



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DEL EXTRACTO BUTANÓLICO DE *Cecropia  
obtusifolia* EN LOS DEPÓSITOS DE GLUCÓGENO EN EL  
HÍGADO DE RATAS DIABÉTICAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ISIS SANTOS PANIAGUA



DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. MARÍA CRISTINA REVILLA MONSALVE  
2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno Santos Paniagua Isis 57001722 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 30033334-7
2. Datos del tutor Dra. María Cristina Revilla Monsalve
3. Datos del sinodal 1 Dra. Concepción Sánchez Gómez
4. Datos del sinodal 2 Dr. Adolfo Andrade Cetto
5. Datos del sinodal 3 Dra. Luisa Alvarina Alba Lolis
6. Datos del sinodal 4 M. en C. Miguel Ángel Palomino Garibay
7. Datos del trabajo escrito Efecto del extracto butanólico de <i>Cecropia obtusifolia</i> , en los depósitos de glucógeno en el hígado de ratas diabéticas. Pág 65 2010

## ***Agradecimientos***

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme las puertas al conocimiento y darme la oportunidad de conocer a personas que con sus acciones han marcado tanto mi vida académica como personal.

A mi directora de tesis Dra. María Cristina Revilla Monsalve por darme la oportunidad de entrar al mundo de la investigación enseñarme lo maravilloso y apasionante que es. Por haber tenido siempre la mejor disposición para dirigir este trabajo y darme el estímulo para que día a día fuera creciendo intelectual y personalmente. Por darme la confianza para expresarle mis inquietudes y por último por ayudarme a encontrar una solución a cada dificultad que se fue presentando durante el recorrido de esta etapa de mi vida.

Al M. en C Miguel Ángel Palomino Garibay por su paciencia y sus conocimientos aportados tanto para el desarrollo de este trabajo como para mi vida académica. Por enseñarme que en la vida no existe ningún obstáculo que sea lo bastante grande para darse por vencido. Por el apoyo brindado durante y en la culminación de este trabajo pero sobre todo por su confianza y su amistad.

Al Dr. Adolfo Cetto Andrade por ayudarme a corregir este trabajo, mejorar su contenido, y proporcionarme el extracto butanólico para la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Concepción Sánchez Gómez y a la Dra. Luisa Alvarina Alva Lois por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y a la discusión de su contenido.

Quisiera agradecer a mi familia, amigos y a mis compañeros del laboratorio que han vivido conmigo la realización y culminación de este trabajo, y que no necesito nombrar a cada una de ellas porque tanto ellas como yo sabemos que desde lo más profundo de mi corazón les agradezco el haberme brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo y sobre todo cariño y amistad.

*Dedico esta tesis a mis padres Isais Santos y Lucila Paniagua por estar siempre con migo y brindarme en todo momento su apoyo y comprensión.*

*A mis hermanos Saraí, Said, Yadira y Cridad por desvelarse con migo y hacerme sonreír en los momentos difíciles.*

*A Axl , Carlos y mis abuelos Socorro Pineda, Francisca Paniagua y Vicente Paniagua que aunque ya no se encuentran conmigo les hubiera gustado compartir este momento.*

*"Los únicos goces puros y sin mezcla de tristeza que le han sido dados sobre la tierra al hombre, son los goces de familia." (Giuseppe Mazzini)*

# ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>3</b>
---------------------	----------

## **1.- ANTECEDENTES.**

1.1 Diabetes Mellitus .....	4
1.2 Clasificación .....	4
1.3 Prevalencia .....	6
1.4 Diagnóstico .....	6
1.5 Complicaciones .....	7
1.5.1 Complicaciones agudas .....	7

## **2.- HÍGADO.**

2.1 Anatomía del hígado .....	9
2.2 Células de Kupffer .....	11
2.3 Irrigación hepática .....	11
2.4 Hepatocitos .....	12
2.5 Lobulillos hepáticos .....	14
2.6 Funciones del hígado .....	15
2.7 Amiloidosis.....	17
2.8 Vías metabólicas .....	17
2.7.1 Transportadores de glucosa .....	17
2.7.2 Metabolismo de la glucosa .....	19

## **3 GLUCÓGENO.**

3.1 Bioquímica del glucógeno .....	20
3.1.1 Síntesis de la molécula de glucógeno.....	21
3.1.2 Rompimiento de la molécula de glucógeno .....	22
3.1.3 Sistema glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa) .....	22
3.2 Control metabólico del glucógeno .....	23
3.2.1 Control alostérico directo de la glicógeno fosforilasa y glicógeno sintetasa .....	23
3.2.2 Efectos hormonales en el metabolismo .....	24
3.2.3 Enfermedades por almacenamiento de glucógeno .....	25

## **4.- DIABETES EXPERIMENTAL.**

4.1 Modelos animales en diabetes .....	26
4.2 Métodos quirúrgicos .....	26
4.3 Inducción hormonal .....	26
4.4 Inducción viral.....	27
4.5 Modelos de diabetes espontánea.....	27
4.6 Inducción química .....	29
4.5.1 Modelo de ratas diabéticas n-STZ .....	29
4.5.2 Modelo STZ-NA .....	29
4.5.3 Estreptozotocina .....	30

4.5.4 Mecanismo de acción .....	30
<b>5.- TRATAMIENTO EN LA DIABETES MELLITUS.</b>	
5.1 Hipoglucemiantes orales .....	31
<b>6.- ETNOBOTANICA.</b>	
6.1 Medicina tradicional .....	33
6.2 Plantas medicinales .....	33
6.3 <i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol .....	33
6.3.1 Antecedentes farmacológicos de <i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol .....	35
6.3.2 Antecedentes fitoquímicos de <i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol .....	35
<b>7.- PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA.</b> .....	36
<b>8.- HIPÓTESIS</b> .....	37
<b>9.- OBJETIVOS.</b> .....	37
<b>10.- METODOLOGÍA</b> .....	37
10.1 Microscopía de luz .....	38
<b>11.- RESULTADOS.</b>	
11.1 Resultados histológicos Hematoxilina-Eosina .....	40
11.2 Resultados histológicos Pas-Schiff.....	44
11.3 Tricromica de Masson .....	47
11.4 Resultados histológicos Rojo Congo .....	49
<b>12.- DISCUSIÓN.</b> .....	51
<b>13.- CONCLUSIONES</b> .....	55
<b>14.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	56
<b>15.- ANEXOS</b> .....	62

## RESUMEN.

La Diabetes Mellitus representa uno de los principales problemas de salud pública en México y en el mundo. Esta enfermedad crónico degenerativa afecta actualmente a unas 250 millones de personas en el mundo, esta cifra se habrá duplicado para el 2030 si no se toman medidas preventivas. Según cálculos de la Organización Mundial de la Salud (OMS). En el 2005 hubo 1,1 millones de muertes debidas a la diabetes, de las cuales un 80% corresponden a países de ingresos medios o bajos .

A pesar de existir una enorme cantidad de hipoglucemiantes orales con diversos mecanismos de acción, la realidad es que la mayoría de los pacientes están metabólicamente descontrolados. Una alternativa de tratamiento es el uso de plantas medicinales entre las que se encuentra de *Cecropia obtusifolia* que ha sido ampliamente utilizada en medicina tradicional. Se ha demostrado, en estudios controlados, que *Cecropia obtusifolia* tiene un efecto hipoglucemiante en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico, y que el consumo de tanto del extracto acuoso como metanólico no ocasiona daños genotóxicos ni tóxicos respectivamente. Sin embargo se requiere realizar más estudios controlados para demostrar la bioseguridad de su administración. Este trabajo tiene como objetivo determinar el efecto del extracto butanólico de *C. obtusifolia* a una dosis diaria de 0.4 mg, administrada durante 31 días a ratas diabéticas, sobre la estructura del hígado y los depósitos de glucógeno y de proteína amiloide, para lo cual, se utilizaron 40 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley con un peso entre 250-300g. A 30 se les indujo diabetes con una dosis única de 50mg/kg de peso de estreptozotocina (STZ), de éstas, 10 recibieron el extracto butanólico (DE), 10 recibieron tratamiento con glibenclamida en una dosis de 0.85 mg. (DG) y a las 10 restantes no se les administró ningún tratamiento (D). A 10 ratas sanas se les administró el extracto (NDC) y 10 solo recibieron solución salina (LC). A los 31 días se sacrificaron obteniéndose el hígado, el cual, fue procesado para su análisis histopatológico. Resultados: la ingesta diaria del extracto butanólico de *C. obtusifolia* no provocó daños estructurales en el hígado. Se encontró un incremento en los depósitos de glucógeno en ratas sanas con tratamiento de *C. obtusifolia*, así, como una reducción en los depósitos de proteína amiloide en ratas diabéticas con tratamiento de *C. obtusifolia*. Los resultados histológicos muestran que la administración del extracto butanólico de *C. obtusifolia* no provoca alteraciones estructurales en el hígado. Aumenta los depósitos de glucógeno hepático tanto en ratas sanas como diabéticas debido a la presencia del ácido clorogénico el cual es un inhibidor de la glucosa 6-fosfato translocasa.



## 1 ANTECEDENTES.

### 1.1 Diabetes Mellitus.

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de alteraciones metabólicas caracterizada por hiperglucemia resultado de la deficiencia en secreción de insulina, en su acción o ambas, en la cual, el sujeto que la padece sufre alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas. La hiperglucemia crónica está asociada a daños y disfunción de varios órganos, especialmente en la retina, riñón, sistema nervioso, corazón y vasos sanguíneos (1). La diabetes mellitus se manifiesta principalmente como una hiperglucemia, aunque puede coexistir con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (2, 3).

### 1.2 Clasificación.

La primera clasificación aceptada de diabetes mellitus fue publicada por la OMS (Organización Mundial de la Salud) en 1980 y, modificada para 1985. En 1980 el comité propuso dos categorías: Diabetes mellitus insulino dependiente DMID o tipo I, y Diabetes mellitus no insulino dependiente DMNI o tipo II. En 1985 el comité de expertos de la OMS omitió los términos de tipo I y II dejando solamente los términos de DMID y DMNI respectivamente, y se agregó una nueva categoría Diabetes Mellitus asociada a la desnutrición MRDM (Malnutrition-relate Diabetes Mellitus) (4).

La última clasificación de Junio de 1997 (Cuadro 1), tienen varias ventajas sobre las anteriores, ya que se clasifica a la enfermedad según su etiología y no según su tratamiento como se hacía antes. Esta clasificación reagrupa a la enfermedad en cuatro categorías (1):

- 1) **Diabetes Mellitus tipo 1.** Es consecuencia de la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas y, por lo tanto, el déficit insulinoscretor necesita tratamiento sustitutivo con insulina. En este caso la insulino terapia es imprescindible para sobrevivir y evitar la evolución a cetosis, cetoacidosis, coma y muerte. La enfermedad es más frecuente en niños, adolescentes y personas jóvenes, aunque puede manifestarse a cualquier edad. El proceso autoinmune, en el 90% de los casos, se caracteriza por la presencia de anticuerpos anti-GAD, anti-insulina y anti-islole pancreático. En algunos casos, no existe evidencia de proceso autoinmune y no se detectan anticuerpos, siendo catalogados como Diabetes tipo 1 idiopática.
- 2) **Diabetes Mellitus tipo 2.** Es el tipo de diabetes más frecuente y se considera que afecta al 90% de la población diabética. Se caracteriza por alteraciones de la secreción y/o de la acción de la insulina, pudiendo predominar uno u otro defecto fisiopatológico. No es raro que se encuentre en una fase asintomática y, por lo tanto, desapercibida y sin diagnosticar, lo que favorece la aparición de complicaciones crónicas de la enfermedad en el momento del diagnóstico clínico. Se trata de un grupo heterogéneo de

pacientes en los que en algunas ocasiones predomina el déficit insulinosecretor, mientras que en otras, prevalece la falta de acción de la insulina en los tejidos.

**Cuadro 1.** Clasificación etiológica de la diabetes mellitus  
(Comité de Expertos de la American Association, 1997)

- I. Diabetes tipo 1 (destrucción de células beta que conduce a una deficiencia absoluta de insulina):
  - A. Mediada por mecanismos inmunológicos
  - B. Idiopática.
- II. Diabetes tipo 2 (con variaciones desde la resistencia a la insulina predominante con deficiencia relativa de insulina al defecto de secreción predominante con resistencia a la insulina)
- III. Otros tipos específicos
  - A. Defectos genéticos de la función de la célula beta en:
    1. Cromosoma 12, HNF-1 $\alpha$  (MODY 3)
    2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2)
    3. Cromosoma 20, HNF-4 $\alpha$  (MODY 1)
    4. Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
    5. Otras
  - B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
    1. Resistencia a la insulina tipo A
    2. Leprecaunismo
    3. Síndrome de Rabson-Mendenhall
    4. Diabetes lipoatrófica
    5. Otras.
  - C. Enfermedades del páncreas exocrino
    1. Pancreatitis
    2. Traumatismo/pancreatectomía
    3. Neoplasia
    4. Fibrosis quística
    5. Hemocromatosis
    6. Pancreatopatía fibrocalculosa
    7. Otras
  - D. Endocrinopatías
    1. Acromegalia
    2. Síndrome de Cushing
    3. Glucagonoma
    4. Feocromocitoma
    5. Hipertiroidismo
    6. Somatotatinoma
    7. Aldosteronoma
    8. Otras
  - E. Sustancias químicas o fármacos capaces de inducir diabetes
    1. Pentamidina
    2. Ácido nicotínico
    3. Glucocorticoides
    4. Hormona tiroidea
    5. Diazóxidos

- 3) **Otros tipos específicos de diabetes.** Inducida por defectos genéticos a nivel de las células  $\beta$  del páncreas que son heredados en forma autosómica dominante, alteraciones en la estructura de la molécula de insulina, enfermedades del páncreas exócrino, por endocrinopatías, por drogas capaces de inducir el estado diabético, por infecciones, por mediación inmunológica o por síndromes asociados a la enfermedad.
- 4) **Diabetes gestacional.** Es la diabetes que es diagnosticada por primera vez durante el embarazo y puede revertir una vez concluido el embarazo. En este caso el efecto de la insulina es bloqueado parcialmente por hormonas antagonistas producidas por la placenta (5).

### 1.3 Prevalencia de diabetes mellitus.

La diabetes es un problema de salud que afecta a todas las sociedades independientemente de su grado de desarrollo. Se ha proyectado un incremento de la prevalencia de la diabetes en adultos (>20 años de edad) en los países desarrollados del 6,0% en 1995 al 7,6% para el año 2025. La diabetes en los países en vías de desarrollo también aumentará del 3,3% al 4,9% y, debido al tamaño y al crecimiento inicial de las poblaciones, el aumento en la cantidad de personas con diabetes será desproporcionado en países en vías de desarrollo. La cantidad de personas con diabetes se incrementará de 51 millones a 72 millones en los países desarrollados, pero en los países en vías de desarrollo, la cantidad se incrementará de 84 millones a 228 millones. Los tres países que contaban con mayor cantidad de personas con diabetes en 1995 eran India (19,4 millones), China (16,0 millones) y los Estados Unidos (13,9 millones). En el año 2025, el orden de la lista no cambiará, pero la cantidad absoluta aumentará drásticamente en la India (57,2 millones) y China (37,6 millones), pero en menor medida que en los Estados Unidos (21,9 millones).

En México en menos de cuatro décadas, la diabetes se ha convertido en un problema de salud, siendo ésta la principal causa de muerte en mujeres y la segunda entre los hombres. En 1995 México se colocaba en la novena posición en la lista mundial con 3.8 millones, para el 2025 se espera que la cifra de mexicanos que padecen diabetes se incremente a 17.7 millones colocando a México en el séptimo lugar de la lista. En el año 2000 la diabetes fue la 11<sup>a</sup> causa de hospitalizaciones y la segunda causa de muerte (6-8).

### 1.4 Diagnóstico.

El National Diabetes Data Group y la Organización Mundial de la Salud han propuesto criterios diagnósticos para la DM, basados en las siguientes premisas: El espectro de la glucosa plasmática en ayunas (Fasting plasma glucosa, FPG) y la reacción a una carga oral de glucosa varía entre los individuos normales. Los criterios revisados de diagnóstico DM resaltan que la FPG es el método más fiable y cómodo de diagnóstico de DM en sujetos asintomático (2).

## Diagnóstico para Diabetes tipo 1.

- Poliuria, polidipsia y pérdida rápida de peso asociada a una glucosa plasmática aleatoria  $\geq 200$  mg/dL.
- Glucosa plasmática de 126 mg/dL o mayor después de ayuno durante toda la noche, documentada en más de una ocasión.
- Cetonemia, cetonuria o ambas (2).

## Diagnóstico para Diabetes tipo 2.

- La mayoría de los pacientes son mayores de 40 años de edad y obesos.
- Poliuria y polidipsia. La cetonuria y la pérdida de peso no son frecuentes al momento del diagnóstico. En las mujeres, la vaginitis por *Candida* puede constituir la manifestación inicial. Muchos pacientes presentan pocos síntomas o ninguno.
- Glucosa plasmática de 126 mg/dL o mayor después de ayuno o toda la noche en más de una ocasión. Después de 75 g de glucosa administrados por vía oral, los valores diagnósticos son de 200 mg/dL o más después de dos horas de la administración de la glucosa.
- A menudo está asociada con hipertensión, hiperlipidemia, y aterosclerosis (2).

## 1.5 Complicaciones.

Las complicaciones crónicas de la Diabetes Mellitus pueden afectar muchos sistemas orgánicos y son responsables en gran parte de la morbilidad y mortalidad que acompaña a este trastorno. Las complicaciones crónicas pueden dividirse en vasculares y no vasculares (cuadro 2). A su vez, las complicaciones vasculares se subdividen en angiopatías y neuropatías. El riesgo de complicaciones crónicas aumenta con la duración de la hiperglucemia, suelen hacerse evidentes en el transcurso del segundo decenio de la hiperglucemia. Como la DM 2 puede tener un periodo prolongado de hiperglucemia asintomática, muchos individuos con DM 2 ya presentan complicaciones en el momento del diagnóstico (3).

### 1.5.1 Complicaciones agudas.

Las complicaciones agudas más graves que puede presentarse en el paciente con DM incluyen cetoacidosis diabética (DKA), estado de hiperglucemia hiperosmolar, hipoglucemia y acidosis láctica (9).

La DKA es el resultado de déficit de insulina combinado con exceso de hormonas antagonistas (glucagon, cateclaminas, cortisol y hormona de crecimiento). Para que se desarrolle una DKA es necesaria la combinación de déficit de insulina y exceso de glucagon. La cetosis es el resultado de un incremento notable de los ácidos grasos libres procedentes de los adipocitos, con el resultado de un

desplazamiento hacia la síntesis hepática de los cuerpos cetónicos. El descenso de los valores de insulina, combinado con elevaciones de catecolaminas y hormona de crecimiento, aumenta la lipólisis y la liberación de ácidos grasos libres. En la DKA la hiperglucagonemia altera el metabolismo hepático favoreciendo la formación de cuerpos cetónicos. La hiperventilación, consecuencia de la acidosis, no es suficiente para compensar la acidosis metabólica, que junto con la deshidratación inducen falla renal y colapso circulatorio. Los síntomas de la acidosis son el dolor abdominal, hiperventilación, confusión y coma.

Hiperglucemia hiperosmolar, este síndrome puede presentarse como la primera manifestación de la diabetes tipo 2 la causa de este síndrome, es la hiperosmolaridad extracelular, resultado de la grave deshidratación que es consecuencia de la diuresis osmótica por aumento importante y sostenido de las cifras de glucosa. El cuadro clínico inicia con descontrol de la diabetes, con hiperglucemia e hiperosmolaridad sin cetogénesis. El paciente presenta polidipsia, poliuria y vómitos (3, 9, 10).

**Cuadro 2.** Complicaciones crónicas de la Diabetes mellitus.

**Microvasculares.**

- Enfermedades oculares.
  - Retinopatía (no proliferativa y proliferativa).
  - Edema de la mácula.
- Neuropatías.
  - Sensitivas y motoras (moneuropatías y polineuropatías).
  - Vegetativas.

**Macrovasculares.**

- Arteriopatía coronaria.
- Enfermedad vascular periférica.
- Enfermedad vascular cerebral.

**Otras.**

- Del tubo digestivo (gastroparecia, diarrea).
- Genitourinarias (uropatías y disfunción sexual)
- Dermatológicas.
- Infecciosas.
- Cataratas.
- Glaucoma.

## **2. HÍGADO.**

### **2.1 Anatomía del Hígado.**

El hígado tiene un peso aproximado 1.500g que representa aproximadamente el 2.5% del peso corporal total del adulto. Se localiza en el hipocondrio derecho extendiéndose ligeramente hacia el hipocondrio izquierdo. Está revestido por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso (cápsula de Glisson); una cubierta serosa (peritoneo visceral) rodea la cápsula excepto en donde la glándula se adhiere directamente al diafragma o a otros órganos como son: el colon, el estómago y la vesícula biliar (12).

En la rata y el ratón el hígado tiene cuatro lóbulos: mediano (o medio), izquierdo, derecho y caudal, todos excepto el izquierdo, se dividen en dos partes más (Fig. 1). Tanto en el humano como el ratón tienen vesícula biliar, mientras que la rata carece de ella (13).

El hígado está formado por 15 diferentes tipos celulares (cuadro 3), los hepatocitos son los más abundantes y comprenden el 60% del total de las células y el 80% del volumen del hígado (14).

El epitelio biliar principalmente actúa como un revestimiento del conducto para el flujo de bilis y también modifica la bilis y la concentra en la vesícula biliar. El epitelio biliar se comunica con las células vecinas para llevar a cabo la producción de mediadores que intervienen en el crecimiento celular y la respuesta a una lesión (14).

Las células endoteliales son la primera barrera que existe entre la sangre y los hepatocitos, las cuales actúan filtrando fluidos solutos y partículas entre la sangre y el espacio de Disse, el cual es una endidura llena de líquido linfático (14).

Las células hepáticas estrelladas juegan un papel en la regeneración, fibrogénesis y cirrosis hepática. Se encargan de producir la matriz extracelular, controlan el tono microvascular, almacenan y metabolizan la vitamina A y lípidos y cuando son activadas se transforman a miofibroblastos. En la forma de miofibroblastos activados, por lo general expresan desmina y filamentos de actina en el músculo liso. La matriz extracelular es importante en la regulación y la modulación de las funciones hepáticas. Del 5-10% del hígado corresponde a colágeno(13,14).

CÉLULAS PRESENTES EN EL HÍGADO	
•	Hepatocitos (60 % de las células y 80% del volumen del parénquima)
•	Epitelio biliar
•	Endotelio
•	• Sinusoides
•	• Vasos sanguíneos (arterias y venas)
•	• Linfáticos
•	Células de Kupffer
•	Células estrelladas (también conocidas como células Ito)
•	Linfocitos (células Pit)
•	Células progenitoras
•	• Células ovales-roedores
•	• Hepatoblastos-humanos
•	Fibroblastos
•	Células musculares lisas (vasos sanguíneos)
•	Mesotelio
•	Nerviosas (amielínicas)
•	Células neuroendocrinas
•	Células hematopoyéticas
•	Sanguíneas (eritrocitos, leucocitos, etcétera )

Cuadro 3. Células presentes en el hígado (14).

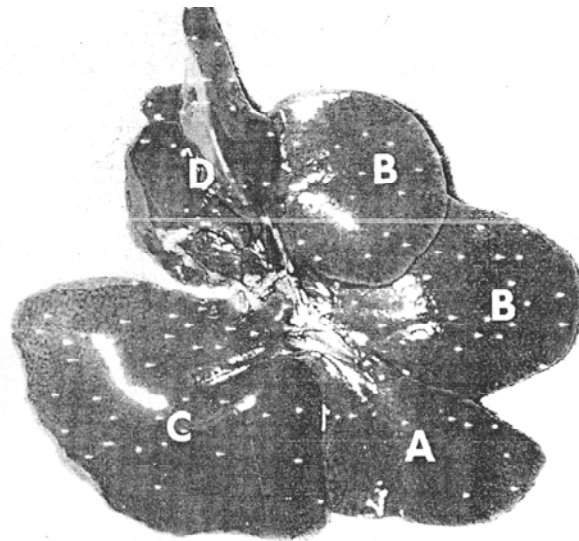


Fig. 1 Anatomía del Hígado de rata. (A) lóbulo mediano, (B) lóbulo derecho, (C) lóbulo izquierdo, (D) lóbulo caudal (13).

## **2.2 Células de Kupffer.**

Las células de Kupffer derivan de los monocitos, pueden proliferar a nivel local, estas células se encuentran distribuidas en la luz de los sinusoides y se encargan de degradar los eritrocitos que se encuentran en mal estado y las sustancias que entran al hígado, las células de Kupffer son las más importantes productoras de citocinas como mediadores de la inflamación y mantienen comunicación con otras células y no están unidas a las células endoteliales vecinas. Las prolongaciones de estas células con frecuencia parecen atravesar toda la luz de sinusoides e incluso pueden obstruirla parcialmente (20).

## **2.3 Irrigación hepática.**

En el hígado hay una irrigación doble que tiene un componente venoso dado por la vena porta y un componente arterial dado por la arteria hepática (Fig. 2). Ambos vasos se introducen en el hígado a través de hilio o porta hepatis, el mismo sitio por donde salen las vías biliares y los vasos linfáticos.

La sangre que llega al hígado por la vena porta proviene del tubo digestivo y de órganos abdominales importantes como el páncreas y el bazo.

La sangre de la vena porta que entra en el hígado contiene:

- Sustancias nutritivas y materiales tóxicos absorbidos en el intestino.
- Eritrocitos y productos de degradación de los eritrocitos provenientes del bazo.
- Secreciones endocrinas del páncreas y de las células endocrinas del tubo digestivo.

La arteria hepática, lleva sangre oxigenada al hígado y provee el 25% restante de su irrigación. Dado que la sangre de las dos fuentes se mezcla justo antes de irrigar los hepatocitos del parénquima hepático, éstos nunca quedan expuestos a la sangre oxigenada por completo.

Dentro del hígado las ramas de distribución de la vena porta y de la arteria hepática (que llevan sangre a los capilares y sinusoidales que irrigan a los hepatocitos) y las ramas de drenaje de la vía biliar transcurren juntas en lo que se ha dado en llamar triada porta. Los sinusoides hepáticos difieren de los otros sinusoides por la presencia de un segundo tipo celular, el llamado macrófago sinusoidal estrellado o célula de Kupffer, es un componente habitual del revestimiento vascular. Los sinusoides están en contacto estrecho con los hepatocitos y sirven para el intercambio de sustancias entre la sangre y las células hepáticas. Estos sinusoides desembocan en una vena central o centrolobulillar, que a su vez drena en las venas hepáticas, que desembocan en la vena cava inferior (14,17-21).



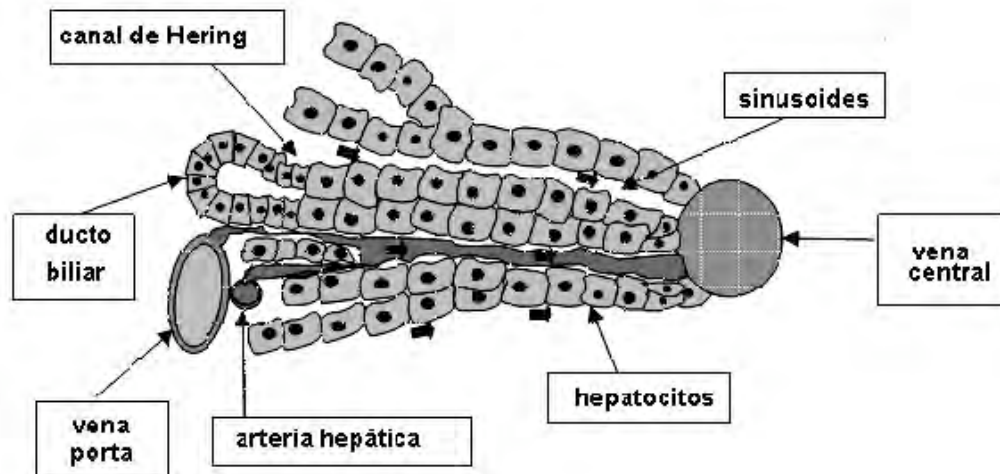


Figura 2. Esquema de la circulación de la sangre a través de un acino hepático (flechas negras), desde las ramas de la vena porta y arteria hepática hacia la vena central, a través de los sinusoides (19).

Las células sinusoidales endoteliales (SECs) conforman la barrera primaria entre la sangre y los hepatocitos y actúan filtrando fluidos, solutos y partículas entre la sangre y el espacio de Disse. Las SECs son el único tipo de células endoteliales fenestradas. Las alteraciones en la fenestración pueden jugar un papel crítico en las patologías incluyendo la arterioesclerosis, cirrosis e implantación de tumores metastásicos. Si la fenestración es relativamente pequeña, se remueve una menor concentración de colesterol de la circulación y se acumula en la sangre incrementando así el riesgo de desarrollar aterosclerosis. Bhunchet y Wake (1998) examinaron la arquitectura lobular del hígado de rata y cerdo y concluyeron que la rata no parece tener el suministro de los vasos porta como el que se describe para los cerdos y humanos, si no más bien una unidad porta poliédrica con menos ramas porta terminales y sinusoides cuyas ramas terminan en la vena central. Encontraron que el hígado de las ratas, contrario a lo que se presenta en los humanos, no tiene venas porta en la superficie del hígado, proponen que la unidad lobular es más semejante a la del perro y el conejo, las tres especies difieren del cerdo y humano (14,20).

## 2.4 Hepatocito.

Las células del hígado que derivan del epitelio intestinal primitivo, son células poliédricas, cuyo citoplasma está lleno de una amplia variedad de organelos (Fig. 3). Los núcleos son grandes, esféricos y centrales y contienen acúmulos dispersos de cromatina y nucleolos desarrollados. Muchas células son binucleadas, y los núcleos son a menudo poliploides. El aparato de Golgi es grande y activo, o pequeño y múltiple, se localiza cerca del núcleo, con una prolongación cercana a la superficie canalicular.

En los hepatocitos las vesículas y túbulos del retículo endoplasmático liso y rugoso están conectados con el aparato de Golgi. Existen numerosos ribosomas libres en el citosol, así como grandes depósitos de glucógeno y algunas gotitas lipídicas. Abundan lisosomas de diversos tamaños, algunos con lipofuscina y lipoproteínas en láminas. Son especialmente grandes y numerosos cerca de la superficie ductulillar.

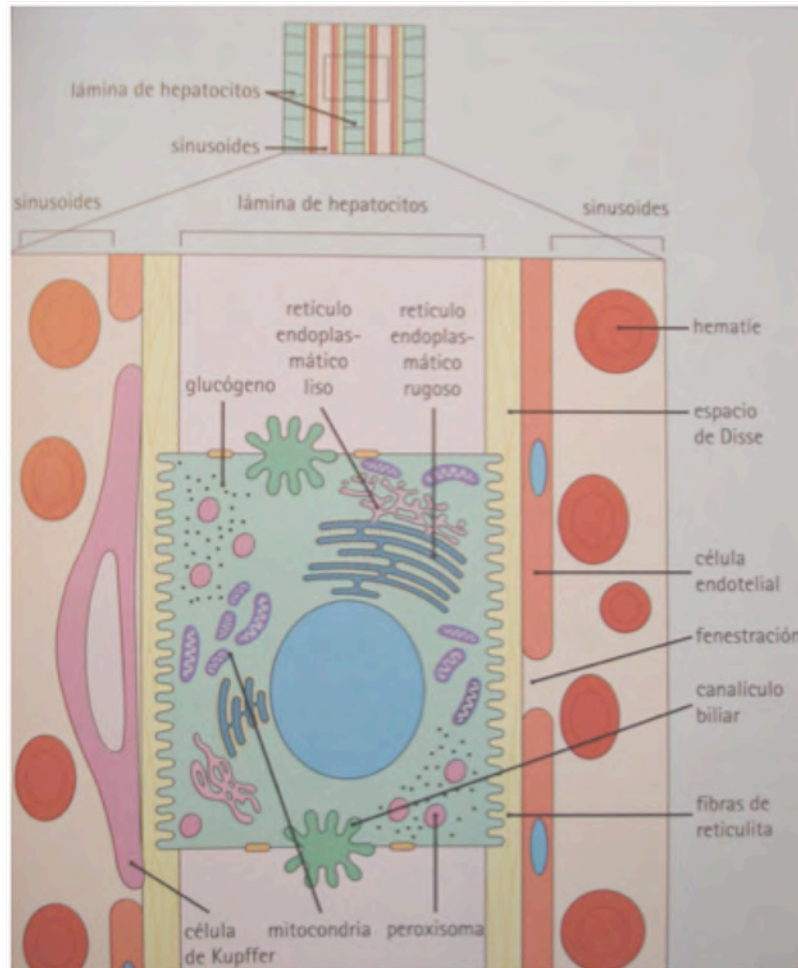


Fig. 3 Hepatocito.

Los hepatocitos poseen tres superficies importantes porque intervienen en el transporte de sustancias entre el hepatocito, los vasos sanguíneos y los canaliculos biliares. Los tres tipos de superficie son: sinusoidal, canalicular e intercelular (17-19).

Los hepatocitos son los más numerosos y representan el 60% del total de células y el 80% del volumen del hígado. Con la edad el número de hepatocitos decrece, mientras que, la hipertrofia, poliploidia, lisosomas y el retículo endoplasmático liso se incrementa. Las mitocondrias y los microtúbulos permanecen sin cambios con la edad, mientras que los microsomas disminuyen su capacidad de metabolizar drogas (14).

## 2.5 Lobulillos hepáticos.

Los componentes del hígado son: hepatocitos, vénulas hepáticas terminales, triadas portales y sinusoides. Hay tres maneras de describir la estructura del hígado en términos de una unidad funcional: el lobulillo clásico, el lobulillo porta y el ácino hepático (Fig. 4).

- Lobulillo clásico. Consiste en placas de trabéculas hepatocíticas anastomosadas, de una célula de espesor. En el centro hay una vénula de tamaño relativamente grande llamada vena central o vena centrolobulillar, en la cual desembocan los sinusoides. En los ángulos del hexágono están los espacios portales o espacios de Kiernan, que consisten en un tejido laxo estromal caracterizado por la presencia de las triadas portales.
- Lobulillo porta. El eje morfológico del lobulillo porta es el conjunto biliar interlobulillar de la triada porta del lobulillo clásico. sus bordes externos son líneas imaginarias trazadas entre las tres venas centrolobulillares más cercanas a esta triada porta.

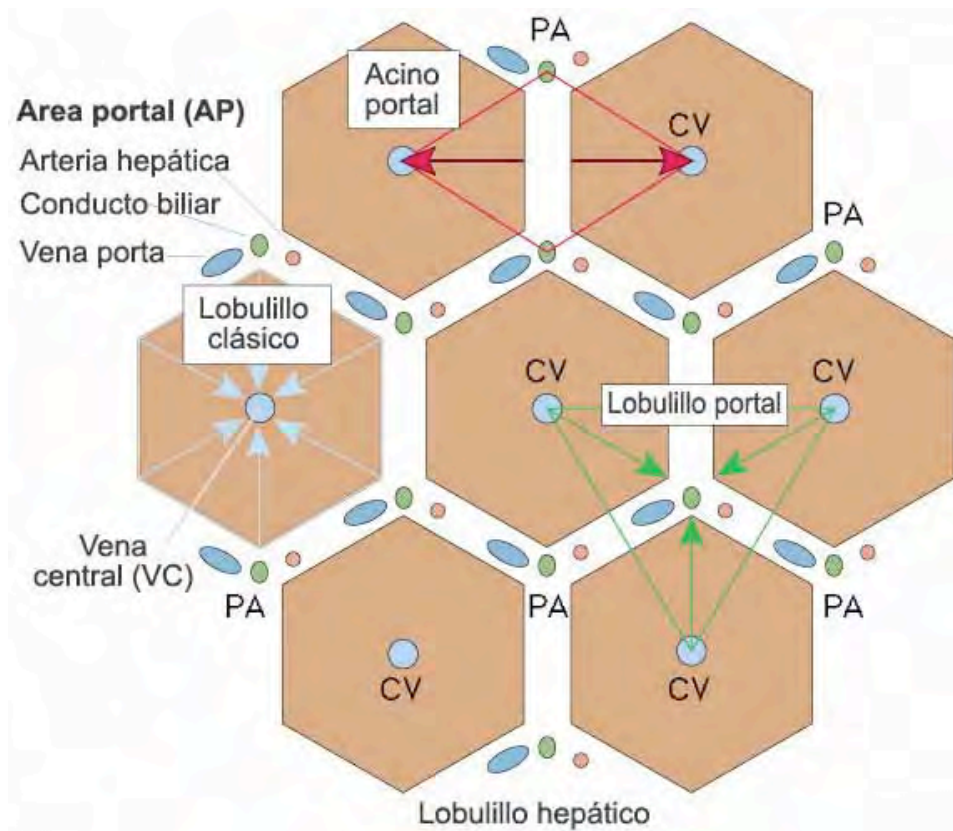


Fig. 4 Lobulillos hepáticos (18).

- Acino hepático. Tiene forma romboidal, el eje menor del acino está definido por las ramas terminales de la tríada porta que siguen el límite entre dos lobulillos clásicos. El eje menor es una línea perpendicular trazada entre las dos venas centrolobulillares más cercanas al eje menor. Los hepatocitos de cada ácino hepático están dispuestos en tres zonas elípticas concéntricas que rodean el eje menor.
  - I. Zona 1 es la más cercana al eje menor y a la irrigación proveniente de las ramas penetrantes de la vena porta y de la arteria hepática. Esta zona corresponde a la periferia de los lobulillos clásicos. Las células de esta zona son las primeras en recibir oxígeno, nutrientes y toxinas desde la sangre sinusoidal y son las primeras en sufrir alteraciones morfológicas después de la obstrucción de la vía biliar. Estas células son las últimas en morir si hay trastornos de la circulación y son las primeras en regenerarse.
  - II. Zona 3 es la que está más lejos del eje menor y más cercana a la vena centrolobulillar. Esta zona corresponde al centro del lobulillo clásico cuyos hepatocitos rodean la vena centrolobulillar. Estas células son las primeras en sufrir necrosis isquémica (necrosis centrolobulillar) en las situaciones en las que disminuye la perfusión y las primeras en acumular lípidos. Son las últimas en responder a sustancias tóxicas y a la estasis biliar.
  - III. Zona 2 está entre las zonas 1 y 3 pero no tiene límites nítidos. Las células de esta zona tienen características morfológicas y funcionales y respuestas que son intermedias entre las de las células de la zona 1 y 3 (18-20).

## 2.6 Funciones del hígado.

El hepatocito cumple multitud de funciones las cuales se pueden clasificar a grandes rasgos en metabólicas, anabólicas, de almacenamiento, catabólicas y excretoras.

- Funciones metabólicas: El hígado es un órgano muy importante para la homeostasis de la glucosa y responde rápidamente a las fluctuaciones en la concentración de la glucosa. En estado posprandial, el exceso de glucosa sanguínea se almacena en el hígado como glucógeno; en ayunas el hígado mantiene la glucosa a través de la glucogenólisis y la gluconeogénesis. Para esta última, el hígado recurre a los aminoácidos, al lactato y al glicerol. La porción nitrogenada de los aminoácidos se transforman en urea. Los ácidos grasos libres son captados por el hígado, que los oxida para producir energía. Otra posibilidad es que se transformen en triglicéridos y que se secreten en forma de lipoproteínas para su utilización en otros lugares (16).
- Funciones de síntesis: La mayoría de las proteínas séricas, con la excepción de las inmunoglobulinas, se sintetizan en el hígado. La albúmina

es la fuente principal de la presión oncótica del plasma. La coagulación de la sangre depende de la producción continua de los factores de la coagulación, la mayoría de los cuales, incluidos la protrombina y el fibrinógeno, se sintetizan en los hepatocitos.

- **Funciones de almacenamiento:** El hígado es un depósito importante de glucógeno, triglicéridos, hierro, cobre y proteínas liposolubles. Las hepatopatías graves pueden obedecer a un depósito exagerado, por ejemplo de glucógeno anómalo de tipo IV o de hierro en exceso en la hemocromatosis.
- **Funciones catabólicas:** Las sustancias endógenas, entre ellas las hormonas y las proteínas del suero, se catabolizan en el hígado para mantener el equilibrio entre su producción y eliminación. El hígado constituye el principal órgano para la desintoxicación de diversas sustancias, como fármacos, productos químicos industriales, y contaminantes. La eliminación del amoníaco se da principalmente en el hígado.
- **Funciones excretoras:** Su principal excreción es la bilis, las sales biliares como el ácido taurocólico, sintetizado a partir del colesterol, se almacenan en la vesícula biliar y se liberan al intestino delgado después de la ingestión de una comida que contenga grasas. Estos compuestos anfipáticos actúan como detergentes biológicos, convirtiendo las grasas de la dieta en micelas mixtas de ácidos biliares y triácilgliceroles (16, 26).

Aunque la insulina no sea necesaria para el transporte de la glucosa al hígado, afecta directamente la capacidad del hígado para aumentar la captación de la glucosa al reducir el valor de glucogenólisis (la conversión de glucógeno en glucosa), aumentando la síntesis de glucógeno, y disminuyendo el valor de gluconeogénesis (11).

El glucógeno representa una reserva energética fácilmente accesible que se localiza en el citoplasma de las células. Los depósitos citoplasmáticos de glucógeno se observan en los pacientes con alguna alteración en el metabolismo de la glucosa o del glucógeno (85).

La diabetes mellitus es el ejemplo de un trastorno del metabolismo de la glucosa. En esta enfermedad, el glucógeno se almacena en las células epiteliales de las porciones dístales de los túbulos contorneados dístales y, en ocasiones, en la porción descendente del asa de Henle, así como en el interior de las células hepáticas, células de los islotes de Langherhans y células del músculo cardíaco (85).

## **2.7 Amiloidosis**

La amiloidosis se debe al depósito en los tejidos de una sustancia fibrilar denominada amiloide.

El amiloide es una sustancia de origen protéico, patológica, depositada entre las células de diferentes tejidos y órganos del cuerpo, con un amplia variedad de manifestaciones clínica, estas fibras están compuestas por cadenas de polipéptidos, dispuestos en la configuración de la hoja llamada beta-plegada. Aproximadamente el 95% del material amiloide consiste en fibras de proteína y el 15% restante es el componente P y otras glucoproteínas. De las 15 formas distintas de las proteínas del amiloide que se han identificado, tres son las más comunes: AL (cadena ligera de amiloide) que deriva de las células plasmáticas y contienen cadenas ligeras de inmunoglobulinas; AA (asociado a amiloide), es una proteína singular, no inmunoglobulina, sintetizada por el hígado y A $\beta$  que se encuentra en la lesión cerebral de la enfermedad del Alzheimer. En esta clasificación, la primera letra simboliza el tipo de depósito de amiloide, mientras que la segunda corresponde al tipo de proteína que lo conforma. Las revisiones recientes señalan que la amiloidosis está producida por más de 25 proteínas humanas fibrilar, además de ocho o más en el caso de los animales. Para una proteína fibrilar que se considera amiloidogénicas debe producir depósitos extracelulares con afinidad por el colorante rojo Congo y una birrefringencia verde. (86).

## **2.8 Vías metabólicas.**

El hígado es un órgano muy importante en el metabolismo de los carbohidratos porque mantienen una adecuada concentración de sustancias nutritivas para los procesos celulares.

- 1.- En el metabolismo de la glucosa el hígado fosforila la glucosa absorbida desde el tubo digestivo a G6-P. Según sean las necesidades, esta glucosa puede ser almacenada en forma de glucógeno o ser utilizada en las vías glucolíticas.
- 2.- En el metabolismo de los ácidos grasos, estos provienen del plasma y son consumidos por los hepatocitos en la  $\beta$ -oxidación.
- 3.- El hígado produce cuerpos cetónicos que pueden ser utilizados como fuente de energía en otros órganos (22).

### **2.8.1 Transportadores de glucosa.**

El ingreso de la glucosa a las células se realiza mediante dos tipos de proteínas acarreadoras: los transportadores de glucosa asociados a sodio (SGLT) y los sistemas facilitados del transporte de glucosa (GLUT). Los primeros se expresan principalmente en epitelios que se encargan de la absorción y de la reabsorción de nutrientes, como son, el epitelio del intestino delgado y el epitelio tubular renal respectivamente. Los GLUT se expresan en todas las células del organismo y permiten mover la glucosa de un compartimiento a otro. Hasta la fecha se ha

reportado la existencia de 14 miembros de esta gran familia de proteínas acarreadoras (22). Un resumen de las propiedades de los miembros de estas dos familias se encuentran en la Tabla 1.

El efecto hipoglucemiante de la insulina se debe principalmente a que induce la incorporación de los GLUT a la membrana plasmática de las células músculo esqueléticas, de los adipocitos y de los hepatocitos, provocando la entrada masiva de la glucosa a estos tejidos y disminuyendo nivel de glucosa en la sangre (23).

Los GLUT son glicoproteínas que se encargan de transportar monosacáridos al interior de todas las células del organismo. Son glicoproteínas cuya masa molecular fluctúa entre 45 y 55 kDa. La selectividad a la glucosa está determinada por una serie de secuencias de aminoácidos altamente conservadas (22, 23).

Los SGLT son transportadores que acoplan el ingreso de  $\text{Na}^+$  y glucosa o galactosa a la célula aprovechando el gradiente electroquímico a favor de la entrada de  $\text{Na}^+$  transportando a la exosa en contra de su gradiente de concentración (23).

### **2.8.2 Metabolismo de la glucosa.**

La G6P tiene diferentes destinos metabólicos, dependiendo de la demanda de glucosa (Fig.5):

1. La vía glucolítica convierte a la G6P, en dos moléculas de piruvato, produciendo 2 moléculas de ATP/molécula de glucosa. En condiciones aeróbicas, el piruvato es oxidado en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos hasta  $\text{CO}_2$  y agua, y a través de la fosforilación oxidativa se producen 36 moléculas de ATP/mol de glucosa, en condiciones anaeróbicas el piruvato se transforma a lactato.
2. La G6P puede ser degradada en la vía de las pentosas generando  $\text{NADPH}^+$ , el cual, es útil para el mantenimiento de las membranas celulares de los eritrocitos, y en la biosíntesis de lípidos y esteroides.
3. Cuando la demanda de glucosa es baja puede ser almacenada en forma de glucógeno, principalmente en el hígado y músculo esquelético.
4. En el hígado la G6P es convertida por la glucosa 6 fosfatasa y así es transportada al torrente sanguíneo para proveer a otros tejidos de glucosa en periodos de ayuno (26-28).

**Tabla 1. Características funcionales de los GLUTS y SGLT.**

Transportador	Transporta	Km	Localización Tisular.	Enfermedades Relacionadas
<b>SGLT1</b> (SLC5A1)	Una glucosa o galactosa por 2 Na <sup>+</sup>	0.3.mM	Intestino delgado, corazón, riñón	Síndrome de mala absorción de glucosa y galactosa
<b>SGLT2</b> (SLC5A2)	Una glucosa por un Na <sup>+</sup>	2 mM	Túbulo contorneado proximal	Glucosuria renal primaria
<b>SGLT3</b> (SLC5A4)	Una glucosa por 2 Na <sup>+</sup>	6 mM	Neuronas colinérgicas del intestino delgado, uniones neuromusculares	No descritas
<b>GLUT1</b> (SLC2A1)	Glucosa y galactosa	2 mM	Eritrocitos, células endoteliales del cerebro, neuronas, riñón, linfocitos	Síndrome de deficiencia del transporte de glucosa tipo I
<b>GLUT2</b> (SLC2A2)	Glucosa	17 mM	Células β pancreáticas, hígado, riñón, intestino delgado	Síndrome de Fanconi Bickel
<b>GLUT3</b> (SLC2A3)	Glucosa y galactosa	2 mM	Sistema nervioso central, placenta, hígado, riñón, corazón, linfocitos	Restricción del crecimiento intrauterino fetal
<b>GLUT4</b> (SLC2A4)	Glucosa	5 mM	Tejidos sensibles a la insulina, linfocitos	Diabetes tipo 2
<b>GLUT5</b> (SLC2A5)	Fructosa	10 mM	Intestino delgado, testículo, riñón	Algunas células cancerígenas, HPTG <sup>+</sup> e HPINS <sup>+</sup>
<b>GLUT6</b> (SLC2A6)	Glucosa	5 mM	Cerebro, bazo, leucocitos	Células tumorales de cáncer de mama
<b>GLUT7</b> (SLC2A7)	Glucosa y fructuosa	0.3 mM y 0.06 mM	Intestino delgado, colon, próstata	No descritas
<b>GLUT8</b> (SLC2A8)	Glucosa	2 mM	Testículo y tejido dependiente de insulina	No descritas
<b>GLUT9</b> (SLC2A9)	Fructuosa	No descrita	Riñón, hígado, intestino delgado, placenta, pulmones, leucocitos	Participan en la preimplantación del embrión
<b>GLUT10</b> (SLC2A10)	Glucosa	0.3 mM	Hígado y páncreas	Diabetes tipo 2
<b>GLUT11</b> (SLC2A11)	Fructuosa y glucosa	Alta afinidad a fructosa y baja afinidad a glucosa	Corazón, músculo esquelético, riñón, tejido adiposo, placenta y páncreas	No descritas
<b>GLUT12</b> (SLC2A12)	Glucosa	Alta afinidad a glucosa	Músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado	Neuropatía diabética, hiperglucemia, hipertensión
<b>GLUT13</b> (SLC2A13)	Mio-inositol acoplado a H <sup>+</sup>	100 μM	Cerebro	No descritas
<b>GLUT14</b> (SLC2A14)	Glucosa	No descrita	testículo	No descritas



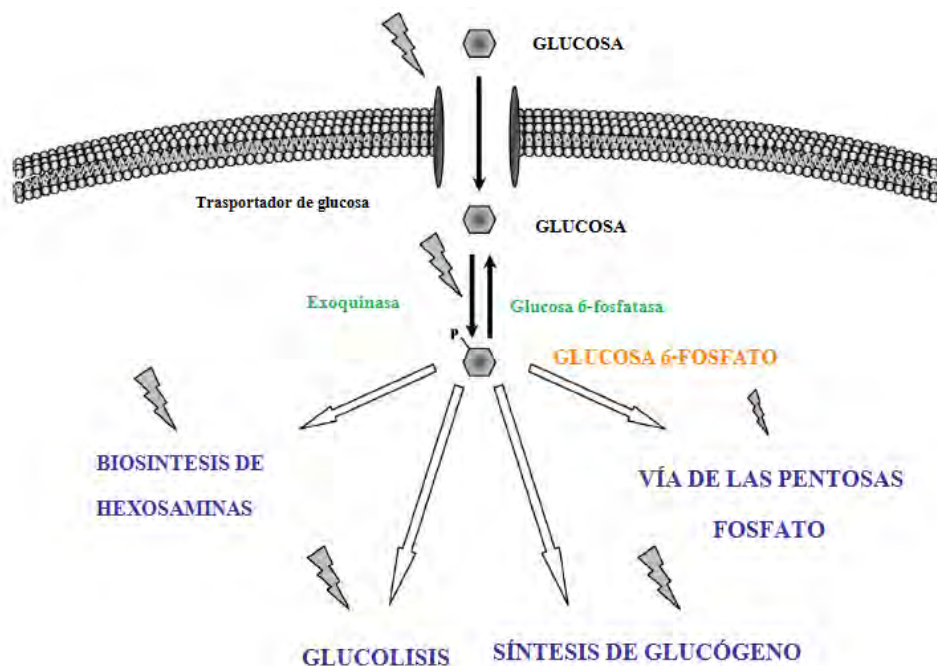


Fig.5. Esquema que representa los diferentes destinos de la glucosa, en verde se muestran las enzimas que intervienen y en azul los cuatro destinos que puede seguir la glucosa (27).

### 3. GLUCÓGENO.

#### 3.1 Bioquímica del glucógeno.

El glucógeno es el polisacárido de reserva más importante en las células animales, es almacenado en el hígado y en el músculo esquelético, siendo más alta la concentración de éste en el hígado ya que representa un 10% de su peso en comparación con el almacenado en el músculo esquelético el cual representa un 2% de su peso. El glucógeno se encuentra en el citosol de las células en forma de gránulos con un diámetro de 10 a 40 nanómetros. La síntesis y degradación del glucógeno del hígado están reguladas por los niveles de glucosa en sangre y el requerimiento de energía de cada organismo. En contraste, en el músculo, estos procesos están regulados por los requerimientos energéticos del propio músculo.

El glucógeno es un polímero de subunidades de glucosa unidos por enlaces  $\alpha 1,4$  y ramificaciones del tipo  $\alpha 1,6$ . La liberación de glucosa a partir del glucógeno se produce en las células del músculo y el hígado estimuladas por adrenalina u otras hormonas cuyos receptores están acoplados a proteínas G, el glucógeno es sintetizado por un conjunto de enzimas y degradado por otro (25, 26).

### 3.1.1 Síntesis de la molécula de glucógeno.

La glucosa ingerida durante la comida es captada primeramente por los eritrocitos convirtiéndose glucolíticamente en lactato, que es captado por el hígado y convertido en glucosa 6 fosfato mediante glucogenesis (Fig. 6).

Para iniciar la síntesis del glucógeno, tres enzimas convierten la glucosa en uridina difosfoglucosa (ADP-glucosa), el principal intermediario en la síntesis de glucógeno. El residuo glucosa de ADP-glucosa es transferido por la glucogeno sintasa al grupo hidroxilo libre en el carbono 4 de un residuo de glucosa en el extremo de una cadena de glucógeno en crecimiento. La degradación del glucógeno comprende la eliminación gradual de residuos de glucosa desde el mismo extremo mediante una reacción de fosforilación, catalizada por la glucógeno fosforilasa, para formar glucosa-1P. Los hepatocitos tienen una fosfatasa que hidroliza la G6-P, la cual en parte es liberada de estas células por un transportador de glucosa (GLUT2) de la membrana plasmática. Así las reservas de glucógeno en el hígado son degradadas sobre todo la glucosa, la que se libera de inmediato a la sangre, y se trasporta a otros tejidos, en particular músculo y cerebro (24-26).

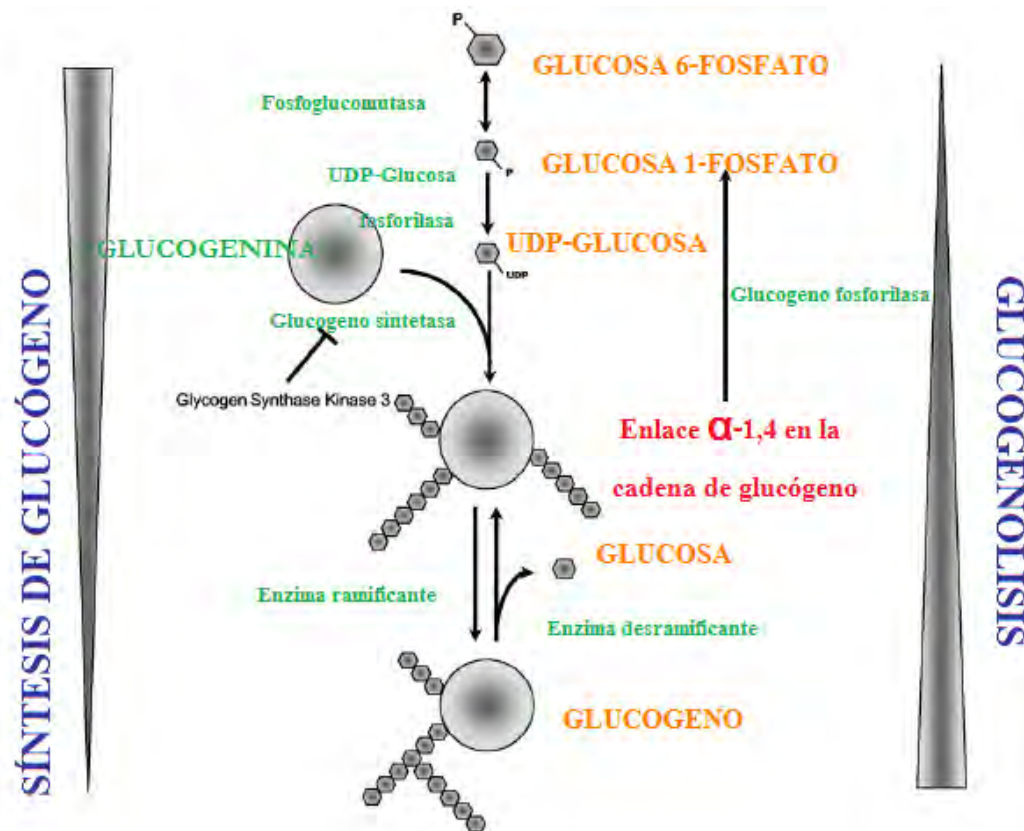


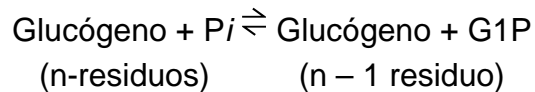
Fig. 6 Síntesis y degradación del glucógeno. En color verde se encuentran las enzimas que intervienen en la ruta metabólica, en anaranjado los productos y en rojo los tipos de enlaces (27).

### 3.1.2 Rompimiento de la molécula de glucógeno.

La glucogenolisis es la vía degradativa que moviliza al glucógeno almacenado en el hígado, y su función es proporcionar glucosa para exportarla a otros tejidos cuando se han agotado otras fuentes de glucosa (Fig.6).

Para llevar a cabo la catálisis del glucógeno se requieren tres enzimas:

1.- Glucogeno fosforilasa (o simplemente fosforilasa) cataliza la fosforilación del glucógeno produciendo una glucosa-1-fosfato por medio de la separación secuencial de restos de glucosa desde el extremo no reductor.



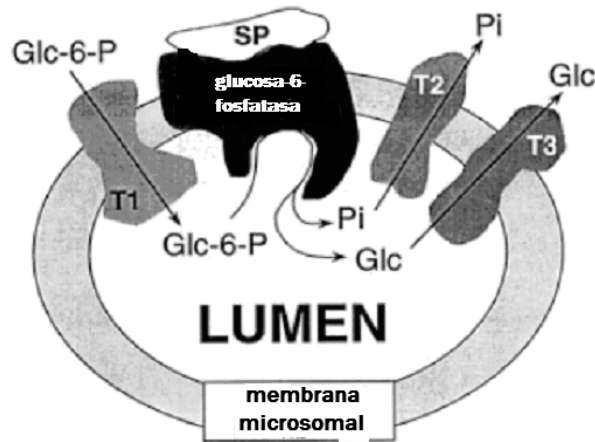
2.- Enzima desramificante del glucógeno la glucógeno fosforilasa no puede escindir los enlaces O-glicosídicos en alfa (1-6). La enzima desramificante del glucógeno posee dos actividades: en alfa (1-4) glucosil transferasa que *transfiere* cada unidad de trisacárido al extremo no reductor, y elimina las ramificaciones por los enlaces alfa 1-6 glucosídicos.

3.- Fosfoglucomutasa. Esta enzima se encarga de convertir a la G1P en G6P, la cual posteriormente va a tener diversos destinos metabólicos (24-26).

### 3.1.3 Sistema glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa).

La glucosa-6-fosfato procedente de la gluconeogénesis y la glucogenólisis no puede pasar a través de la membrana celular, por lo que, primero debe ser hidrolizada por la G6Pasa.

La G6Pasa es un multicomponente enzimático que es parte integral de la membrana del retículo endoplásmico con su sitio activo dirigido hacia la luz del lumen (Fig. 7). Este compuesto enzimático cuenta con: 1) una proteína transportadora T1, que permite la entrada de la glucosa-6-fosfato al RE; 2) la subunidad catalítica que se encarga de escindir la G-6-P; 3) dos transportadores adicionales T2 y T3 que se encargan de retornar la glucosa y fosfatos respectivamente, hacia el citoplasma (28,29).



Fug. 7 Complejo glucosa-6-fosfatasa (29).

### 3.2 Control metabólico del glucógeno.

El metabolismo del glucógeno es regulado de acuerdo a las necesidades celulares. La regulación del metabolismo del glucógeno involucra el control alostérico, así como, el control hormonal por modificación covalente de las enzimas que regulan la vía metabólica (28).

#### 3.2.1 Control alostérico directo de la glucógeno fosforilasa y glucógeno sintetasa.

La producción hepática de la glucosa, mediante gluconeogénesis, es una vía biosintética. La utilización de glucosa mediante glucólisis es una vía de degradación. Una carga negativa de energía libre (AMP o una razón AMP/ATP) favorece la glucólisis, mientras que una carga elevada de energía libre (ATP o una razón AMP/ATP baja) favorece la vía gluconeogénica.

La glucosa se convierte en G-6P con la ayuda de la enzima glucocinasa. Los hepatocitos convierten con eficacia la glucosa en G-6-P porque la glucocinasa (HK-IV) actúa de manera más eficiente con concentraciones elevadas de glucosa. La fosforilación de la glucosa por parte de la glucocinasa aumenta la concentración intracelular de G-6-P. A pesar de que las concentraciones fisiológicas de G-6-P no inhiben la glucocinasa, la G-6-P está casi en equilibrio con la F-6-P por la acción de la enzima reversible fosfoglucoisomerasa. La F-6-P aumenta la actividad de la GKPR (proteína reguladora de la glucocinasa) nuclear para unirse a la glucocinasa. Ésta una vez unida a la GKPR, se encuentra principalmente en una forma inactiva en el núcleo del hepatocito. Dicho complejo está sujeto a una regulación alostérica, ya que la F-1-P invierte la inhibición de la glucocinada por parte de la F-6-P y compite para unirse a la GKPR. La unión de la F-1-P produce un cambio estructural de la GKPR. Esto da lugar a la disociación de la glucocinasa, que puede entonces traslocarse al citoplasma como una enzima

activa. Con ello, la fructosa, convertida por la fructocinasa F-1-P, estimula la depuración de la glucosa hepática por medio de su activación indirecta de la glucocinasa.

La glucógeno fosforilasa y glucógeno sintetasa, son poco controladas alostéricamente por el efecto del ATP, G6P y AMP, la primera cuando se encuentra en el músculo es activada por el AMP e inhibida por el ATP y la G6P, a diferencia de la glucógeno sintetasa que es activada por la G6P. Esto sugiere que cuando hay alta demanda de ATP, la glucógeno fosforilasa es estimulada y la glucógeno sintetasa es inhibida, favoreciendo el rompimiento del glucógeno (28).

### **3.2.2 Efectos hormonales en el metabolismo del glucógeno.**

El metabolismo del glucógeno es controlado por la insulina y el glucagon que actúa en oposición a ésta. El glucagon es un sensible y oportuno regulador de la homeostasis de la glucosa. Una pequeña concentración de glucagon es suficiente para inducir una elevación significativa de glucosa plasmática. El glucagon es una cadena polipeptídica única que consiste en 29 aa con un peso molecular de 34.50 KDa, el cual se deriva de una gran molécula precursora de 160 aa que es 5 o 6 veces mayor que el glucagon. El glucagon es liberado por el páncreas cuando la concentración de glucosa plasmática es menor ~90 mg/dl (28, 30).

La señalización del glucagon se da a través de un receptor de superficie celular (Fig. 8). El glucagon se une a los brazos extracelulares del receptor, dando así lugar a cambios conformacionales que dan origen a la activación de proteínas G acopladas. Las dos proteínas G que se conocen que están asociadas y que involucran la traducción de señales del receptor del glucagon son la  $G_{s\alpha}$  y la  $G_q$ . La activación de la  $G_{s\alpha}$  conduce a la activación de la adenil ciclasa, incrementando los niveles celulares de AMPc y subsecuentemente la activación de la proteína quinasa A (PKA). La activación de la proteína  $G_q$  conduce a la activación de la fosfolipasa C, producción de inositol 1,4,5-trifosfato y subsecuentemente está relacionada con el calcio intracelular (31,32).

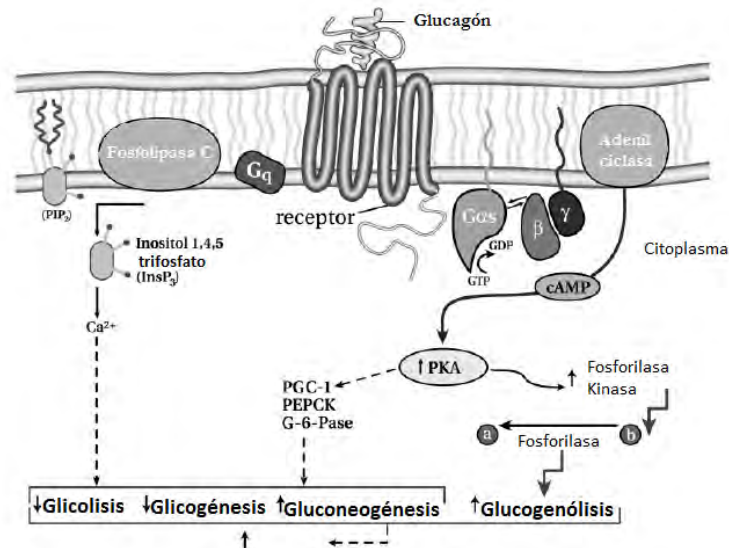


Fig. 8 Vía de señalización del glucagón: PIP2 fosfatidinositol 4,5 fosfato, PEPCK: Fosfoenolpiruvato carboxilasa; G-6-Pase: Glucosa 6 fosfatasa (32).

### 3.3 Enfermedades por almacenamiento de glucógeno (glucogenosis).

Las enfermedades por acumulación de glucógeno (EAG) más conocidas son aquellas causadas por deficiencias hereditarias de una de las enzimas que intervienen en la síntesis o en la degradación del glucógeno (33).

Basándose en cada déficit y en el correspondiente caso clínico, la glucogenosis se ha dividido clásicamente en una docena aproximadamente de síndromes designados con números romanos (34,35):

- Tipo I (enfermedad de Von Gierke, defecto en la glucosa-6-fosfato) este es el tipo más común de EAG, y abarca el 90% de todos los casos de EAG
- Tipo II (enfermedad de Pompe, deficiencia en la maltasa ácida)
- Tipo III (enfermedad de Cori, deficiencia en la enzima desramificante)
- Tipo IV (Enfermedad de Andersen, deficiencia en la enzima ramificante)
- Tipo V (Enfermedad de McArdle, deficiencia en la fosforilasa glucógena muscular)
- Tipo VI (enfermedad de Hers, deficiencia en la fosforilasa del hígado)
- Tipo VII (Enfermedad de Tauri, deficiencia en la fosfofructocinasa muscular)
- Tipo IX (deficiencia de la fosforilasa quinasa glucógena del hígado).

Atendiendo a las manifestaciones clínicas, a los criterios de diagnóstico y a su tratamiento, los trastornos genéticos que afectan el metabolismo del glucógeno pueden dividirse en dos categorías: las que tienen una fisiopatología hepática

hipoglucémica y las musculares. Dentro del primer grupo estarían las glucogenosis tipos Ia, Ib, III, VI y VIa, y dentro del segundo las glucogenosis tipos V, VII y los defectos de la glucólisis que no causan acumulación de glucógeno. Sin embargo, existen entidades que presentan una fisiopatología peculiar, como las glucogenosis tipos II y IV (37).

## **4 DIABETES EXPERIMENTAL.**

### **4.1 Modelos animales en diabetes.**

Los modelos experimentales de diabetes en animales se utilizan tanto para el estudio de la etiología de la diabetes mellitus como para el estudio de los mecanismos involucrados en las complicaciones diabéticas a largo plazo, ya que las características generales de la diabetes en animales son similares a las de la diabetes humana. La mayor parte de los modelos combinan las dos principales características de la diabetes tipo 2: la resistencia de la insulina asociada con la obesidad y la disfunción de la célula  $\beta$  con o sin disminución de la masa de las células  $\beta$ .

Los diferentes modelos experimentales utilizando distintas especies animales se pueden agrupar según la metodología utilizada para la inducción de la diabetes en cuatro grandes grupos: los modelos que utilizan agentes químicos para la inducción de la diabetes (diabetes química); los modelos en los que se induce la diabetes mediante procedimientos quirúrgicos de extirpación parcial o total del páncreas (diabetes quirúrgica); aquellos en los que la diabetes se induce por infecciones vírales (diabetes viral); y, por último, los modelos de diabetes espontánea.

### **4.2 Métodos quirúrgicos.**

La pancreatectomía parcial puede provocar un estado de diabetes hipoinsulinémica. Se debe extirpar aproximadamente el 90% de la glándula para lograr un incremento estable y moderado de la glucemia (38).

### **4.3 Inducción hormonal.**

La administración de corticoides en diversos periodos de la vida animal pueden causar un estado similar a la de la DM2 humana, otras hormonas que pueden causar hiperglucemia en los animales son la somatostatina, el glucagon, las catecolaminas y la tiroxina. La epinefrina y el glucagon administrados a altas dosis en animales, tiene el mismo efecto anti-insulina que el que se presenta en humanos (87).

#### 4.4 Inducción viral.

La infección viral se señala como una causa de diabetes tanto en animales como en humanos (Tabla 2). Los virus pueden destruir directamente las células  $\beta$  por efecto citolítico propio de éstos o bien actuar indirectamente por una respuesta autoinmune iniciada y aumentada por el virus, pero la susceptibilidad genética frente a la infección y ante la resistencia de las células  $\beta$  a las lesiones virales son un punto que hasta ahora no está bien clarificado (38,43).

Virus	Tipo	Huésped	Factores genéticos	Características
Encefalo-Mio-Carditis (EMC)	RNA	Ratón Hámster	+ +	Produce degranulación de las células $\beta$ y necrosis
Coxsackie B	RNA	Ratón Primates humanos	+ + No determinados	Inflamación focal exócrina con lesiones necrotizantes; alteraciones finas de las células $\beta$ sin necrosis
Retrovirus	RNA	Ratón Humanos	+No determinados	Necrosis de islotes poca o extensa
Virus Bovino	RNA	Ganado	No determinado	Necrosis de las células $\beta$
Virus Kilham de la rata	DNA	Ratas	+	Necrosis de las células $\beta$ .
Citomegalovirus	DNA	Humanos	No determinado	
Epstein –Barr	DNA	Humanos	No determinado	
Varicela Zoster	DNA	Humanos	No determinado	

Tabla 2 Infección viral.

#### 4.4 Modelos de diabetes espontánea.

La clasificación de los modelos se da en base a la naturaleza del síndrome.

a) DM2 con hipoglucemia severa.

Se caracteriza por una hiperglucemia inicialmente moderada, pero que con el tiempo se va tornando severa. Diversos factores genéticos y ambientales – edad, alimentación, cautiverio– influyen en la forma de manifestación de este síndrome, el cual ha sido estudiado en distintos modelos animales, en especial, en roedores obesos (tabla 3).



CARACTERISTICAS DE ALGUNOS ANIMALES CON DIABETES EXPONTÁNEA					
NOMBRE	CONSTITUCIÓN	INSULINAS PLASMÁTICA	TIPO DE DIABETES	CETOSIS	EFFECTO EN LAS CÉLULAS $\beta$
Rata BB (Biobreder)	Delgada	Muy baja	Tipo 1	+++++	Insulinitis. Necrosis de las células $\beta$ .
Ratón NOD (Diabético obeso)	Delgada	Baja	Tipo 1	+++	Dstrucción autoinmune por las células T
Ratón chino (Cricetus griseus)	Delgada	Normal a baja	Tipo 1	+	Degranulación, bajo numero de células $\beta$ , con cetosis; necrosis.
Hámster Sudáfrica ( <i>Mysromys albicaudatus</i> ).	Delgada	¿?	Tipo 1	++	Hiperplasia e infiltración de glucógeno con cetosis: neccrosis
Perro Keesshond	Delgada	Baja	Tipo 1	+++	Ausencia de células $\beta$ ; células $\beta$ solitarias.
Ratón C57BL/6J ob/ob	Muy obeso	Inicia alta y después normal	Tipo 2	----	Inicio: degranulación; después hiperplasia y regeneración.
Ratón C57BL/ksj db/db	Muy obeso	Inicia alta y después baja.	Tipo 2	Ocasional	Inicio: degranulación; después necrosis de las células $\beta$ .
Ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO)	Obeso	Alta	Tipo 2	----	Inicio: aumento de la insulina pancreática.
Ratón Amarillo	Obeso	Alta	Tipo 2	----	Hipertrofia e hiperplasia
Ratón KK	Obesidad moderada	Alta	Tipo 2	----	Hipertrofia e hiperplasia
Ratón Amarillo KK	Obesidad moderada	Alta	Tipo 2	----	Hipertrofia e hiperplasia
Rata Obesa de la cepa Zucker (fa/fa Zucker)	Obesa	Alta	Tipo 2	----	Inicio: alargamiento de islotes, después, disminución de insulina pancreática y de número de células $\beta$ .
Ratas de arena ( <i>Psammomys obesus</i> )	Obesa	Alta	Tipo 2	Ocasionalmente	Alargamiento de los islotes; degranulación de las células $\beta$ , depósitos de glucógeno con cetosis, necrosis.
Ratón Rápido (acomis cahirinus)	Obeso	Alta	Tipo 2	Ocasionalmente	Hipertrofia e hiperplasia masiva.
Ratón híbrido Wellesley C3hfXI	Obeso	Alta	Tipo 2	----	Hipertrofia, hiperplasia y degranulación de las células $\beta$
Rata GK	Delgada	Baja	Tipo2	----	Masa reducida de células $\beta$ .
Hámster Djungaria ( <i>Phodopus songorus</i> )	Obeso	Alta	Tipo 2	+	Hipertrofia e hiperplasia.
Tuco-tuco ( <i>Ctenomys talarum</i> )	Muy obeso	?	Tipo 2	----	Hipertrofia
Simio Negro ( <i>Macaca nigra</i> )	Delgado	Normal	?	----	Amiloide
Mono rehesus ( <i>Macaca mulata</i> )	Obesidad central	Inicio alta, después baja.	Tipo 2	----	Alteraciones en la secreción de insulina

#### 4.6 Inducción química.

La inducción de diabetes experimental en la rata utilizando agentes químicos que destruyen selectivamente las células  $\beta$  del páncreas es un método conveniente y sencillo. Entre estos agentes químicos, la aloxana y la estreptozotocina (STZ) son los más específicos y los más comúnmente utilizados (39,40). En la tabla 4 se muestran los diferentes agentes químicos inductores de diabetes.

<b>Agentes con efectos citotóxicos Irreversibles en la célula <math>\beta</math></b>	<b>Agentes con efectos citotóxicos Reversibles en la célula <math>\beta</math></b>
Difenilthiocarbazona	2-deoxiglucosa
Estreptozotocina	Acido dehidroascórbico
Hidroxiquinolona	Aloxana
Oxine-9	Fluorida
Vacor	Iodoacetato
	Malonato
	Mannoheptulosa
	L-asparginasa
	6-aminonocotinamida
	Cianida
	Azida
	Ciproheptamina

Tabla 4 Agentes químicos.

##### 4.5.1 Modelos de ratas diabéticas n-STZ.

Se han descrito dos modelos en los que una sola dosis de 100 mg/Kg de estreptozotocina inyectada vía intravenosa (vena safena) o intraperitoneal en ratas hembras Wistar de dos días de vida o en ratas macho Sprague-Dawley, estos animales tienen una hiperglucemia transitoria pero desarrollan una intolerancia a la glucosa entre las 4 y 6 semanas de vida. Con una reducción inicial de la masa de células  $\beta$  con regeneración que resulta en una reducción de alrededor del 50 % en la vida adulta (41).

##### 4.5.2 Modelos STZ-NA (Streptozotocina-nicotilamida).

Este modelo comparte varias características con la diabetes tipo 2 humana la cual, es inducida en ratas adultas experimentalmente por la administración de STZ, las cuales son parcialmente protegidas con una dosis de nicotilamida (NA). Este modelo se caracteriza por la destrucción del 40 % de la masa de células  $\beta$ , dando como resultado una hipoglucemia moderada y estable, intolerancia a la glucosa, respuesta a tolbutamina tanto *in vivo* como *in vitro* (88).

### 4.5.3 Estreptozotocina.

Por varias décadas la toxicidad de la estreptozotocina (STZ, 2-deoxi-2[3-(metil-3-nitrosourea]1-Dglucopiranososa) (Fig. 9) ha sido utilizada para inducir diabetes en modelos animales. La STZ es un antibiótico de amplio espectro sintetizado por *Streptomyces achromogenes* (39-41).

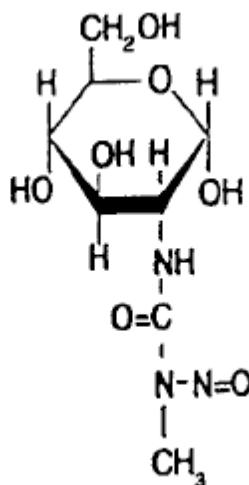


Fig.9 Estreptozotocina.

La STZ tiene una vida media de 5 minutos y es eliminada de la circulación en 4-6 horas. Se ha demostrado que su efecto es severo y no reversible. La hipoglucemia que produce se considera como una forma específica sin cetogénesis ni elevación de ácidos grasos libres.

Frecuentemente se inyecta una sola dosis de entre 40 y 60 mg/kg peso corporal de STZ vía intravenosa para inducir diabetes en ratas adultas, pero también, se puede inyectar una sola dosis  $\geq 40$  mg/kg peso de STZ vía intraperitoneal, ya que una dosis menor a la mencionada podría ser inefectiva.

STZ también puede ser administrada en múltiples dosis de baja concentración. Este tratamiento es utilizado predominantemente en ratones induciendo en éstos DMI, mediante la activación de mecanismos inmunológicos (38, 41).

### 4.5.4 Mecanismo de acción de la STZ.

La STZ ingresa a las células  $\beta$  a través del transportador de glucosa GLUT2. La STZ induce la muerte de las células  $\beta$  a través de la alquilación del DNA. Esta se descompone intracelularmente causando daños directamente al DNA por alquilación. La alquilación del DNA por la STZ está relacionada especialmente con el O<sup>6</sup> del grupo funcional nitrosourea, también se ha observado que causa metilaciones en las purinas.

Las células  $\beta$  expuestas a STZ manifiestan cambios característicos en la acción del NO el cual es liberado cuando es metabolizada dentro de la células  $\beta$ , el NO incrementa la actividad de la guanilil ciclasa y aumenta la formación del GMPc.

La formación de aniones super óxido procedentes de la metabolización de la STZ, repercute en la mitocondria aumentando la actividad de la oxidasa xantina ocasionando la inhibición del ciclo de Krebs y disminuye sustancialmente el consumo de oxígeno por la mitocondria limitando así la producción de ATP. La STZ induce daños en la poliADP-ribosilación del DNA. Este proceso disminuye la concentración celular de  $\text{NAD}^+$ , de ATP y subsecuentemente la inhibición y síntesis de insulina (44-46)

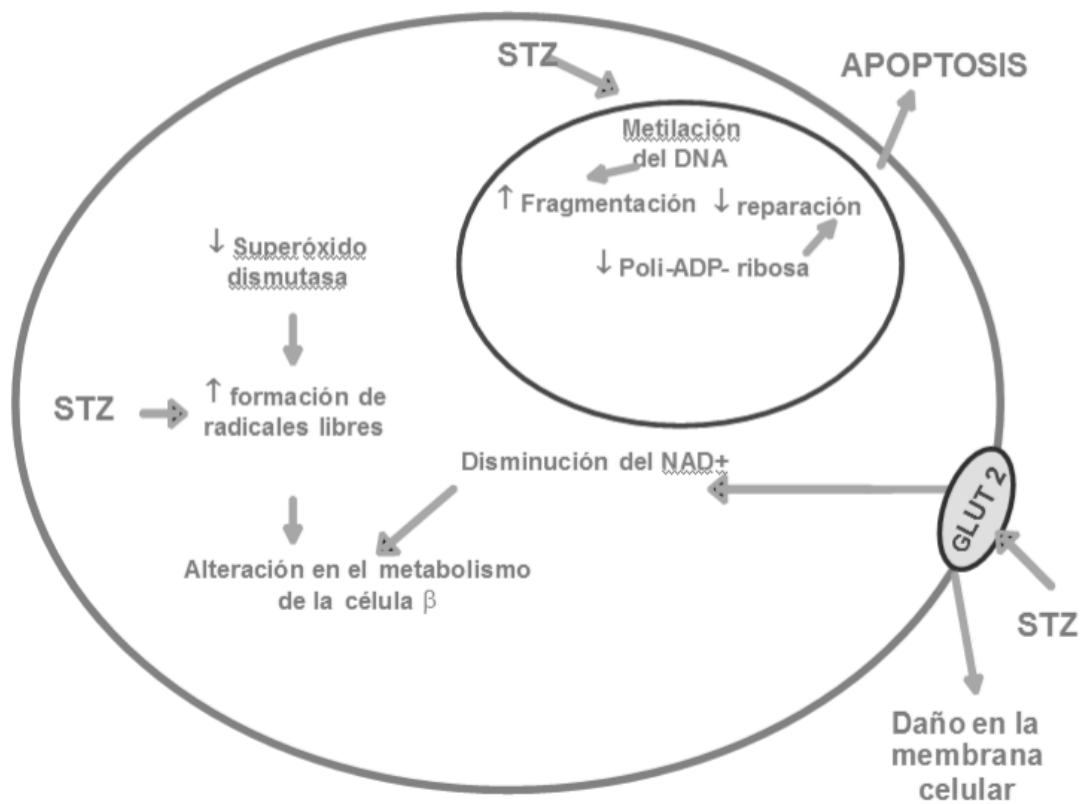


Fig. 10 Esquema del mecanismo de acción de la STZ en una célula  $\beta$

## 5. TRATAMIENTO EN LA DIABETES MELLITUS.

### 5.1 Hipoglucemiantes orales.

El tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 ha sufrido profundos cambios en los últimos años, siendo los factores más importantes en su desarrollo la demostración de que el control glucémico intensivo disminuye las complicaciones crónicas microvasculares y macrovasculares, al igual que lo hacen

los nuevos agentes hipoglucemiantes orales. Los hipoglucemiantes orales disponibles se pueden dividir por su mecanismo de acción en sensibilizadores de la insulina con actividad fundamental en el hígado, sensibilizadores de la insulina con actividad fundamental en los tejidos periféricos, secretagogos de la insulina y agentes que elentecen la absorción de los hidratos de carbono (Cuadro 4) (49-55, 89).

HIPOGLUCEMIANTE	MEDICAMENTO	TEJIDO DIANA	MECANISMO DE ACCIÓN EXCRECIÓN	ABSORCIÓN Y EXCRECIÓN
SULFONILUREAS	- Tolbutamida - Acetohexamida - Tolazomida - Clorpropamida - Glibenclamida - Glipizida - Glicozida - Glimepirina.	Células Beta Receptor SU/canal K <sup>+</sup> ATP	Estimulan la liberación de insulina a partir de las células β pancreáticas. Reducen la depuración de la insulina en el hígado. Las sulfonilurea se unen a las subunidades SUR1 y bloquean los canales de K <sup>+</sup>	Se absorben a partir del tubo digestivo. Son metabolizados en el hígado y los metabolitos se excretan por la orina.
BIGUANIDAS	- Fentomina - Buformina - Metformina	Desconocido	Estimulación directa de la glucólisis en los tejidos, con mayor eliminación de glucosa en la sangre. Glucogénesis hepática reducida. Retardo de la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal. Incremento de conversión de glucosa a lactato en eritrocitos.	Es excretado por los riñones en forma activa.
THIAZOLIDINEDIONAS	- Pioglitazona - Rosiglitazona - Troglitazona	Músculo PPARγ	Selleva acavo mediante la unión al subtipo γ del receptor nuclear de proliferación activado por peroxisomas (PPARγ), produciendo aumento en la trascrición de los genes de las enzimas que normalmente son reducidas por la insulina, esta acción se lleva principalmente en el tejido muscular y graso, todo esto se traduce en aumento de la utilización periférica de glucosa.	Son metabolizados por el sistema de citocromo P450
INHIBIDORES DE ALFA GLUCOSIDASA	- Acarbosa - Miglitol	Intestino α-glucosidasa	Influye sobre la digestión y absorción, retardando el paso de la barrera intestinal. Pseudotetrasa-cárido con afinidad a las α-glucosidasas de los eritrocitos a los cuales inhibe cuando se une retardando la absorción de carbohidratos.	Excreción renal
INCRETINAS MODULADORAS DE GLP-1 (PÉPTIDO SIMILAR AL GLUCAGON)	- Exenatide	Tracto gastrointestinal GLP-1	Incrementan la secreción de insulina dependiente de glucosa y disminuyen la secreción de glucagon	
INHIBIDORES DEL DPP-4	Pramlintide	Tracto gastrointestinal DPP-4	Inhibe la enzima dipeptidil peptidasa de tipo 4 (DPP-4) disminuyendo la secreción del glucagon	

## 6 ETNOBOTÁNICA.

### 6.1 Medicina tradicional.

La OMS define a la medicina tradicional como “la suma completa de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas y que se utilizan para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar trastornos físicos o mentales”. Esta definición surgió como resultado de la discusión de un grupo de estudiosos de las culturas del continente africano. La medicina tradicional que ha sido adoptada por otras poblaciones (distintas de su cultura de origen) suele denominarse medicina alternativa o complementaria (57).

### 6.2 Plantas medicinales.

En México las plantas medicinales constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como en el suburbano, donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más lejanas de las cabeceras municipales y de los centros urbanos (56, 69).

Actualmente se realizan gran cantidad de estudios sobre diversas plantas medicinales de uso tradicional, derivando así nuevos campos de estudio como la etnofarmacología, la cual, es una interdisciplina científica que explora la actividad biológica de agentes que tradicionalmente son empleados por el hombre. La etnofarmacología se apoya principalmente en tres disciplinas: la etnobotánica, la fitoquímica y la farmacología, de esta manera los análisis etnofarmacológicos comprenden esencialmente la extracción, la evaluación etnofarmacológica y la identificación de cualquier químico bioactivo presente en los remedios tradicionales (69-71).

En México la diabetes es comúnmente tratada con extractos herbales. Cada tratamiento podría ser considerado benéfico por disminuir los niveles de glucosa sanguínea durante los estadios tempranos de la enfermedad. Un total de 306 especies de plantas son utilizadas tradicionalmente en estos tratamientos. Entre las más comunes podemos encontrar: *Cecropia obtusifolia* Bertol. (Cecropiaceae), *Equisetum myriochaetum* Schlecht & Cham (Equisetaceae), *Acosmium panamense* (Benth.) Yacolev (Fabaceae), *Cucurbita ficifolia* Bouché (Cucurbitaceae), *Agarista mexicana* (Hemsl.) Judd. (Ericaceae), *Brickellia veronicaefolia* (Kunth) A. Gray (Asteraceae), *Parmentiera aculeata* (Kunth) Seem. (Bignoniaceae) (58,59).

### 6.3 *Cecropia obtusifolia* Bertol.

Comúnmente conocida en México como Chancarro (Ver, Oax.); Guarumbo (Chis.); Guarina (Tab., Chis.); Hormiguillo (Pue.); Kooché (Península de Yucatán); Kooché

(Yuc.); Sarumo (Mich.); Shushanguji (l. popoluca, Ver.); Trompeta (Sin.); Tzulte (l. huasteca, S.L.P.); Yaba, Yabioo, yava, Yaga-gacho (l. zapoteca, Oax.); Juaquequistli, Quiquiscuahuitl, Tequescuahuitl, Jarilla, Palo de violín, Trompeta, Trompetilla.

Es un árbol dioico, perennifolio, mirmecófilo, de 20 a 25 m (hasta 35 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de hasta 50 cm. Su copa tiene forma de sombrilla, estratificada, con todas las hojas expuestas a la luz directa del sol. Hojas en espiral, simples, peltadas y profundamente palmado-divididas; láminas membranosas de 25 a 50 cm de diámetro, con 8 a 12 lóbulos oblongos a oblanceolados; verde oscuras y brillantes en el haz y grisáceas en el envés con nervación rojiza y prominente. Cuenta con un tronco monopódico, cilíndrico, recto, hueco en el centro y pocas ramas gruesas de primer orden en pisos e idénticas al tronco principal (módulos), con primordios florales laterales. Su corteza es lisa, gris clara, con grandes cicatrices circulares (estípulas caídas) y lenticelas negras dispuestas en líneas longitudinales. *Interna* de color crema verdoso o crema claro, cambiando a pardo oscuro, fibroso, con un exudado que se vuelve negro. Sus flores se encuentran en espigas (amentos), axilares, sostenidas por una bráctea spatiforme caediza. Espiga masculina de 15 a 20 cm de largo y 1 cm de ancho, amarillentas; en conjuntos de 11 a 14 espigas por inflorescencia. Espiga femenina de 12 a 21 cm de largo, verde grisácea; en conjuntos de 3 a 5. Su infrutescencia verde amarillenta a pardo oscura. Contiene de 2,700 a 4,700 aquenios de color marrón brillante, muy pequeños (con una semilla cada uno) de sabor parecido al del higo, las semillas son muy pequeñas, de 1 a 2.8 mm de largo y 0.8 a 1.3 mm de ancho, cilíndricas, pardo brillantes. Esta especie puede presentar de modo facultativo raíces zancudas (fulcrantes) de sección circular, de 0.5 a 1 m de altura, particularmente si crece en selvas estacionalmente inundadas. Tiene una amplia área de distribución: En la vertiente del Golfo se distribuye desde Tamaulipas y San Luis Potosí hasta Quintana Roo y Yucatán y en la vertiente del Pacífico, desde el sur de Sinaloa hasta Chiapas (59,61).



Fig 10. Distribución de *Cecropia obtusifolia* (87).

### **6.3.1 Antecedentes farmacológicos de *Cecropia obtusifolia* Bertol.**

Las hojas de *Cecropia obtusifolia* Bertol, son utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes y como agente antiinflamatorio (62). El primer reporte en el que se hace mención a *C. obtusifolia* con fines en el tratamiento de la diabetes fue en 1936 por Martínez. Tradicionalmente las hojas, la raíz, y la corteza de esta planta se hierven y el té obtenido se consume como agua de uso.

En 2001 Andrade Cetto y colaboradores examinaron los efectos de su extracto tanto acuoso como butanólico (90-150mg/kg y 9-15mg/Kg respectivamente) en ratas Wistar con diabetes inducida con STZ, observando que los niveles de glucosa disminuyeron significativamente después de 3 horas de haberse administrado (62).

Herrera-Arellano 2004 realizaron un estudio en personas diabéticas, concluyendo que la planta tiene significativamente un efecto hipoglucemiante que afecta a los 21 días después de su administración, con una dosis de 3 g/día (93).

Revilla y colaboradores en el 2007 administraron extracto acuoso de *C. obtusifolia* a pacientes con diabetes mellitus 2 de reciente diagnóstico durante un periodo de 32 semanas, demostrando una reducción significativa de los niveles de glucosa a los 31 días de tratamiento (63).

Toledo V. Y colaboradores 2008, realizaron pruebas para evaluar el posible efecto genotóxico del extracto acuoso de *C. obtusifolia*, en los sueros de los pacientes del estudio del 2007 sin llegar a encontrar efectos genotóxicos (94).

Andrade Cetto 2010 demostró que los principales compuestos del extracto butanólico de *C. obtusifolia* son el ácido clorogénico y isoorientin. También observaron que el extracto butanólico de *C. obtusifolia* a una dosis de 160 µg/ml inhibe la actividad de la glucosa-6-P translocasa (95).

### **6.3.3 Antecedentes Fitoquímicos.**

Los estudios fotoquímicos realizados al extracto de *C. obtusifolia* han reportado la presencia de:  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, 4-etil-5-(*n*-3valeroil)-6-hexahidrocoumarin y 1-(2-metil-1-nonen-8-il)-aziridina (60).

Algunos de los componentes presentes en los extractos tanto butanólico como acuoso son: iso-orientina y ácido clorogénico, por lo que se podría asumir que estos componentes están involucrados en el efecto hipoglucemiante de *Cecropia obtusifolia* (63, 65).



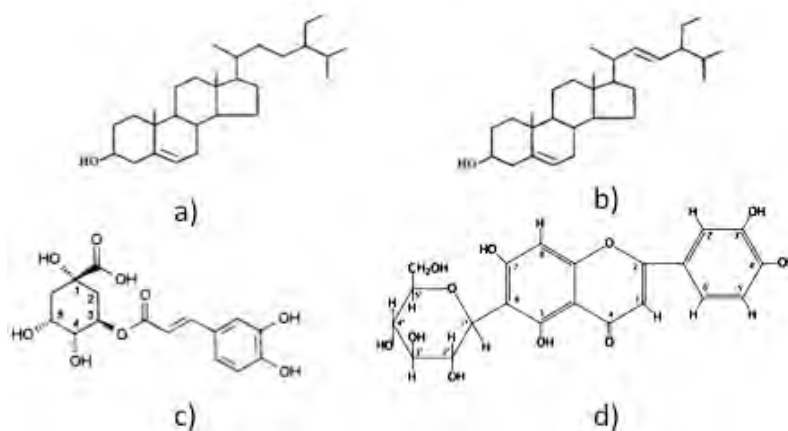


Fig 11. a)  $\beta$ -sitosterol, b)stigmasterol, c) ácido clorangénico y d) iso-orientina (63, 90,91)

## 7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La diabetes es una enfermedad crónica que se caracteriza por la hiperglucemia resultado de la deficiencia en secreción de la insulina, en su acción o ambas. Estudios realizados revelan que en el 2010 la prevalencia de esta enfermedad en adultos entre 20 y 79 años será de 6.4%, afectando a 285 millones de adultos y aumentará a 7.7% afectando a 439 millones de adultos en el 2030. Entre 2010 y 2030 habrá un incremento del 69% en el número de adultos con diabetes en los países en vías de desarrollo y del 20% en los países desarrollados (65). Se ha calculado que en 2010 el número de muertes por alguna complicación de la diabetes será de 3.96 millones en el grupo de edad de 20 a 79 años y en forma global representa el 6.8% de las muertes (66), situación que empeorará con el tiempo lo que requerirá mayor inversión en programas de prevención primaria y secundaria y un mayor gasto de sector salud para la atención de los pacientes diabéticos.

Aún cuando en la actualidad existen gran cantidad de agentes hipoglucemiantes con diferentes mecanismos de acción así como nuevos esquemas de tratamiento que combinan diferentes hipoglucemiantes, la realidad es que la mayoría de los pacientes están metabólicamente descontrolados. Uno de los principales factores que contribuyen al mal control metabólico es la falta de apego al tratamiento que trae como consecuencia que la enfermedad progrese, provocando las complicaciones tardías que la caracterizan y deterioran la calidad de vida del paciente y la de su familia y terminan por producir su muerte a un costo social y económico muy alto.

En nuestro país el uso de “remedios” de origen natural está fuertemente arraigado, por ello una alternativa para favorecer el apego al tratamiento, es ofrecer a los

pacientes de reciente diagnóstico sin complicaciones, este tipo de tratamientos, siempre bajo una estricta supervisión médica.

Sin embargo, es indispensable realizar estudios controlados a largo plazo para determinar la efectividad del tratamiento y garantizar la ausencia de efectos colaterales, estudios que se deberán realizar inicialmente en modelos animales.

## 8. HIPÓTESIS.

La administración diaria via oral (vo) durante 30 días de una dosis de 0.4 mg/kg del extracto butanólico de las hojas de *Cecropia obtusifolia* no causará daños en la estructura y función del hígado ni sobre los depósitos de glucógeno en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina.

## 9 OBJETIVO

- Determinar el efecto de la administración diaria vo durante 30 días de una dosis de 0.4 mg/kg del extracto butanólico de las hojas de *Cecropia obtusifolia* sobre la estructura histológica del hígado y la presencia de los depósitos de glucógeno de ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina.

## 10. MÉTODOLÓGÍA.

El extracto butanólico de *C. obtusifolia* fue proporcionado por el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de ciencias a cargo del Dr. Adolfo Cetto Andrade.

Método de obtención del extracto butanólico de *C. obtusifolia*. Se pesaron 300 mg de hojas de *C. obtusifolia* correspondientes a la colecta número 160, las cuales, se colocaron en un cartucho de celulosa 90x200 mm. Se realizó la extracción de lípidos con n-hexano por 24 horas, seguido por una extracción de metanol por 48 horas. El extracto metanólico fue secado a presión reducida. Los residuos son fraccionados con una mezcla de CCl<sub>4</sub>/ Metanol al 80% 1:1. La fase metanol/agua se evapora hasta obtener la fase orgánica libre de agua. Los residuos obtenidos se disolvieron en una mezcla de n-butanol/H<sub>2</sub>O 1:1, la fase orgánica se liofilizó y almaceno (96).

Se utilizaron 50 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley, con peso entre 250-300 gramos, de las cuales 30 fueron inyectadas por vía intra peritoneal (ip) con una dosis única de 50 mg/kg de estreptozotocina (STZ) en amortiguador de acetatos a 0.1M a un pH de 4.3 y 20 con amortiguador de acetatos a 0.1M a un pH de 4.3.

A las 48 horas, se determinó la glucosa sanguínea de la vena caudal con el glucómetro Elite Bayer. Fueron consideradas diabéticas aquellas ratas cuyo nivel de glucosa en sangre fue  $\geq 200$  mg/dL.

Se formaron los siguientes lotes:

**LC (Lote control).**

10 ratas no diabéticas a las que se les administró diariamente 0.1 mL de agua destilada durante 30 días (de 8:00 a 8:30 am).

**NDC (Ratas no diabéticas con extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia*).**

10 ratas no diabéticas a las que se les administró una dosis de 0.4 mg de extracto butanólico de *C. obtusifolia* en 0.1 mL de agua destilada durante 30 días (de 8:00 a 8:30 am).

**D (Ratas diabéticas).**

10 ratas diabéticas a las cuales se les administro diariamente 1 mL de agua destilada durante 30 días (de 8:00 a 8:30 am).

**DC (Ratas diabéticas con extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia*).**

10 ratas diabéticas, a las cuales se les administraron 0.4 mg de extracto butanólico de *C. obtusifolia* diluido en 0.1 mL de agua destilada por 30 días (de 8:00 a 8:30 am).

**DG (Ratas diabéticas con Glibenclamida)**

10 ratas diabéticas a las que se les administró diariamente una dosis de glibenclamida de 0.85mg en 0.1 mL de agua destilada durante 30 días (de 8:00 a 8:30 am).

A los 30 días se sacrificaron y se extirpó el hígado, el cual, se fijó en formol buffer 10% pH 7 y se procesó con técnicas histológicas se incluyeron en parafina, y se realizó tinción de Hematoxilina-Eosina (HE), Rojo Congo, así como reacción de ácido periódico-schiff (PAS). Se obtuvieron las micrografías para realizar el análisis histológico.

### **10.1 Microscopia de luz.**

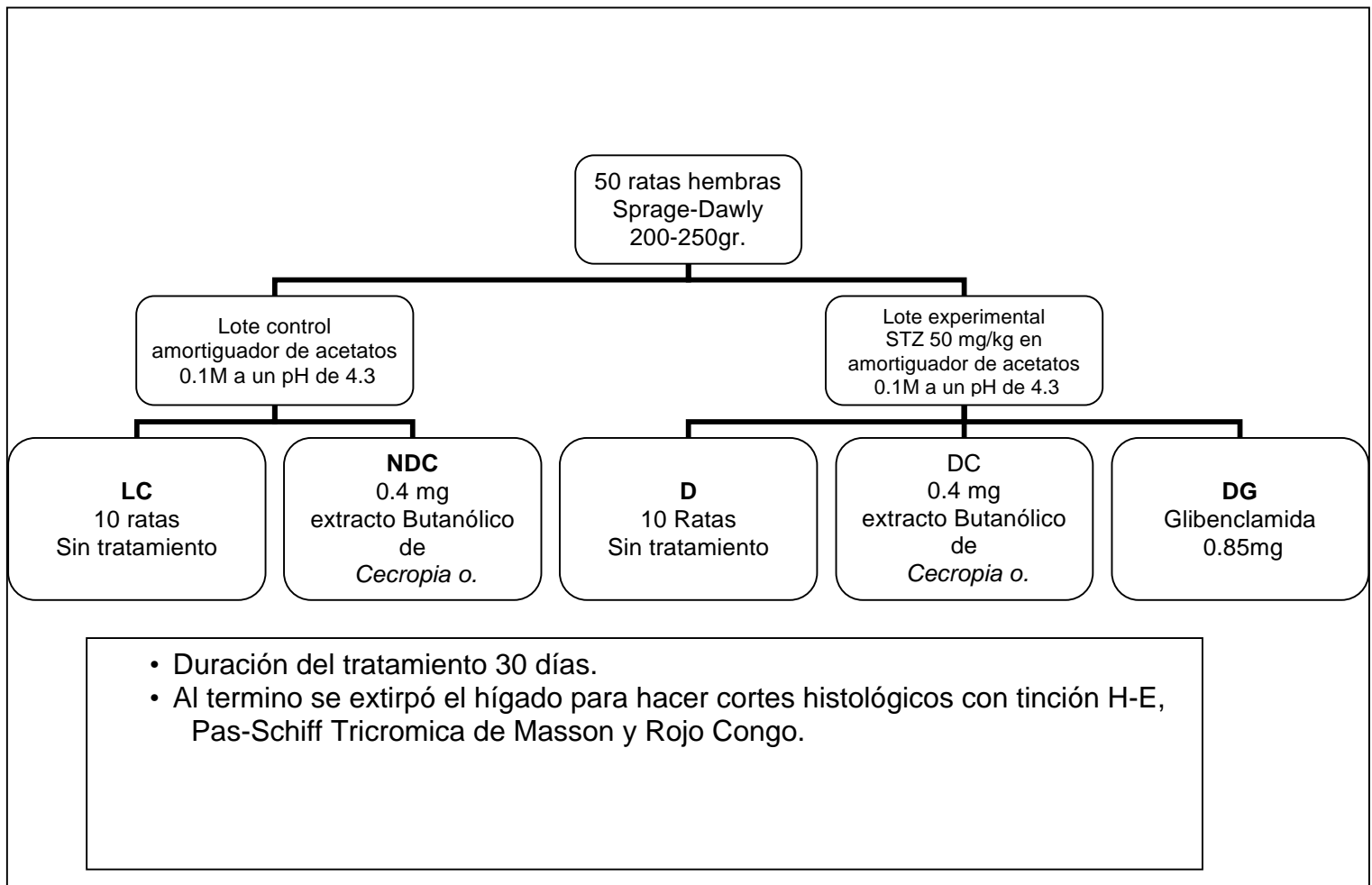
Los hígados se fijaron en formol buffer 10% pH 7, se procesaron con las técnicas convencionales para microscopía de luz y se incluyeron en parafina.

Se realizaron cortes de 5  $\mu$ m en el micrótopo de rotación, que se tiñeron con:

- Hematoxilina-eosina: para observar la estructura general del órgano.
- Tinción de Pas-Schiff: para determinar la presencia de los gránulos de glucógeno. Se basa en la reacción con el reactivo de Schiff de los grupos aldehído liberados de los grupos vic-glicol presentes en los carbohidratos tras su oxidación con ácido peryódico. El reactivo de Schiff contiene fucsina

básica (o pararrosanilina), que en solución ácida y en presencia de SO<sub>2</sub> da lugar a una forma no coloreada (ácido N-sulfónico). Este reactivo reacciona con los grupos aldehído libres formando un compuesto insoluble de color rosa (83).

- Tricrómica de masson: nos permite la observación de fibras de colagena en color azul.
- Tinción de rojo congo: permite observar la presencia de depósitos de amiloide. Bajo la luz blanca los depósitos de amiloide presentan una coloración rojo manzana, y con luz polarizada el amiloide muestra intensa birrefringencia verde-manzana.



## 11 RESULTADOS

### 11.1 Resultados histológicos H-E

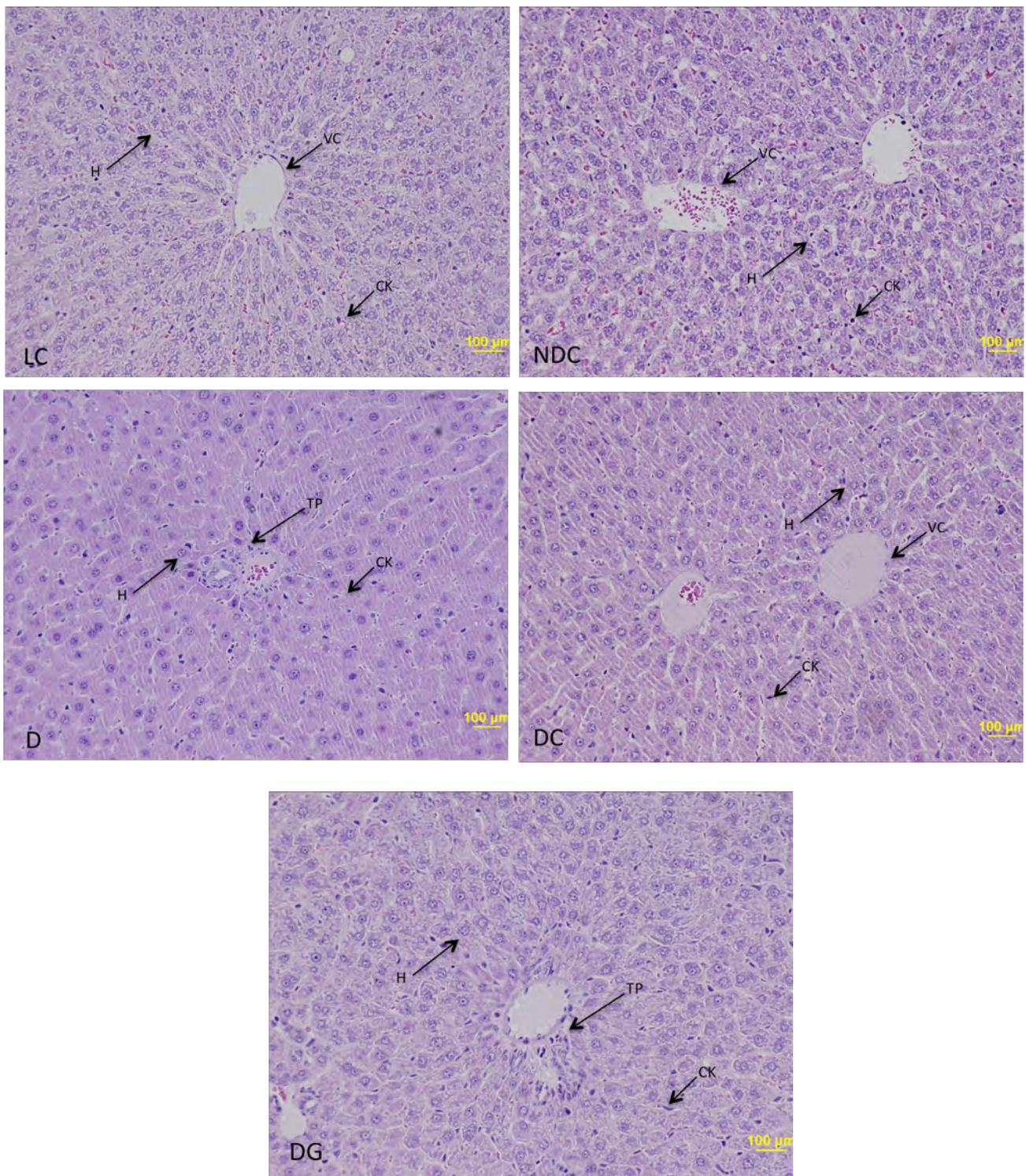
A) Hígado de rata lote LC (lote control). Se observa la presencia de cordones hepáticos bien delimitados por células endoteliales. Hepatocitos de gran tamaño de forma poliédrica, con núcleos redondos centrales, en algunos casos se pueden observar células binucleadas, citoplasma granular. Se puede apreciar poca cantidad de células de Kupffer hacia la luz de los cordones hepáticos. Microfotografía 1 y 2.

B) Hígado de rata lote NDC (sanas con extracto butanólico). Los cordones hepáticos no se encuentran bien delimitados como en el caso del LC. Hepatocitos son de gran tamaño de forma poliédrica, con núcleos redondos centrales, en algunos casos se pueden observar células binucleadas. El citoplasma de los hepatocitos tiene una apariencia más granular y hay mayor cantidad de células de Kupffer en comparación con el LC. Micrografía 1 y 2.

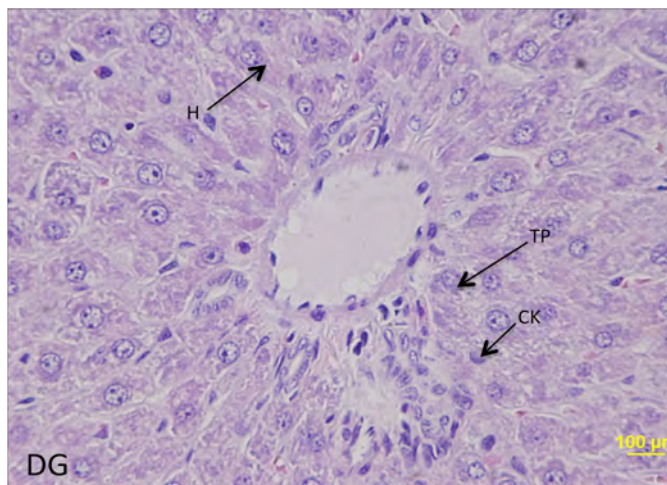
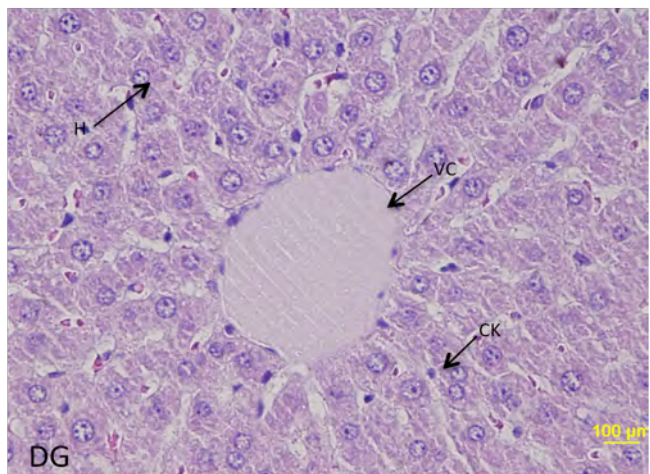
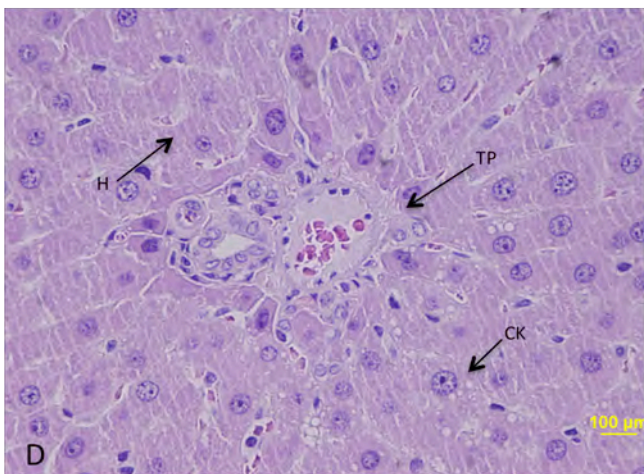
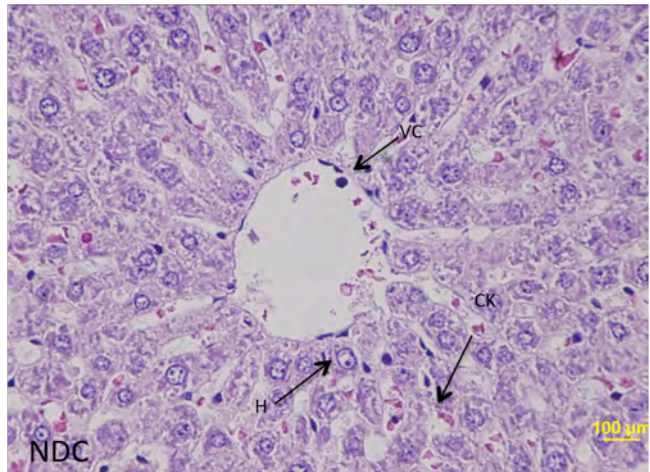
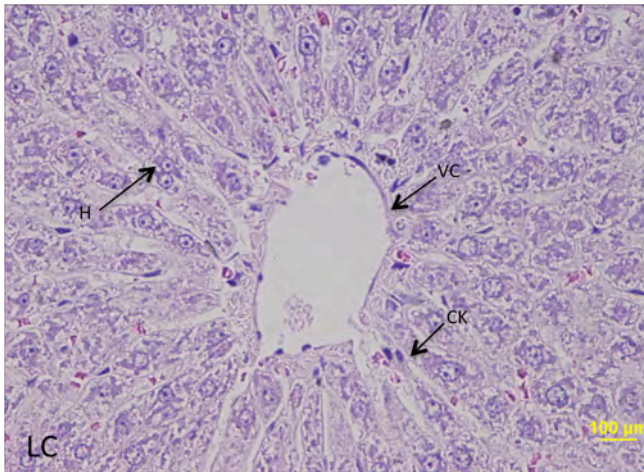
C) Hígado de rata lote D (diabética sin tratamiento). Los cordones hepáticos no se encuentran bien delimitados por las células endoteliales. Los hepatocitos son de gran tamaño, con núcleo central y en algunos casos se pueden observar células binucleadas, pero, no se puede observar su forma poliédrica, como en el LC. El citoplasma de los hepatocitos tiene una apariencia menos granular en comparación con el LC. La cantidad de células de Kupffer es mayor a la observada en el LC. El citoplasma de los hepatocitos es menos granuloso que el del lote NDC, presenta mayor cantidad de células de Kupffer que el lote NDC. Micrografía 1 y 2.

D) Hígado de rata lote DC (diabéticas con extracto butanólico de *C. obtusifolia*). Los cordones hepáticos se pueden apreciar mejor, ya que la luz de los sinusoides es de mayor tamaño que el del LC. Los hepatocitos son de menor tamaño en comparación con el lote D, con núcleos redondos centrales, en algunos casos se pueden observar células binucleadas, citoplasma granular. La cantidad de células de Kupffer es mayor a la observada en el LC, pero, menor que en el lote D. Micrografía 1 y 2.

E) Hígado de rata lote DG (diabético con glibenclamida). Se observa la presencia de cordones hepáticos bien delimitados por células endoteliales. Hepatocitos son de gran tamaño y forma poliédrica, con núcleos redondos centrales, en algunos casos se pueden observar células binucleadas, citoplasma granular. La morfología de los hepatocitos es semejante a la del LC. Hay mayor cantidad de células de Kupffer en comparación al LC, pero menor que en lote DC y D, los cordones hepáticos se encuentran mejor delimitados que en el Lote DC. Micrografía 1 y 2.



Micrografía 1 de hígado de rata técnica H-E 3μ. LC (Lote control) 20x, B) NDC (No diabéticas con *C. obtusifolia*.) 20x, D (Diabéticas) 20x, DC (diabéticas con *C. obtusifolia*.) 20x E) DG (diabética con glibenclamida) 20x. VC vena central, H hepatocito, CK célula de Kupffer, TP triada porta.



Micrografía 2 de hígado de rata técnica H-E 3 $\mu$ . LC (Lote control) 40x, B) NDC (No diabéticas con *C. obtusifolia.*) 40x, D (Diabéticas) 40x, DC (diabéticas con *C. obtusifolia.* ) 40x E) DG (diabética con glibenclamida) 40x. VC vena central, H hepatocito, CK célula de Kupffer, TP triada porta.

Lote	Células de Kupffer	Granulación del citoplasma
LC	+	++
NDC	++	+++
D	+++	+
DC	++	++
DG	++	++



## 11.2 Resultados histológicos PAS-SCHIFF.

A) Hígado de rata lote LC (lote control). Positivo a la presencia de glucógeno en el citoplasma de los hepatocitos.

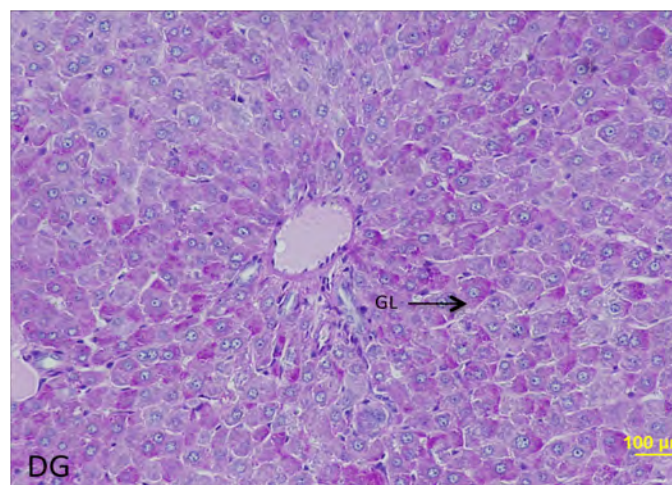
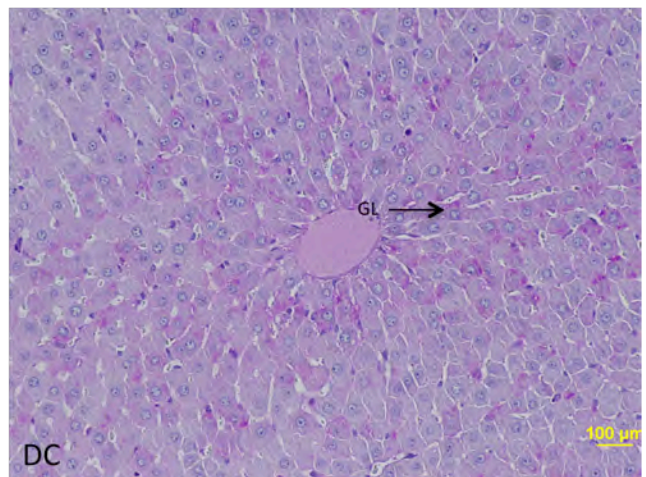
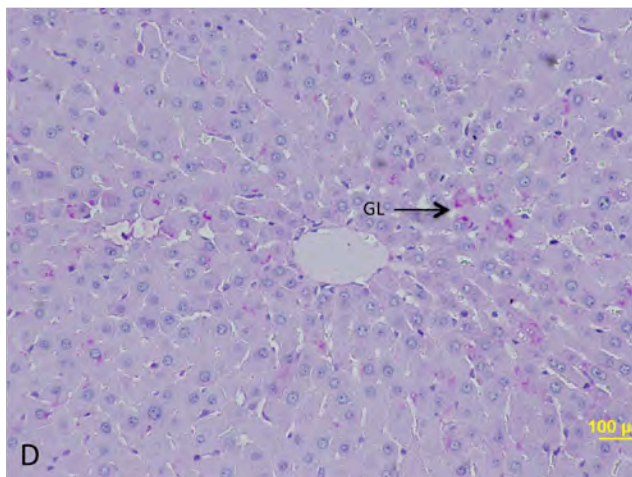
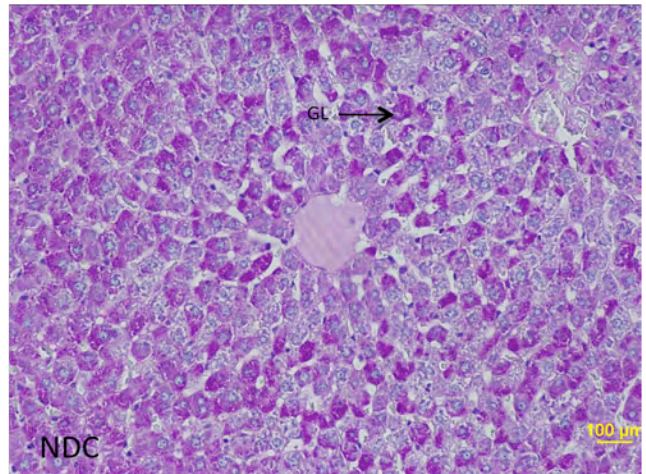
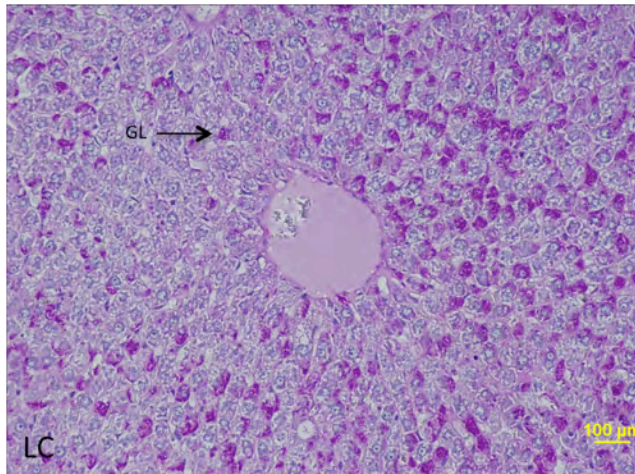
B) Hígado de rata lote NDC (sanas con extracto butanólico). Positivo a la presencia de glucógeno en el citoplasma de los hepatocitos, con una mayor cantidad de depósitos en comparación con el LC.

C) Hígado de rata lote D (diabética sin tratamiento). Positivo a la presencia de glucógeno en el citoplasma de los hepatocitos, con una menor cantidad de depósitos en comparación con el LC. Se aprecia mayor cantidad de depósitos de glucógeno en el lote NDC en comparación al lote D.

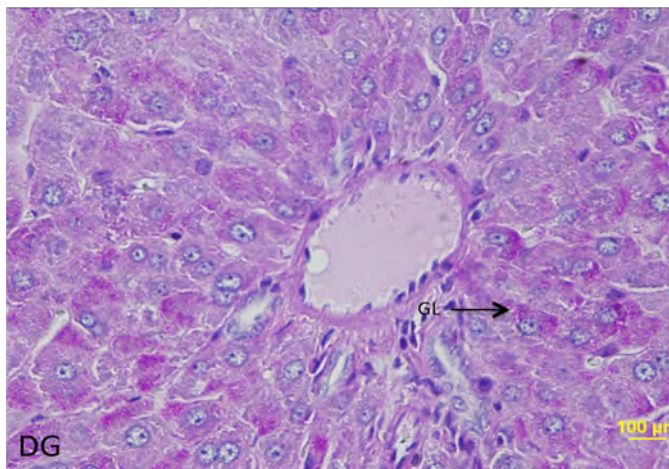
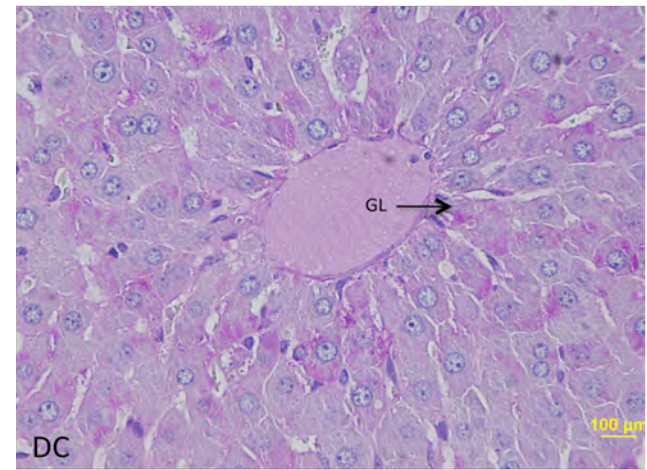
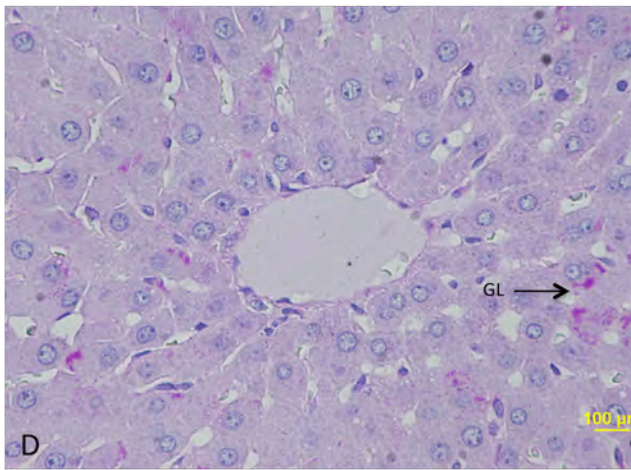
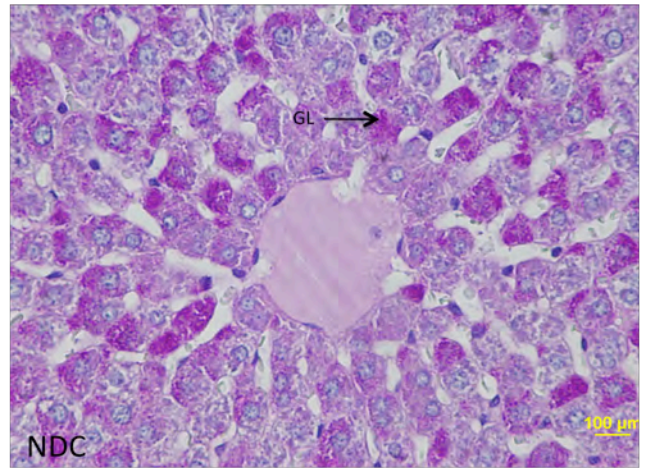
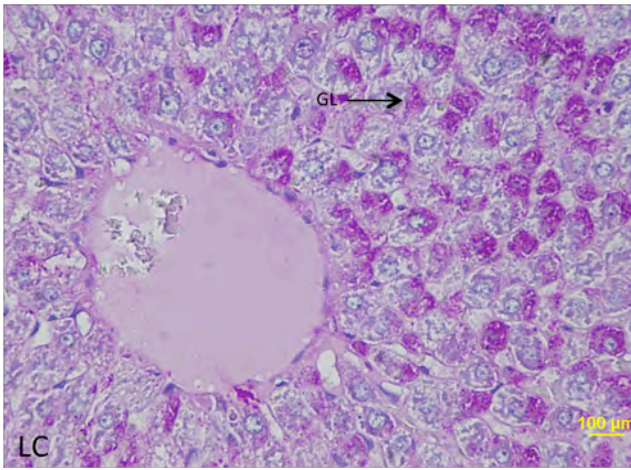
D) Hígado de rata lote DC (diabéticas con extracto butanólico de *C. obtusifolia*). Positivo a la presencia de glucógeno en el citoplasma de los hepatocitos, con una menor cantidad de depósitos en comparación con el LC. Los hepatocitos del lote DC presentan una menor cantidad de depósitos de glucógeno en comparación a los lotes NDC y DC.

E) Hígado de rata lote DG (diabético con glibenclamida). Positivo a la presencia de glucógeno en el citoplasma de los hepatocitos, la cantidad de depósitos de glucógeno es casi igual al LC.

Lote	Glucogeno
LC	++
NDC	+++
D	+
DC	++
DG	++



Micrografía 3 de hígado de rata técnica PAS-SCHIFF 3 $\mu$ . LC (Lote control) 20x, B) NDC (No diabéticas con *C. obtusifolia*.) 20x, D (Diabéticas) 20x, DC (diabéticas con *C. obtusifolia*.) 20x E) DG (diabética con glibenclamida) 20x. GL Gránulos de glucógeno.



Micrografía 3 de hígado de rata técnica PAS-SCHIFF 3 $\mu$ . LC (Lote control) 40x, B) NDC (No diabéticas con *C. obtusifolia.*) 40x, D (Diabéticas) 40x, DC (diabéticas con *C. obtusifolia.* ) 40x E) DG (diabética con glibenclamida) 40x. GL Gránulos de glucógeno.

### 11.3 Resultados histológicos Tricromica de Masson.

A) Hígado de rata correspondiente al lote LC (lote control). Positivo a fibras de colágeno.

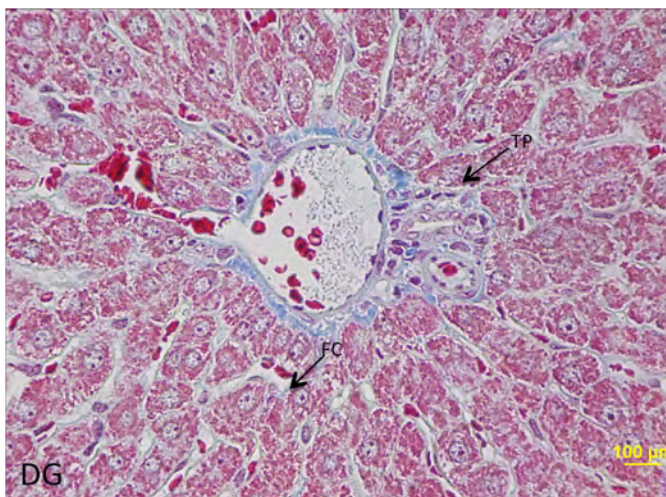
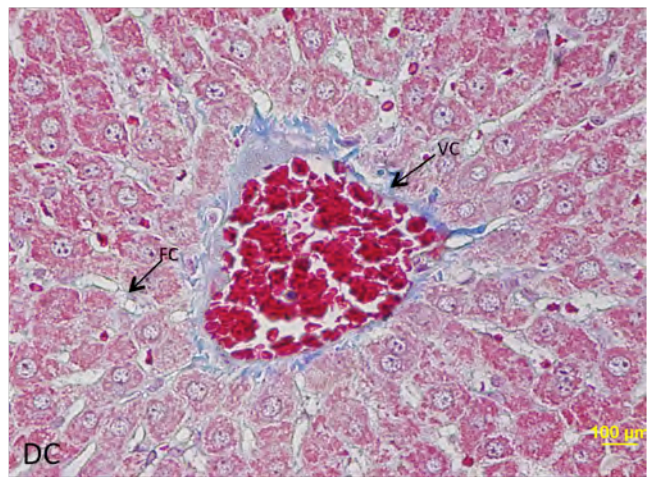
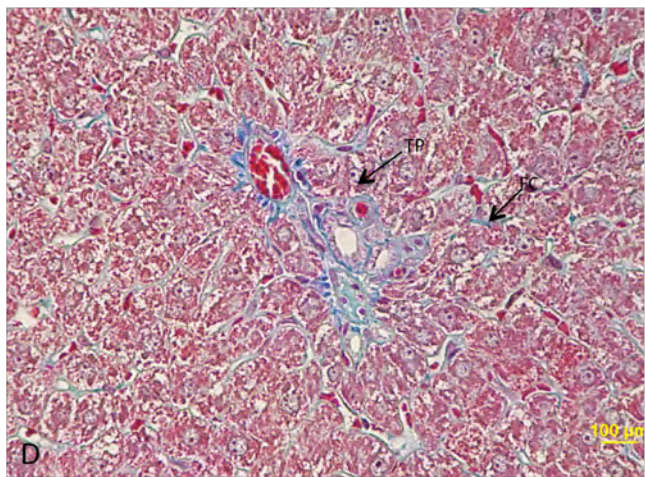
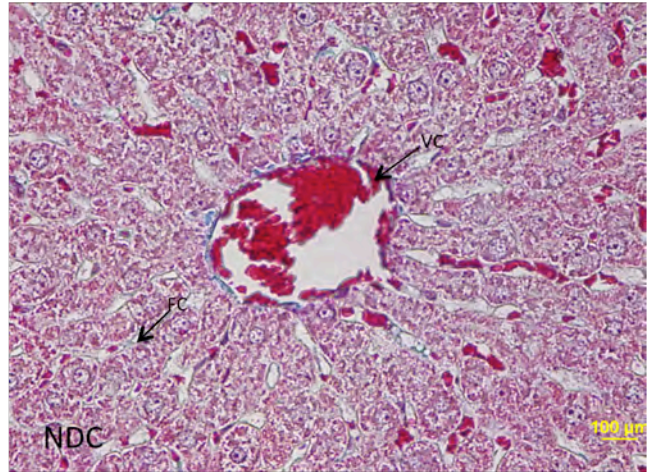
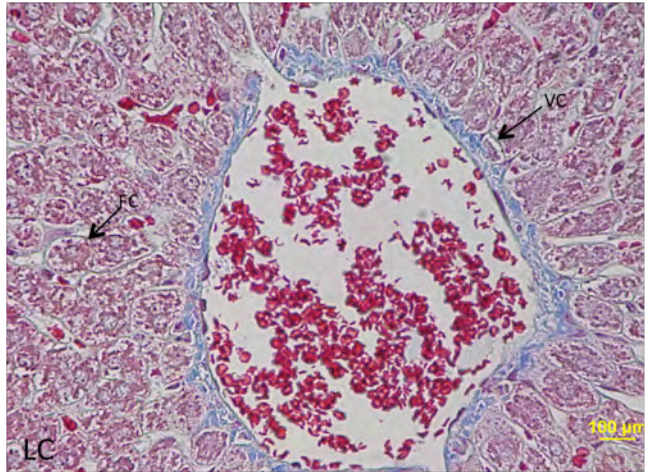
B) Hígado de rata lote NDC (sanas con extracto butanólico de *C. obtusifolia* ). Positivo a fibras de colágeno.

C) Hígado de rata lote D (diabética sin tratamiento). Positivo a fibras de colágeno.

D) Hígado de rata lote DC (diabéticas con extracto butanólico de *C. obtusifolia*). Positivo a fibras de colágeno.

E) Hígado de rata lote DG (diabético con glibenclamida). Positivo a fibras de colágeno.

Lote	Fibras de colageno
LC	+
NDC	+
D	+
DC	+
DG	+



Micrografía de hígado de rata técnica TRICROMICA DE MASSON 3μ. LC (Lote control) 40x, B) NDC (No diabéticas con *C. obtusifolia.*) 40x, D (Diabéticas) 40x, DC (diabéticas con *C. obtusifolia.*) 40x E) DG (diabética con glibenclamida) 40x. VC vena central, FC fibras de colágeno.

#### 11.4 Resultados histológicos ROJO CONGO.

A) Hígado de rata correspondiente al lote LC (lote control). Negativo.

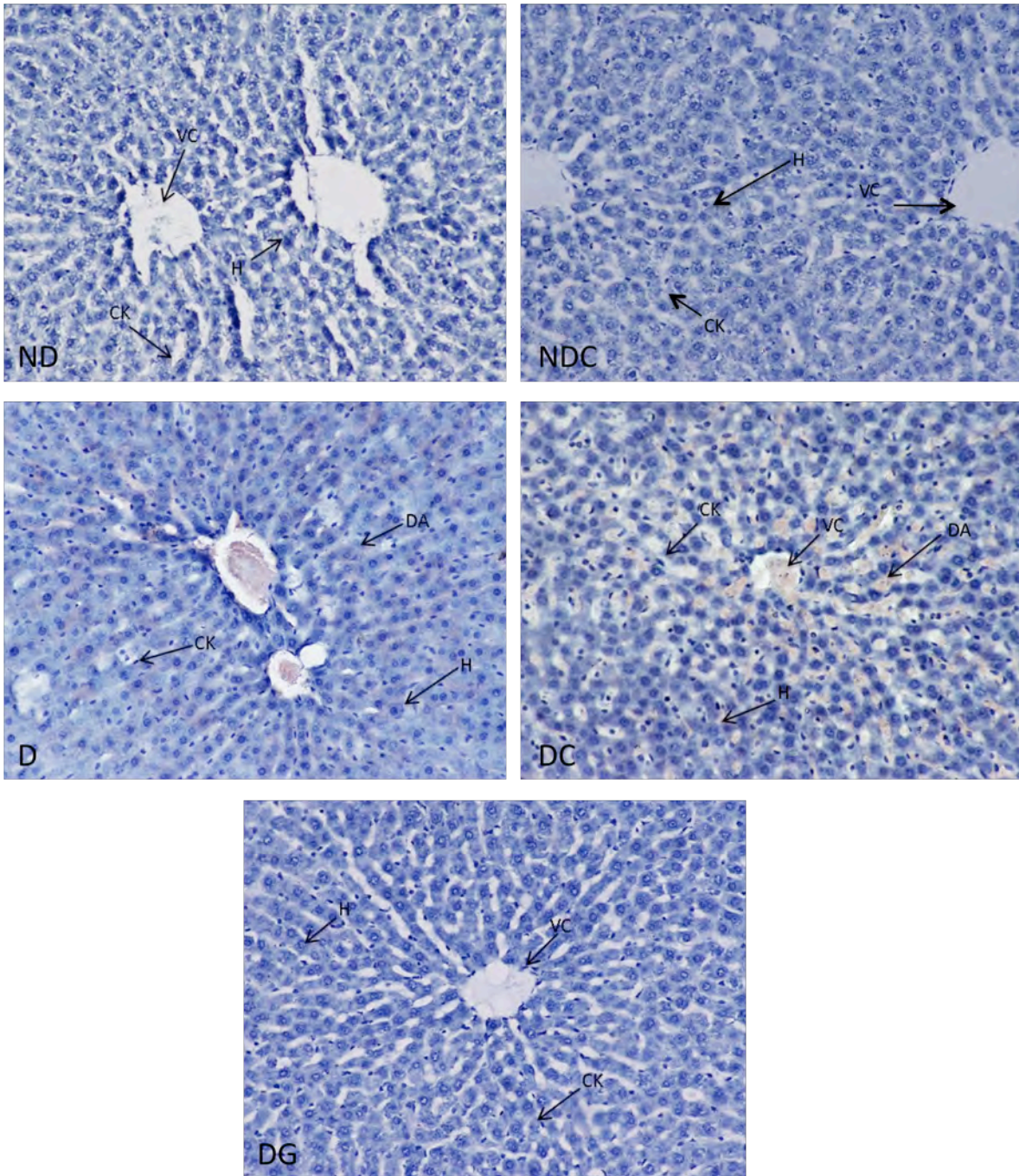
B) Hígado de rata lote NDC (sanas con extracto butanólico). Negativo.

C) Hígado de rata lote D (diabética sin tratamiento). Positivo, se pueden apreciar las placas de proteína amiloide en la luz de los sinusoides.

D) Hígado de rata lote DC (diabéticas con extracto butanólico de *C. obtusifolia*). Positivo, se pueden apreciar las placas de proteína amiloide e la luz de los sinusoides.

E) Hígado de rata lote DG (diabético con glibenclamida). Negativo.

Lote	Rojo congo
LC	-
NDC	-
D	+
DC	+
DG	-



Micrografía de hígado de rata técnica ROJO CONGO. LC (Lote control) 20x, B) NDC (No diabéticas con *C. obtusifolia*.) 20x, D (Diabéticas) 20x, DC (diabéticas con *C. obtusifolia*.) 20x E) DG (diabética con glibenclamida) 20x VC vena central, H hepatocito, CK célula de Kupffer, GI gránulos de glucógeno y TP triada porta.

## 12. DISCUSIÓN.

Las hojas de *Cecropia obtusifolia* Bertol, son utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes y como agente antiinflamatorio (63). La forma tradicionalmente recomendada para su consumo es hirviendo las hojas, la raíz, y la corteza y el té obtenido se consume como agua de uso.

El primer reporte científico en el que se hace mención a *C. obtusifolia* con fines en el tratamiento de la diabetes fue en 1936 por Martínez. En 2001 Andrade-Cetto y colaboradores examinaron los efectos de su extracto tanto acuoso como butanólico (90-150mg/kg y 9-15mg/Kg respectivamente) administrado a ratas con diabetes inducida con estreptozotocina, observando que los niveles de glucosa disminuyeron significativamente después de 3 horas de haberse administrado (74). En el 2007 Revilla y colaboradores administraron extracto acuoso de *C. obtusifolia* a pacientes con diabetes mellitus 2 de reciente diagnóstico durante un periodo de 32 semanas, demostrando una reducción significativa de los niveles de glucosa a los 31 días de tratamiento, resultados que fueron corroborados por la disminución significativa del porcentaje de hemoglobina glucosilada, este efecto se revirtió una vez interrumpido el tratamiento (64).

Este estudio se realizó con el objeto de evaluar el efecto de la administración a largo plazo del extracto butanólico de las hojas de *C. obtusifolia* sobre los depósitos de glucógeno en el hígado así como sobre su estructura microscópica, administrado a ratas con diabetes inducida con STZ una dosis diaria de 0.4m g.

Un estudio realizado indica que el extracto metanólico de *C. obtusifolia* a una dosis de 3 mg/kg de peso corporal, presenta toxicidad clase 4 es decir prácticamente inocua a los criterios de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (92).

Algunos de los componentes presentes en los extractos tanto butanólico como acuoso además del ácido clorangénico son:  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol e isoorientina (63). El  $\beta$ -sitosterol es un fitoesterol, el cual, tienen una estructura semejante a la del colesterol e inhiben la absorción de éste en el intestino delgado. Los fitoesteroles son esteroides naturales de origen vegetal que generalmente se presentan en plantas oleaginosas (maíz, soya, girasol y canola), nueces y cereales. Si bien, entre las acciones que se le atribuyen a los fitoesteroides destacan sus efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, antiulcerosos, antioxidantes, bactericidas, antiinflamatorios y antifúngicos, es realmente su acción hipolipemiente en la que más se ha centrado la atención (73).

La isoorientina es un flavonoide comúnmente llamado C-glicosil, el cual se ha visto que posee una actividad de antinociceptiva y antiinflamatoria sin producir una aparente toxicidad así como tampoco daños gástricos (74). También tiene la capacidad de protección contra el daño oxidativo causado por intermediarios reactivos del oxígeno en las células HepG2. La isoorientina induce un aumento en



el nivel de proteínas de las enzimas antioxidantes, especialmente NQO1 (quinona oxidoreductasa 1), y los efectos de citoprotectores y antioxidantes de la isoorientina son vía PI3K/Akt-dependiente. Junto con la actividad directa de captación de radicales, el nuevo efecto de isoorientina sobre la regulación de la expresión de genes antioxidantes proporciona una estrategia atractiva para prevenir las enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (81). La isoorientina presente en el extracto butanólico, puede ayudar a prevenir enfermedades hepáticas ocasionadas por el estrés metabólico presente en la diabetes mellitus tipo 2, debido a su efecto antioxidante e antiinflamatorio.

Para mantener los niveles de glucosa sanguínea dentro de rangos normales se requiere la producción regulada de glucosa en el hígado a partir de la glucogenólisis y la gluconeogénesis y en menor medida de la gluconeogénesis en los riñones y en el intestino delgado. En estado posprandial el hígado es capaz de captar glucosa y de liberarla en diversas cantidades a la circulación durante el ayuno y el ejercicio. Durante una noche de ayuno, la producción hepática de glucosa protege al organismo contra la hipoglucemia. Sin embargo, un inapropiado aumento de la producción hepática de glucosa es el principal síntoma de la diabetes tipo 2 y contribuye significativamente a la hiperglucemia en ayunas.

Recientemente el ácido clorangénico se ha identificado como un inhibidor de la glucosa 6-fosfato translocasa (G6PT) (64). La glucosa 6-fosfatasa, es un sistema de enzimas que se localizan en la membrana del retículo endoplasmático, este sistema está compuesto por una hidrolasa (35 kDa), la cual, tiene su sitio catalítico localizado en la cara del lumen del RE, y una traslocasa que trasporta a través de la membrana glucosa 6-fosfato y probablemente los productos que la conforman como son la glucosa y  $P_i$  (76). La unidad catalítica G6Pasa sigue siendo un objetivo terapéutico para el tratamiento de la diabetes tipo 2, y ahora el componente G6PT del sistema se ha convertido en un objetivo terapéutico también. Madsen y Westergaard han revisado varios compuestos que ejercen una acción inhibitoria sobre el sistema G6Pasa. Estos compuestos han surgido como resultado de un esfuerzo sustancial para desarrollar un tratamiento para la diabetes tipo 2. El ácido clorangénico se ha identificado como el inhibidor más específico de la G6PT, el cual ya se está siendo sintetizado por la industria farmacéutica como un nuevo agente terapéutico para la diabetes, su acción consiste en disminuir la producción de glucosa hepática y causar un incremento de los depósitos de glucógeno, tanto en el hígado como en el riñón (77-79).

El estudio histológico realizado en este trabajo, demostró cualitativamente una mayor cantidad de glucógeno hepático en aquellas ratas sanas a las cuales se les administró el extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia*, en comparación con el lote control sin tratamiento, lo cual, está ocasionado por la presencia del ácido clorangénico en el extracto. Se ha observado que al inhibir la G-6- translocasa hay un incremento en la concentración de G6P, la cual estimula la actividad de la glucógeno sintetasa, aumentado así la cantidad de depósitos de glucógeno (28,77), y por consecuencia se reducen los niveles de glucosa generada por el hígado, dando como resultado una disminución en la hiperglucemia durante la

diabetes. Los resultados mostrados en las micrografías de hígado de ratas procesados con la técnica de PAS-SCIFF, son respaldados por los datos publicados por Cetto Andrade en el 2010, en los cuales se demuestra que uno de los principales componentes del extracto butanólico de *C. obtusifolia* es el ácido clorangénico y que una dosis de 160 µg/ml del extracto butanólico inhibe la actividad de la glucosa-6-P translocasa (95). Cuando la secreción de insulina es defectuosa, la falta de supresión del glucagón puede causar hiperglucemia importante al aumentar las tasas de producción de glucosa. También se ha visto que la insulina causa un decremento en la actividad de G6Pasa (77), haciendo referencia a lo antes mencionado, en los cortes histológicos de Pas-Schiff del lote D se observaron pocos depósitos de glucógeno ocasionados por el efecto glucagon-insulina, no siendo el mismo caso para el lote DC, que presenta mayor cantidad de depósitos en comparación al lote D, lo cual, nos indica que el ácido clorangénico presente en el extracto butanólico inhibe la producción de glucosa hepática tanto en ratas sanas como en ratas diabéticas. Estudios en perros han demostrado que un aumento en el contenido de glucógeno hepático no altera la absorción de glucosa en el hígado y su almacenamiento (80). También se ha visto que la actividad de la G-6-Pasa se incrementa en modelos animales de DMT2, como es el caso del de aloxana, estreptozotocina y ratones ob/ob.

Además de los hepatocitos y de las células endoteliales que revisten los sinusoides, en el hígado existen macrófagos especializados llamados células de Kupffer, las cuales, se encargan de englobar a las partículas que circulan por la corriente sanguínea y fagocitan los eritrocitos viejos. La resistencia a la insulina hepática es una causa subyacente importante del síndrome metabólico que se manifiesta en enfermedades como la diabetes tipo 2, la aterosclerosis o la enfermedad de hígado graso no alcohólico (HGNA). Las células de Kupffer son también fundamentales para la respuesta homeostática hepática frente a las lesiones hepatotóxicas. Al sufrir los hepatocitos cambios degenerativos, las células de Kupffer responden inmediatamente y liberan mediadores de la respuesta inflamatoria y reparadora, entre los que se encuentran el Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), el que provoca un incremento en los triglicéridos y VLDL séricos durante la diabetes (74). El TNF $\alpha$  es una citosina inflamatoria que puede inducir a otras citocinas con mayor actividad como es el caso de interleucina-6 que ha su vez regula la expresión de proteína C reactiva (PCR). Estos mediadores solos o en combinación pueden dañar la función endotelial y contribuir así a la arteriotrombosis. También el TNF $\alpha$  es capaz de inducir la resistencia endotelial a la insulina por su capacidad de poner en peligro la inhibición del receptor del sustrato insulínico. En las microfotografías del lote diabético se puede observar un mayor número de células de Kupffer, las cuales al liberar el TNF $\alpha$  ocasionan una resistencia a la insulina, la cual se ve reflejada en una menor cantidad de depósitos de glucógeno en comparación con el lote control.

La tinción de rojo congo nos demuestra que el consumo del extracto no ocasiona formación de depósitos de proteína amiloide en el lote control. La amiloidosis o enfermedad amiloidea constituye un grupo heterogéneo de enfermedades

caracterizadas por el depósito extracelular de material protéico autólogo, fibrilar con estructura molecular terciaria en disposición  $\beta$ -plegada. Como consecuencia de la estabilidad de la proteína fibrilar amiloide, el depósito amiloide provoca de forma progresiva la sustitución y la destrucción del parénquima en los órganos afectados, condicionando alteraciones funcionales diversas según la localización e intensidad del depósito. Los depósitos aparecen primero en los espacios de Disse, desde los que se extienden de manera progresiva aprisionando al parénquima hepático adyacente y a los sinusoides. Las células atrapadas experimentan una atrofia de compresión y acaban siendo sustituidas por laminas de amiloide. La tinción Tricromica de Masson nos demuestra que el consumo del extracto butanólico no ocasiona daños en el tejido conjuntivo del hígado.

### 13. CONCLUSIONES.

- La administración del extracto butanólico de *C. obtusifolia*, aumenta el depósito de glucógeno hepático tanto en ratas sanas como diabéticas.
- El ácido cloragénico presente en el extracto butanólico disminuye la producción hepática de glucosa inhibiendo a la G-6- translocasa.
- La administración del extracto butanólico de *C. obtusifolia*, no ocasiona daño estructural en el hígado.
- La administración del extracto butanólico de *C. obtusifolia*, no induce la formación de depósitos de proteína amiloide en ratas sanas.

#### 14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Islas S, Revilla MC. Diabetes mellitus: concepto y nueva clasificación. En: Islas S, Revilla MC, editores. Diabetes mellitus. 3ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2004. p. 3-20.
2. Lawrence M, Stephen J. Diabetes mellitus e hipoglucemia. Diagnóstico clínico y tratamiento. 40ª ed. México: Manual Moderno; 2005. p. 1137-1182
3. Alvin C. Powers. Diabetes mellitus. En: Wilson JD et.al., Root, RK, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16ª ed. EUA: Mc Graw-Hill; 2006. p. 1739-1759.
4. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med. 1999; 16 (5): 442-3.
5. American Diabetes Association. Position Statement: Gestational Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2001; 24 (suppl 1): S77-S81.
6. Rull JA, Aguilar-Salinas A, Rojas R, Rios-Torres J, Gómez-Pérez F, Olaiz G. Epidemiology of Type 2 Diabetes in Mexico. Arch Med Res. 2005; 36 (3): 188-96.
7. Martín F, Vasca P. Células madre y diabetes. Visión desde la diabetología pediátrica. An Pediatr. 2004; 60 (supl 2) 67-70.
8. Martorell R. La diabetes y los mexicanos: ¿Por qué están vinculados?. Prev Chronic Dis. 2005; 2 (1): 1-6.
9. Castro MG, Liciaga MG. Complicaciones agudas de la diabetes mellitus. En: Islas S, Revilla MC, editores. Diabetes mellitus. 3ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2004. p. 255-272.
10. Lizcano F. Cetoacidosis diabética. En: Correa LF. Guías para manejo de urgencias. Tomo III. 3ª ed. Colombia: Ministerio de la Protección Social; 2009. p. - . Guías para manejo de urgencias. Tomo III. (Internet). Colombia: Ministerio de la Protección Social; 2009 (consulta el FECHA). Disponible en: [www.fepafem.org.ve/Guias\\_de\\_Urgencias/Alteraciones\\_endocrinas\\_y\\_metabolicas/Cetoacidosis\\_diabetica.pdf](http://www.fepafem.org.ve/Guias_de_Urgencias/Alteraciones_endocrinas_y_metabolicas/Cetoacidosis_diabetica.pdf)
11. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nat. 2001; 414: 799-806.
12. Michael HR, Wojciech P. Hígado, vesícula biliar y páncreas. En: Histología. Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. 4ª ed. Argentina: Medica Panamericana; 2005. p.534-559.
13. W. Sheldon Bivin, M. Pat Crawford, N. R. Brewe. Morphophysiology. En: The laboratory Rat Vol I Biology and diseases. USA Edit. American collage of Laboratory animal Medicine Series; 1984 p. 80-84.
14. Malarkey DE, Johnson K, Ryan L, Boorman G, Maronpot RR. New insights into functional aspects of liver morphology. Toxicol Pathol. 2005. 33(1); p. 27-34.
15. Guyton C. Arthur, E. Hall Jonh,. El hígado como un organo. En: Tratado de fisiología Médica. 9ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1997. P. 534-569.

16. Rubin E. El hígado y las vías biliares. En: Patología estructural: fundamentos clinicopatológicos en medicina. 4<sup>a</sup> ed. España: McGraw-Hill Interamericana; 2006. p.
17. Geneser F. Aparato digestivo. En: Histología. Capítulo 18. 3<sup>a</sup> ed. Argentina: Médica Panamericana; 2000. p. 465-529.
18. Gartner PL. Sistema Digestivo: glándulas. En: Texto Atlas de Histología. 3<sup>a</sup> ed. México: McGraw-Hill Interamericana; , 2007. p. 358-379
19. Ganong W. Regulación de la función digestiva. En: Fisiología médica. Capítulo 26. 19<sup>a</sup> ed. México: Manual Moderno 2004. p. 523-558
20. Naito M, Hasegawa G, Ebe Y, Yamamoto T. Differentiation and function of Kupffer cells. *Med Electron Microsc.* 2004; 37:16–28.
21. [http://www.hospitalitaliano.org.ar/docencia/nexo/index.php?contenido=contenido\\_articulo.php&id\\_articulo=749&id\\_rev=44&datorev=Octubre+2003+volumen+23+Numero+2](http://www.hospitalitaliano.org.ar/docencia/nexo/index.php?contenido=contenido_articulo.php&id_articulo=749&id_rev=44&datorev=Octubre+2003+volumen+23+Numero+2)
22. Castrejón V, Carbó R, Martínez M. Mecanismos Moleculares que Intervienen en el Transporte de la Glucosa. *REB.* 2007; 26(2): 49-57.
23. Czech MP, Corvera S. Signaling Mechanisms That Regulate Glucose Transport. *J. Biol Chem.* 1999; 274(4): 1865-78.
24. Bouché C, Serdy S, Kahn CR, Goldfine B. The Cellular Fate of Glucose and Its Relevance in Type 2 Diabetes. *Endocr Rev.* 2006; 25 (5): 807-30.
25. Lehninger LA, Nelson LD. Principios de Bioquímica. 2<sup>a</sup> ed. España: Omega; 1995.
26. Stryer L, Berg JM. Glycogen Metabolism. En: Biochemistry. Capítulo 21. 5<sup>a</sup> ed. EUA: International Edition; 2001. p. 577-600.
27. Bouché C, Serdy S, Kahn CR, Goldfine AB. The Cellular Fate of Glucose and Its Relevance in Type 2 Diabetes. *Endocr Rev.* 2003; 25 (5): 807-30.
28. Voet D, Voet JG. Glycogen Metabolims and Gluconeogenesis. En: Fundamentals of Biochemistry Life at the Molecular Level. 2<sup>a</sup> ed. EUA: John Wiley & Sons; 2006. 472-513.
29. Parker JC, VanVolkenburg MA, Levy CB, Martin WH, Burk SH, Kwon Y, Giragossian C, Gant TG, Carpino PA, McPherson RK, Vestergaard P, Treadway JL. Plasma glucose levels are reduced in rats and mice treated with an inhibitor of glucose-6-phosphate translocase. *Diabetes.* 1998 Oct;47(10):1630-6.
30. Gromada J, Franklin I, Wollheim CB. Cells of the Endocrine Pancreas: 35 Years of Research but the Enigma Remains. *Endocr Rev.* 2007; 28 (1): 84–116.
31. Gromada J, Franklin I, Wollheim CB. Cells of the Endocrine Pancreas: 35 Years of Research but the Enigma Remains. *Endocr Rev.* 2007; 28 (1): 84–116.
32. Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003; 284: E671-78
33. Di Mauro S., Tsujino S., Shanske S., Rowland LP. 1995. Biochemistry and molecular genetics of human glycogenosis. *Muscle Nerve.* 1995; 3: 10-7
34. Castrejón V, Carbó R, Martínez M. Mecanismos Moleculares que Intervienen en el Transporte de la Glucosa. *REB.* 2007; 26(2): 49-57.

35. Bailyes EM, Guest PC, Hutton JC. Insulin Synteshis. En: Ashcroft FM, Ashcroft SJH, editors. Insulin: Molecular Biology and Pathology. EUA: IRL Press; 1992. p. 64-96. Kasper B. Hauser L. Harrison. Principios de Medicina Interna. 16<sup>a</sup> ed. Ed. Mc Graw-Hill; 2006.
36. Beers M H, Berkow R, editors. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 17<sup>a</sup> ed. EUA: Simon and Schuster; 1999
37. UPMC. <http://www.upmc.com/HealthManagement/ManagingYourHealth/HealthReference/Diseases/?chunkiid=104036>. → Bell RH, Hye RJ. Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. J Surg Res. 1983; 35: 433-60.
38. Hugues HB. Animales de Experimentación Como Modelos de la Diabetes Tipo 2. Rev. Cubana Endocrinol. 2002; 13(2):160-68.
39. Islas S A, Revilla M C. Streptozotocin and Alloxan in Experimental Diabetes: Comparison of the Two Models in Rats. Acta Histochem. 2000; 33 (3): 201-208.
40. Konrad RK, Mikolaenko I. The potential mechanism of the diabetogenic action of streptozotocin: inhibition of pancreatic  $\beta$ -cell O-GlcNac-selective N-acetyl-  $\beta$ -D-glucosaminidase. Biochem J. 2001; 356: 31-41.
41. Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in  $\beta$  Cell of the Rat Pancreas. Physiol Res. 2001; 50(6):537-46
42. Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 Diabetes Mellitus: a Glance. Indian J. of Pharmacology. 2004; 36: 217-21.
43. Hugues B, Rodríguez JC, Marreno MT. Animales de Experimentación como modelos de la Diabetes tipo 2. Rev. Cubana Endocrinol. 2002; 13(2): 168-77.
44. Mc Nelly JH. Streptozotocin-Induced Diabetes: Induction, Mechanism (s), and Dose Dependency. En: Experimental Models of Diabetes. USA: CRC; 2000. p. 3-18
45. Tsuji A, Sakurai H. Generation of Nitric Oxide from Streptozotocin (STZ) in the Presence of Copper (II) plus Ascorbate: implication for the Development of STZ-induced Diabetes. BBRC. 1998; 245 (1): 11-16
46. Mabley JG, Suarez-Pinzon WL, Hasko G, Salzman A, Rabinovitch A, Kun E. Inhibition of poly (ADP-ribose) synthetase by gene disruption or inhibition with 5-iodo-6-amino-1,2-benzopyrone protects mice from multiple-low-dose-streptozotocin-induced diabetes. BJP. 2001; 133: 909-19.
47. Islas S, Revilla MC. Hipoglucemiantes orales: una nueva era en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. En: Islas S, Revilla MC, editors. Diabetes Mellitus. 3<sup>a</sup> ed. México: McGraw-Hill, 2005. p. 396-411.
48. DeFronzo RA. Pharmacology therapy for type 2 diabetes: scientific review. JAMA. 2002; 287: 360-72.
49. Katzung BG. Hormonas pancreáticas y medicamentos usados en el tratamiento de la Diabetes. En: Farmacología básica y clínica. 9<sup>a</sup> ed. México. Manual Moderno; 2005. p. 691-712.
50. Goodman, Gilman's. The Pharmacology Diseases and Therapeutics. EUA: Medical Publishing Division Mc. Graw-Hill; 2001. p. 1700-1707.

51. AHFS Drug Information. USA: American Society of Health-System Pharmacists. 2001: 3014-3021.
52. Rodríguez C. Rodolfo. Vademécum Académico de Medicamentos, 3ª edición. McGraw-hill Interamericana. México. 2003. p. 429-432.
53. PLM. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 54ª ed. México, 2008. p.1850-1851.
54. 2. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996: vol 2: 1603-1607.
55. 3. Malgor LA, Valsecia ME. Farmacología de la diabetes. En: Malgor LA, Valsecia ME. Farmacología médica. 2ª ed. Corrientes: Ediciones Donato/FARM, 1995: vol 2: 174-191.
56. Osuna Torres Lidia. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Universidad de Barcelona. 2004. p. 173.
57. [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/)
58. Adolfo Andrade Cetto, Jaime Becerra Jiménez, Eddy Martínez Zurita, Pilar Ortega Larrocea, Michael Heinrich. Disease-Consensus Index as a tool of selecting potential hypoglycemic plants in Chikindzonot, Yucatán, México. J. Ethnopharmacol. 2006. (107):199–204
59. Pennigton T. D., Sarukan, K. Árboles tropicales de México. En Manual para la identificación de las principales especies. UNAM. Instituto de ecología Fondo de Cultura Económica. México. 1998. p. 523.
60. Concepción Pérez-Guerrero, María Dolores Herrera, Rafael Ortiz, María Álvarez de Sotomayor, María Ángeles Fernández. A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous. J. Ethnopharmacol. 2001. Vol.76(3). p. 279-284
61. Argueta, V.A., 1994. Atlas of the Traditional Mexican Medicinal Plants, I. National Indigenous Institute, Mexico. 1994 pp. 486–489
62. Andrade Cetto A; Helmut Wiedenfeld. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 2001.78 p. 145–149.
63. Revilla Monsalve Ma. C., Andrade Cetto A., Palomino Garibay M. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. J. Ethnopharmacol. 2007; 111,(3). p. 636-640
64. Pilar Nicasio, Lucía Aguilar-Santamaría. Hypoglycemic effect and chlorogenic acid content in two *Cecropia* species. Phytother Res. 2005. 19(8); p. 661 – 664.
65. Román-Ramos R, Flores-Sáenz JL, Partida-Hernández G. Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. Arch Invest Med (Mex). 1991. 22(1); p. 87-93.
66. Shaw, JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Res. Clin Pract. 2010;87(1):4-14
67. Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for year 2010. Diabetes Res. Clin. Pract. 2010; 87(1):15-19



68. Heinrich Michael, Ankli Anita. Medical Plants in Mexico: Healers' Consensus and cultural importance. *Soc Se. Med.* 1998. 47(11); p. 1859-1871.
69. Lozoya, L. X. Origen de la herbolaria indigena en el altiplano mexicano. *Plantas medicinales y poder ed. Pax Mex.* 1994. p. 19-32.
70. Heinrich, M., Gibbons, S. Ethnopharmacology drug discovery: an analysis of its role and potential contribution. *J Pharm Pharmacol.* 2001. 53(4); p. 425-432.
71. Jhon Bancroft, Marilyn Gamble 2004. Mucin. En *Theory and practice of histological techniques.* 5<sup>a</sup> edición. Edit. Churchill Livingstone. USA
72. Hemmerle H, Burger HJ, Below P, Schubert G, Rippel R, Schindler PW, Paulus E, Herling AW. Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. *J Med Chem.* 1997. 17;40(2); p. 137-45.
73. Rinat Ratner, Ortiz Marcela. Fitoesteroles: Una alternativa natural al tratamiento de la hipercolesterolemia. *Sociedad Chilena de obesidad.* 2008. 5(1); p. 24-29.
74. Esra Küpeli, Mustafa Aslan, I' Ihan Gürbüz, and Erdem Yesilada. Evaluation of in vivo Biological Activity Profile of Isoorientin. *Z Naturforsch C.* 2004. 59(11-12); p.787-90.
75. M Bollen, S Keppens, and W Stalmans. Specific features of glycogen metabolism in the liver. *J. Biochem.* 1998.15; 336(Pt 1); p. 19-31.
76. Isabelle Gerin, Emile Van Schaftingen. Evidence for glucose-6-phosphate transport in rat liver microsomas. *FEBS Lett.* 2002. Apr 24;517(1-3); p.257-60.
77. Emili Van Schatingen, Isabelle Gerin. The glucose-6-phosphatase system. *Biochem J.* 2002. (362); p. 513-532.
78. Janice C. Parker, María A. VanVolkenburg, Carolyn B. Levy, Judith L. Treadway. Plasma glucose levels are reduced in rats and mice treated with an inhibitor of Glucose-6-phosphate translocase. *Diabetes.* 1998. (47); p. 1630-1637.
79. Marcolongo P., Bánhegyi G., Benedetti A., Hinds C. J., Burchell A. Liver microsomal transport of Glucose-6-phosphate, glucose, and phosphate in type 1 glycogen storage diseases. *J Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1998. (83); p. 224-229.
80. Jason J. Winnick, Zhibo An, Mary Courtney Moore, Christopher J. Ramnanan, Ben Farmer, Masakazu Shiota, and Alan D. Cherrington A physiological increase in the hepatic glycogen level does not affect the response of net hepatic glucose uptake to insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009. 297; p. E358-E366.
81. Leclercq IA, Da Silva Morais A, Schroyen B, Van Hul N, Geerts A. Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: mechanisms and consequences. *J Hepatol.* 2007. 47(1); p. 142-56.
82. John C. Pickup, DPhil, Frcpath. Inflammation and Activated Innate Immunity in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *D. Care.* 2004. 27 (3); p. 813-833

83. dtype=box&imgonly=1&path=http%3A%2F%2Fdata.gbif.org%2Fmaplayer%2Ftaxon%2F13762967&mode=browse&refresh=Refresh&layer=countryborders&extent=-180.0+-33.0+0.0+57.0 mapa de cecropia
84. Lim JH, Park HS, Choi JK, Lee IS, Choi HJ. Isoorientin induces Nrf2 pathway-driven antioxidant response through phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Arch Pharm Res.* 2007. 30(12); p.1590-1598.
85. Christopher B. Newgard. Regulation of Glucosa Metabolims in the Liver. En: R. A. Defronzo, E. Ferrannini, H Keen. *International Texbook of Diabetes Mellitus.* 3ª ed. USA. Editors-IN-CHIEF; 2004. p. 253-276.
86. J. M. Olmos, J. Gonzáles. Fisiopatología del metabolismo de las proteínas plasmáticas y de los aminoácidos. En: J. García Conde, J. Merino, J. Gonzáles. *Patología General. Semiología clínica y fisiopatología.* 2<sup>da</sup> ed. España: Mc Graw-Hill Interamericana; 2004. p. 621-627
87. J. Arias-Díaz y J. Balibrea Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutr Hosp.* 2007;22(2):160-68
88. Wu MS, Liang JT, Lin YD, Wu ET, Tseng YZ, Chang KC. Aminoguanidine prevents the impairment of cardiac pumping mechanics in rats with streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetes. *Br J Pharmacol.* 2008 June; 154(4): 758–764
89. Silvio E. Inzucchi, MD; Darren K. McGuire, MD, MHSc. New Drugs for the Treatment of Diabetes Part II: Incretin-Based Therapy and Beyond. *Circulation.* 2008;117:574-584
90. Carter BA, Taylor OA, Prendergast DR, Zimmerman TL, Von Furstenberg R, Moore DD, Karpen SJ. Stigmasterol, a soy lipid-derived phytosterol, is an antagonist of the bile acid nuclear receptor FXR. *Pediatr Res.* 2007. 62(3); p. 301-6.
91. Esra Küpeli, Mustafa Aslan, I' Ihan Gürbüz, and Erdem Yesilada. Evaluation of in vivo Biological Activity Profile of Isoorientin. *Z Naturforsch C.* 2004. 59(11-12); p.787-90.
92. Aguilar Santamaría Lucia L. 2004. Evaluación de la Actividad Hipoglucemiante de los extractos de *Cecropia obtusifolia Bertol.* Tesis de Doctora. UAM-I
93. Herrera Arellano A, Aguilar Santamaría L, García Hernández B, Nicasio Torres P, Tortoriello J. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine.* 2004 Pág. 561-6.
94. Herrera Arellano A, Aguilar Santamaría L, García Hernández B, Nicasio Torres P, Tortoriello J. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine.* 2004 Pág. 561-6.
95. AndradeCetto A, Vázquez R C. Gluconeogenesis inhibition and phytochemical composition of two *Cecropia* species. *J Ethnopharmacol.* 2010 6;130(1) Pág 93-97.
96. Andrade Cetto A, Wiedenfeld H, Revilla M C, Sergio I A. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2000 72(1-2) Pág.129-33.

## XV.ANEXOS

### REACCIÓN DE ÁCIDO PERYODICO-SCHIFF (PAS).

1. Lavar en alcohol de 70°.
2. Poner los cortes en ácido periódico alcohólico, por 10 minutos.
3. Lavar en alcohol de 70°.
4. Lavar con enjuague reductor por 5 minutos.
5. lavar en alcohol del 90°.
6. Teñir con el reactivo de Schiff, durante 10 minutos,
7. pasar a tres cambios seguidos de bisulfito de sodio, por dos minutos en cada cambio.
8. lavar en agua corriente, por 5 minutos.
9. Contrateñir los núcleos con fast green.
10. Deshidratar con alcohol de 96° y absoluto.
11. aclarar con xilol.
12. Cubrir con resina.

#### Ácido periódico.

- Ácido periódico 0.8 grs.
- Agua destilada 30 ml.
- Acetato de sodio hidratado 0.27 g.
- Alcohol absoluto 70 ml.

#### Enjuague reductor.

- Yoduro de potasio 2.0 g.
- Tiosulfato de sodio 2.0 grs.
- Agua destilada 40 ml.
- Ácido clorhídrico 1N 1.0 ml.

Hacer primero la disolución de yoduro con tiosulfato y agua, después hacer la solución de alcohol con ácido clorhídrico y el agua, y agregar a la primera disolución, moviendo rápidamente. Si se forma precipitado dejar que se asiente y usar solo la disolución.

#### Bisulfito de sodio.

- Metabisulfito de sodio 0.5 g.
- Agua destilada 100 ml.

#### Reactivo de Schiff.

- Fucsina básica 0.5 a 1.0 g.
- Agua destilada 85 ml.
- Metabisulfito de sodio 1.9 g.
- Ácido clorhídrico 1N 15 ml.

Hervir el agua destilada y agregar la fucsina agitando, enfriar hasta 50°C y filtrar; añadir el ácido clorhídrico, enfriar hasta 25°C y agregar el metabisulfito de sodio. Utilizando una botella de tamaño adecuado, que no deje espacio para aire, agitar a intervalos de 2 horas y dejar toda la noche; agregar 200 mg de carbón activado, agitar y filtrar. La disolución debe de quedar transparente y guardarse en el refrigerador.

El principio de la reacción del ácido periódico es producir un proceso de oxidación entre carbono y carbono

La reacción de PAS nos revela todo tipo de carbohidratos (polisacáridos, como el glucógeno, mucopolisacáridos, glucolípidos, glucoproteínas etc.). Se basa en la reacción con el reactivo de Schiff de los grupos aldehído liberados de los grupos vic-glicol presentes en los carbohidratos tras su oxidación con ácido peryódico. El reactivo de Schiff contiene fucsina básica (o pararrosanilina), que en solución ácida y en presencia de SO<sub>2</sub> da lugar a una forma no coloreada (ácido N-sulfónico). Este reactivo reacciona con los grupos aldehído libres formando un compuesto insoluble de color rosa.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

aa: aminoácidos.  
ADP: Adenocin difosfato.  
ADP-Glucosa: adenosin difosfato glucosa.  
AMP: adenosin monofosfato  
AMPc: adenosin monofosfato ciclico  
ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.  
ATP: Adenocin trifosfato.  
cGMP:  
CHA: ácido clorangénico.  
CHL: Colesterol.  
cm: centímetros.  
D: Diabética.  
DC: Diabética con Cecropia.  
DG: Diabética con glibenclamida.  
DKA: Cetoacidosis diabética.  
dL: decilitros.  
DM1: Diabetes Mellitus Tipo 1.  
DM2: Diabetes Mellitus Tipo 2.  
DMID: Diabetes Mellitus Insulinodependiente.  
DMNID: Diabetes Mellitus no Insulinodependiente.  
E.E: Error estándar.  
EAG: Enfermedades por acumulación de glucógeno.  
g: gramos  
G1-P: Glucosa 1 fosfato.  
G6-P: Glucosa 6 fosfato.  
GL6-PT: Glucosa 6 fosfato translacasa.  
GLU: Glucosa.  
GLUT: Sistema facilitador de transporte de glucosa.  
H-E: Hematoxilina eosina.  
IGF-I Receptor de factor de crecimiento insulínico.  
IP: Intraperitoneal.  
Kg: kilogramos.  
LC: Lote control.  
m: metros.  
mg: miligramos  
mL: mililitros  
mm: milímetros.  
N: normal  
NADPH<sup>+</sup>: nicotina adenina dinucleótido en forma reducida.  
NDC: No diabética con Cecropia.  
nm: nanometros  
NO: Óxido nítrico.  
OMS: Organización Mundial de la Salud.

P1P2:  
PAS: Reacción de ácido peryódico.  
PEPCK: Fosfoenol piruvato carboxilasa.  
Pi: Fósforo inorgánico.  
PKA: Proteína quinasa A.  
SGLT: Transportador de glucosa asociado a sodio.  
SLC:  
SO<sub>2</sub>: dióxido de azufre.  
STZ: Estreptozotocina.  
SUR:  
TGL: Triglicéridos.  
UDP-Glucosa:  
VLDL: Lipoproteínas de baja densidad.