



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

.....
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“EFECTO HIPOGLUCÉMICO DE PLANTAS DE LA
FAMILIA *Loranthaceae*”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

DANTE ESPINOZA AGUILAR

ASESOR: M. en C. DAVID SEGURA COBOS



Tlalnepantla, Edo. de México 2006



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.

Este trabajo fue realizado en los laboratorios de Farmacología de la Unidad Interdisciplinaria de Investigación en Ciencias de la Salud y Educación (UIICSE) y Fitoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, con la asesoría del M. en C. David Segura Cobos.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer infinitamente a mis padres Sr. Jorge I. Espinoza Benítez y la Sra. Yolanda A. Aguilar Díaz ya que sin su comprensión, cariño y apoyo brindados en las derrotas y logros que he obtenido, haciendo este un triunfo mas suyo que mío ya que sin ustedes no lo hubiese podido lograr.....Gracias los amo.

A mi abuelito Sr. Alfredo Aguilar Caballero† por confiar siempre en mi y hacerme sentir que siempre se puede salir adelante pues aun la mas feroz tormenta te puede tirar pero nunca sucumbir ante el fracaso y tener las ganas y el deseo de hacerlo mejor cada día de tu vida..... gracias abue

A mis hermanas Berenice y Alejandra pues en los tiempos difíciles estuvieron ahí para darme apoyo e inyectarme ganas para realizar las cosas de mejor modo....gracias

Al Dr. Miguel Ángel Aguilar Díaz ya que sin tu apoyo no hubiera podido lograr esta meta Gracias tío

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por ser una pieza fundamental en mi formación y desarrollo profesional.....Gracias

A mi maestro y asesor M.en C. David Segura Cobos por haberme dedicado tiempo y asesorarme de la mejor manera posible y además de su excelente calidad humana Gracias Prof.....

A la Dra. Rocío Bautista y a M.en C. Horacio por sus consejos y gratos momentos en el laboratorio pero lo mas importante es que me brindaron su amistad..... Gracias

A mis profesores de la carrera ya que sin ellos llegar no hubiera sido posible....Gracias

A mis amigos de la carrera y grupo, los Piut`s: David (pocho), Cristian, Eric y Jorge,Ramse,Victor, Erick (pelón), Omar, Ángel, Moisés (suave), Isis, Maribel (tele), Lizbeth, Maru, Nadya, Sonia, Julieta, Eliza, Estela, Jaqui, Jessica, Adriana, Lizeth, Karen, Rizo, Ariadna, Norma, Diana, Alejandra,Arabel,Gina, Vania, Maru (hija), Valerio, Israel (mac), Alejandro (abuelo), Pedro, Aníbal, Eduardo, Bárbara, Natalia, Ariadna (flaca), Cesar, Jaqueline, Roxana, Néstor, Gustavo, David, Ofelia, Cecilia, Denisse, Lupe y a todos los que he conocido gracias a mi estancia en la UNAMGracias por todos los momentos y por dejarme prender un poco de cada uno de ustedes

A Naviela por ser mi motivación para seguir adelante, gracias por aparecer en mi vidaTe amo

A Lic. Oscar Ilizaliturri amigo y confidente desde la preparatoria, amigo gracias

A Roselia Saldivar por estar conmigo en momentos difíciles y saber que cuento contigo amiga gracias

A toda mi familia por el apoyo y confianza que siempre depositaron en mi Gracias a todos

A los integrantes del equipo representativo de Natación de la UNAM, Isaac, Manolo, Memo (compadre), Ernesto, Haydee, Raymundo, Oswaldo, Lorena (a ti te agradezco por estar en uno de los momentos mas difíciles de mi vida) y al

entrenador en jefe y amigo Raúl E. Porta Contreras, ya que sin tus sabios consejos y apoyo el deporte no habría servido para nada Gracias

DEDICATORIAS

A mis padres Jorge I. Espinoza Benítez y Yolanda Aguilar Díaz, porque nunca perdieron la confianza en mí y me alentaron a luchar para conseguir la meta, los admiro y respeto y esta tesis es más suya que mía por todo el empeño que pusieron sobre mi para que yo terminara.

Gracias.....

A mi abuelito Alfredo Aguilar Caballero† por alentarme en los momentos más difíciles en mi vida y aunque físicamente no esta aquí yo se que desde el cielo estará contento de que haya logrado concluir lo que me propuse. Gracias

A mis hermanas Berenice y Alejandra por su compañía y consejos por siempre estar conmigo.....Gracias

A mi asesor M.en C. David Segura Cobos pues sin su apoyo no hubiese podido concluir este trabajo, mil gracias Prof...

A ti Naviela, por estar apoyándome en los últimos momentos de mi carrera, por aparecer en mi vida y ser mi combustible para vivir TE AMO. Gracias

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN:	10
1.1. Diabetes mellitus.....	10
1.2. Fisiopatología de la DM.....	16
1.3. Diagnóstico de la Diabetes.	17
1.4. Farmacología de la Diabetes Mellitus (DM)	18
1.5. Fármacos hipoglucémicos orales.	18
1.5.1. Sulfonilureas:	18
1.5.2. Biguanidas:	19
1.5.3. Tiazolidindionas:.....	20
1.5.4. Inhibidores de 1- glucosidasa:	20
1.5.5. Repaglimida:.....	21
1.5.6. Inyectables (Insulina)	21
1.6. Biología de la familia Loranthaceae.....	27
1.7. Fitoquímica de la familia Loranthaceae	28
1.7.1. Compuestos micromoleculares	29
1.8. Descripción Botánica.	31
1.8.1. Struthanthus sp.	31
1.8.2. Psittacanthus calyculatus (DC). G:Don.	32
1.8.3. Phoradendron villosum Nutt.....	34
2. ANTECEDENTES.....	36
3. JUSTIFICACIÓN.....	37
4. OBJETIVOS.....	39
4.1 Objetivo general :	39
4.2 Objetivos Particulares:.....	39
5. MATERIAL Y MÉTODOS:.....	40
5.1 Colecta de la planta e identificación.	40
5.2 Modelo Animal para Diabetes Mellitus Tipo 2.....	41
5.3 Fraccionamiento químico del extracto acuoso.	41
5.4 Prueba de tolerancia a la glucosa.....	41
5.5. Determinación de la glucosa sanguínea.....	42
5.6 Composición.....	42
5.7 Inducción de la DM.....	43
5.8 Análisis de Orina.....	43
5.9 Análisis Estadístico:	43
6. METODOLOGÍA	44
7. RESULTADOS :	45
7.1 Hiperglucemia y pérdida de peso en ratas diabéticas...45	
7.2 Otros signos clásicos de Diabetes Mellitus en ratas tratadas con estreptozotocina.	47

Dante Espinoza Aguilar

7.3 Parámetros urinarios en organismos diabéticos.....	50
7.4 Efecto hipoglucémico de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	51
7.5 Efecto hipoglucémico de <i>Phoradendron villosum</i>	55
7.6 Efecto de <i>Struthanthus</i> sp.....	56
7.7 Cromatografía.....	57
8. DISCUSIÓN.....	59
9. CONCLUSIÓN.	64
10. BIBLIOGRAFÍA :.....	65

RESUMEN

En la búsqueda de fármacos hipoglucemiantes orales más eficaces y seguros para el tratamiento de la Diabetes Mellitus (DM) se ha retomado el interés en las plantas medicinales. En nuestro país más de 8 por ciento de la población (más de cinco millones de personas) entre 20 y 62 años de edad vive con diabetes, La DM es un trastorno crónico del metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas y su característica distintiva es el defecto, déficit o nula respuesta de secreción de insulina y que da como resultado la alteración del uso de los carbohidratos (glucosa) dando como resultado hiperglicemia. En el presente trabajo se evaluó la actividad hipoglucemiante de plantas epífitas conocidas como muérdagos verdaderos de la familia *Loranthaceae* como *Struthantus quercicola*, *Psittacanthus calyculatus*, *Phoradendron villosum* que se recomiendan etnobotánicamente para el tratamiento de la DM. Se utilizaron ratas Wistar machos de 180-200 g de peso. Los extractos etanólicos de las hojas se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) al sexto día de la inducción de la diabetes con estreptozotocina 60 mg/kg, i.p. y se evaluó el efecto antihiper glucémico 24 h después. Como fármaco de referencia se empleó tolbutamida 40 mg/kg. El extracto etanólico de *S. quercicola* (300 mg/kg) no mostró efecto hipoglucemiante. El extracto etanólico de *P. calyculatus* (400 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia de 312 ± 45 a 144 ± 13 mg/dL; la fracción soluble en agua (400 mg/kg) del extracto etanólico redujo la hiperglucemia en un 70 % (de 282 ± 43 a 84.5 ± 23 mg/dL). El extracto etanólico de *P. villosum* (400 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 56% (de 377 ± 42 a 125 ± 28 mg/dL). La fracción soluble en agua del extracto etanólico de *P. villosum* (300 mg/kg) disminuyó los niveles de hiperglucemia en un 45% (de 319 ± 20 a 176 ± 43 mg/dL). Estos resultados validan el uso en la medicina tradicional para el tratamiento de la DM de las hojas de *P. calyculatus*, *P. villosum*.

Dante Espinoza Aguilar

población adulta y teniendo menor efecto en la población juvenil. En México, actualmente hay alrededor de seis millones de personas afectadas por DM de las cuales más de dos millones de personas no han sido diagnosticadas.



Fig 2 . Modelo computarizado de la estructura de la insulina

Para combatir este problema, el Programa Nacional de Salud ha establecido políticas y estrategias para reducir la morbilidad y desacelerar la mortalidad de este padecimiento, estas medidas incluyen los proyectos de investigación relacionados con la medición de la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la prevención y control de la DM. Esta enfermedad se divide en 3 tipos principalmente: Tipo I (Insulino Dependiente), Tipo II (No insulino Dependiente) y la Diabetes Gestacional. Existen también otros tipos de DM, los cuales se abocan más a defectos genéticos y padecimiento de enfermedades (Goodman & Gilman, 1996).

La DM tipo 1 se presenta en niños y su frecuencia es máxima en adolescentes; los factores ambientales contribuyen al origen de la enfermedad, superpuestos con predisposición hereditaria. Aunque se desconoce su causa, la

Dante Espinoza Aguilar

teoría patógena autoinmune es atractiva y considera las siguientes características: Infiltrado de mononucleares, tal vez de linfocitos T citolíticos en los Islotes de Langerhans (células β -pancreáticas, Fig. 3), frecuentes anticuerpos contra células insulares y la presencia de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (Greenspan y Strewler, 1998).

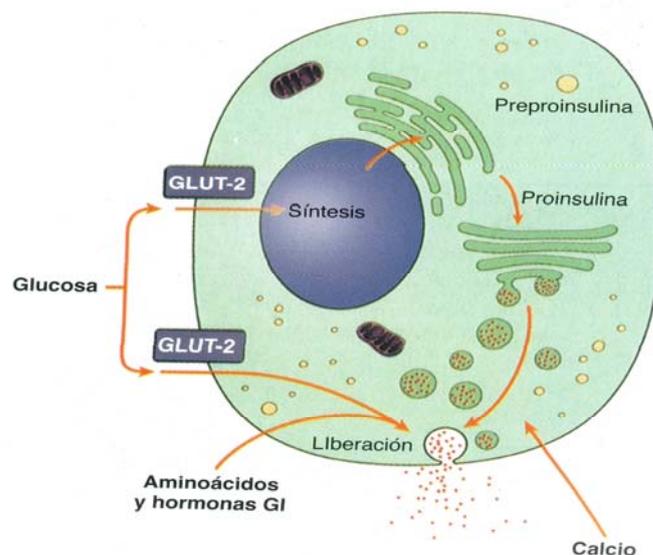


Figura 3. Célula β -pancreática. (Imagen tomada de internet)

La DM tipo 2 se presenta en adultos, su frecuencia aumenta con la edad. Cerca del 10% de las personas mayores de 65 años están afectadas. Los factores genéticos son determinantes para que se presente la DM tipo 2, pero su interacción no es clara porque se puede confundir con un síndrome con múltiples alteraciones asociadas como la resistencia a la insulina, descarga de la glucosa, padecimientos oculares, ceguera o glaucoma e hipertensión arterial, además de la falta de circulación de la sangre provocando gangrena en los pacientes (Fig. 4).

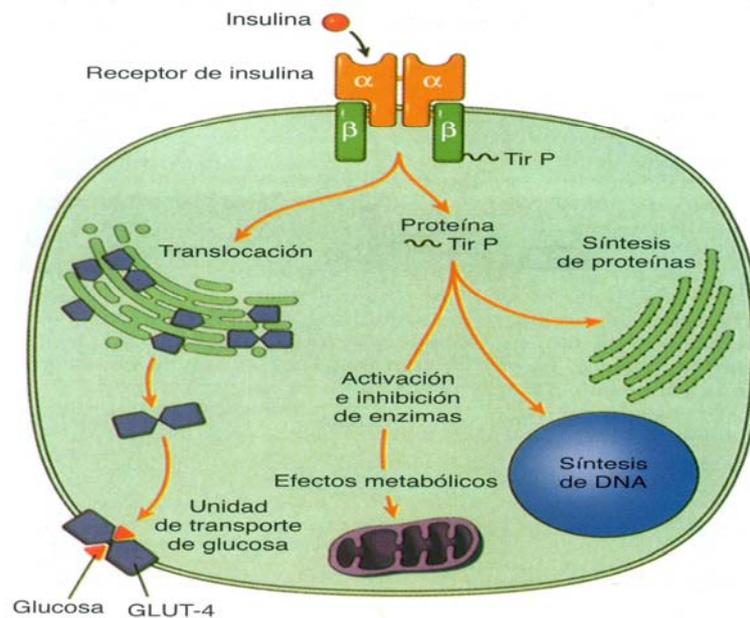


Fig 4. Célula muscular. (Imagen tomada de internet)

Factores patogénicos:

- Una mala producción de insulina puede traer una baja considerable en la producción, disminución de liberación de insulina endógena y un mal procesamiento de insulina.
- Alteración del metabolismo intracelular de la glucosa.
- Disminución en el número de receptores a la insulina en células de los tejidos periféricos.
- Resistencia a la insulina con menor sensibilidad de los tejidos a la insulina, principalmente en músculo esquelético y tejido adiposo.

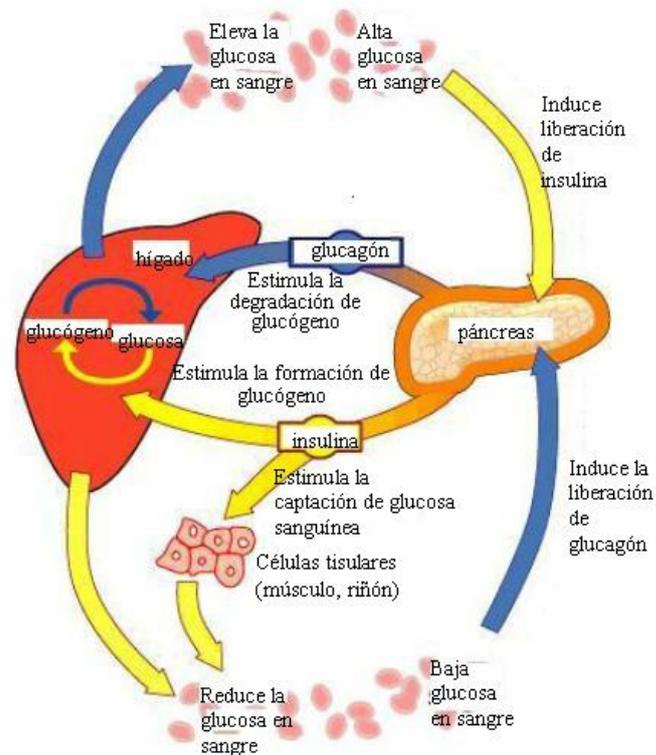


Fig. 5 Regulación de la glucosa sanguínea. (Imagen tomada de internet)

Algunos factores constitucionales como la dieta habitual (el consumo excesivo de alimentos ricos en carbohidratos y lípidos) y el ritmo sedentario de vida que lleva el ser humano pueden tener como resultado un sobrepeso; a esto se le llama obesidad, influyendo de manera directa sobre la expresión del trastorno (Tabla 1) .

Tabla 1 .- Características de la Diabetes Mellitus.

DM Características	TIPO 1	TIPO 2
Edad al comienzo	Antes de los 20 años	Después de los 30 años
Tipo de comienzo	Abrupto, a menudo grave	Gradual, progresivo
Peso corporal usual	Normal	Excesivo
Antecedentes familiares	En menos del 20% de los casos	En el 60% de los casos
Anticuerpos contra células insulares	Sí	No
Lesiones insulares tempranas	Inflamación	No
Lesiones insulares tardías	Atrofia y Fibrosis	Fibrosis y Amiloidosis
Células Beta	Muy disminuidas	Normales o algo disminuidas
Insulina sanguínea	Muy disminuida	Elevada o normal
Antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad	Sí	No
Cetoacidosis	Presente	Elevada o Normal

En el mundo se estima una prevalencia de DM conocida entre 1-3% de la población; dando como resultado que los casos de DM sin diagnosticar suponen un 2-4% de la población. La DM tipo 2 se estima entre un 2-6% y la prevalencia de DM tipo 1 se estima en un 0.2% de la población. De todas formas parece ser difícil establecer de manera precisa la prevalencia de DM, al haberse utilizado diversos criterios para su diagnóstico (Foster, 1998).

A medida que se prolonga la evolución de la enfermedad se produce una disminución en la producción de insulina que requiere la administración de suplementos de la misma para conseguir un adecuado control de la glucemia, especialmente durante situaciones de estrés y enfermedad. De manera que se estima que hasta un 50% de los pacientes con DM tipo 2, de forma eventual,

precisan del tratamiento con insulina para control de la hiperglucemia (Evans y Krentz, 1999).

1.2. Fisiopatología de la DM

Veamos primero la interrelación entre dos clases de hormonas con acciones opuestas. La insulina determina la disminución de la glucemia a través del estímulo de su captación por las células. Por medio de esta acción promueve la glucogenogénesis, lipogénesis y glucólisis. Las hormonas antagonistas, glucagón y adrenalina determinan glucogenólisis y lipólisis; los corticoides inducen gluconeogénesis, la somatotrofina inhibe la captación celular de glucosa y la glucólisis. Con la carencia de insulina, las hormonas antagonistas no son contrabalanceadas y el primer efecto es la hiperglucemia al que sigue la superación del umbral renal para la reabsorción de glucosa con la consiguiente glucosuria. A continuación se produce poliuria por arrastre de agua y electrolitos del fluido tubular. La consecuencia de todo esto es la deshidratación extracelular e hipovolemia. También existe deshidratación del compartimiento intracelular por salida de agua debido a la hiperosmolaridad plasmática causada por la hiperglucemia. Por otra parte, se intensifica la lipólisis que también aumenta la liberación de glicerol que es usado por la gluconeogénesis que incrementa la hiperglucemia y las alteraciones mencionadas. Las proteínas, especialmente las musculares, son hidrolizadas para formar glucosa. Otro hecho importante de la lipólisis es la oferta de ácidos grasos libres al hígado para su oxidación a cuerpos cetónicos (ácido acetoacético, beta hidroxibutírico y acetona) que pueden ser utilizados por las células como fuente de energía supliendo la imposibilidad del consumo de glucosa. La cantidad de cuerpos cetónicos producidos supera la capacidad de su oxidación celular y su acumulación en la sangre desencadena acidosis y agravamiento de la hiperosmolaridad. La acidosis cetonémica produce anorexia y vómitos con estimulación respiratoria (taquipnea e hiperpnea) que agravan las pérdidas de agua y electrolitos. La deshidratación celular y acidosis en el sistema nervioso alteran el funcionamiento neuronal pudiendo llegar al coma.

1.3. Diagnóstico de la Diabetes.

El diagnóstico se debe confirmar mediante determinación de glucosa en sangre y orina; de estas dos pruebas, la más importante es la determinación de glucosa en la sangre venosa, con pacientes totalmente en ayunas.

Se considera diagnóstico de DM cuando los niveles de glucosa venosa sobrepasan:

Sangre venosa: ≥ 126 mg/dL (≥ 7.0 mmol/L) (Normal < 110 mg/dL)

Sangre capilar: ≥ 126 mg/dL (Normal < 110 mg/dL)

Se requieren exámenes con resultados anormales para hacer el diagnóstico.

También son de utilidad las pruebas de tolerancia a la glucosa oral. Para evitar falsos positivos, el diagnóstico de DM se limita a la comprobación de hiperglucemia mediante los siguientes criterios:

- Después de ayuno nocturno, ≥ 140 mg/dl de glucosa plasmática, en dos ocasiones durante un periodo de dos horas, a la mañana siguiente.
- Después de ingerir 75 g de glucosa, glucemia ≥ 200 mg/dl en ambas determinaciones, durante una prueba de dos horas (Glucosa postprandial).

1.4. Farmacología de la Diabetes Mellitus (DM)

Los objetivos del tratamiento de la DM son un control metabólico adecuado y la prevención de complicaciones agudas o crónicas. Desde el punto de vista farmacológico tenemos dos tipos de tratamiento: Hipoglucemiantes orales e inyectables (insulina) (Alberti y Zimmet, 1998).

1.5. Fármacos hipoglucémicos orales.

Los hipoglucemiantes orales en estricto rigor debiesen denominarse normoglicemiantes orales, ya que éste es su verdadero efecto farmacológico. Son llamados normoglicemiantes:

1.5.1. Sulfonilureas:

Corresponden a los derivados de las sulfamidas. Se conocieron gracias a una reacción adversa que provocaba una sulfa utilizada como antibiótico, que consistía en convulsiones e hipoglucemia. Las sulfonilureas que primero se descubrieron (sulfonilureas de primera generación) fueron la clopropamida y la tolbutamida. De segunda generación son la glibenclamida, la glipizida y la glimepirida.

El efecto inicial de estos fármacos consiste en aumentar la liberación de insulina y reducir la glucosa plasmática (Hardman y col. 1996).

Mecanismo de Acción:

Las sulfonilureas causan hipoglucemia actuando fundamentalmente en la estimulación de las células pancreáticas β para la liberación de la insulina, la reducción de la glucosa plasmática, lo cual permite que la insulina circulante tenga efectos más pronunciados sobre sus tejidos blancos, también pueden estimular la liberación de somatostatina y puede disminuir un poco la secreción de glucagón (Hardman y col, 1996) .

Dante Espinoza Aguilar

Existen receptores específicos de sulfonilureas en la células β , son canales iónicos asociados a canales de calcio; además de que disminuyen la liberación de glucagón trayendo como consecuencia una hiperinsulinemia portal que disminuye la síntesis hepática de la glucosa y aumenta el transporte, uso de la glucosa hacia los tejidos periféricos. No se conoce bien si la acción es a nivel de un aumento de los receptores.

Son propiedades farmacológicas de las sulfonilureas su absorción rápida y completa, su alta unión a las proteínas plasmáticas (70 a 99%), su metabolismo hepático y su excreción renal por secreción tubular. El metabolismo hepático convierte a las sulfonilureas en metabolitos inactivos, salvo en el caso de la clorpropamida y la glimeprida.

Las reacciones adversas de las sulfonilureas se dan en un 3-6% de los pacientes y corresponden a hipoglucemia (la más importante); reacciones alérgicas como la dermatitis, fotosensibilidad y problemas hematológicos; síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética (ADH), hepatitis colestásica y efecto Antabus (eritema facial e hipotensión al ingerir alcohol). Las tres últimas están descritas para la clorpropamida.

Las sulfonilureas son los únicos fármacos contra la diabetes que provocan hiperinsulinemia.

1.5.2. Biguanidas:

Son antihiperglucemiantes no hipoglucemiantes, no causan liberación de insulina a partir del páncreas incluso a dosis elevadas; su mecanismo de acción se da al parecer en un aumento de la sensibilidad de insulina en los tejidos periféricos, así como la reducción de la producción hepática de glucosa debido a la inhibición de la gluconeogénesis.

Dante Espinoza Aguilar

Mecanismo de acción :

El principal mecanismo de acción se centra en los tejidos periféricos, aumentando el metabolismo de la glucosa por el aumento de la sensibilidad a la insulina. Esto ocurre porque el receptor de la insulina aumenta su actividad, ya que está ligado a la tirosin-cinasa, la biguanida aumenta la traslocación del transportador GLUT-4.

Un efecto secundario importante es que alteran el perfil lipídico porque disminuyen los triglicéridos plasmáticos y lipoproteínas de alta densidad (HDL) provocando molestias abdominales, diarreas, náusea, sabor metálico y anorexia.

Sus principales propiedades farmacológicas son su absorción rápida y completa, no se unen a las proteínas plasmáticas, no se biotransforman y se excretan por vía renal en forma activa.

1.5.3. Tiazolidindionas:

Corresponden a la troglitazona, la rosiglitazona y la pioglitazona.

Mecanismo de acción :

Se unen al receptor nuclear de proliferación de los peroxisomas (PPAR γ), con ello estimulan la transcripción de genes de enzimas que participan en el metabolismo de la glucosa y lípidos, mejorando así la sensibilidad a la insulina. No aumentan la secreción de insulina; finalmente logran aumentar la captación de glucosa y la fijación de la insulina.

1.5.4. Inhibidores de α - glucosidasa:

Entre los que se encuentran la acarbosa y el miglitol.

Mecanismo de acción:

Dante Espinoza Aguilar

Inhibe la enzima α -glucosidasa, con lo que se impide la absorción de almidón y sacarosa, disminuyendo la glicemia postprandial. No se absorbe, actúan en forma local en el lumen intestinal, en el 30% de los pacientes; se dan reacciones adversas gastrointestinales de flatulencia, meteorismo o diarrea. Si la dosis es progresiva se evitan efectos colaterales. Sus usos son como una alternativa terapéutica en diabetes con hiperglucemias leves o en asociación a sulfonilureas (Hardman y col., 1996).

1.5.5. Repaglimida:

Es un fármaco nuevo que favorece la secreción de insulina, a nivel pancreático, pero no se conoce como actúa.

Los hipoglucemiantes orales llegan a un 90% de su efecto total a la mitad de su dosis máxima recomendada. De ahí en adelante se gana muy poco al llegar a la dosis máxima.

1.5.6. Inyectables (Insulina)

La insulina disminuye el nivel de glucosa sanguínea, aumentando la captación de glucosa y el metabolismo por los tejidos periféricos (músculo y tejido adiposo) y suprimiendo la producción hepática de glucosa.

En la tabla 2, se muestran los tipos de fármacos de insulina inyectable y su efecto.

Tabla 2.- Tipos de Insulina.

Tipo de insulina	Inicio del efecto	Efecto máximo (Horas)	Duración del efecto (Horas)
Acción corta (regular)	30 min.	2-5	5-8
Acción intermedia (lenta)	1-3 Horas	6-12	16-24
Acción prolongada (ultra lenta)	4-6 Horas	8-20	24-28
Mezclas 70/30,50/50	30 min.	7-12	16-24

La principal complicación de la insulina es la hipoglucemia. Las consecuencias de la hipoglucemia pueden ser mayores en las personas de edad avanzada. También puede presentarse lipodistrofias, formación de anticuerpos e inclusive resistencia a la insulina y alergias (Cotran y col., 2000).

La utilización de la insulina en pacientes con DM tipo 2 ha sido un tema controvertido al haberse relacionado la hiperinsulinemia e hiperglucemia con la enfermedad aterosclerótica; así, las observaciones de algunos estudios epidemiológicos sugieren la existencia de un mayor riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular entre los pacientes de DM que se relaciona con la presencia de elevados niveles de insulinemia (Rosenstock, 2001; Haffner, 1999). Sin embargo, no se dispone de ninguna evidencia que de forma directa relacione el tratamiento con insulina con el desarrollo de ateroma o de hipertensión (Rosenstock, 2001; Osei, 1999); adicionalmente, tampoco se ha puesto de manifiesto la existencia de un mayor riesgo de sufrir un infarto de miocardio entre los pacientes tratados con insulina.

El conocimiento del perfil de la glucemia puede ser útil para establecer el régimen específico de insulina. En principio, debe administrarse al menos dos veces al día para mantener adecuados los niveles de insulina a lo largo del día; algunos pacientes precisan múltiples (tres o más) inyecciones diarias de insulina para conseguir un adecuado control de la glucemia (Rosenstock, 2001). No existe ninguna pauta estandarizada para la administración de la insulina en sujetos con DM; así su utilización varía entre los profesionales y, si el médico es el mismo, varía entre los pacientes (Alberti y Zimmet, 1998).

Los diferentes preparados de insulina están formulados para proporcionar diferentes duraciones de acción. La de menor acción es la insulina regular, administrada por vía subcutánea; la insulina regular inicia su acción a los 30 minutos, alcanzando concentraciones máximas en un lapso de 1-3 horas, siendo la duración total de 1-3 horas.

Dante Espinoza Aguilar

Las insulinas de acción intermedia (NPH o lenta) inician su acción a las 1-2 horas de haberse administrado, alcanzando concentraciones máximas a las 4-12 horas, siendo la duración del efecto de 18-24 horas (Foster, 1998).

1.5.7. Medicina tradicional mexicana.

México está considerado entre los 12 países megadiversos debido a que alberga en su superficie del 60 al 70% de la biodiversidad del planeta, como ejemplo está que nuestro país ocupa el 1^{er} lugar en reptiles, 2^{do} en mamíferos y el 4^{to} en anfibios y plantas, albergando en total el 10% de la biodiversidad terrestre del planeta, debido a sus variadas condiciones geográficas, orográficas, climáticas y edafológicas.

Su población a través del tiempo ha sabido apropiarse de estos recursos naturales, atendiendo a la utilidad que les proporcionan; así encontramos plantas que son utilizadas para alimentación, fontanería, oramentación y/o medicinal.

Las plantas medicinales forman parte importante de los recursos terapéuticos que se emplean en la medicina tradicional popular mexicana y han representado desde siempre una alternativa a otros tipos de salud como la medicina alópata, homeópata o la fitoterapia (Aguilar, Cano y Rodarte, 1994).

Las plantas usadas tradicionalmente están en relación directa con las enfermedades de alguna región, ocupando así un lugar importante en la vida cotidiana de las comunidades.

La utilización de las plantas medicinales se ha producido en todas las culturas desde tiempos remotos y se trata del sistema más elemental y sencillo para conseguir su efecto terapéutico, la utilización en diferentes preparados ya sea en té, infusión, cocimiento o maceración en agua.

La extraordinaria riqueza florística de México, de las 26 500 especies reportadas en nuestro país, aproximadamente 9 500 son endémicas, lo cual ubica a México en cuarto lugar mundial, permitiendo que la herbolaria floreciera desde la época prehispánica (SAGARPA, 2001).

Dante Espinoza Aguilar

Actualmente, la medicina tradicional está teniendo un gran auge debido principalmente a que las plantas medicinales son aplicadas con éxito en la vida diaria, ya sea en forma de infusión, tintura o extracto, que son usadas en la terapéutica en base a determinadas sustancias con efectos benéficos contenidas en ellas (Aguilar y col. , 1994).

En base a los resultados obtenidos de los estudios etnobotánicos de campo y de mercado por Martínez (1980), García (1981), Legorreta (1989) y Aguilar y col (1993), entre otros de las 800 especies registradas mundialmente como antidiabéticas, alrededor del 18.75% han surgido como resultado de investigaciones etnobotánicas hechas en México

Se han registrado alrededor de 4000 especies con atributos medicinales, representando el 15% de la flora total. Se considera que una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa, no obstante se calcula que en México y en el mundo la validación química, farmacológica y biomédica se ha llevado a cabo solo en el 5% de las especies (Huerta, 1997).

Las plantas medicinales continúan sirviendo como agentes terapéuticos tanto en la medicina moderna como en la tradicional; la duda acerca de la eficacia y seguridad de los agentes hipoglucemiantes orales ha promovido la búsqueda de fármacos más eficaces y seguros para el tratamiento de la Diabetes Mellitus (DM). Una gran variedad de remedios tradicionales a base de hierbas se utilizan para el tratamiento de la DM, representando nuevas fuentes para obtener nuevos medicamentos hipoglucemiantes alternativos (Román Ramos y col., 1991, 1992, 1995; Alarcón-Aguilar y col., 1998).

De 1930 a 1970 se produjo una drástica disminución en el uso de las plantas con propiedades medicinales, provocado por la producción a gran escala de productos sintéticos con características similares a las que poseen las plantas medicinales, siendo estos productos de mayor eficacia curativa.

Como consecuencia, el estudio de las plantas medicinales como un recurso importante de la herbolaria, ha entrado en una etapa de gran interés médico y

Dante Espinoza Aguilar

científico nacional e internacional. Dicha situación, obedece en parte al convencimiento de que el estudio de los recursos vegetales del país permitiera afrontar las carencias y costos de los medicamentos que cada vez tienen costos más elevados y consecuentemente para la mayoría de la población son difíciles de adquirir, siendo notorio que en los últimos años se halla replanteado la utilidad y vigencia de la herbolaria bajo un enfoque biotecnológico (Montoya, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que más del 70% de la población mundial tiene que recurrir a la medicina tradicional como única alternativa a su alcance para resolver sus principales problemas de salud. Esto ha motivado la realización de estudios experimentales y clínicos encaminados a la validación científica de las propiedades medicinales que la población atribuye a muchas plantas (Alarcón, Ramos y Flores, 1993).

La secuencia seguida en el estudio experimental de plantas anti diabéticas es, generalmente la misma que se sigue con cualquier planta medicinal. Una vez que se conocen las propiedades médicas de la planta como resultado de las investigaciones etnobotánicas se procede a la realización de los estudios de farmacología experimental en diferentes animales de laboratorio, que buscan demostrar que la preparación popular o el principio activo aislado, posee efectos farmacológicos importantes. Después es necesario llevar a cabo estudios toxicológicos, con la finalidad de probar que el índice terapéutico es lo suficientemente seguro para iniciar los estudios clínicos.

Los modelos para el estudio de la DM son variados y ya están estandarizados para su fácil preparación. Los modelos utilizando animales de fácil manejo facilita la toma de muestras, es por eso que se utilizan a los ratones, ratas, cuyos y conejos para este tipo de estudio, además de que a estos animales se les conoce toda su fisiología y anatomía, el mantenimiento es más fácil y esto permite la estandarización las técnicas.

El estudio de las variaciones de la glucemia basal en animales normales, durante un lapso de tiempo como respuesta a la administración de determinada

Dante Espinoza Aguilar

sustancia, representa el método más sencillo en la investigación en plantas con probable actividad hipoglucemiante. En general, este método funciona bien cuando se trabaja con principios activos puros, administrados en dosis altas pero no cuando se desea evaluar el efecto hipoglucemiante de preparaciones tradicionales, donde la concentración del principio activo es baja (Lara, 1992).

Otro método consiste en administrar a los animales sanos una solución de Dextrosa al 50% por vía oral o parenteral (inducción de hiperglucemia temporal), administración previa de la preparación a estudiar, o de agua (control). Como resultado de la cuantificación de la glucemia a intervalos establecidos durante un periodo, tenemos una curva de tolerancia a la glucosa (CTG). En esta podemos estudiar la concentración máxima de glucosa sanguínea (pico hiperglucémico), área bajo la curva (ABC) y comparar los resultados con el grupo control.

Con este método Román y col. (1992) estudiaron el efecto hipoglucémico de 24 plantas usadas empíricamente como antidiabéticas, la sensibilidad del método les permitió estudiar directamente las preparaciones de las plantas citadas y seleccionar aquellas con mayor efecto.

Un tercer método consiste en estudiar animales con hiperglucemia permanente, o sea con DM, dentro de las formas más fáciles de inducir DM a los animales de laboratorio son la quirúrgica donde se practica la extirpación del páncreas (pancreatectomía) y la farmacológica que consiste en la destrucción parcial o total de las células β -pancreáticas de los islotes de Langerhans por la administración de sustancias selectivamente tóxicas, tales como la aloxana y la estreptozotocina.

Entre los medicamentos que se utilizan para controlar este padecimiento se encuentran los hipoglucemiantes orales que actúan principalmente aumentando la secreción y/o la efectividad de la insulina. Las fallas en la dosificación de los medicamentos llevan a un mal control de la glucemia y al desarrollo temprano de complicaciones graves.

1.6. Biología de la familia *Loranthaceae*.

Las lorantáceas tienen especies de plantas parásitas (hemiparásitas) que atacan los órganos aéreos del hospedante como troncos, ramas y ramillas, son de distribución cosmopolita, con aproximadamente 40 géneros y 1300 especies en el mundo.

Las lorantáceas son muy comunes en los bosques de coníferas de México y constituyen además una familia bien representada en la flora de nuestro país, y no desprovista de interés económico (Rzendowski, 1979). A los representantes de esta familia se les conoce con el nombre popular de muérdagos y existen dos tipos: El muérdago enano y el muérdago verdadero.

México es uno de los países con mayor número de especies de muérdago enano en el mundo. De los 31 taxa de *Arceuthobium* reportados en la literatura especializada, 25 se distribuyen en su mayoría en regiones occidentales de Estados Unidos y México, correspondiendo a este último un total de 21 taxa (Rodríguez, 2001).

El muérdago verdadero se encuentra muy poco estudiado a pesar de ser muy importante, pues parasita a muchas especies forestales, destacando el grupo de coníferas y entre ellas al género *Pinus*. Infechan a especies de Encinos (*Quercus*) y árboles frutales que tienen importancia comercial. Pertenecen a este tipo de muérdago los géneros: *Phoradendron*, *Struthanthus*, *Psittacanthus* y *Cladocolea*. Los muérdagos enanos (*Arceuthobium*) y verdaderos (*Phoradendron*, *Struthanthus*, *Psittacanthus* y *Cladocolea*) producen daños en los árboles que parasitan que sobrepasan por mucho a los beneficios. Sin embargo, han sido útiles en diversos campos como en la elaboración de artesanías, producción de forrajes, fuentes de néctar y usos medicinales importantes destacando los muérdagos verdaderos del género *Phoradendron* y *Psittacanthus*, para poder contrarrestar la tosferina, sífilis, epilepsia, arteriosclerosis, trastornos cardiacos, además de utilizarse como diurético, calmar el dolor de cintura y riñón, sin ser datos concluyentes según la

Dante Espinoza Aguilar

medicina popular. Mientras que el muérdago enano *Arceuthobium* se utiliza principalmente contra la tos (Cházaro, 1992).

Los muérdagos verdaderos son de distribución tropical, aunque algunos géneros se han extendido dentro de las zonas templadas. En nuestro país se encuentran en los estados de Veracruz, Yucatán, Puebla, Jalisco, Oaxaca, Sinaloa, Estado de México, San Luis Potosí, Nayarit, Tabasco, Nuevo León, Baja California, Sonora, Coahuila, Tamaulipas, Michoacán y Morelos.

1.7. Fitoquímica de la familia *Loranthaceae*

El análisis de los polifenoles mostró que, junto a las leucocianidinas y las proantocianidinas, el único flavonol detectado fue la quercetina libre y glicosilada. La dihidroquercetina puede seguir dos vías metabólicas: una que por la acción de la flavonol sintasa lleva a la producción de quercetina, o la otra, que produce leucoantocianidinas por la acción de una 3-hidroxiflavanona-4-reductasa. La presencia simultánea de ambos tipos de compuestos sirve para caracterizar al muérdago criollo cuando se lo compara con otras *Loranthaceae* y *Viscaceae*.

En la mayoría de los ejemplares analizados se detectó la presencia de tiramina, cuya concentración no fue superior a los 10 mg%, pero en los ejemplares que parasitan a *Geoffroea decorticans*, los niveles de tiramina pueden superar los 360 mg %. Los componentes proteínicos de los extractos analizados por electroforesis presentan un patrón de distribución diferente del muérdago europeo, pero las proteínas presentan epitopes comunes con las proteínas del *V. album*. (Joon Yeol y col., 2005).

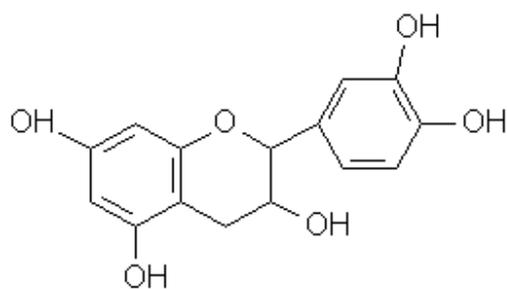
1.7.1. Compuestos micromoleculares

Flavonoides

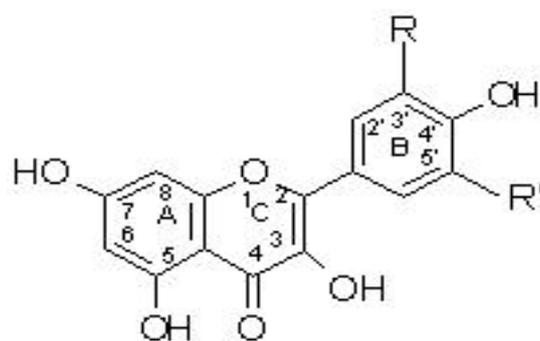
El estudio de los flavonoides de los ejemplares analizados, independientemente del hospedante y del lugar geográfico, revelan la presencia de quercetina como en *L. cuneifolia*; la biosíntesis de estos compuestos puede seguir dos caminos. En uno de ellos, la dihidroquercetina es oxidada por la enzima flavonol sintasa y genera quercetina; parte de este compuesto se acumula, pero gran parte sufre glicosidaciones en el OH del carbono 3 por la enzima UDPazúcar: flavonoide 3-O-glicosil transferasa. En el otro camino, el grupo ceto de la dihidroquercetina es reducido por acción de la enzima 3-hidroxilflavanona-4-reductasa NADPH dependiente y origina leucocianidina. Este compuesto puede ser transformado en flavan-3-oles [(+) catequina o (-) epicatequina] por la 3,4-cis-diol-reductasa. Ambos, la leucocianidina y los flavan-3-oles pueden ser condensados y originar dímeros, oligómeros y polímeros por la actividad del complejo enzimático proantocianidina sintasa (Joon Yeol y col., 2005).

La vía biosintética de los flavonoides en *L. cuneifolia* es menos compleja si se compara con la de *V. album*, porque este presenta una diversificación en la biosíntesis, debido a la acción de la S-adenosil-L-metionina-X-O-metilasa (SAM) que genera flavonoides metilados (Becker y col., 1978; Becker y col., 1980), compuestos no detectados en el muérdago criollo (Figura 7). El único flavonol, la quercetina se presenta libre y monoglicosilada con xilosa, ramnosa y arabinosa en el hidroxilo de la posición 3 del esqueleto del flavonol (Joon Yeol y col., 2005).

Además, se detectaron leucoantocianidinas, catequina-4- β -ol y proantocianidinas en distinto grado de polimerización: polímeros, oligómeros y dímeros, que, por tratamiento ácido, producen cianidina (Joon Yeol y col., 2005).



Catequina



Quercitina

Fig. 6. Compuestos micromoleculares (Flavonoides) resultado de estudios fitoquímicos realizados a plantas de la familia Loranthaceae.

Dante Espinoza Aguilar

1.8. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

1.8.1. *Struthanthus* sp.

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Santalales

Familia: Loranthaceae

Género: *Struthanthus*

Nombres comunes

Chimpilla, San Bartolomé, Secapalo.



Fig. 7 *Struthanthus* sp

Botánica y Ecología

Planta que vive sobre otras plantas y se nutre un poco de ellas. Las hojas son más o menos alargadas. Las flores son pequeñas y están en espiga. Originaria de Mesoamérica, habita en clima cálido, desde el nivel del mar hasta los 740 msnm. Asociada a bosque tropical caducifolio y perenifolio.

Usos

Contra menorragia y hemorragias (enfriamiento a la sangre excesivamente caliente), se prepara una infusión con las hojas, en Oaxaca. También se usa contra la diabetes, el mal olor de pies, la tisis, la tuberculosis en Puebla y el susto en Veracruz (Fig.8).



Fig. 8. Estados de la República Mexicana donde se reporta el uso de *Struthanthus* sp

Dante Espinoza Aguilar

1.8.2. *Psittacanthus calyculatus* (DC). G:Don.

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Santalales

Familia: Loranthaceae

Género: *Psittacanthus*



Fig. 9 *Psittacanthus calyculatus* (DC). G:Don.

Nombres comunes

Cabellera, chimpilla, corrigurla, hoja de opinion, lirio parásito, muérdago, secapalo.

Botánica y Ecología

Arbusto erecto de ramas gruesas y cuadradas, de hojas alargadas y gruesas. Las flores de color rojo anaranjado son numerosas y parecen cerillo en las ramas. Los frutos al madurar son negros.

Originario de México, habita en clima templado, con altitudes por encima de los 1800 msnm. Se encuentra asociado a bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, pino y mixto (pino-encino).

Usos

En Puebla y Oaxaca es frecuente su uso en trastornos ginecoobstétricos, solo en Oaxaca se utiliza para la menorragia, esterilidad, como antiabortivo, en Quintana Roo se utiliza inclusive para curar las inflamaciones, sanar las heridas; hasta puede ser utilizado como desinfectante para las heridas, salpullido y quemaduras. En Tabasco preparan un té para beberlo contra los parásitos.

Farmacología

Se ha demostrado que el extracto acuoso obtenido de una muestra de tallos con hojas y flores de *P. calyculatus* ejerce una actividad hipoglucemiante en ratón al administrarlo por intubación gástrica y por vía intraperitoneal en animales hiperglicémicos inducidos con aloxana.

Dante Espinoza Aguilar

Toxicidad

Se realizó un estudio de toxicidad aguda en ratones con un extracto acuoso conteniendo 2% de ácido acético de una muestra de hojas y tallos de *P. calyculatus* y *Phithecellobium dulce*, administrado por vía intraperitoneal demostrando que la toxicidad no se debió a la proteína del extracto.



Fig. 10. Estados de la república mexicana donde se reporta el uso de *Psittacanthus calyculatus* (DC). G:Don

Dante Espinoza Aguilar

1.8.3. *Phoradendron villosum* Nutt

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Santalales

Familia: Loranthaceae

Género: *Phoradendron*

Nombre comunes

Injerto de palo colorado



Fig. 11. *Phoradendron villosum* Nutt

Botánica y Ecología

Planta con porte de árbol, del que crecen muchas ramas parcialmente colgantes y peludas. Las hojas son amplias y con sus puntas redondeadas, las flores crecen en 2 o 4 espigas muy cortas y sus frutos son pequeños y de color rosa o blanco.

Origen desconocido, habita en clima semi-seco entre los 2200 y 2800 msnm.

Asociada a matorral xerófilo y bosque de encino.

Usos

El principal uso que se le da a esta planta es en problemas relacionados con el riñón, como la orina retenida (Durango y Aguascalientes) para lo cual se bebe el cocimiento o la infusión de toda la planta como agua de uso solo por algunos días en ayunas. Sin embargo, también es empleada para problemas pulmonares, de la espalda y dolores en el pecho.

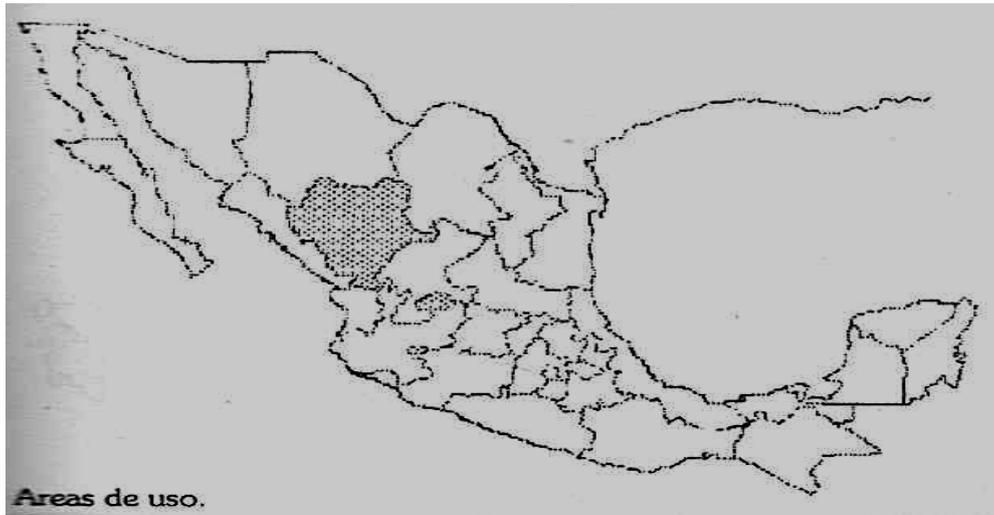


Fig. 12. Estados de la república mexicana donde se reporta el uso de *Phoradendron villosum* Nutt

2. ANTECEDENTES.

En México, Pérez y col. (1984) evaluaron el efecto hipoglucemiante de 21 especies vegetales mexicanas a través de estudios experimentales y la forma tradicional de preparación. Entre las especies estudiadas reportan como planta antidiabética a *Psittacanthus calyculatus* (D.C.) conocido como injerto o muérdago.

Ivora y col. (1989) realizaron una revisión de 1979 a 1988, de plantas y productos naturales con potencial antidiabético entre los extractos crudos de las plantas utilizadas a nivel mundial. De ellas, 45 son descritas a partir del nombre, la parte usada, la acción del extracto y el país de procedencia, 9 de ellas son utilizadas en México, como la sábila (*Aloe vera*) y el nopal (*Opuntia streptacantha*). Además se reporta a *Viscum album* L. de la familia Viscaceae, utilizada en el norte de Asia, Inglaterra, India, Italia, Pakistán y Yugoslavia.

Marles y Farnsworth (1995) revisaron la información de 1200 plantas antidiabéticas y sus constituyentes activos, sus mecanismos de acción, y sus métodos de bioensayos y toxicidad. De las plantas reportadas para México se encuentran 9 especies de diferentes familias, de las cuales 4 son de la familia Loranthaceae y tiene actividad hipoglucemiante: *Loranthus curviflorus*, L. *parasiticus*, *Psittacanthus calycatus* y *Viscum album*.

Calzado y col. (2002) en su estudio "Preliminary chronic toxicological study of *Phoradendron tomentosum* aqueous extract", investigaron el efecto tóxico del "injerto del mezquite" en solución acuosa, no habiendo resultado tóxico en ratas tratadas con estreptozotocina.

Para la realización de este estudio se utilizaron tres muérdagos de la familia Loranthaceae: *Struthanthus densiflorus*, quercícola, que parasita árboles de limón y naranja, *Phoradendron villosum* que parasita a un árbol llamado Guázima (estos en el estado de Veracruz, localidad de Naranjos) y *Psittacanthus calyculatus* que parasita a encinos (*Quercus*) en el estado de Michoacán y *Bursera simaruba* (Chaca) en Naranjos, Ver.

3. JUSTIFICACIÓN

Las plantas son una fuente de nuevas moléculas con actividades biológicas y terapéuticas, que pueden ser más específicas, eficaces y con menos efectos colaterales adversos que los medicamentos actuales empleados en el tratamiento de la DM.

A pesar de que se dispone de la insulina y de los hipoglucemiantes orales, no se tiene un tratamiento para esta enfermedad. La incorporación como agentes terapéuticos de nuevas drogas de origen natural ha ido en aumento y se siguen descubriendo nuevos usos medicinales de algunos productos vegetales de uso tradicional. Los extractos vegetales contienen mezclas de sustancias tan específicas y complejas que han desafiado a la síntesis química.

Esa complejidad de compuestos químicos presentes en las plantas han dado nuevo impulso a las exploraciones etnobotánicas encaminadas a la búsqueda de plantas medicinales con acción hipoglucemiante.

Como este es un problema que involucra a todos los sectores sociales, este proyecto es importante ya que podrá contribuir con el estudio de la medicina tradicional que se utiliza en nuestro país, además de la búsqueda de nuevos fármacos ofrece la posibilidad de encontrar sustancias con novedosos mecanismos de acción que podrán utilizarse en la disección farmacológica de las vías metabólicas involucradas en el control de la glucemia.

Los diversos medicamentos hipoglucemiantes utilizados en la medicina moderna, suelen tener efectos colaterales nocivos como son: vómito, mareos, taquicardia, náuseas entre otros (Aguilar y col, 1994).

Se han realizado investigaciones para encontrar fármacos hipoglucemiantes que no tengan dichos efectos, sin embargo no difieren mucho de los originales, además de ser fármacos de alto costo, por lo que es necesario realizar la búsqueda de nuevos medicamentos con acción hipoglucemiante y una buena alternativa son las plantas utilizadas en la medicina tradicional popular, como el caso de *Psittacanthus calycatus*, *Phoradendron villosum* y *Struthanthus sp* de la familia Loranthaceae,

Dante Espinoza Aguilar

donde se reporta su uso en forma empírica y además estas plantas sólo se ha probado el efecto del extracto acuoso (Pérez y col., 1984; Obatomi y col., 1994); Alvarez C. (2003) realizó un estudio etnobotánico y validó el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso *Phoradendron villosum*, Hernandez -Galicia y col.,2002 realizaron un estudio con *Psittacanthus calycatus*, utilizando su extracto metanólico y Osadebe y col. (2004) validaron el efecto hipoglucemiante de *Loranthus micranthus* .

En México, trece de cada cien muertes se debe a la DM. Esta cifra se acentúa si se analiza solo a los grupos con más riesgo de desarrollar esta enfermedad y sus complicaciones.

En los individuos de entre 40 y 59 años de edad, una de cada cuatro muertes es consecuencia de las complicaciones derivadas para metabolizar la glucosa, principal característica de la DM. En el grupo de edad mencionado las mujeres corren un riesgo 13% más alto que los hombres, de morir por esta enfermedad.

En el presente trabajo se buscó evaluar la actividad hipoglucemiante de varias plantas de la Familia Lorantaceae (muérdagos, injertos o secapalos), lo cual abrirá un nuevo camino en el tratamiento de la DM, por lo que los objetivos son los siguientes:

Dante Espinoza Aguilar

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general :

- Evaluar el efecto hipoglucemiante de plantas de la Familia *Loranthaceae*.

4.2 Objetivos Particulares:

- Preparar los extractos: acuoso, etanólico y clorofórmico con las hojas de las plantas *P. calyculathus*, *P. villosum* y *S. densiforus*.
- Verificar cuáles de ellos tienen efecto hipoglucemiante utilizando 2 modelos diferentes de hiperglucemia (aguda y tratamiento con aloxana) en ratas normoglucémicos y con Diabetes inducida con Estreptozotocina (STZ).
- Inducir DM por la administración de STZ en ratas macho cepa Wistar.

Dante Espinoza Aguilar

5. MATERIAL Y MÉTODOS:

5.1 Colecta de la planta e identificación.

Las ramas de muérdagos de los géneros *Psittacanthus calyculatus*, *Phoradendron villosum* y *Struthanthus sp.* se colectaron en el Municipio de Naranjos-Amatlán, Veracruz. (Tabla 3.)

Tabla 3. Información geográfica del Municipio de Naranjos-Amatlán, Veracruz, México.

Municipio	Naranjos-Amatlán
Localización geográfica	Lat. Norte : 21° 21' Long. Oeste : 97° 41'
Superficie	201.00 Km ²
% del total estatal	0.0027%
Clima	Cálido-Regular con una temperatura promedio de 23.5°C y una precipitación anual de 1600.5 mm
Flora	Ecosistemas que coexisten en el municipio son el de selva media perenifolia.
Fauna	El municipio posee una fauna compuesta por poblaciones de tlacuache, conejo, liebre, ardilla y coyote.

La identificación de las plantas se llevó a cabo en el Herbario de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (IZTA) por la Biól. María Edith López Villafranco.

5.2 Modelo Animal para Diabetes Mellitus Tipo 2

Se utilizaron ratas Wistar machos, de 180-200 g de peso corporal, los cuales se mantuvieron en cautiverio bajo un régimen de dieta estándar de alimento con toma libre de agua.

5.3 Fraccionamiento químico del extracto acuoso.

Primero se prepararon los extractos acuosos, para lo cual se pesaron 60 g de las hojas secas y pulverizadas de las plantas *Phoradendron villosum*, *Struthanthus sp.* y *Psittacanthus calyculatus* y se agregaron 100 mL de agua bidestilada, ebullieron por 20 minutos y se dejaron enfriar, para posteriormente filtrar con papel Watman # 1, secando el extracto acuoso y pulverizándolo. Las hojas secas se pulverizaron; se extrajeron inicialmente con el solvente Hexano para delipidarlas.

El polvo de las hojas secas se extrajo con etanol al 96% durante 24 horas. Posteriormente se filtró con papel Whatman # 1 con cloroformo primero y con metanol después. Los extractos clorofórmico y metanólico se llevaron a secar a rotavapor bajo una presión y temperatura constantes. El extracto etanólico seco se disolvió en agua tibia y se separaron las porciones solubles e insolubles en agua. Se concentraron ambos a sequedad.

Ambos extractos secos se conservaron hasta su uso a temperatura ambiente y cubiertos.

5.4 Prueba de tolerancia a la glucosa.

Para la prueba de tolerancia a la glucosa (Alarcón y col., 1998) se aplicó a los animales una solución de glucosa al 50%, subcutáneamente (2 g de glucosa/kg). Se obtuvieron las muestras de sangre de las venas de la cola de las ratas durante el período de ayuno y en intervalos de 15 min por 1 h después de inyectar la glucosa.

Dante Espinoza Aguilar

Los animales de cada grupo (n=5) recibieron por vía oral, como pretratamiento, una hora antes de aplicar la carga de glucosa:

- A) Agua como control;
- B) Extracto que corresponda (acuoso, etanólico, clorofórmico) de las hojas (en dosis de 200 y 500 mg/kg).
- C) Tulbotamida (60 mg/kg) como fármaco de referencia.

5.5. Determinación de la glucosa sanguínea

Las muestras de sangre se colocaron en las tiras reactivas y los niveles de glucosa sanguínea se determinaron empleando el equipo del sistema ONE TOUCH BASIC (Lifescan Johnson & Johnson Co.). El principio del procedimiento es el siguiente:

La glucosa y el oxígeno reaccionan en presencia de glucosa oxidasa produciendo ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Posteriormente, el peróxido de hidrógeno oxida a los colorantes en una reacción mediada por la peroxidasa, produciendo un color azul (Marks y Dawson, 1965). La intensidad de este color es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

5.6 Composición

Cada cm de la tira reactiva contienen los ingredientes reactivos en las siguientes concentraciones:

-Glucosa oxidasa	14UI
- Peroxidasa	11UI
-3-metil-2-benzotiazolinona clorhidrato de hidrazona	0.06 mg
-Ácido 3-dimetilaminobenzoico	0.12 mg

Dante Espinoza Aguilar

5.7 Inducción de la DM

Para la inducción de la DM se empleo Estreptozotocina (STZ) en dosis de 60 mg/Kg vía i.p.

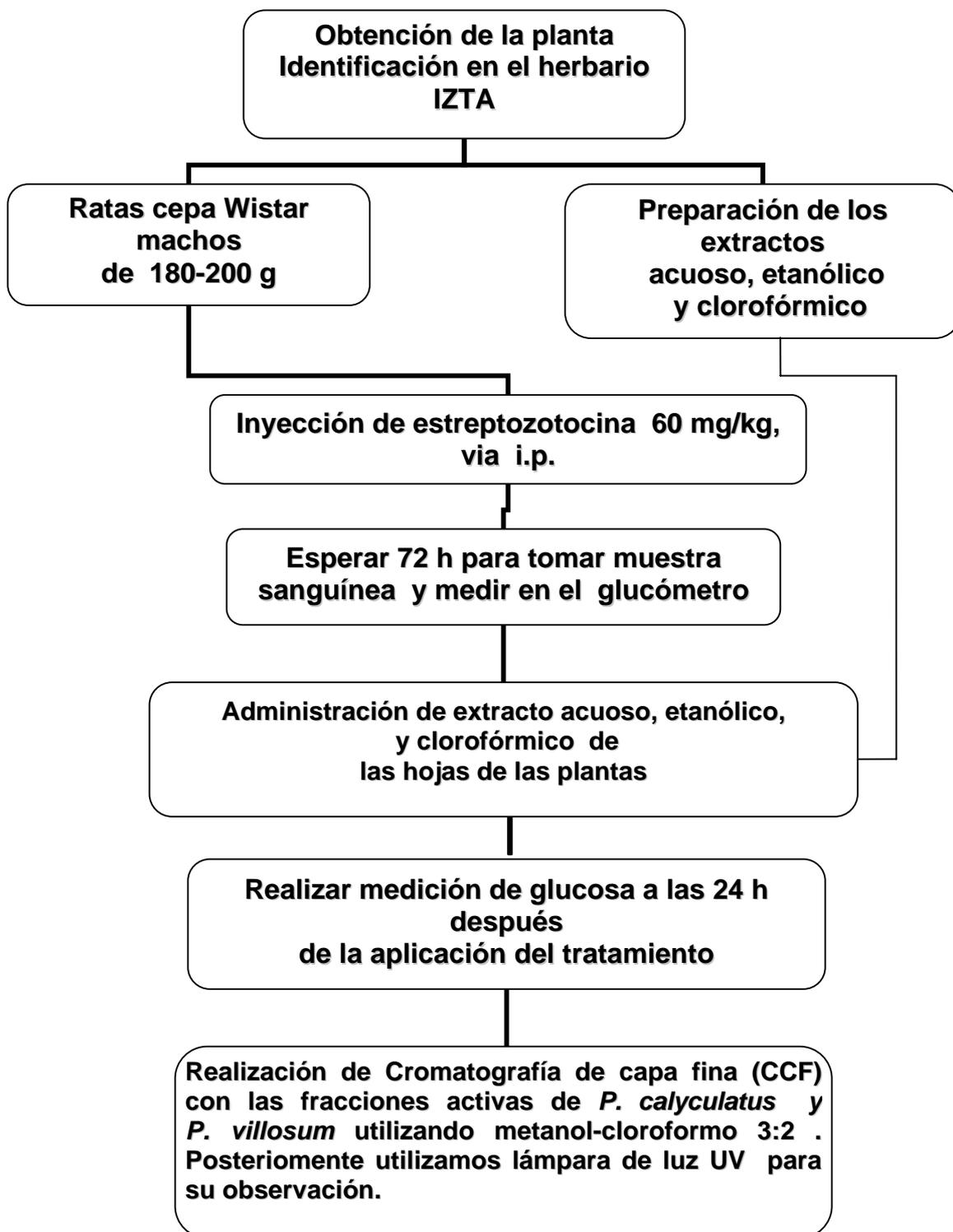
5.8 Análisis de Orina

Para el análisis de orina se utilizaron tiras reactivas Combur 10 Test de Roche.

5.9 Análisis Estadístico:

Se aplicó la prueba "t" de Student para datos no pareados. Se calculó la media y el error estándar de la media ($p > 0.05$).

6. METODOLOGÍA



7. RESULTADOS :

7.1 Hiperglucemia y pérdida de peso en ratas diabéticas.

Entre los signos de la diabetes se presenta la hiperglucemia y la pérdida de peso, por lo que a 5 ratas se les indujo diabetes con estreptozotocina (60 mg/kg, vía i.p) y a los 6 días se registraron la glucemia y el peso corporal. La glucemia de las ratas diabéticas fue 4.5 veces mayor que en los organismos sanos control (Tabla 4 y fig. 13). Además, al comienzo del tratamiento se registró en ambos grupos un peso corporal de 190 ± 4.3 g y al finalizar los organismos diabéticos pesaban un 25% menos que los organismos sanos control (Tabla 4 y Figura 14).

Tabla 4.- Valores de glucemia y peso en ratas control y diabéticas por inducción con estreptozotocina (promedio y EEM; n = 5)

	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)
Control	51.4 ± 2.9	274 ± 6.5
Diabéticas	231 ± 47.2	205.2 ± 9.4

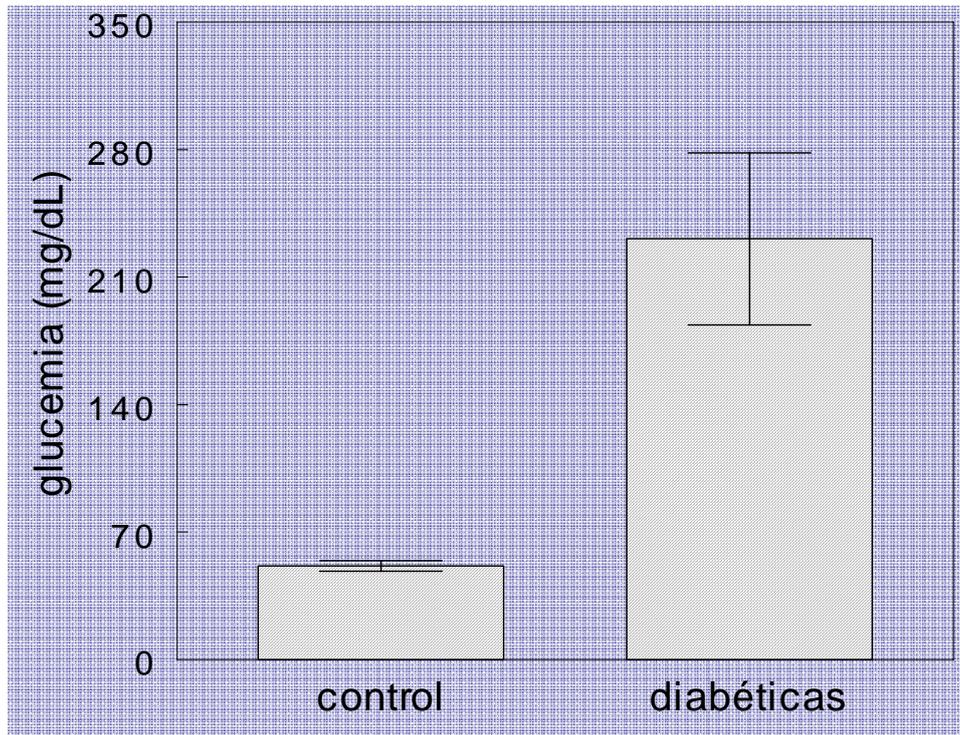


Figura 13.- Glucemia en los organismos control y diabéticos por estreptozotocina. (n=5, p<0.05)

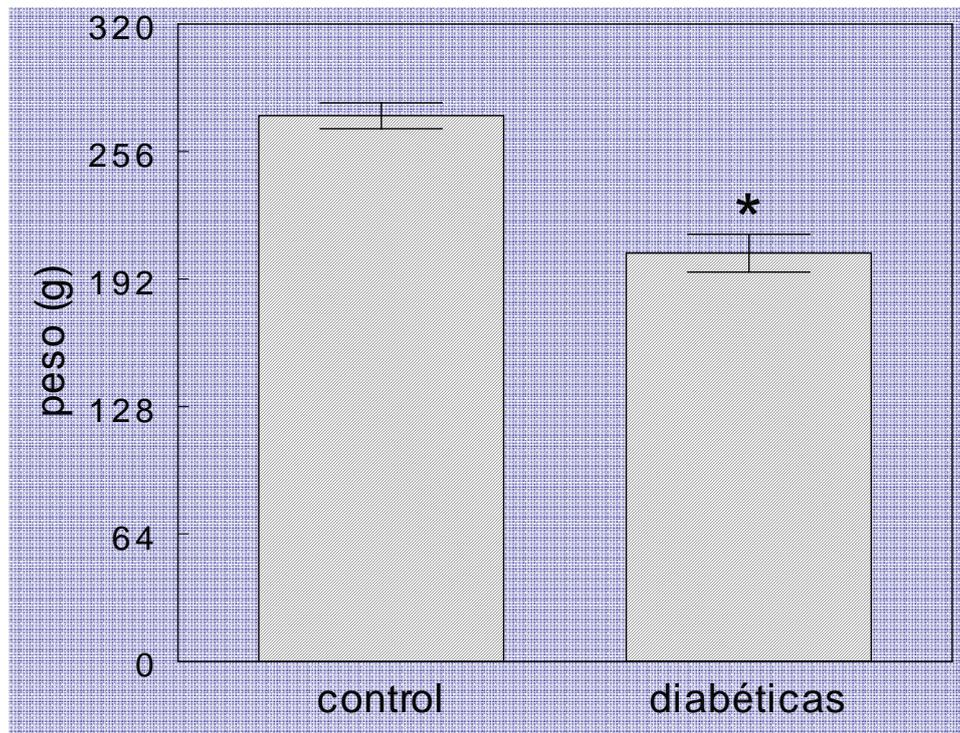


Figura 14.- Peso de los organismos control y diabéticos por estreptozotocina. (n=5, p<0.05)

7.2 Otros signos clásicos de Diabetes Mellitus en ratas tratadas con estreptozotocina.

Los signos de la diabetes son los aumentos en la ingesta de agua (polidipsia), en la ingesta de alimento (polifagia) y en la excreción de orina (poliuria); por lo cual se valoraron estos procesos en ratas control y en diabéticas al sexto día durante 24 h. Se observó un aumento de 6 veces en la excreción de orina (Fig. 15), un incremento al doble en el consumo de agua (Fig.16) y un aumento del 20% en la ingesta de alimento (Fig.17) y tabla 5 .

Tabla 5.- Medición de la ingesta de agua y alimento, y de la excreción de orina de ratas control y diabéticas en 24 h (n = 5; promedio \pm error estándar de la media).

	Volumen de agua ingerida	Volumen de orina excretada	Alimento ingerido
Control	38 \pm 8.7 ml.	8.76 \pm 4.4 ml	16.26 \pm 2.2 g
Diabéticas	91.4 \pm 22.1 ml	64.2 \pm 21.5ml	25.04 \pm 1.7 g

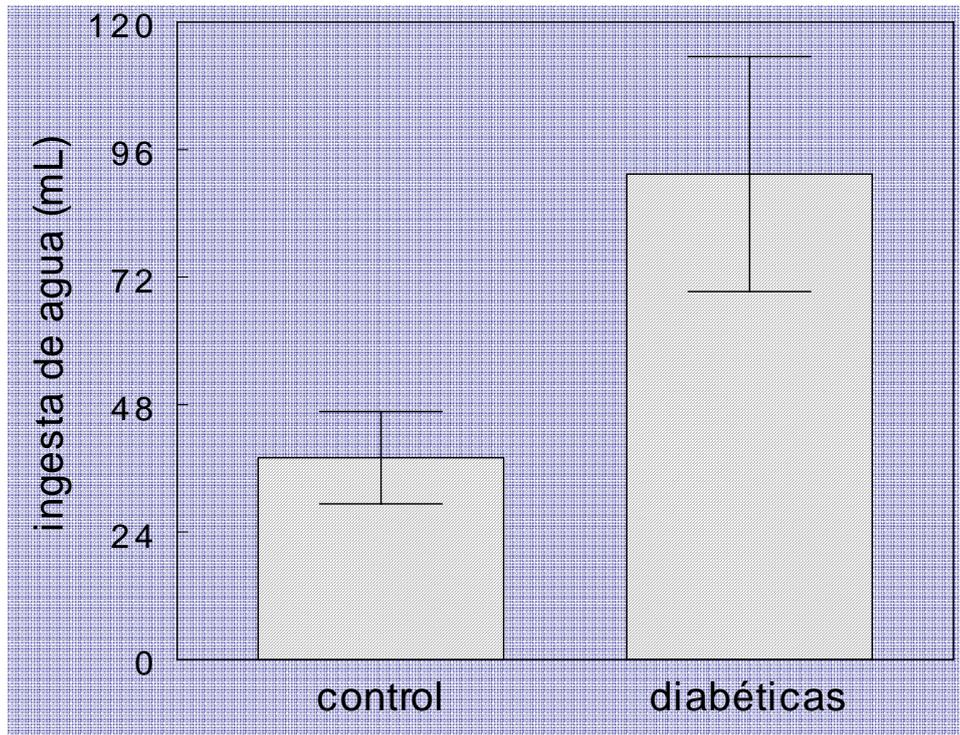


Figura 15.- Comparación de la ingesta de agua durante 24 h en ratas diabéticas y control (n = 5)..
(n=5,p<0.05)

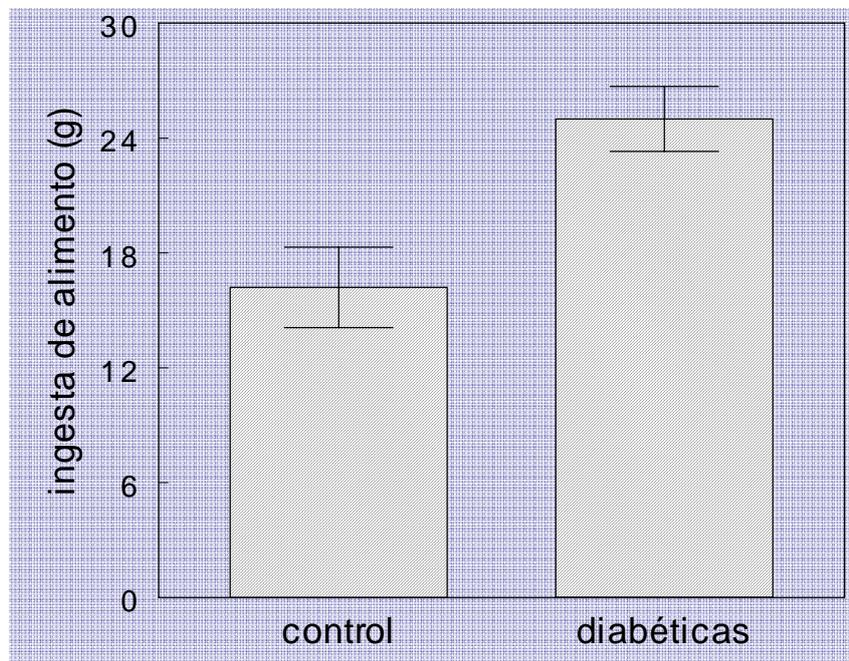


Figura 16.- Comparación de la ingesta de alimento en ratas diabéticas y control durante 24 h (n = 5)
(n=5,p<0.05).

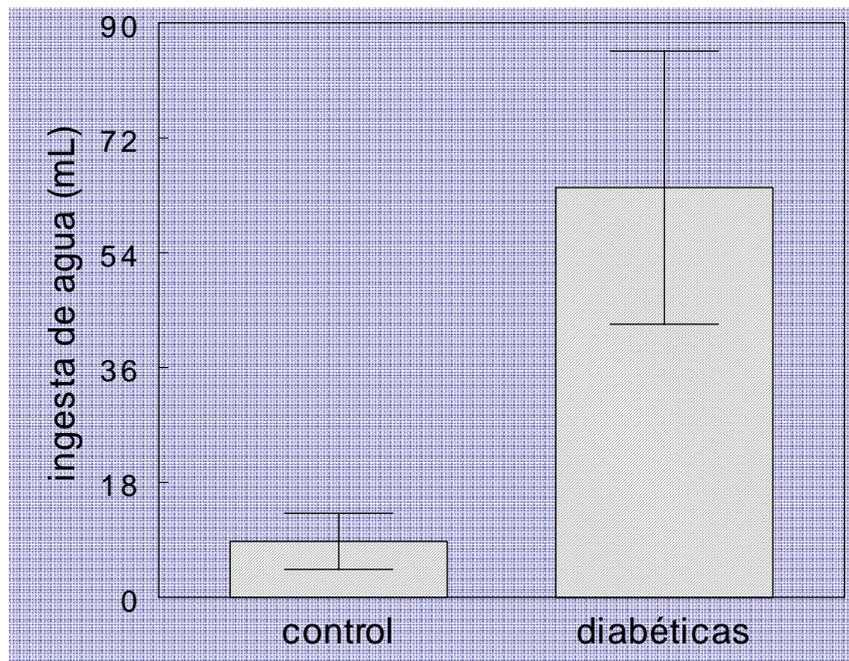


Figura 17.- Comparación de la excreción de orina en ratas diabéticas y control en muestras tomadas durante 24 h (n = 5).. (n=5,p<0.05)

7.3 Parámetros urinarios en organismos diabéticos.

Se colectó la orina de organismos control y diabéticos durante 24 h y se observó que las ratas diabéticas mostraron una concentración de glucosa en orina 24 veces mayor que las no diabéticas (control) (Tabla 6). No se detectaron cuerpos cetónicos en la muestra de orina de las ratas diabéticas. En las ratas diabéticas se detectó la presencia de sangre.(Tabla 6)

Tabla 6.- Parámetros urinarios en organismos control y diabéticos por inducción con estreptozotocina (60 mg/kg, vía i.p.) (n = 4).

Ratas	Control	Diabéticas
Densidad	1.685 ± 0.005	1.015 ± 0.004
pH	11.67 ± 0.45	6.2 ± 0.734
Leucocitos	10 a 25	Neg
Nitrito	Pos	Pos
Proteína (mg/dL)	30	30 ± 0
Glucosa (mg/dL)	Normal < 50 mg/dL	1220 ± 212.43
Cuerpos Cetónicos	Neg	Neg
Urobilinogeno	Neg	Neg
Bilirrubina	Neg	Neg
Sangre	No Presente	Pos
Hemoglobina (erit/ml)	136.66 ± 42.71	56.66 ± 9.8

7.4 Efecto hipoglucémico de *Psittacanthus calyculatus*.

A organismos diabéticos por STZ se les administró agua o el extracto etanólico de *P. calyculatus* (300 mg/kg, vía i.p.) durante 4 días a partir del día 7 después de la aplicación de la estreptozotocina 60 mg/kg. Se observó que las ratas diabéticas pesaban un 28.1% menos que las ratas sanas; las ratas diabéticas tratadas con *P. calyculatus* pesaban un 14.6% menos que las sanas, pero si habían aumentado su peso corporal en comparación con las tratadas con el vehículo que se mantuvieron en su peso inicial.(Fig. 18)

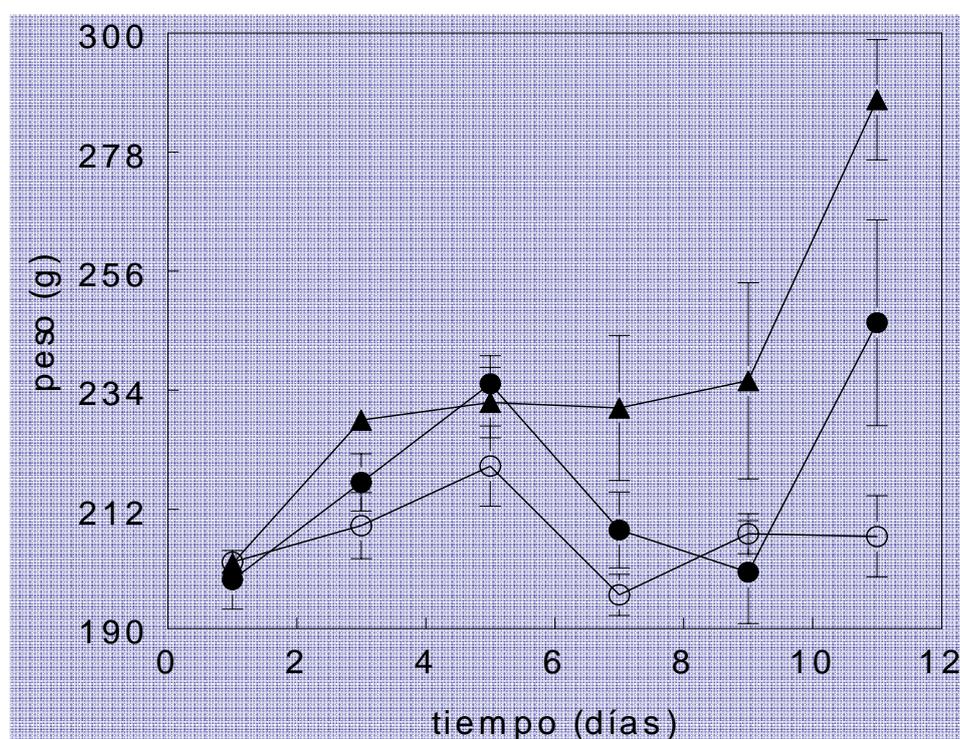


Figura 18.- Peso de los organismos control, diabéticos sin tratamiento y diabéticos tratados con el extracto etanólico de *P. calyculatus* 300 mg/kg (vía i.p.). Cada punto representa el promedio y el error estándar de la media (n = 5). (n=5,p<0.05)

Al probar el efecto del extracto acuoso de *P. calyculatus* (300 mg/kg, vía i.p.) en organismos diabéticos se observó que a las 24 h de su administración la glucemia no mostró cambios. Después de 24 h de su administración, el extracto

Dante Espinoza Aguilar

etanólico de *P. calyculatus* en dosis de 400 mg/kg (vía i.p.) disminuyó la hiperglucemia en un 54% (Figura 19).

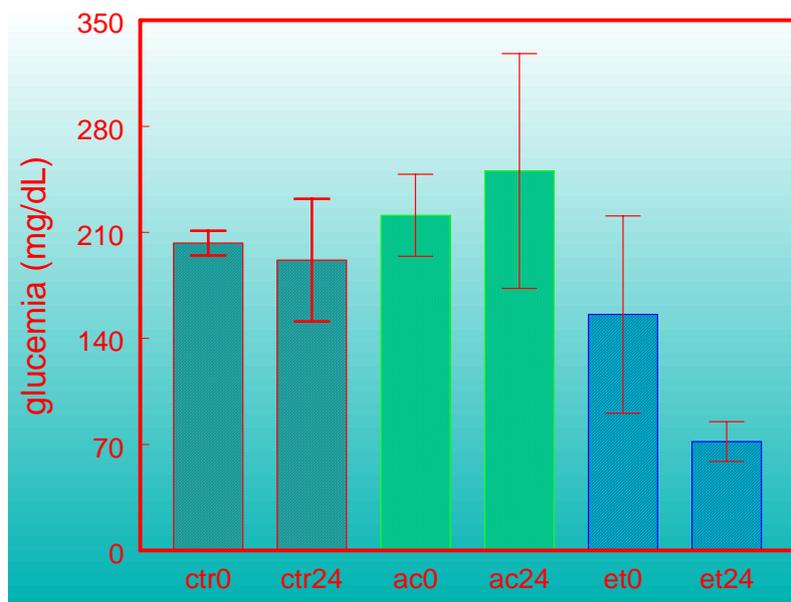


Figura 19. Efecto de los extractos acuoso (ac) y etanólico (et) de *Psittacanthus calyculatus* en ratas tratadas con estreptozotocina 60 mg/kg. Ctr, control (n=4, p<0.05)

Después de 24 h del tratamiento (400 mg/kg) del extracto etanólico redujo la hiperglucemia en un 70 %.

Se probó el efecto hipoglucémico de la fracción soluble en agua del extracto etanólico de *P. calyculatus* (400 mg/kg, vía i.p.) en ratas diabéticas por estreptozotocina (60 mg/kg, vía i.p.); después de 24 h del tratamiento, la glucemia mostró una disminución del 70% como se observa en la figura 20.

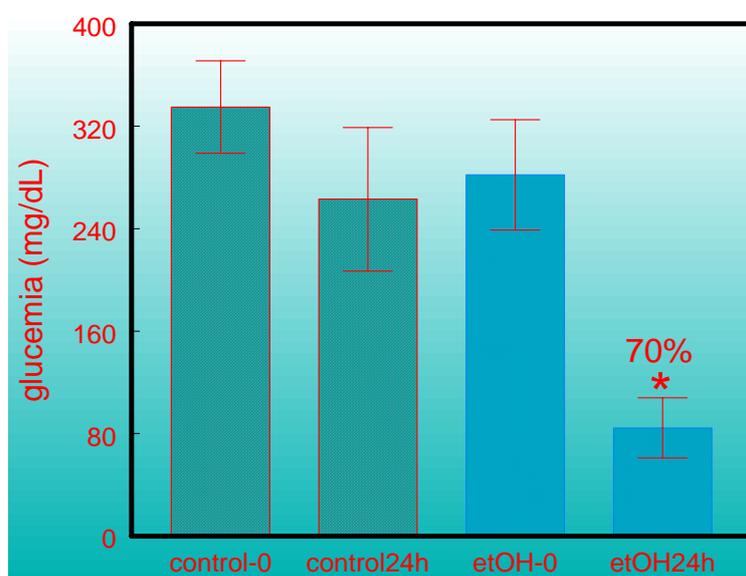


Figura 20. Efecto de la fracción etanólica soluble en agua de *Psittacanthus calyculatus* en ratas tratadas con estreptozotocina 60 mg/kg, vía i.p. (n=4,p≤0.05)

Se probó el efecto del extracto clorofórmico de *P. calyculatus* (200 mg/kg, vía i.p.) en ratas diabéticas por estreptozotocina (60 mg/kg, vía i.p.) y después de 24 h del tratamiento, la glucemia se redujo en un 23.5 % como se observa en la Figura 21.

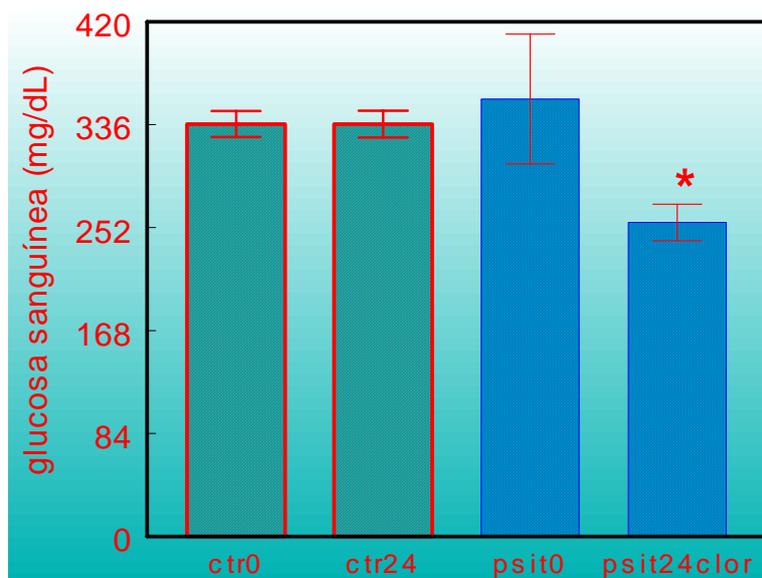


Figura 21. Efecto hipoglucémico del extracto clorofórmico de *P. calyculatus* en ratas diabéticas por inducción con estreptozotocina 60 mg/kg, vía i.p. (n=4, p<0.05).

7.5 Efecto hipoglucémico de *Phoradendron villosum*.

P. villosum (400 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 56% (de 377 ± 42 a 125 ± 28 mg/dL). La fracción soluble en agua del extracto etanólico de *P. villosum* (300 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 45% (de 319 ± 20 a 176 ± 43 mg/dL) (Fig.22 y 23).

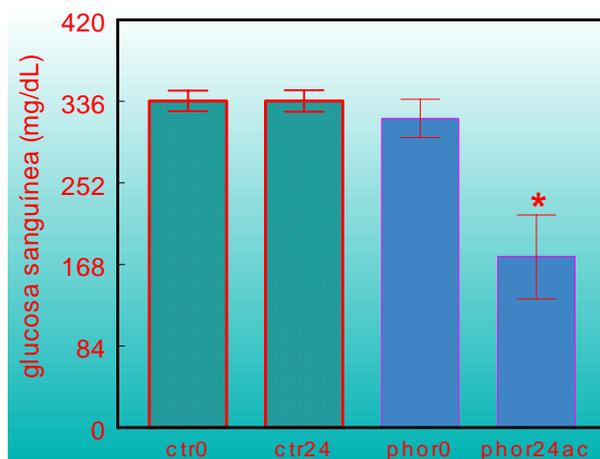


Figura 22. Efecto hipoglucémico del extracto acuoso de *P. villosum* en ratas diabéticas por inducción con estreptozotocina 60 mg/kg, vía i.p. (n=4, $p \leq 0.05$).

P. villosum (400 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 56% (de 377 ± 42 a 125 ± 28 mg/dL). La fracción soluble en agua del extracto etanólico de *P. villosum* (300 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 45% (de 319 ± 20 a 176 ± 43 mg/dL) (Fig 23).

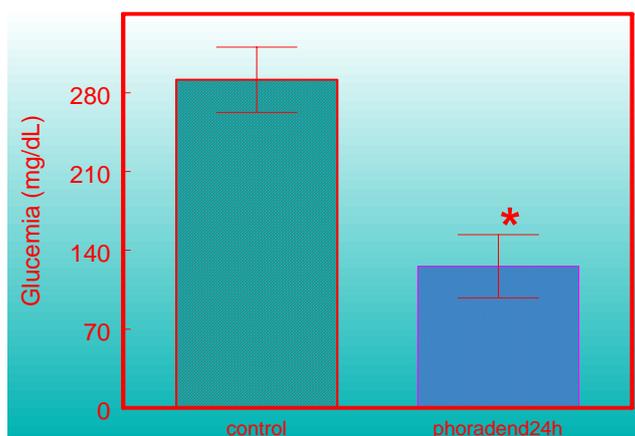


Figura 23. Efecto del extracto etanólico de *P.villosum* en ratas diabéticas por tratamiento con estreptozotocina 60 mg/Kg. (n=4, $p \leq 0.05$)

7.6 Efecto de *Struthanthus sp.*

Con el extracto clorofórmico de *Struthanthus sp.*, el efecto observado fue hiperglucemiante, ya que elevó significativamente los niveles de glucosa en sangre, como se observa en la figura 24. El extracto metanólico de *Struthanthus sp.* no tiene efecto hipoglucemiante sobre ratas tratadas con aloxana (Fig.25)..

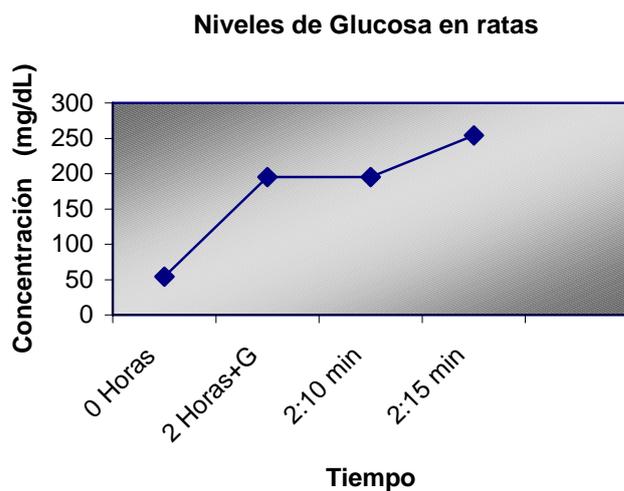


Figura 24. Ratas tratadas con extracto clorofórmico de *Struthanthus sp* (n=4,p<0.05)

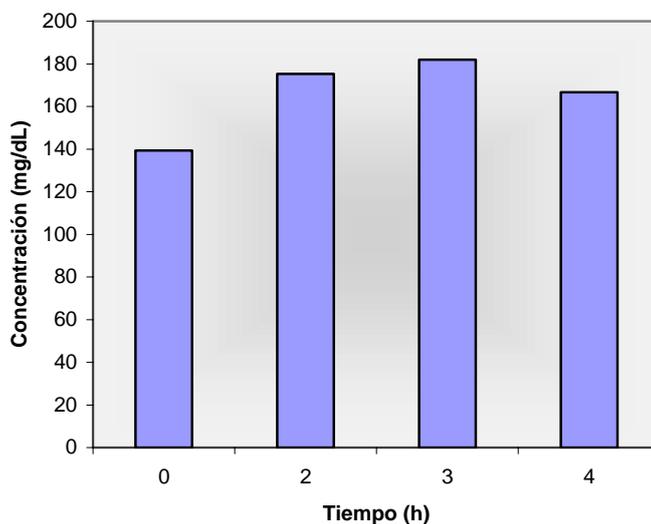


Figura 25. Efecto del extracto metanólico de *Struthanthus sp.* sobre la glucemia en ratas diabéticas(n=4,p<0.05)

7.7 CROMATOGRAFÍA

Se realizó una cromatografía en capa fina para determinar los componentes de los diferentes extractos, de *P. calyculatus* fracción soluble en agua del extracto etanólico y de *P. villosum* extracto acuoso; los dos fueron resuspendidos en etanol. Posteriormente, la placa se sumergió en la cámara bajo una mezcla de solventes de metanol-cloroformo 3: 2 y se dejó correr por 50 minutos después de lo cual se dejó secar a temperatura ambiente.

Al día siguiente, la placa se revisó con una lámpara de luz UV para visualizar los restos de la cromatografía (Fig.26), donde se observó que los dos extractos comparten el mismo compuesto, ya que comparten los mismos Rf, como observa en la figura 26.



Fig. 26 Cromatografía en capa fina (der. *P. calyculatus* ETOH sol. Agua e Izq *P. villosum* sol. agua.)

Dante Espinoza Aguilar

Posteriormente se realizaron pruebas para identificación de flavonoides resultando que bajo la reacción con hidróxido de amonio se puede tratar de flavonas, Flavonoles o Xantonas, como se observa en la tabla 7.

Tabla 7 . Resultados de las pruebas de identificación para flavonoides.

Reacción	Resultado
hidróxido de amonio (Sol. alcalina)	Positivo para Flavonas, Flavonoles y Xantonas
HCl	Negativo
Sol. etanólica de cloruro férrico	Negativo
Reactivo de Folin en medio alcalino	Positivo para grupos fenoles
Reactivo de Dragendorft	Negativo, sin precipitado

8. DISCUSIÓN

Alrededor del 8% de las personas adultas de México padecen diabetes y la cuarta parte de los individuos afectados no sabe que sufre este trastorno.

Actualmente la diabetes se ha consolidado como la primera causa de muerte en México, ocasionando el 12% de las muertes en el país. Es importante resaltar que incluso en hombres y mujeres de entre 29 y 39 años, la diabetes aparece entre las primeras diez causas de muerte (Salud, México 2003.).

Hoy en día la búsqueda de nuevas alternativas en el tratamiento de la DM nos hace recurrir a las plantas, ya sea para buscar nuevas sustancias que tengan mayor efecto y menor costo o simplemente como una ayuda al tratamiento con fármacos.

Las disyuntivas que esto ha provocado son muchas, ya que por un lado, el paciente lo que busca es sentirse mejor y que además esto no represente un gasto importante para su economía. Las compañías farmacéuticas se han visto en la necesidad de invertir en la investigación de nuevos fármacos, porque la gente recurre cada vez más y más a la medicina tradicional y esto no es un caso exclusivo de nuestro país, ya que en otras partes del mundo como Asia, la gente recurre primero a la medicina tradicional y si esto no resuelve su problema, entonces si recurren a la medicina con fármacos.

Es por eso que nos dimos a la tarea de realizar este estudio para poder aportar más conocimiento para el tratamiento de la DM a través de plantas medicinales utilizadas para tratar este padecimiento.

Cabe mencionar que las plantas empleadas en este estudio son utilizadas empíricamente en nuestro país; especies de esta familia de las Lorantáceas en otras partes del mundo ya han tenido estudios para corroborar su efecto hipoglucemiante.

Las plantas analizadas, tienen sinonimia popular ya que son identificadas principalmente como injertos, liga, secapalo, etc. Esto se debe a que la mayoría de estas plantas son hemiparásitas, lo que llega a confundir a los vendedores de

Dante Espinoza Aguilar

plantas medicinales, pero se pueden identificar sobre el tipo de hospedero donde crecen.

Las plantas que se conocen desde hace tiempo, por su uso empírico para el tratamiento de la DM y no existen estudios que validen su acción y aquellas de las que se redescubren sus propiedades hipoglucemiantes como el nopal y la sábila entre otras deben ser objetos de estudios etnobotánicos, que nos permita conocer la utilización popular de las plantas que existen en nuestro país y posteriormente deben realizarse estudios experimentales entre ellos estudios farmacológicos para poder evaluar su eficiencia terapéutica, estudios fitoquímicos para conocer sus componentes activos y realizar también ensayos toxicológicos que permitan vislumbrar si la planta es inocua o si tiene efectos secundarios que puedan causar algún daño en el organismo del paciente (Cetto y col. 2005) .

Para validar su efecto se eligieron animales de experimentación con glucemias normales, la hiperglucemia fue inducida inicialmente con aloxana, resultando que los niveles de glucosa no fueron lo suficientemente altos por lo que se empleo estreptozotocina en dosis de 60 mg/Kg via i.p. logrando una diabetes experimental media con valores de 225 a 377 mg/dL, valores similares a los encontrados en un paciente que presenta diabetes mellitus tipo 2.

En las pruebas de laboratorio realizadas se comprobó el efecto hipoglucémico de *Psittacanthus calyculatus* ya que su extracto acuoso redujo los niveles de glucemia en dosis de 400 mg/kg 312 ± 45 a 144 ± 13 mg/dL; la fracción soluble en agua (400 mg/kg) del extracto etanólico redujo la hiperglucemia en un 70% (de 282 ± 43 a 84.5 ± 23 mg/dL) y *Phoradendron villosum* (400 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 56% (de 377 ± 42 a 125 ± 28 mg/dL). La fracción soluble en agua del extracto etanólico de *P. villosum* (300 mg/kg) disminuyó la hiperglucemia en un 45% (de 319 ± 20 a 176 ± 43 mg/dL).

Es importante que se impulse la investigación dirigida al aislamiento y caracterización química de las sustancias responsables del efecto hipoglucémico de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron villosum*.

Dante Espinoza Aguilar

En México se ha evaluado principalmente las investigaciones populares, pero no se ha prestado atención a los extractos puros obtenidos a partir de las plantas. (Alarcon y col., 1993).

En cuanto a la presencia de los metabolitos secundarios, lo que reporta la bibliografía es que se han encontrado compuestos que son activos para reducir los niveles de azúcar son los flavonoides. En *P. calyculatus* y *P. villosum* se detectaron flavonoles en las fracciones activas.

En la actualidad se tienen muchos productos sintéticos con actividad antidiabética comprobada, pero las plantas con actividad hipoglucémica contienen materiales complejos que han desafiado a la síntesis química, lo cual no impide su uso en la medicina natural, sin embargo lo anterior nos muestra la necesidad de continuar realizando estudios que estén dirigidos a la comprobación y búsqueda de la efectividad de plantas medicinales utilizadas por la medicina tradicional.

El determinar el o los mecanismos de acción de un producto vegetal antidiabético, como los extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron villosum* se requiere que se aisle e identifique el o los principios activos hipoglucemiantes presentes en el extracto. Según Atta-Ur-Rahman (1989), el mecanismo de acción de las plantas hipoglucemiantes puede ser:

- Actuando sobre las células β -pancreáticas y estimulando la secreción de insulina.
- Inhibiendo las células α en la secreción de glucagón.
- Inhibiendo la acción de algunos factores u hormonas hiperglucemiantes.
- Incrementando los efectos de la insulina a nivel de receptores.
- Inhibiendo la enzima que degrada a la insulina (supresión de la insulinas).
- Modificando directamente al metabolismo de la glucosa.
- Actuando como sustituto de la acción de la insulina.

Dante Espinoza Aguilar

El flavonol quercetina se encuentra en plantas de la Familia Lorantaceae. La quercetina normaliza el nivel de la glucosa sanguínea, aumenta el contenido de glucógeno hepático y reduce la concentración de colesterol y LDL sérico en ratas diabéticas por aloxana. Un efecto benéfico de la quercetina es mejorar las cataratas diabéticas por inhibir la aldosa reductasa. Tiene actividad agonista de los PPAR γ . El papel fisiológico del PPAR- γ es la de mantener los niveles de expresión adecuados de moléculas clave en la regulación del metabolismo de la glucosa y los lípidos, así como de otras proteínas involucradas en la transducción de las señales desencadenadas por la insulina. Por ejemplo la producción y traslocación de transportadores de glucosa (GLUT 1 y 4) lo cual podría explicar la disminución de la resistencia a la insulina en individuos que utilizan estas drogas (Joon Yeol y col., 2005).

Otro flavonol es la kaempferitrina, encontrada como el principio activo hipoglucemiante en la planta antidiabética *Bauhinia forficata* (pata de vaca) (de Sousa y col., 2004).

Las últimas investigaciones deben incluir los proyectos donde se estudie el mecanismo de acción, en las dosis óptimas y tratamiento, fijándose en el mejor modo de preparación, ya que los costos del tratamiento llegan a ser altos para el paciente, siendo probable que, por ejemplo, costo de tratamiento con hojas de plantas antidiabéticas compradas en el Mercado de Sonora en México, DF pueda ser hasta 50% mas barato por mes de tratamiento. Esto resalta otro punto importante el impacto económico de usar los tales remedios herbarios no se tiene estudiado en absoluto, pero es probable que sea un costo bajo para muchas familias pobres.

Estas iniciativas deben de acompañarse por el entrenamiento apropiado y educación los programas dirigidos a los diabéticos y médicos para asegurar que los pacientes que beben esas preparaciones lo hagan de manera responsable. En el orden que se logre esto, los pacientes tendrán una mejor calidad de vida y así

Dante Espinoza Aguilar

médico-paciente entenderán y controlarán de mejor manera los síntomas de la DM
(Cetto-Andrade y col, 2005).

9. CONCLUSIÓN.

- El *Psittacanthus calyculatus* GC (DON) fue efectivo en su fracción soluble en agua de el extracto etanólico, ya que presentó una disminución significativa en los niveles de glucosa sanguínea en ratas diabéticas con STZ, corroborando así su efecto hipoglucemiante.
- *Phoradendron villosum*, fue efectivo en su extracto acuoso al reducir significativamente la glucosa sanguínea en ratas diabéticas con STZ, corroborando así su efecto hipoglucemiante.
- En el caso de *Struthanthus sp* no se observó un efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas con STZ por lo que se descarta su efecto hipoglucemiante.

10. BIBLIOGRAFÍA:

- Aguilar A., Camacho, J. R., S., Jácquez, P., y López, M.E. "Distribución por enfermedades". Herbario Medicinal del IMSS ; información etnobotánica. IMSS, México, 1996.
- Alarcón, F.J., Roman-Ramos, Pérez-Gutiérrez, Aguilar-Contreras, Contreras-Weber y Flores-Sánchez (1998). Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacol.* 61: 101-110.
- Alarcón, F.J., Flores, J.L. y Roman, R. 1993. Plantas medicinales usadas en el control de la Diabetes Mellitus. *Ciencia.* 44: 363-381.
- Alberti, K.G, Zimmet, P.Z. 1998. Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications. Part 1. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Provisional report of WHO consultation. *Diabetic Med.* 15:539-553.
- Alvarez, O. Carlos, 2003 "Estudio etnobotánico y farmacológico del "injerto" (*Phoradendron villosum*) utilizado como hipoglucemiante" Tesis Licenciatura Biología FES-I UNAM pp 3-7,20-30,45-48.
- Balderravano, R. Juana Y., Cuadros M., Adriana, 2004 "Aislamiento del principio activo hipoglucemiante de las hojas del arbusto de *Tournefortia hirsutissima*" Tesis I. Farmacéutico IPN-UPIBI pp: 24-26.
- Calzado, J., Verde, J., Segura, G., Lozano, G., Aguilar, G. 2002. Preliminary chronic toxicological study of *Phoradendron tomentosum* aqueous extract. *Memorias del XXV Congreso Nacional de Farmacología.* Mazatlán Sinaloa.
- Cetto-Andrade A., Heinrich Michael, 2005 "Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes" *Journal of Ethnopharmacology* 99 325-348.
- Cházaro, M. Y Oliva, H. 1991. *Dendrophthora costarricensis* (Loranthaceae). Un nuevo registro para la flora de México. *Acta Botánica.* 13; 31-38.

- Cotran, R. S, V. Kumar, S, L. Robbins, F. J, Shoen (2000) "Patología estructural y funcional" 5 edición, Editorial Mc Graw Hill Interamericana, Madrid, España.
- De Sousa E., Zanatta L., Seifriz I., Creczynski-Pasa TB., Pizcolatti MG., Szpoganicz B., Silva FR. "Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(alpha)-diclannoside from *Bauhinia forticata* leaves" J. Nat. Prod. Mayo 2004; 67 (5) : pag. 829-832.
- Evans, E. J., Krents, A., J. (1999). Benefits and risks of transfer from oral agents to insulin in type 2 diabetes mellitus. *Drugs Saf*; 21 (1): 7-22.
- Foster, D. W. (1998). Diabetes Mellitus. En: Fauci AS et al, (editores). *Harrison Principios de Medicina Interna*. 14 Ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana, pp 2341-65.
- Gabriel, S., Maria de los Ángeles, 2002 "Actividad Hipoglucemiante de *Tournefortia hirsutissima*." Tesis Licenciatura Biología UNAM-FES-I pp1-11,17-18,19.
- Greenspan, Francis S., Stewler, Gordon J. (1998). *Endocrinología básica y clínica*. 4 Ed. Editorial El Manual Moderno, México, pp. 667-774.
- Haffner, S. M. (1999) . Epidemiology of insulin resistance and its relation to coronary artery disease. *Am. J. Cardiol*. 81 : 11J-14j.
- Hartaman, J.G, Limbird, L, E, Molinoff, P.B. Ruddon, R. W. Y A. Goodman Gilman (1996) "Bases farmacológicas de la terapéutica" 9 edición Editorial Mac Graw Hill Interamericana, México.
- Ivora , M., Payá, M., Villar , A., (1989). A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 27: 243-275.
- Joon Yeol Lee, Won-Hiu Park, Min-Kyoung Cho, Huyn Jin Yun, Byung-Ho Chung, Youngmi Kim Pak¹, Hon-Gyu-Hann², and Seung Hoon Cheon. "Design and synthesis of novel antidiabetic agents" *Archives Pharmacal Research* Vol 28, No 2, pag. 142-150 , 2005.

- Lehninger, A.L. (1995) "Principios de Bioquímica" 2 reimpresión Editorial Omega, España.
- Marcks, V., L., Dawson, A. (1965) Rapid stick method of determining blood glucose concentration. *Brit. Med. J.* 1: 293.
- Marles, R.J., Farnsworth, N.R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2: 137-189.
- Obatomi DK, Bikomo EO, Temple VJ. (1994) "Anti-diabetic properties of the African mistletoe in streptozotocin-induced diabetic rats". *Journal of Ethnopharmacol.* 43(1): 13-7.
- Osadebe. P.O., Okide, G.B. y Akabogu, I.C. (2004). "Study on the anti-diabetic activities of crude methanolic extracts of *Loranthus micranthus* (Linn.) sourced from five different host trees". *Journal of Ethnopharmacology* 95: 133-138.
- Ossei, K. (1999). Insulin resistance and systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.* 84: 331-361.
- Perez R.M. G., A.Ocegueda Z., J.L. Muñoz L., J.G. Avila A. y W.W. Morrow. 1984 "A study of the hypoglycemic effect of some Mexican plants" *J. of Ethnopharmacol.* 12 (1984) 253-262.
- Rodríguez C., Ana R., 2001 "La familia Loranthaceae en el Estado de México" Tesis Licenciatura UNAM-FES-I Biología. pp4-5.
- Roman-Ramos, R., Alarcon-Aguilar, F., Lara-Lemus, A., Flores-Saenz, J.L. (1992). Hypoglycemic effect of plants used in México as antidiabetic. *Archives of medical research.* 23: 59-64.
- Rosenstock, J. (2001). Management of type 2 diabetes mellitus in the elderly: special considerations. *Drugs Aging* 18 (1) : 31-44.
- Rzendowsky, J. y Rzendowsky, G. (1979). La flora fanerógama del valle de México. *Continental, México.* 263-282.
- www.aventis.com.mx/diabetesmellitus
- www.ssa.gob.mx/diabetes