre con mas facilidad, una vez que sale la gota de

sangre se coloca en el área indicada de la tira reactiva y dejar transcurrir 30 segundos, después de ese tiempo colocar la tira reactiva (con el área reactiva hacia arriba) y limpiar la sangre con papel presionando rápido y firmemente de modo que quede limpia de sangre la tira reactiva, esperar 90 segundos más (total 120 segundos) y comparar las áreas reactivas de la tira con la carta de colores impresa en el frasco, una vez que se obtuvo el valor de glucosa inicial se administró el extracto por vía intra gástrica y se dejaron transcurrir 30 minutos, después de ese tiempo, se determina nuevamente la concentración de glucosa en sangre aplicando el método descrito.

Se obtuvo el promedio de la glucosa inicial, final y la diferencia de glucosas, estos datos se graficaron.

Por otro lado, se obtuvo una curva de concentración de glucosa en sangre ( $N = 6$ ) de ratones durante 24 horas, al inicio del experimento, con la finalidad de conocer la concentración de glucosa en ratones íntegros, y a los cuales se les cuantificó la concentración de glucosa cada 3 horas, de los resultados obtenidos se obtuvo un promedio el cual fue graficado contra el tiempo.

## 6.2 EXPERIMENTO II

Los ratones utilizados se marcaron, pesaron y se colocaron en cajas contenedoras de acrílico, se dividieron en cuatro grupos ( $n=8$ ), el grupo I fue asignado como el grupo control íntegro. El grupo II fue el control con vehículo al cual se le administró únicamente el buffer de citrato (0.1 ml). El grupo III con ratones diabéticos y tratados con 0.1 ml (2mg/ml) del extracto acuoso de *Tamarindus indica Linn.* El grupo IV con ratones diabéticos y tratados con 0.2 ml (4mg/ml) del extracto.

Se indujo la DM con streptozotocina a una dosis de 40 mg/Kg preparada diariamente al momento de uso con buffer de citrato (0.1 M) a pH = 4.2 (es importante que solo se adicione el buffer 15 minutos antes de su administración, debido a que la streptozotocina es inestable). Se administraron dosis diarias por vía intraperitoneal (IP), durante 5 días mismos en los que fue determinada la concentración de glucosa en sangre al inicio del periodo de actividad (16:00 p.m) por el método de tiras reactivas descrito en el experimento anterior.

Al 5° día los ratones son diabéticos (50), y se prosigue al tratamiento con el extracto I de *Tamarindus indica* Linn. Este fue administrado por vía intra gástrica siguiendo un modelo de tratamiento insulínico el cual consiste en administrar la mayor dosis en la mañana y la menor dosis por la noche que es cuando el ratón esta en una mayor actividad locomotriz, a diferencia de los humanos en los cuales la administración de una dosis mayor se realiza durante la noche y la dosis menor durante el día (7). Este tratamiento se continuó durante 30 días, en todo ese tiempo se cuantificó la glucosa en intervalos de tres días al inicio del periodo de actividad (16:00pm), también, se cuantificó el alimento y el agua durante los 30 días del tratamiento, otro parámetro que se cuantificó fue el peso de los ratones el cual únicamente se realizó una vez por semana.

## **7.0 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO**

La significancia estadística para los resultados de los experimentos I y II se evaluó empleando un análisis con la prueba de Wilcoxon que es una prueba no paramétrica, dando como el criterio de aceptación diferencias significativas para un valor de  $\alpha \leq 0.05$

(51).

## 8.0 RESULTADOS

Para iniciar el experimento es importante conocer los valores de concentración de glucosa que se presentan en ratones íntegros a diferentes horas del día.

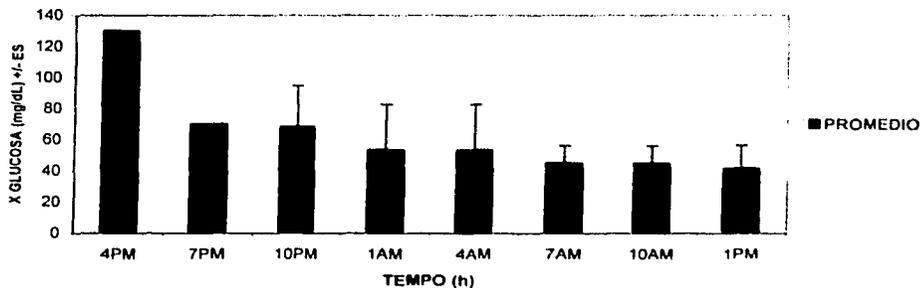
En la (tabla 10, gráfica 1) se muestran los resultados obtenidos con la determinación de la concentración de glucosa en ratones íntegros, considerando los valores de 24 horas (toma de muestra cada 3 horas), se muestra que la concentración de glucosa más elevada es a las 4:00 pm; y ésta se vio disminuida conforme traseurre el tiempo, hasta mantenerse constante 7:00 AM, 10:00 AM, 1:00 PM.

**Tabla 11**

**CURVA DE CONCENTRACION DE GLUCOSA ( mg/dl ) EN 24 HORAS.**

1	130	70	70	20	20	40	40	20
2	130	70	70	40	40	40	40	40
3	130	70	20	40	40	40	40	40
4	130	70	70	40	40	40	40	40
5	130	70	70	70	70	40	40	40
6	130	70	110	110	110	70	70	70
X	130	70	68.3	53.3	53.3	45	45	41.7

Gráfica 1



Promedios de las concentraciones de glucosa obtenidas durante un periodo de 24 horas en ratones integros.

### EXPERIMENTO FASE I

Los resultados obtenidos en este experimento se presentan en la (Tabla No. 13) y corresponden a los obtenidos en el estudio preliminar, en ella se observa que los extractos I y la fracción IIIA, a los volúmenes administrados muestran una diferencia significativa en la disminución de la concentración de glucosa ( $\alpha < 0.05$ ). El extracto II y la fracción IIIB presentan diferencia significativa ( $\alpha < 0.05$ ) a los volúmenes de 0.1, 0.2 ml (2,4 mg/ml). El extracto III y las fracciones IA y IIC presentan significancia ( $\alpha < 0.05$ ) a los volúmenes de 0.1, 0.2 ml (2,4mg/ml).

Con el extracto I se determinó la concentración de glucosa y se graficó el promedio a los volúmenes 0.1, 0.2 y 0.3 ml (2,4,6 mg/ml), los cuales presentaron una disminución de la concentración de glucosa; la cual fue significativa ( $\alpha < 0.05$ ) comparada con el grupo control. (*Gráfica No. 2*). La fracción IA presentó un comportamiento similar a los datos obtenidos con el extracto I (*Gráfica No. 3*). Con la administración del extracto II solo al volumen de 0.3 ml (6 mg/ml) produce una disminución significativa de la concentración de glucosa ( $\alpha < 0.05$ ) (*Gráfica No. 4*). El extracto III produjo una disminución significativa ( $\alpha < 0.05$ ) en la concentración de glucosa al volumen de 0.3 ml (6 mg/ml), comparada con el grupo control (*Gráfica No. 5*). Las fracciones IIIA, B y C, muestran valores importantes en la disminución de la glucosa ( $\alpha < 0.05$ ) (*Gráficas 6,7,8*).

RESULTADOS

TABLA No. 12

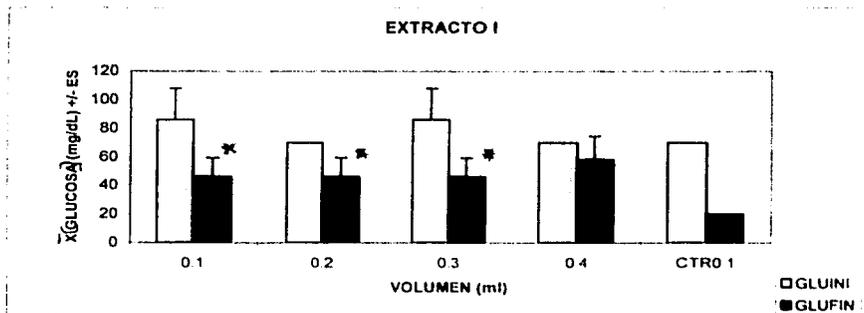
N	EXTRACTO	VOLUMEN ml	CONCENTRACION (mg/ml)	$\bar{X}$ [GLUCOSA] INICIAL (mg/dL)	ERROR ESTANDAR	$\bar{X}$ [GLUCOSA] FINAL (mg/ dL.)	ERROR ESTANDAR	$\Delta$ [GLUCOSAS]	$\alpha < 0.05$
5	I	0.1	2	86	21.909	46	13.416	40	0.0393**
		0.2	4	70	0	46	13.416	24	0.0455**
		0.3	6	86	21.909	46	13.416	40	0.0393**
		0.4	8	70	0	74	16.432	-4	0.1572*
		CTRL.	0.1	70	0	20	0	50	
5	II	0.1	2	70	0	44	28.809	26	0.0253**
		0.15	3	70	0	58	16.431	12	0.1572*
		0.2	4	70	0	58	16.431	12	0.1572*
		0.3	6	70	0	46	0	30	0.0253**
		0.4	8	70	0	58	16.431	12	0.1572*
		0.8	16	70	0	70	0	0	1*
CTRL.	0.1	70	0	20	0	50			
8	IA	0.1	2	99	21.381	80	18.516	10	0.1572*
		0.2	4	110	0	85	20.702	25	0.0253**
		0.3	6	85	20.702	66.2	10.607	18.8	0.0587**
		CTRL.	0.1	70	0	20	0	50	
6	IIB	0.1	2	70	0	55	16.432	15	0.0253**
		0.2	4	70	0	55	16.432	15	0.0253**
		0.3	6	70	0	65	12.247	5	0.4142*
		CTRL.	0.1	70	0	20	0	50	
8	IIC	0.1	2	72.5	20.702	55	16.030	17.5	0.0253**
		0.2	4	63.7	23.807	47.5	13.887	16.2	0.0587**
		0.3	6	60	13.887	63.3	15.525	3.3	*
		CTRL.	0.1	70	0	20	0	50	0.0455**
8	III	0.1	2	88	15.525	51.3	15.526	7.3	0.3173*
		0.2	4	51.3	15.526	40	0	11.3	0.0832*
		0.3	6	0	16.636	40	0	20	0.0455**
		CTRL.	0.1	70	0	20	0	50	
8	IIIA	0.1	2	110	0	85	20.702	25	0.0253**
		0.2	4	110	0	90	21.381	20	0.0455**
		0.3	6	90.3	14.142	80	18.516	16.3	0.0253**
		CTRL.	0.1	70	0	20	0	50	

\*  $\alpha < 0.05$

\*\*  $\alpha < 0.05$

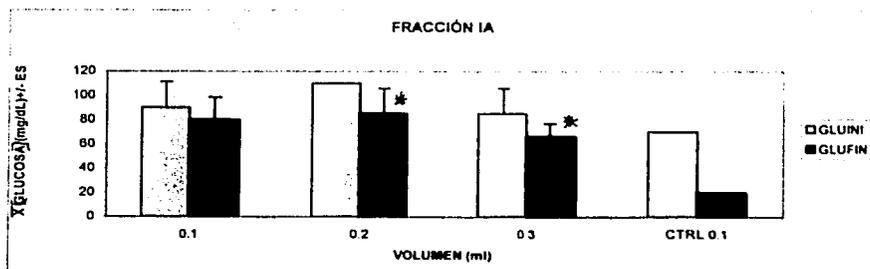
\*\*\*  $\alpha > 0.05$

Gráfica No. 2



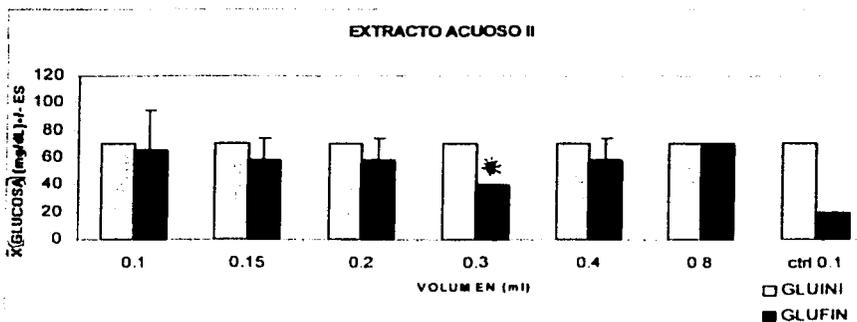
Promedios de glucosa inicial y final, después de la administración del extracto I, se observa una disminución significativa\* ( $\alpha < 0.05$ ).

Gráfica No. 3



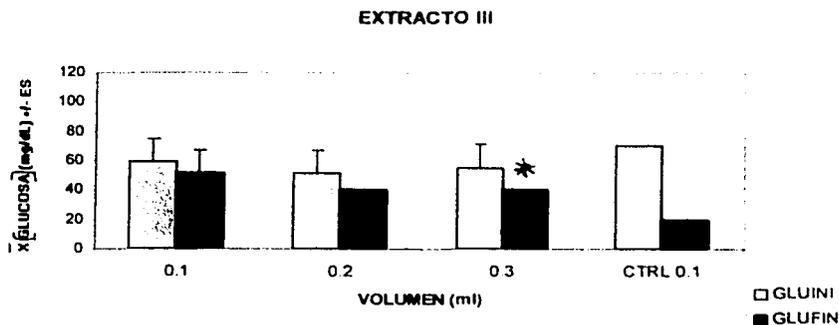
Después de la administración de la fracción IA del extracto acuoso y se observa que a volúmenes de 0.2, 0.3 ml una disminución de la concentración de glucosa significativa ( $\alpha < 0.05$ ).

Gráfica No. 4



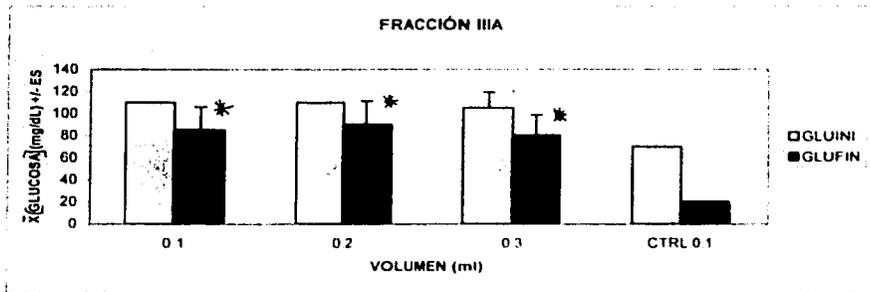
Promedios de concentración de glucosa en los que se observa \* un valor significativo ( $\alpha < 0.05$ ) y sin error estándar.

Gráfica No. 5



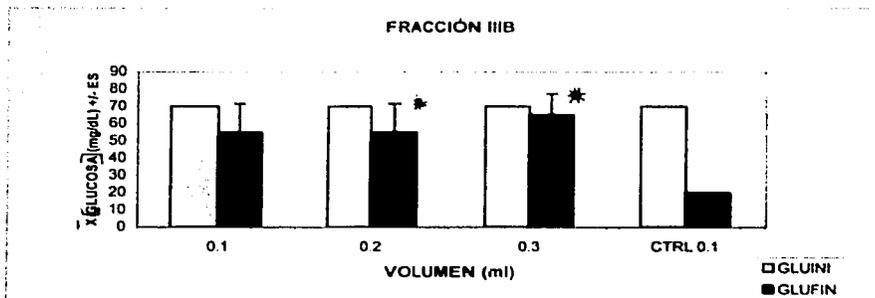
Promedios de concentración de glucosa en los que se observa solo un valor significativo\* ( $\alpha < 0.05$ )

Gráfica No.6



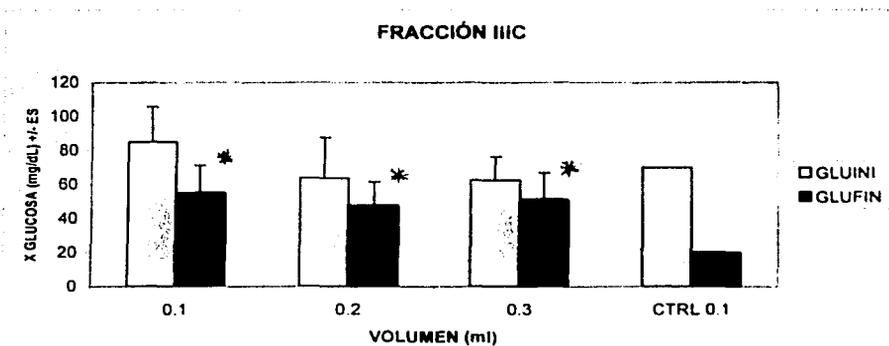
Promedio de la glucosa en la que se presentan tres valores significativos \* ( $\alpha < 0.05$ ).

Gráfica No. 7



Promedio glucosa en la que se presenta dos valores significativos \* ( $\alpha < 0.05$ ).

Gráfica No. 8



Promedios de glucosa en la que se presentan tres valores significativos \* ( $\alpha < 0.05$ ).

## EXPERIMENTO FASE 2

Una vez finalizado el experimento de la Fase 1 y determinado cual de los extractos producía una disminución significativa ( $\alpha < 0.05$ ) de la concentración de la glucosa, se realizó la segunda fase del experimento, en esta fase se contaban con ratones diabéticos a los cuales se les administró el extracto 1 a los volúmenes 0.1, 0.2 ml (2,4 mg/ml) por 24 días continuos con la finalidad de proporcionar un tratamiento a los ratones. Los resultados se presentan a continuación.

En la **Tabla No. 13** se muestran los datos de la fase 2, los ratones de los grupos III y IV recibieron dos dosificaciones del extracto I; las cuales se administraron en la mañana (6:00AM) y en la tarde (6:00 PM). A todos los ratones diabéticos se les cuantificó el volumen de agua y la cantidad de alimento ingeridos a sí como el peso (**Gráficas No. 9,10,11**). Para los grupos I, II, III y IV los valores de alimento son similares (**Gráfica 9**). Con respecto a la cantidad de agua ingerida los grupos III y IV muestran un aumento significativo ( $\alpha < 0.05$ ), el grupo II no presenta un cambio significativo ( $\alpha > 0.05$ ) comparado con el grupo control (**Gráfica 10**). Con respecto al peso el grupo II no presenta cambios significativos ( $\alpha > 0.05$ ) y los grupos III y IV presentan una significativa disminución ( $\alpha < 0.05$ ), lo que concuerda con lo reportado en la literatura para los seres humanos (7) (**Gráfica 11**). Simultáneamente se les cuantificó la concentración de glucosa (cada 3 por 24 días); encontrando que para los grupos I y II (**Gráficas 12,13**). No se presentan cambios significativos en este tiempo ( $\alpha > 0.05$ ), sin embargo para el grupo III los datos muestran que la concentración de glucosa inició en un descenso a partir del 9º día postadministración del extracto I la cual se mantuvo de 205 mg/dL, a 196.3 mg/dL; lo que nos habla de un efecto hipoglucemiante importante significativo ( $\alpha < 0.05$ ) (**Gráfica 14**). Los animales del grupo IV que recibieron un volumen mayor del extracto 0.2 ml (4 mg/ml), presentaron una disminución significativa ( $\alpha < 0.05$ ) La disminución de la concentración de la glucosa la cual se mantuvo de 260 mg/dL hasta mantenerse constante en 126.3 mg/dL (**Gráfica No. 15**). Como puede observarse el extracto I utilizado produce un claro efecto hipoglucemiante a estos grupos de ratones diabéticos.

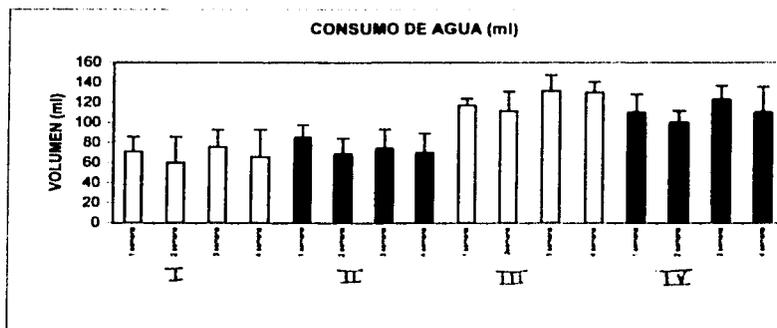
Tabla No. 12

GRUPO	N	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA INICIAL (mg/dl)	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA DURANTE LA INDUCCIÓN DE DIABETES (mg/dl)	PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA DURANTE EL TRATAMIENTO C/ EL EXTRACTO	PROMEDIO DEL CONSUMO DE AGUA (ml)	PROMEDIO DEL CONSUMO DE ALIMENTO (g)	PROMEDIO DEL PESO (g)
I*	8	95	Día 1 100 Día 2 100 Día 3 100 Día 4 100 Día 5 100	1 semana 100 2 semana 100 3 semana 105 4 semana 110 5 semana 110	1 semana 71.1 2 semana 60 3 semana 75.7 4 semana 65.7	1 semana 9.2 2 semana 10.1 3 semana 10.6 4 semana 11	1 semana 26.1 2 semana 31.3 3 semana 31.7 4 semana 32.8
Grupo control ratones no diabéticos s/ tratamiento							
II**	8	110	Día 1 105 Día 2 100 Día 3 105 Día 4 110 Día 5 105	1 semana 109 2 semana 110 3 semana 105 4 semana 105 5 semana 109	1 semana 84.9 2 semana 68.6 3 semana 74.3 4 semana 70.0	1 semana 9.3 2 semana 10.9 3 semana 12 4 semana 10	1 semana 25.8 2 semana 33.0 3 semana 33.6 4 semana 34.4
Grupo control ratones no diabéticos c/ administración de vehículo							
III***	8	110	Día 1 110 Día 2 145 Día 3 160 Día 4 175 Día 5 223.8	3 día 242.5 6 día 278.8 9 día 260 12 día 213.8 15 día 213.7 18 día 205 21 día 196.3 24 día 196.3	1 semana 117.2 2 semana 111.4 3 semana 131.4 4 semana 139	1 semana 8.8 2 semana 11.4 3 semana 12.4 4 semana 11.2	1 semana 27.1 2 semana 21.3 3 semana 22.1 4 semana 23
Ratones diabéticos c/ tratamiento 0.1 ml de extracto							
IV***	8	110	Día 1 110 Día 2 149 Día 3 175 Día 4 195.3 Día 5 261.3	1 día 260 6 día 183.8 9 día 155 12 día 130 15 día 130 18 día 130 21 día 126.3 24 día 126.3	1 semana 109 2 semana 110 3 semana 122.9 4 semana 110	1 semana 9.1 2 semana 10.9 3 semana 14.1 4 semana 10.6	1 semana 26.8 2 semana 23.3 3 semana 23.7 4 semana 24.5
Ratones diabéticos c/ tratamiento 0.2 ml de extracto							

\*Este grupo no se administro por lo que las concentraciones de glucosa se tomaron únicamente 1 vez por semana\*\* Este grupo solo se le administro el vehículo los datos no fueron significativos ( $\alpha < 0.05$ ) comparado con el control.

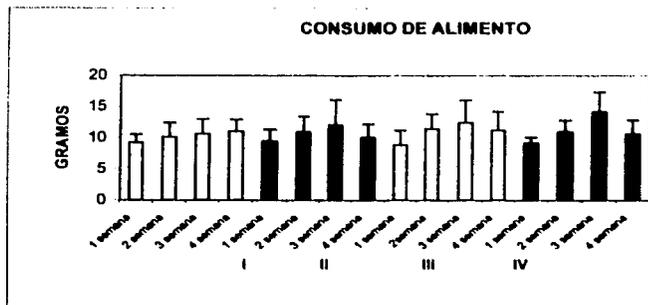
\*\*\* Este grupo se tomaron las concentraciones de glucosa en intervalos de tres días después del tratamiento previo con Estreptozotocina los resultados obtenidos fueron significativos comparados con el control ( $\alpha < 0.05$ )

Gráfica No. 9



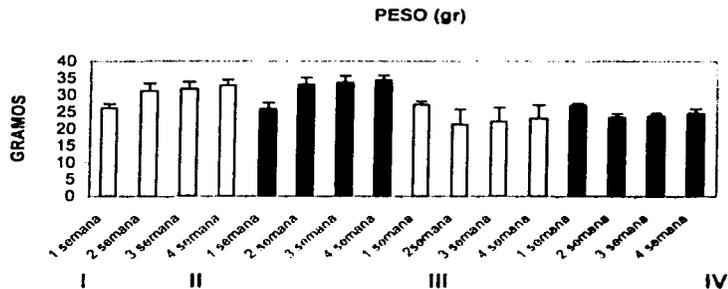
En esta gráfica se muestran los resultados del consumo de agua de los grupos I, II, III, y IV. Se observa que los grupos III y IV (últimas 8 semanas) un aumento significativo ( $\alpha < 0.05$ ) comparado con el control.

Gráfica No.10



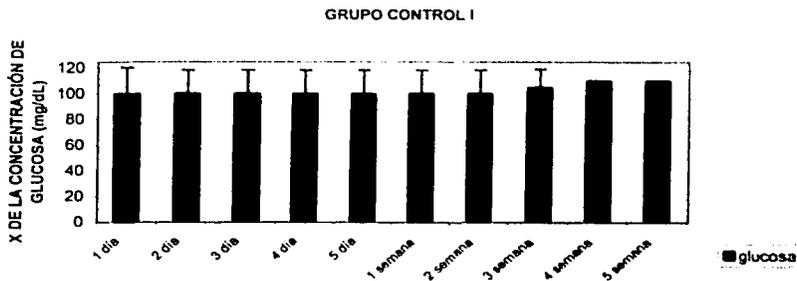
En esta gráfica se muestra el consumo de alimento de los grupos I - IV, en los que no se observa un cambio significativo ( $\alpha < 0.05$ ) comparado con el grupo control.

Gráfica No. 11



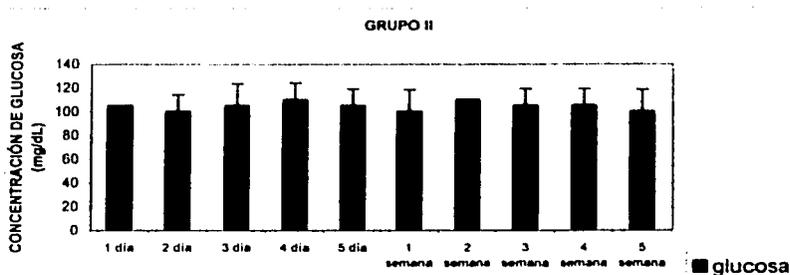
En esta gráfica se muestran los pesos de los cuatro grupos en los cuales se observa que el grupo I y II tienen un incremento conforme transcurren las semanas, mientras que los grupos III y IV presentan una disminución del peso (gr.), significativo ( $\alpha < 0.05$ ) comparado con grupo control.

Gráfica No. 12



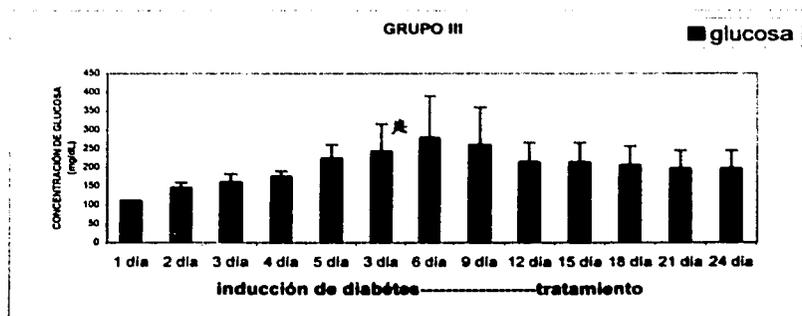
En esta gráfica se observa que no hay ningún cambio en la concentración de glucosa durante los 24 días de tratamiento.

Gráfica No. 13



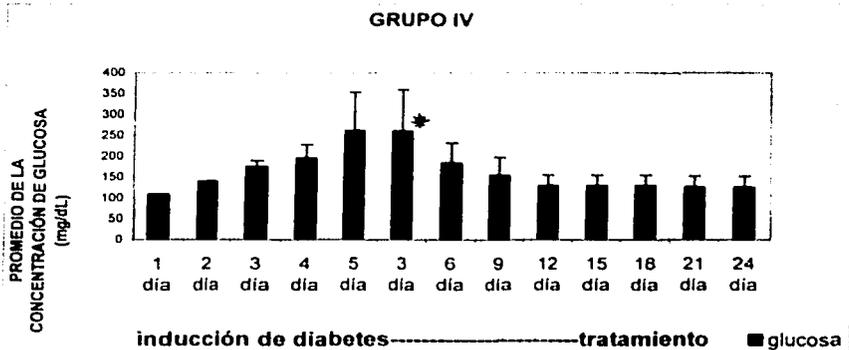
En esta gráfica se observa que en el grupo II con administración de vehículo no se presenta ningún cambio significativo ( $\alpha > 0.05$ ) en la concentración de glucosa, comparado con el control.

Gráfica No. 14



En esta gráfica se observa un aumento en la concentración de la glucosa después de los 5 días de inducción de la diabetes (242.5 mg/dL) y se observa una disminución significativa ( $\alpha < 0.05$ ) durante el tratamiento con el extracto I 3 día hasta llegar a mantener los niveles constantes a partir de los 9 días (196.3 mg/dL).

Gráfica No. 15



En esta gráfica se observa un aumento en la concentración de la glucosa después de los 5 días de inducción de la diabetes (260 mg/dL) y se observa una disminución significativa ( $\alpha < 0.05$ ) durante el tratamiento con el extracto 1 3 día hasta llegar a mantener los niveles constantes a partir de los 9 días (126.3 mg/dL).

## 9.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS

La DM es una enfermedad cuya incidencia de mortalidad mundial ocupa el 3er. Lugar, los tratamientos hasta ahora utilizados son de costos elevados y agresivos para los pacientes que la presentan, en base a esto se realizaron 2 estudios para determinar si el tratamiento a base de extractos es eficaz para el control de la concentración de glucosa en sangre.

### EXPERIMENTO I

En el experimento I se realizó la elección del extracto o fracciones que disminuyeran la concentración de la glucosa en sangre de los ratones normales, analizándose 3 extractos acuosos y 4 fracciones orgánicas, encontrándose éste efecto en la fracción IIIA, IIIC y el extracto I, siendo éste último el idóneo para realizar el EXPERIMENTO II, que produjo la mayor disminución de la concentración de glucosa a las concentraciones utilizadas (2, 4 y 6 mg/mL), comparado con el control insulina, esto pudo deberse a que en este extracto es posible que se encuentren sustancias con efecto similar a la insulina o con semejanzas estructurales a ésta (9), no estando posiblemente presentes en los extractos y fracciones que no tuvieron efecto. Así mismo, las fracciones IIIA y IIIC se dejaron para estudios posteriores ya que presentaron menor efecto con respecto a la fracción I, también, se determinó la hora en la que se realizó la toma de muestras de sangre en donde la lectura promedio es la que se reporta como niveles normales de glucosa y fue a las 16:00 p.m. (8)

### EXPERIMENTO II

En éste experimento se trabajó con ratones integros y con ratones con DM. Para demostrar que los ratones tenían la DM se tomaron muestras sanguíneas y se determinó la concentración de glucosa, así mismo se llevó el control de peso, agua y alimento en los

grupos controles y tratados, observándose que en los grupos controles se mantiene constante el consumo de agua y en los grupos diabéticos aumenta. En relación a la ingesta de alimento en los 4 grupos no se observó cambio.

En los ratones integros su peso se incremento, cosa que no sucedió con los ratones diabéticos, que a pesar de ingerir la misma cantidad de alimento que los integros, disminuían en su peso corporal, debido a que los ratones diabéticos presentan una alteración en su metabolismo de carbohidratos, lo que concuerda con lo reportado en la literatura acerca de la triada asintomática de la DM(19)

Se procedió a dar el tratamiento a los ratones diabeticos con el extracto I, obteniendo que al volumen de 0.1 mL con una concentración de 2.0 mg/mL, el porcentaje de respuesta comparado con el control (ratones integros) fue de 63.8 %, y al volumen de 0.2 ml, con una concentración de 4.0 mg/mL se presentó 86.3 %, observando que al aumentar la concentración del extracto I el efecto también se incrementa, cabe mencionar que a partir del día 6, los grupos de ratones diabéticos postadministración de los extractos la concentración de glucosa en sangre disminuye significativamente ( $\alpha < 0.05$ ) y se mantiene constante hasta el día 24 que fue el último día de administración y lectura, esto puede deberse a que el extracto I podría actuar de una forma similar a la insulina, ya que disminuye los valores de la concentración de glucosa en sangre, pero no la disminuye hasta valores normales como se refiere en la literatura (24, 25).

## 10. CONCLUSIONES

### EXPERIMENTO I

- Se determinó que el extracto I y la fracción IIIA produjeron una disminución de la concentración de glucosa en sangre de ratones normales
- A las concentraciones de 2.0 y 4.0 mg/mL se presentó la mayor disminución de la concentración de glucosa en sangre de ratones normales

### EXPERIMENTO II

- La estreptozotocina a la dosis de 40 mg/Kg si indujo la DM en ratones
- El extracto acuoso I a las concentraciones de 2.0 y 4.0 mg/mL produjo una disminución significativa y constante de la concentración de glucosa en sangre.

## **II. SUGERENCIAS A POSTERIORI**

- Evaluar las fracciones IIIA y IIIC
- Realizar estudios con métodos analíticos para caracterizar el posible compuesto que produce la disminución de la concentración de glucosa en ratones íntegros y diabéticos.
- En base a esto, proponer un esquema de alimentación y de tratamiento
- Realizar estudios de toxicidad a los compuestos IIIA, IIIC y Extracto I
- Analizar las células de Cajal
- Administrar los compuestos activos en otros modelos.

## 12.0 BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Foster DW. Diabetes Mellitus En: Fauci AS et. Al. Editores. Harrison, Principios de medicina Interna 14ª Ed. Madrid ; MacGraw-Hill, Interamericana 1998 p. 2341-65.
- 2.- Resultados preliminares de la ENSA 2000, Secretaria de Salud México
- 3.- Boussiou R; History of the Medicine Larousse, Paris, 1970; pp. 347
- 4.- Cristian, H.A. Patología Médica Fundamental y Práctica. Buenos Aires, Editorial Kraff 1948 pp1119.
- 5.- Hédon, E. Compendio de fisiología , Barcelona , Casa Editorial S. Salvat, 1918 pp. 397.
- 6.- Lyons As Petrucelli, R.J. Medicine and Illustrated Medical History New York, Publisher.
- 7.-Bowman, WC. y Rand. M.J. (1984) Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas 2ª Ed; Interamericana México.
- 8.- Bonner- Weir , S. , and Weir , G. C. The islets of Langerhans and Diabetes Mellitus .Current Concepts. Upjohn , November , 1986
- 9.- Githnes S. Pancreatic duct cell cultures. Annu. Rev. Phylol. p.p. 56 : 419 1994
- 10.- Cryer P.E. Gerich J.E. Glucos Counterregulation , hypoglycemia and intensive insulin therapy in diabetes mellitus. New Eng J. Med , 1985 ; p p 313 : 232 – 239.
- 11.- White N. H. , Skor D.A. Cryer P.E. Identification of type I diabetic patients al increased risk for hypoglycemia during intensive therapy. N. England J. Med 1983 ; pp. 008 : 485 – 491.
- 12.- Podolsky S. Krall L. Bradley R.F. treatment of diabetes with oral hipoglicemic agents En : Stephen Podolsky , Clinical Diabetes : Modem management. New York , Appleton – Century – Crofts 1980.
- 13.- Dr. Sergio Islas Andrade , Dr. Alberto lifshitz Guineber Diabetes Mellitus . Ed. Interamericana. Mc Graw Hill 1998.
- 14.- Reynolds C. Molnar CD , Houiowitz DL et al. Abnormalities of endogenous glucagons and insulin in unstable diabetics , Diabetes , 1977 ; p.p. 26 : 36 – 45.
- 15.- University Group Diabetes program A Study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patient with adult on set diabetes II Mortality results. Diabetes 1970 , p.p. 19 : 789 – 830.

- 16.- Khardory R. Soler N.G. Hyperosmolar hiperglycemic non ketotic síndrome report of 22 cases ad brief review Am J. Med. , 1984 ; p.p. 77 - 899.
- 17.- Alberti K.G. Definition diagnosis ad classification of diabetes mellitus and its complications Part I Diagnosis and classification of diabetes mellitus Provisional report of with consultation diabetic Med. 1998 , p.p. 15 : 539 - 53.
- 18.- Foster D. W. Diabetes mellitus En Fauzi AS et al editors , Harrison Principios de Medicina interna 14 a. Ed. Madrid Mac Graw Hill / interamericana 1998 p 2341 - 65 .
- 19.- Sullivan B.A. et al , Gestacional diabetes J. Am Pham Assoc 1998 , p.p. 38 - 364 - 71.
- 20.- Sociedad Andaluca de Medicina de Familia y Comunitaria grupo de trabajo sobre diabetes Guía de diabetes para Atención primaria <http://www.cicc.res/aliens/samtyc/>
- 21.- The expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus Report of the Exper Committes on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Diabetes Care 1997 ; p.p. 20 : 1183 - 7.
- 22.- American Academy of family Physician Diagnosis and Management of type 2 diabetes (monograph) <http://www.aafp.org/afp/monograph/199901/text.html>
- 23.- Clark C. M. et.al prevention and treatment of the complications of diabetes mellitus N. England J. Med. 1995 pp. 332 (18) : 1210 - 7.
- 24.- Hernández E et al Nuevos Criterios en la Clasificación y Diagnostico de la Diabetes Mellitus ( Editorial ) . Aten prim 1999 ; p.p. 23 (3) ; 107 - 9.
- 25.- Harris I et al. Comparison of diabetes diagnostic categories in U.S. population according to 1997 American Diabetes Association and 1980 - 9185 Word Health Organization diagnostic critery Diabetes Care 1997 ; p.p. 20 : 1859 - 62.
- 26.- Aldo A rossini , Arthur A lik , William L Chick , Michael C , Appel ad George F. Cahill J.R. Studies of Streptozotocin - induced insulitis and diabetes proc Natl Acad sci USA Vol 74 No. 6 , p.p. 2485 - 2489 , June 1977 cell biology.
- 27.- Susan B. Stearns , PH. D. , an d Camillo A. Benzo , PH D Structural and Chemical Alterations Associated with Hepatic Glycogen Metabolismo in Genetically diabetic (db) and in Streptozotocin inducend Diabetic Mice Department of Anatomy State University of New York , Upstate Medical Center Syracuse New York 13210 Vol. 37 No. 2 1977 p.p. 180 - 187.

- 28.- Pastorale C , Arata M. Caminos A Bruno L. Basabe J Cherneslt . Effect of modified diabetic splenocytes on mice injected with múltiple lowdose Streptozotocin. Centro de investigaciones endocrinológicas CONICET , Hospital de niños Ricardo Gutierrez , Gallo 1360 (1425) , Buenos Aires Argentina Am J. Chin Med 2001 ; p.p. 29 (3 - 4 ) ; 493 - 500.
- 29.-Xio LM , Miuro AB , Yamamoto K , Kabayashit Song Q H , Kitamura H , Cyong J.C. Pancreatic Islet Regeneration by ephedrine in mice with Streptozotocin induced diabetes Third Departament of Internal Medicine Akito University Sdanol of Medicine Japan Phytother Res 2001 Aug 15( 5 ) ; p.p. 456 - 8.
- 30.- Jovad H , Eddouks M. Lacaille Dobuis MA Lyoussi B. UFR Physiology-Pharmacology Laboratory of Animal Physiology , Faculty of Science Dhar Mahraz B. P. 1796 Atlas Fez Morocco Hypoglycaemic effect of spergularia purpurea in normal and streptozotocin induced diabetic nat S. Singapore Med J 2000 Jan ; p p 41 (1) , 9 - 13.
- 31.- Diabetes in the Americas Resolucion . CE. 120 R II [http://www.paha.org/English/HICP/HICEN/doc42\\_6.pdf](http://www.paha.org/English/HICP/HICEN/doc42_6.pdf)
- 32.- Nuñez R. La Diabetes Melluits entre la población hispana en Estados Unidos de América Salud Pública de México 1999 ; p.p. 41 (4) : 354
- 33.- Resultados preliminares de la ENSA 2000 Secretaria de Salud , México.
- 34.- Análisis de Situación de Salud en las Américas 1999 - 2000 ops Boletín Epidemiológico , Vol 21 No. 4 Diciembre 2000.
- 35.- UK Prospective Diabetes Study Group : Intensive blood - glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes ( UKPDS 33 ) Lancet 1998 p.p. 352 : 837 - 53.
- 36.- Traitement des diabetiques de type 2 ( non insulinodendants ). Rev Prescr 1999 ; p.p. 19 ( 196 ) : 448 - 56.
- 37.- UK Prospective Diabetes Study Group , Effect of intensive blood - glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes ( UKPDS 34 ) Lancet 1998 ; p.p. 352 ( 9131 ) : 854 - 65.
- 38.- Patel A. Diabetes Focus Pharmaceutical Ress London , 1999.
- 39.- Sheen AJ et al Oral antidiabetic agents A guide to Selection Drugs 1998 , p.p. 55 (2) : 225 - 36.
- 40.- Bot Base de Datus del Medicamento , Consejo General de Colegios Oficiales de farmacéuticos 1999 Junio.

- 41.- Ahren E, Gossain V, Rouner D. Human insulin its development and Clinical use post Grad Med. 1985 ; p.p. 1 : 181 – 7 .
- 42.- Institute for Clinical Evaluativer Sciences Clinical Practice Guidelines for the management of Diabetes Mellitus [www.ices.on.ca/docs/lb5190.htm](http://www.ices.on.ca/docs/lb5190.htm)
- 43.- American Diabetes association Clinical Practice Recommendations National Standards of Diabetes self – management education programs and American Diabetes Association Review Criteria. [www.diabetes.org/diabetes\\_care/supplements/s114.html](http://www.diabetes.org/diabetes_care/supplements/s114.html)
- 44.- Muinat M, Ishola , Edith B, Agbaji Department of Chemistry , Ahmadu Bello University , Zaria , Nigeria and Abel S Agbaji A Chemical Study of Tamarindus indica ( Tsamiya) fruits Grown in Nigeria. J sci Food Agric 1990 , p p. 51 , 141 – 143
- 45.- A. Marangoni , I. Alli , ad S. Kermasha Composition and properties of seeds of the tree legume tamarindus indica Journal of Food Science Vol. 53 , No. 5 , 1988
- 46.- Takanori Tsuda , Mie Watarabe , Katsumi Ohshima , Akira Yamamoto , Shunro Kawakishi , and Toshihiko Osawa ; Antioxidative Components Isolated from the seed of tamarin (tamarindus indica L ) J. Agric. Food chem. 1994 , p p. 42 , 2671 – 2674
- 47.- Masano M. The effect of pretreatment on the germination process of asam ( tamarindus indica L ) Boletin pelitian Hutano (563 ) ; p.p. 33 - 41 1994 Indonesian
- 48.- Studies on the characteristics of some products from tamarind ( Tamarindus indica) kernal. Bhattacharya-Sila, Journal of food Science and technology 1994, 31 (5) 9 372-376
- 49, 50.- Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (Tamarindus indica L).Tsuda-Takanori; Watanabe-Mie Oshima-Katsumi; Yamamoto Akira, Kawakishi-Shunro; Osawa; Journal of agricultural and food chemistry 1994 42 (13) 2672-2676.
- 51 .- Luis Castilla Serna ; Joaquin Cravioto; Estadística simplificada para la investigación en ciencias de la salud; Editorial Trillas 1991.

## 13.0 ANEXO

Diagrama de flujo de la preparación de los extractos acuosos y sus fracciones orgánicas.

