



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“COMPROBACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL
EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*) EN
RATONES (*Mus musculus*) CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

NATALI ELIZABETH CARRASCO PARRA.

RIOBAMBA - ECUADOR

2012

Dedicatoria

Agradezco con todo mi corazón a DIOS por ser el ser supremo que siempre ha guiado mi vida por el camino del bien y del saber.

Agradezco también a la Virgen Santísima de Baños por siempre darme la fuerza necesaria para culminar mis metas y saber alcanzar el éxito con verdadero esfuerzo.

A mis padres queridos Anita y Augusto que con su amor siempre me acompañaron a seguir luchando por conseguir mis metas.

A mis queridos abuelitos Dalida y Francisco y a mis hermanos Gabriel y María Augusta por siempre estar a mi lado y brindarme su amor y apoyo incondicional en todo momento.

Agradecimiento.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Escuela de Bioquímica y Farmacia por brindarme la oportunidad de formarme como profesional de ética y conocimiento para servir a mi país.

Al Bqf. Fausto Contero (Director de tesis), Dr. Oswaldo Duque (Colaborador de tesis), por haberme apoyado durante mi trabajo de tesis, además un sincero agradecimiento por ser más que profesores unos verdaderos amigos que con sus sabias palabras me acompañaron a la culminación de mi trabajo de graduación.

A mis queridos compañeros gracias por compartir conmigo toda una vida universitaria, a mis amigas Majito, Janeth y Steffy por ser compañeras y amigas de corazón.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación “COMPROBACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*) EN RATONES (*Mus musculus*) CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA”, de responsabilidad de la señorita egresada Natali Elizabeth Carrasco Parra, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz. DECANA FACULTAD DE CIENCIAS	_____	_____
Dr. Luis Guevara DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
BQF. Fausto Contero DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dr. Oswaldo Duque MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tec. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Natali Elizabeth Carrasco Parra, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

NATALI ELIZABETH CARRASCO PARRA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

%H	Por ciento de Humedad.
+	Baja eficiencia.
++	Eficiencia.
+++	Alta eficiencia.
ADA	Asociación Americana de Diabetes
ADP	Adenosin difosfato.
AgNO₃	Nitrato de Plata.
ATP	Adenosin trifosfato
B	Beta.
conc.	Concentrado
D 25°C.	Densidad a 25 °C.
DL50	Dosis letal media.
DM	Diabetes Mellitus.
DMI	Diabetes Mellitus Insulino-Dependiente.
e₁	Extracto al 40%.
e₂	Extracto al 70%.
e₃	Extracto al 100%.
ECA	Hemoglobina glicosilada
FDA	Food and Drug Administration
h	Horas.
HCl	Ácido Clorhídrico.
i.m.	Intramuscular.
i.v.	Intravenoso.
LDL	Lipoproteínas de baja densidad.
Log	Logaritmo.
MAO	Monoamino oxidasas.
msnm	Metros sobre el nivel del mar
NAD⁺	Dinucleótido de nicotinamida y adenina.
NADH	Dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato reducido.
OMS	Organización mundial de Salud.
pH	Potencial Hidrogeno.
s.t	Sólidos Totales.
v.oral	Vía oral.
W.C	Baño.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. PARTE TEÓRICA	1
1.1 QUE ES LA DIABETES	1
1.1.1 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES	5
1.1.1.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1.	6
1.1.1.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2.	7
1.1.1.3 OTROS TIPOS DE DIABETES.....	8
1.1.1.4 DIABETES GESTACIONAL	9
1.1.1.5 INTOLERANCIA A LA GLUCOSA Y GLUCEMIA DE AYUNA ALTERADA	9
1.1.1.6 DIABETES TIPO 1 VS TIPO 2: ¿CUÁL ES LA DIFERENCIA?	10
1.2 ENTRADA DE LA GLUCOSA A LA CÉLULAS.....	10
1.2.1 CATABOLISMO DE LA GLUCOSA	11
1.2.2 GLUCÓLISIS	11
1.2.3 FORMACIÓN DE ACETIL COENZIMA A	13
1.3 INSULINA.....	13
1.3.1 OBTENCIÓN DE LA INSULINA FARMACOLÓGICA	14
1.3.2 TIPOS DE INSULINA	14
1.3.2.1 INSULINAS DE ACCIÓN RÁPIDA.....	15
1.3.2.2 INSULINAS DE ACCIÓN INTERMEDIA.....	15

1.4 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES.....	16
1.4.1 PLAN DE TRATAMIENTO	17
1.4.2 ANTIDIABÉTICOS ORALES.....	17
1.5 MEDICAMENTOS USADOS EN LA DIABETES	18
1.5.1 FARMACOLOGÍA DE LAS SULFONILUREAS	20
1.5.2 GLIBENCLAMIDA	22
1.5.2.1 MECANISMO DE ACCIÓN	22
1.5.2.2 FARMACODINAMIA Y FARMACOCINÉTICA.....	22
1.5.2.3 INDICACIONES PARA EL USO DE GLIBENCLAMIDA.....	24
1.5.2.4 CONTRAINDICACIONES DEL USO DE GLIBENCLAMIDA	24
1.5.2.5 PRECAUCIONES DEL USO DE GLIBENCLAMIDA.....	24
1.5.1.6 INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS	25
1.6 TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	26
1.6.1 <i>Opuntia ficus indica</i>	26
1.6.1.1 DESCRIPCIÓN	28
1.6.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA	29
1.6.1.3 CARÁCTERÍSTICAS BOTÁNICA	30
1.6.1.4 TAXONOMÍA.....	31
1.6.1.5 FARMACOLOGÍA DE LA TUNA	32
1.6.1.6 PROPIEDADES CURATIVAS DE LA TUNA	33
1.7 <i>Mus musculus</i>	34
1.7.1 NORMAS ÉTICAS EN EL MANEJO DE ANIMALES	35
1.7.2 POR QUÉ UTILIZAR RATONES PARA EXPERIMENTACIÓN	36
1.7.3 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN.....	37
1.7.4 CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO	38
1.8 TAMIZAJE FITOQUÍMICO	39
1.9 TOXICIDAD AGUDA.....	40
1.9.1 CORTES HISTOLÓGICOS	40

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL	42
2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN	42
2.2 MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS	42
2.2.1 MATERIA VEGETAL	42
2.2.2 MATERIAL BIOLÓGICO	42
2.2.3 MATERIALES	42
2.2.4 EQUIPOS	44
2.2.5 REACTIVOS	44
2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS	45
2.3.1 FASE EXPERIMENTAL	45
2.3.1.1 ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	45
2.3.1.2 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	46
2.3.1.2.1 ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	46
2.3.1.3 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	49
2.3.1.3.1 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	49
2.3.1.3.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	50
2.3.1.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	53
2.3.1.4.1 ENSAYO DE DRAGENDORFF	54
2.3.1.4.2 ENSAYO DE MAYER	54
2.3.1.4.3 ENSAYO DE WAGNER	54
2.3.1.4.4 ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO	54
2.3.1.4.5 ENSAYO DE SHINODA	55

2.3.1.4.6 ENSAYO DE FEHLING.....	55
2.3.1.4.7 ENSAYO DE ESPUMA.....	56
2.3.1.4.8 ENSAYO DE MUCÍLAGOS	56
2.3.1.4.9 ENSAYO DE PRINCIPIOS AMARGOS	56
2.3.1.5 INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA EN RATONES (<i>Mus musculus</i>).....	56
2.3.1.5.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	56
2.3.1.5.2 ADMINISTRACIÓN DE SOLUCIÓN DE SACAROSA	57
2.3.1.5.3 OBTENCIÓN DE SANGRE DE LA VENA SAFENA.....	58
2.3.1.5.4 DETERMINACIÓN DE LA GLUCOSA BASAL	58
2.3.1.5.5 ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO.....	58
2.3.1.6 ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA	60
2.3.1.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	60

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	62
3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	64
3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	66
3.4 INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA EN RATONES (<i>Mus musculus</i>) Y ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE	67
3.4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus- indica</i>)	68
3.5 TOXICIDAD AGUDA Y ESTUDIO DE LOS CORTES HISTOPATOLOGICOS	69

3.5.1 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA Y ESTUDIO DE LOS CORTES HISTOPATOLOGICOS. REALIZADO EN EL BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.....	69
--	----

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES	73
-----------------------	----

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES.....	75
-------------------------	----

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN Y SUMMARY	76
----------------------------	----

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA	78
-----------------------	----

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS	86
-----------------	----

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1.	RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. FEBRERO 2012.....	62
CUADRO N° 2.	RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. FEBRERO 2012.....	64
CUADRO N° 3.	RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. FEBRERO. 2012.....	65
CUADRO N° 4.	RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. FEBRERO 2012.....	66
CUADRO N° 5.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL PESO CORPORAL EN FUNCION DE LOS GRAMOS AL DÍA /GRAMOS AL INICIO DEL EXPERIMENTO.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1. TIPOS DE INSULINA.....	15
TABLA N° 2. ESTRATEGIAS DE MANEJO DEL TRATAMIENTO DE LA DIABETES .20	
TABLA N° 3. CINÉTICA DE LAS DROGAS DE SEGUNDA GENERACIÓN.....	24
TABLA N° 4. TAXONOMÍA <i>Opuntia</i>	32
TABLA N° 5. MÁXIMO VOLUMEN PERMITIDO DE SOLUCIONES DE FÁRMACO QUE PUEDEN SER ADMINISTRADOS.....	38
TABLA N° 6. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.....	38
TABLA N° 7. EVOLUCIÓN DE LA GLUCOSA FRENTE A LOS TRATAMIENTOS DURANTE TRES TIEMPOS	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1.	DIABETES.....	10
GRÁFICO N° 2.	RESULTADO DE LA CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.....	69
GRÁFICO N° 3.	ANÁLISIS DE LAS MEDIAS DE LOS GRAMOS AL DÍA/ GRAMOS AL INICIO DEL EXPERIMENTO EN FUNCIÓN DE LOS DÍAS DE ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDADIABETES	71

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA GLIBENCLAMIDA.....	22
FIGURA N° 2. <i>Opuntia ficus indica</i>	27
FIGURA N° 3. ESQUEMA DE LAS REACCIONES A REALIZAR EN EL EXTRACTO ACUOSO.....	53

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1. TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	26
FOTOGRAFÍA N° 2. <i>Mus musculus</i>	34
FOTOGRAFÍA N° 3. RECOLECCIÓN DEL FRUTO DE LA TUNA.	86
FOTOGRAFÍA N° 4. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA AL 100%.	86
FOTOGRAFÍA N°5. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA TUNA. EL ORDEN DE LOS ENSAYOS DE IZQUIERDA A DERECHA SON: ENSAYO CLORURO FÉRRICO, ENSAYO DE POLISACÁRIDOS, ENSAYO DE FEHLING, ENSAYO DE SAPONINAS, ENSAYO DE WAGNER, ENSAYO DE DRANGENDORFF, ENSAYO DE MAYER, Y ENSAYO DE SHINODA.....	87
FOTOGRAFÍA N° 6. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DEL FRUTO DE LA TUNA, EL ORDEN DE LAS DETERMINACIONES DE IZQUIERDA A DERECHA SON: % HUMEDAD, % CENIZAS TOTALES, % CENIZAS SOLUBLES EN AGUA, Y % CENIZAS INSOLUBLES EN AGUA.	87
FOTOGRAFÍA N° 7. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO AL 100% DEL FRUTO DE LA TUNA, EL ORDEN DE LOS ANÁLISIS DE IZQUIERDA A DERECHA SON: DETERMINACIÓN DEL pH, ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y GRADOS BRUX, DENSIDAD Y SÓLIDOS TOTALES. RECOLECCIÓN DEL FRUTO DE LA TUNA.....	88
FOTOGRAFÍA N° 8. PERÍODO DE CUARENTENA Y TOMA DE LOS PESOS EN g DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA AL 100%.	88
FOTOGRAFÍA N° 9. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE DE LA VENA SAFENA Y MEDICIÓN DE LA GLUCOSA BASAL	81
FOTOGRAFÍA N° 10. ADMINISTRACIÓN DE SOBRECARGA DE SACAROSA Y DESINFECCIÓN EN EL ÁREA DE PUNCIÓN.	89

FOTOGRAFÍA N° 11.	TOMA DE LA MUESTRA DE SANGRE DE LA VENA SAFENA, Y MEDICIÓN DE LA GLUCOSA EN EL GLUCÓMETRO PRODIGY.....	90
FOTOGRAFÍA N° 12.	ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS A DOSIS DE 100%,70%,40%.....	90
FOTOGRAFÍA N° 13.	EVALUACIÓN DEL ESTADO FÍSICO DE LOS ANIMALES EN LA FASE DE TOXICIDAD AGUDA.....	91
FOTOGRAFÍA N° 14.	EUTANASIA A LOS 15 DÍAS PARA OBTENER EL RIÑÓN, HÍGADO Y ESTOMAGO, PARA PREPARAR LOS CORTES HISTOLÓGICOS.....	91
FOTOGRAFÍA N° 15.	CORTES HISTOLÓGICOS DE LOS ÓRGANOS UTILIZADOS EN LA TOXICIDAD AGUDA.....	92

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.	RECOLECCIÓN DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia- ficus indica</i>). BARRIÓ SANTA TERESITA. CANTÓN GUANO. PROVINCIA DE CHIMBORAZO.....	86
ANEXO 2.	ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia- ficus indica</i>).	86
ANEXO 3.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia- ficus indica</i>).....	87
ANEXO 4.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus- indica</i>).....	87
ANEXO 5.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	88
ANEXO 6.	INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA EN RATONES (<i>Mus musculus</i>). ...	88
ANEXO 7.	ELABORACIÓN DEL PROCESO DE TOXICIDAD AGUDA EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN ESCOGIDOS AL AZAR.	90
ANEXO 8.	INFORME DE RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS EMITIDO POR EL Dr. OSWALDO DUQUE (Profesor de Histología, en la ESPOCH, Facultad de Ciencias, Riobamba- Ecuador).	93
ANEXO 9.	INFORME DEL EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE LA MATERIA PRIMA DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>) EMITIDO POR LA TÉCNICA DE LABORATORIO MARITZA YANEZ (Encargada del Laboratorio de análisis técnicos. Área de Microbiología. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).	94

INTRODUCCIÓN.

La Diabetes Mellitus es una afección muy frecuente en el mundo entero. Ocasionalmente produce síntomas desde su inicio y otras veces no presenta ninguno y pasa totalmente inadvertida. Era tanta la sed que producía esta enfermedad que a quienes lo padecían, se les secaba la boca y el cuerpo, además de que adelgazaban, se desesperaban y morían prematuramente, pues se les sumaban otras enfermedades infecciosas como la tuberculosis o gangrena en los pies. Su diagnóstico precoz permite establecer el tratamiento adecuado y evitar las posibles complicaciones. (22) (26)

Existen en el mundo millones de personas diabéticas, de los cuales un gran porcentaje no lo saben. Muchos de ellos recién se enteran de su condición diabética al aparecer alguna complicación como, por ejemplo, un infarto de miocardio. (26)

Como se sabe, la diabetes puede aparecer en edades tempranas o avanzadas, puede ser resultado de un proceso autoinmunitario relacionado con predisposición genética que se desencadena por factores ambientales hasta ahora desconocidos, o bien puede obedecer a la disminución en la sensibilidad a la acción o en la secreción de la insulina. (8)

La diabetes tiene un gran impacto en la calidad de vida de la persona por sus complicaciones a largo plazo. Por eso es imprescindible que la atención del paciente diabético incluya otros aspectos además de los relacionados con las alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos. El médico está obligado a dar igual importancia a la obesidad, la hipertensión arterial, las dislipidemias y el tabaquismo con el objeto de disminuir la probabilidad de problemas cardiovasculares. (8)

Se trata de una enfermedad que impide el correcto aprovechamiento de los alimentos que se ingieren, especialmente de los azúcares, debido a una carencia total o parcial de una hormona llamada insulina. (26)

Cuando una persona normal ingiere en su alimentación azúcares, proteínas y grasas, el alimento es digerido en el estómago y absorbido en el intestino delgado. Luego llega al hígado, donde una parte se transforma en glucosa, que entra en el torrente sanguíneo y hace que el páncreas produzca insulina. La insulina permite que la glucosa entre en las células y produzca calor y energía. (26)

En cierto modo, la insulina abre la puerta de la célula para que la glucosa pueda entrar. Cuando una persona diabética se alimenta, el páncreas no produce la insulina necesaria para que esta glucosa entre a las células, produciéndose una acumulación o aumento de azúcar en la sangre (glucemia elevada). Entonces el organismo consume grasas y proteínas para obtener energía. (26)

La diabetes al ser una enfermedad crónica no se cura, ni desaparecerá en cualquier momento aun con los tratamientos. Es una enfermedad progresiva, lo que significa que si se deja sin tratamiento, puede provocar serias complicaciones. La buena noticia es que la diabetes puede controlarse. Aun así, se debe monitorear constantemente para lograr un control. (38)

El descubrimiento de los hipoglucemiantes orales cambió radicalmente el tratamiento de la diabetes mellitus a partir de los estudios de Janbon y Col, en 1942, los cuales observaron hipoglucemia en un paciente con fiebre tifoidea tratados con sulfonamidas de la primera generación. El primer agente utilizado fue la Carbutamida, pero pronto se dejó de emplear por las reacciones adversas sobre la médula ósea. El advenimiento de la Tolbutamida, agente con una buena acción hipoglucemiante, menos reacciones adversas y sin actividad antibacteriana extendió ampliamente su utilización para el tratamiento de la diabetes

mellitus. El advenimiento de los hipoglucemiantes orales para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 incremento el arsenal disponible para combatir esta enfermedad. (3)

Un tratamiento que funciona en un primer momento, puede necesitar ajustes con forme pasa el tiempo para poder mantener los niveles de glucosa bajo control, que es en donde debe estar la mayor parte del tiempo. Un equipo multidisciplinario de salud trabajará con el paciente diabético para decidir cuál es el nivel adecuado de glucosa en sangre. (38)

Según datos de la OMS la diabetes afecta a millones de personas y tiene una serie de estadísticas a considerar y descritos a continuación.

- En el mundo hay más de 346 millones de personas con diabetes.
- Se calcula que en 2004 fallecieron 3,4 millones de personas como consecuencias del exceso de azúcar en la sangre.
- Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios.
- Casi la mitad de esas muertes corresponden a personas de menos de 70 años, y un 55% a mujeres.
- La OMS anuncia que las muertes por diabetes se multipliquen por dos entre 2005 y 2030.
- La dieta saludable, la actividad física regular, el mantenimiento de un peso corporal normal y la evitación del consumo de tabaco pueden prevenir la diabetes de tipo 2 o retrasar su aparición. (Publicado en Septiembre de 2011 en la Nota descriptiva N°312). (25)

En el Ecuador a pesar de que la Ley de Prevención, Protección y Atención Integral de las personas que padecen diabetes fue publicada en el Registro Oficial el 11 de marzo del 2004 y de que el proyecto del Reglamento a la citada Ley se entregó en agosto de 2005 y otra vez en julio de 2006 aún no se ha decretado el Reglamento hasta agosto de 2010 siendo una obligación ética y moral, para con la población diabética ecuatoriana.

En el Ecuador, la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 es de 4.1 a 5%. La incidencia/año es de 115.19 casos/100000 habitantes.

El Día Mundial de la Diabetes (que se celebra cada 14 de noviembre) sirve para recordar que en Ecuador hay 800 000 diabéticos, de los que apenas 100 000 están en tratamiento. La diabetes es una de las patologías que lidera el cuadro epidemiológico del país. Ha reemplazado en un par de décadas a las enfermedades infectocontagiosas. Clemente Orellana, especialista del Hospital Metropolitano, asegura que unos 200 000 saben que son diabéticos y no acuden al especialista, y el resto son diabéticos que no tienen idea de su diagnóstico, pero presentan lesiones a nivel de corazón, riñones y nervios. (31)

El programa integral del Seguro Social en el país cuenta con un presupuesto anual de USD 12 millones para atender estos casos. El costo económico del tratamiento de un paciente cuesta USD 17 472 por año. (31)

La diabetes tipo 2, que se genera por los malos hábitos de vida, deriva en patologías más complicadas como la insuficiencia renal crónica. Se estima que en Ecuador hay 6 000 personas con esta patología. La mayor parte está amparada por el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) y el Programa de Protección Social (PPS) del Ministerio de Salud. (31)

El uso de la tuna en los países andinos viene desde hace varios de años atrás, debido a sus propiedades curativas. La tuna ayuda a tratar enfermedades como el estreñimiento, quemaduras (efecto cicatrizante), baja los niveles de colesterol, triglicéridos, y glucosa (efecto hipoglucemiante), etc.

La tuna es una planta que contiene gran cantidad de agua y minerales, además de los estudios realizados en México y otras partes del mundo informan que el efecto hipoglucemiante de la planta se debería a la presencia de Flavonoides, saponinas, antraquinonas o algún derivado fenólico. Se ha demostrado en animales de experimentación

que la administración de nopal tiene acción hipoglucemiante. En individuos sanos la ingestión del nopal no modifica en forma importante las concentraciones séricas de glucosa y de la insulina en ayunas, en individuos con DM tipo 2, la ingestión del nopal causa una disminución aguda de las concentraciones séricas de e insulina en ayunas. (16)

Un estudio piloto sobre 24 varones no obesos registró una reducción del colesterol total, LDL colesterol, apolipoproteína B, triglicéridos, fibrinógeno, glucosa, insulina y ácido úrico en sangre, permaneciendo inmodificados los restantes parámetros. Los autores consideran que la acción hipolipemiante podría ser explicada, al menos en parte, por el contenido en pectina, aunque esta no sería la razón de su efecto sobre el nivel de glucosa e insulina. (Wolfram RM, Kritz H, Efthimiou Y, Stomatopoulos J, Sinzinger H). (44)

Los objetivos para esta investigación fueron: Comprobar el efecto hipoglucemiante del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida. Evaluar estadísticamente el efecto hipoglucemiante del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida. Evaluar la toxicidad aguda del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida.

CAPÍTULO I

1. PARTE TEÓRICA.

1.1 QUE ES LA DIABETES.

El cuerpo humano es una máquina extraordinariamente completa que necesita que le suministremos energía suficiente para llevar a cabo sus tareas cotidianas: respirar, moverse, hacer la digestión, crecer, reparar las partes que se gastan, etc. (2)

Nuestra maquinaria biológica está compuesta por millones de células que dependen del aporte nutritivo contenido en nuestros alimentos que tomamos cada vez que nos sentamos a la mesa. (2)

Desde que nos metemos un trozo de comida en la boca hasta que lo reducimos a diminutas partículas, la comida hace un largo viaje por un conducto de unos ocho metros de longitud (el tubo digestivo), bañándose en distintos jugos hasta llegar a la sangre, que será la encargada de distribuir el alimento entre las células de todo el cuerpo. De tal modo que, lo ante nuestra vista aparece, por ejemplo, como un esquivo asado de carne con patatas se convierte, en horas, en partículas microscópicas. Si fuera posible analizar el apetitoso menú observaríamos lo siguiente. (2)

Tanto la carne como las patatas tienen distintos tipos de nutriente: proteínas, hidratos de carbono y grasa. Las proteínas son cadenas de moléculas muy pequeñas llamadas aminoácidos, que resultan esenciales para la vida. Son los “ladrillos” de nuestro cuerpo.

Además, siempre hay de por medio alguna proteína en nuestro organismo. Por ejemplo, todas las reacciones que se producen cuando estamos haciendo la digestión se lleva gracias a la participación de una clase específica de proteína, las enzimas. Los hidratos de carbono, compuestos de muchas moléculas de glucosa “azúcar” nos suministran la energía para fabricar el resto de moléculas. Las grasas son vitales, ya que, entre otras funciones, son imprescindibles para asimilar la vitamina D, que es esencial para el buen estado de nuestros huesos y está sólo se absorbe disuelta en grasas. Si estamos escasos de grasa, también tendremos carencias de vitamina D. (2)

Después del triturado que ha quedado nuestro asado, se inicia el reparto de nutrientes, la materia prima a partir de la cual nuestras células extraerán la energía necesaria para las actividades del organismo, así como para guardar la sobrante y utilizarla más adelante. El azúcar que no se utiliza se almacena en forma de glucógeno en el hígado, los músculos y en las grasas las cuales se “acomodan” en diferentes zonas del cuerpo, éste es el caso de los incordiantes michelines. (2)

Sin embargo, en algunas personas esta compleja maquinaria no funciona correctamente en algún punto. Éste es el caso de lo que sucede en el organismo de una persona con diabetes. Se produce un fallo en los procesos de reparto de nutrientes a las células y, como consecuencia, sucede una serie de acontecimientos nada favorables para el individuo. (2)

En primer lugar, al impedirse el paso de los nutrientes a las células, en concreto los azúcares, éstos se acumulan en la sangre, provocando la denominada hiperglucemia (hiper= mucho, -gluc= azúcar, -emia = sangre). (2)

Al no obtener a células la energía que el organismo necesita para funcionar el cuerpo tiene la sensación de cansancio a pesar de haber comido. Las células continúan “hambrienta” y tiene que echar mano de otros combustibles que si tienen a su alcance, como las grasas y las proteínas almacenadas, al quemar grasas, en principio no es malo sin embargo, se convierte en perjudicial cuando es la única fuente de energía y se mantiene durante mucho

tiempo. Provoca como resultado una descompensación fatal, ya que, al quemar grasa, para producir la energía, se produce los peligrosos cuerpos cetónicos y se pierde peso. Igual de perjudicial es quemar a las proteínas almacenadas. Si consumimos las proteínas que tenemos en los músculos, sería lo mismo que si quemáramos los tablones de nuestra casa de madera para calentarnos. (2)

Por otra parte, el exceso de azúcar en la sangre tiene que eliminarse y lo hace en compañía de una gran cantidad de agua, lo que provoca tener que ir orinar con más frecuencia (poliuria). Esta orina está “cargada” de azúcar y a esta situación se le llama glucosuria (glucos= azúcar, -uria=orina). Al realizar muchas visitas WC se pierde una gran cantidad de líquidos, esta pérdida produce un aumento de la sed con la consiguiente necesidad de beber a todas horas (polidipsia) o la sensación de tener la boca seca. También el perder agua da como resultado que la piel esté reseca y deshidratada. (2)

Debido a que las células siguen estando hambrientas se come más de lo habitual (polifagia), lo que hace que aumente más el nivel de la glucosa en la sangre. Al subir el nivel de glucosa en la sangre se inicia de nuevo este círculo vicioso. Si no se detectan los primeros síntomas y este estado se mantiene, la persona puede entrar en coma. (2)

Resumiendo, las personas con diabetes, antes de poner en marcha un tratamiento o cuando la diabetes está mal controlada, pueden experimentar diferentes síntomas, como hiperglucemia, cetosis, poliuria, glucosuria, polidipsia, y polifagia. En tu caso o en el de vuestro hijo puedes haber apreciado todos o algunos. (2)

Pero, ¿quién es el responsable de que no puedan pasar los nutrientes a las células?, ¿quién hace que se acumule el azúcar en la sangre y aparezcan estos síntomas? La responsable es la insulina o, mejor dicho, la falta de insulina. (2)

En caso de los niños y adolescentes, la diabetes se produce fundamentalmente por el hecho de que su cuerpo ha dejado de producir insulina. Esta hormona es fabricada por un grupo de células del páncreas (células beta). Su función es permitir que la glucosa llene a las células. La insulina no sólo se encarga de que estén “alimentadas” y de proporcionar la energía que precisan en todo momento para que realicen sus funciones; además, se trata de una sustancia con “visión de futuro”, es decir, facilita que se almacenen aquellos nutrientes que no se necesitan en el momento, para echar mano de ellos cuando haga falta. (2)

Por tanto, este déficit de insulina que caracteriza a la diabetes debe suplirse mediante la inyección de insulina, de manera que emite lo máximo posible la producción de una persona sin diabetes. (2)

La Diabetes es una enfermedad crónica que incapacita al organismo a utilizar los alimentos adecuadamente. Al ingerir los alimentos estos se descomponen convirtiéndose en una forma de azúcar denominada glucosa, que es el combustible que utilizan las células para proveer al organismo de la energía necesaria. Este proceso de transformar los alimentos en energía se llama metabolismo. Para metabolizar la glucosa adecuadamente, el organismo necesita una sustancia llamada insulina. La insulina es una hormona producida en el páncreas (que es una glándula localizada debajo del estómago), y cuya función es regular el uso de la glucosa en el organismo y por lo tanto es esencial en el proceso metabólico. (49)

La insulina trabaja permitiéndole a la glucosa alojarse en las células para que éstas la utilicen como combustible, manteniendo a su vez los niveles de glucosa en la sangre dentro de lo normal (70 a 110 mg/dL). Se la denominó insulina por el latín insula "isla", ya que se produce en los islotes de Langerhans. En el organismo normal, la insulina mantiene la glucosa sanguínea a un nivel satisfactorio (normoglucemia), previene su aumento o lo corrige, e influye en la producción y el consumo de glucosa. Cuando las concentraciones de azúcar en la sangre son bajas, el páncreas libera glucagón, que actúa contrariamente a la insulina, estimulando la degradación de glucógeno y la liberación de glucosa del hígado. (19) (49)

Las personas con diabetes no producen suficiente insulina para metabolizar la glucosa, o la insulina que producen no trabaja eficientemente, por lo tanto la glucosa no se puede alojar en las células para ser transformadas en energía (metabolismo) y se acumula en la sangre en niveles elevados. La Diabetes es una enfermedad seria, pero las personas diabéticas pueden vivir una vida larga, saludable y feliz si la controlan bien. (49)

Aunque aun no hay una cura para la Diabetes, ésta puede ser controlada. La meta principal en el tratamiento es mantener los niveles de azúcar en la sangre (glucemia) lo más cerca del rango normal como sea posible (70 a 110 mg/dL) durante la mayor cantidad de tiempo. Existen tres tipos de diabetes (diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, y diabetes gestacional) y el tratamiento depender del tipo de Diabetes. (49)

Las personas con Diabetes (tipo 1 y tipo 2) pueden trabajar y estudiar, y lo hacen bien. La disciplina necesaria para mantener un buen control de la Diabetes, generalmente hace de los diabéticos mejores trabajadores y estudiantes. Las personas con Diabetes, requieren comer en horas establecidas, sin embargo pueden realizar incluso, actividades que requieren grandes esfuerzos físicos. (49)

1.1.1 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES.

En 1997 la Asociación Americana de Diabetes (ADA), propuso una clasificación que está vigente. Se incluyen 4 categorías de pacientes y un 5º grupo de individuos que tienen glucemias anormales con alto riesgo de desarrollar diabetes (también tienen mayor riesgo cardiovascular):

1. Diabetes Mellitus tipo 1
2. Diabetes Mellitus tipo 2
3. Otros tipos específicos de Diabetes
4. Diabetes Gestacional

5. Intolerancia a la glucosa y glucemia de ayunas alterada. (29)

1.1.1.1 Diabetes mellitus tipo 1.

La diabetes mellitus insulino dependiente o tipo 1 (DM1) es el resultado de un largo proceso inmunológico que ocasiona la destrucción selectiva de las células productoras de insulina de los islotes pancreáticos, las células beta. Aunque se ha avanzado bastante en el conocimiento de los factores etiológicos que condicionan la DM1, no hay aún claridad absoluta en su patogenia; se sabe que hay múltiples mecanismos involucrados y que la destrucción de las células beta es de tipo autoinmune, modulada por linfocitos T. (34)

Ésta puede desarrollarla desde recién nacido hasta una persona entre los 25 y 30 años de edad, o tal vez mayor. No se conoce su causa exacta, pero se han descubierto ciertos factores que influyen para su desarrollo. Algunos de ellos son: (11)

- ✓ Uno o varios virus, como la gripe o infección estomacal, o hasta enfermedades más graves como el que causa la hepatitis.
- ✓ Factores ambientales, como la contaminación del aire. (11)

Caracterizada por una destrucción de las células beta pancreáticas, deficiencia absoluta de insulina, tendencia a la cetoacidosis y necesidad de tratamiento con insulina para vivir (insulino dependientes). Se distinguen dos sub-grupos: (29)

1.- Diabetes autoinmune: Con marcadores positivos en un 85-95% de los casos, anticuerpos antiislotes (ICAs), antiGADs (*decarboxilasa del ac. glutámico*) y anti tirosina fosfatasas IA2 e IA2 β. Esta forma también se asocia a genes HLA. (29)

2.- Diabetes idiopática: Con igual comportamiento metabólico, pero sin asociación con marcadores de autoinmunidad ni de HLA. (29)

Es muy importante que sepas que la obesidad o comer muchos dulces NO provoca que desarrolles este tipo particular de diabetes. Con la diabetes tipo 1 dejas de producir insulina poco a poco; el lapso es de entre y un mes y cuatro años. A esta etapa se le conoce como “luna de miel” o “periodo de remisión. (11)

Los síntomas no pasan inadvertidos y puedes detectar uno o varios a la vez, pon atención:

- ✓ Sentir sed exagerada.
- ✓ Sentir mucha hambre.
- ✓ Estar débil
- ✓ Estar irritable
- ✓ Tener pesadillas.
- ✓ Perder peso.... ¡y sin dietas!(11)

1.1.1.2. Diabetes mellitus tipo 2.

La diabetes tipo 2 es el tipo más común de diabetes, y, hasta hace poco tiempo, casi siempre se observaba en adultos mayores de 35 años. Se produce cuando el cuerpo es resistente a la insulina. Dicho de otro modo, el cuerpo no responde a la insulina que se produce. (30)

Caracterizada por insulino-resistencia y deficiencia (no absoluta) de insulina. Es un grupo heterogéneo de pacientes, la mayoría obesos y/o con distribución de grasa. En este tipo de diabetes se producen trastornos metabólicos caracterizados por una elevación inapropiada de la glucosa en sangre (hiperglucemia) que da lugar a complicaciones crónicas por afectación de grandes y pequeños vasos y nervios. La alteración subyacente en esta enfermedad es la dificultad para la acción de la insulina (como una pérdida de sensibilidad de los tejidos a esta hormona) que denominamos insulinoresistencia y una secreción inadecuada de insulina por las células encargadas de su producción en el páncreas. Además

de aumentar la concentración de glucosa la acción deficiente de la insulina se traduce frecuentemente en elevación de los niveles de colesterol y/o triglicéridos. (29) (27)

La mayor parte de los casos de diabetes mellitus tipo 2 se producen en el contexto de lo que llamamos Síndrome Metabólico. En este síndrome se asocian diabetes, hipertensión arterial, aumento de los niveles de colesterol, triglicéridos y/o ácido úrico y sobrepeso probablemente debidos también a la insulinoresistencia. El Síndrome Metabólico eleva notablemente el riesgo cardiovascular. (27)

Predominantemente abdominal, con fuerte predisposición genética no bien definida (multigénica). Con niveles de insulina plasmática normal o elevada, sin tendencia a la acidosis, responden a dieta e hipoglucemiantes orales, aunque muchos con el tiempo requieren de insulina para su control, pero ella no es indispensable para preservar la vida (insulino-requiere). (29)

Los síntomas de la diabetes tipo 2 incluyen los de la diabetes tipo 1. Una característica clínica importante relacionada con la diabetes tipo 2, que no se da en el tipo 1, es la acantosis-nigricans una zona de piel oscura y gruesa en los pliegues alrededor del cuello, que no se va. Otros síntomas son: (30)

- ✓ Infecciones en la piel
- ✓ Vaginitis
- ✓ Infecciones frecuentes en el tracto urinario. (30)

1.1.1.3. Otros tipos específicos de diabetes.

Incluyen pacientes con defectos genéticos en la función de la célula beta como las formas llamadas MODY (maturity onset diabetes of the young); otros con defectos genéticos de la acción de la insulina; otros con patologías pancreáticas (pancreatectomía, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, neoplasia del páncreas, hemocromatosis); endocrinopatías

(Cushing, acromegalia, glucagonoma, feocromocitoma). También algunos fármacos o tóxicos pueden producir diabetes secundaria (corticoide, ácido nicotínico, L-asparagina, interferón alfa, pentamidina); agentes infecciosos (rubeola congénita, coxsachie B, citomegalovirus, parotiditis) y por último, algunas otras enfermedades como los Síndromes de Down, Klinefelter, Turner, enfermedad de Stiffman y Lipoatrofias. En estos casos se habla de diabetes secundarias, mientras los tipo 1 y 2 son primarias. (29)

1.1.1.4. Diabetes gestacional.

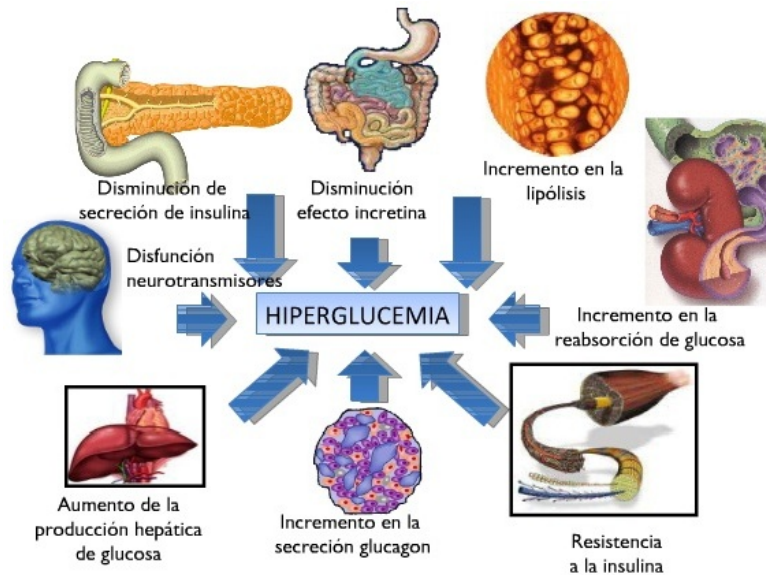
Se caracteriza por hiperglucemia, que aparece en el curso del embarazo. Se asocia a mayor riesgo en el embarazo y parto y de presentar diabetes clínica (60% después de 15 años).

La diabetes gestacional puede desaparecer al término del embarazo o persistir como intolerancia a la glucosa o diabetes clínica. (29)

1.1.1.5. Intolerancia a la glucosa y glucemia de ayuno alterada.

- ✓ **La intolerancia a la glucosa:** Se caracteriza por una respuesta anormal a una sobrecarga de glucosa suministrada por vía oral. Este estado se asocia a mayor prevalencia de patología cardiovascular y a riesgo de desarrollar diabetes clínica (5-15% por año). (29)

- ✓ **Glucemia de ayuno alterada:** Se caracteriza por el hallazgo de una glucemia de ayuno entre 100 y 125 mg/dL. Su identificación sugiere el realizar una prueba de sobrecarga de glucosa oral, para la clasificación definitiva. (29)



FUENTE: FISIOPATOLOGÍA DIABETES http://www.cemedi-ba.com.ar/%3FContenido%3DDetalleNoticias%26Id%3D96&docid=o3wO3Re_inMxbM&imgurl 2012/02/25.

GRÁFICO N° 1. DIABETES.

1.1.1.6. Diabetes tipo 1 vs tipo 2: ¿Cuál es la diferencia?

A continuación presentamos las diferencias y los síntomas de la diabetes tipo 1 y tipo 2. La glucosa en la sangre se eleva a niveles que pueden causar hiperglucemia. (30)

1.2. ENTRADA DE LA GLUCOSA A LA CÉLULAS.

Para que la glucosa pueda ser utilizada por las células, primero debe atravesar la membrana plasmática y entrar en el citosol. Mientras que la absorción de glucosa en tracto GI (y en los túbulos renales) se realiza por transporte activo, el movimiento de glucosa desde la sangre a la mayoría de las células del organismo se produce por difusión facilitada. La insulina aumenta la velocidad de difusión facilitada de glucosa en la mayoría de las células excepto en las neuronas y los hepatocitos. (14)

Justo en momento de entrar en las células, la glucosa se fosforila. Se combina con un grupo fosfato, producido por la degradación de ATP, para formar glucosa 6-fosfato. Las enzimas que catalizan las fosforilaciones reciben el nombre de cinasas. La fosforilación retiene glucosa en las células de forma que pueda salir. Los hepatocitos, las células de los túbulos renales y las células epiteliales intestinales tienen la enzima necesaria (fosfatasa) para separar el grupo fosfato, lo cual permite a la glucosa salir de la célula hacia la circulación sanguínea. (14)

1.2.1. CATABOLISMO DE LA GLUCOSA.

La oxidación de glucosa recibe el nombre de respiración celular. Comprende la glucólisis, la formación de acetil coenzima A, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte electrónico. La glucólisis tiene lugar en la mayoría de las células del organismo. Libera dos moléculas de ATP por cada glucosa utilizada y no requiere oxígeno. Por ello, es una forma de sintetizar ATP de forma anaeróbica (sin oxígeno) y recibe el nombre de respiración celular anaeróbica. (14)

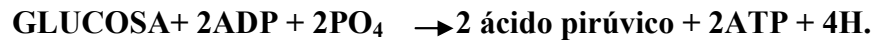
Sin embargo, la glucólisis es el paso previo al ciclo de Krebs y a la cadena de transporte electrónico, procesos que requieren oxígeno y que proporcionan hasta 34 o 36 moléculas de ATP por molécula de glucosa. Estas reacciones de síntesis de ATP constituyen la respiración celular aeróbica. (14)

1.2.2. GLUCÓLISIS.

El término glucólisis (glyco=azúcar; lysis=rotura) hace referencia a una serie de reacciones químicas que suceden en el citosol celular y que descomponen una molécula de glucosa de seis átomos de carbono en dos de ácido pirúvico de tres átomos de carbono. (14)

La utilización de los carbohidratos se hace para obtener energía. La oxidación completa de un mol de glucosa libera 686 000 calorías. Para que esto suceda debe fragmentarse y

oxidarse la molécula de glucosa. El primer paso se denomina glucólisis y produce dos moléculas de ácido pirúvico. La glucólisis es consecuencia de 10 pasos, o reacciones químicas, cada una catalizada por una enzima específica. La reacción total que incluye estos pasos es: (7)



A continuación, las dos moléculas de ácido pirúvico son convertidas en dos moléculas de acetil coenzima A que al llamado Ciclo de Krebs, también conocido como ciclo de los ácidos tricarbónicos o del ácido cítrico. (7)

Pasos de la glucólisis.- las reacciones de glucólisis utilizan dos moléculas de ATP, pero producen cuatro, con una ganancia neta de dos. Las características esenciales del proceso son:

- **Pasos 1, 2 y 3.** Las tres primeras reacciones comprenden la adición de un grupo fosfato (fosforilación) a la glucosa, su conversión en fructosa y la adición de otro grupo fosfato a la fructosa. En este proceso se requiere un aporte de energía en el que dos moléculas de ATP se transforman en ADP.

La enzima que cataliza el paso 3 es el regulador clave de la velocidad de la glucólisis. Cuando la concentración de ADP es alta, esta enzima posee gran actividad. Así se sintetiza rápidamente ácido pirúvico y ATP. Por otro lado, cuando la cantidad de ATP es abundante, la actividad enzimática es baja, y la mayor parte de la glucosa 6-fosfato se transforma en glucógeno para su almacenamiento en lugar de ser catabolizada para producir ATP.

- **Pasos 4 y 5.** La molécula fructosa doblemente fosforilada se divide en dos compuestos de tres átomos de carbono: gliceraldehído 3-fosfato (G 3-P) y dihidroxiacetona fosfato. Estos dos compuestos son interconvertibles, pero es mayor la cantidad de G 3-P que se transforma a través de varias reacciones en ácido pirúvico.

- **Paso 6.** Se produce una reacción de oxidación en la que dos moléculas de NAD^+ captan dos pares de electrones y de iones de hidrogeno a partir de dos moléculas de G 3-P, formando dos moléculas de NADH y dos moléculas de ácido 1,3-bifosfoglicérido (BPG).
- **Paso 7 a 10.** Estas reacciones generan cuatro moléculas de ATP y producen ácido pirúvico. (14)

1.2.3. FORMACIÓN DE ACETIL COENZIMA A.

Cada paso de la oxidación de la glucosa requiere una enzima diferente y, a menudo, también una coenzima. En este momento solo nos interesa una coenzima A (**CoA**). Esta importante coenzima se deriva del ácido pantoténico, otra vitamina B. (14)

1.3. INSULINA.

La insulina es una hormona de carácter anabólico relacionada con el control de la ingesta alimentaria y del metabolismo energético. Su secreción es estimulada, especialmente por la elevación de la glucemia en respuesta a la ingesta de carbohidratos. Sin embargo, esta hormona también es secretada tras la ingesta de proteínas y de lípidos. La insulina desempeña un papel importante en el control del peso corporal, por ser una de las hormonas responsables de la regulación de la ingesta alimentaria y del gasto energético (36)

La insulina fue descubierta en 1912 en la Universidad de Toronto por el cirujano F. Banting, el estudiante de medicina Ch, Best con la supervisión de Macleod JJR, quienes ejecutaron un proyecto experimental en perros para demostrar el efecto hipoglucemiante de extractos pancreáticos. En enero de 1922 administraron por primera vez extractos pancreáticos de origen bovino a un paciente diabético, y en 1923 recibieron el Premio Nobel en Medicina por los resultados obtenidos en la utilidad clínica de esta denominada “Insulina Toronto”. Previamente a este descubrimiento los pacientes frecuentemente fallecían en el primer año de diagnóstico de la enfermedad por la complicación metabólica

(cetoacidosis), pero a partir de las experiencias de Banting y Best la administración de los extractos pancreáticos permitió prolongar los años de vida hasta que en la actualidad un paciente afecto de diabetes tiene una esperanza de vida prácticamente similar al no afecto de esta enfermedad. (12)

1.3.1. OBTENCIÓN DE LA INSULINA FARMACOLÓGICA.

Después del descubrimiento de Banting y Best, en 1921, la comercialización de la insulina se produjo con extraordinaria rapidez. En los primeros se fabricaba en forma de polvo o tabletas que los pacientes debían disolver en una solución líquida estéril. La elevada frecuencia de abscesos hizo que, ya desde 1924, la insulina fuera comercializada en forma de solución líquida en ampollas. Estas soluciones tenían pH ácido (y algunas siguen teniéndolo) para evitar pequeñas cantidades de enzimas pancreáticas, que pudieran estar presentes en los extractos, inactivaran la insulina. En 1926, Abel conseguía la cristalización y progresivamente esta forma fue sustituyendo la forma inicial amorfa. (4)

La utilización clínica permitió rápidamente comprobar que la insulina cristalina tenía una acción aun algo más corta que la amorfa y que los pacientes debían inyectarse por vía subcutánea cada 6 horas si deseaban estar bien controlados. La insulina de acción prolongada se obtuvo por primera vez en 1936 gracias a Hagedorn, precipitando la insulina cristalina con protamina y cinc. Gracias a estos trabajos se obtuvo la insulina-protamina-Zn (ambas prácticamente en desuso) y la NPH (Neutral Protamine Hagedorn), de gran difusión en la actualidad y cuya principal ventaja consistía en la posibilidad de mezclarla con insulina cristalina sin pérdida de propiedades de ambos componentes. La insulina-globina (Reiner, 1939) y la serie de las insulinas Lente (Möller, 1951) han completado posteriormente el espectro de las propiedades de ambos componentes. (4)

1.3.2. TIPOS DE INSULINA.

En orden de duración de sus efectos las insulinas pueden ser clasificadas en los siguientes grupos: (4)

TABLA N° 1. TIPOS DE INSULINA

Tipo de insulina	Inicia el efecto	Pico	Duración del efecto
Lispro	0-10 minutos	0.5-1.5 horas	2-5 horas
Cristalina	0-5-1 hora	1.5-4 horas	5-8 horas
NPH	0.5-2 horas	4-10 horas	8-16 horas
Ultralenta	4-6 horas	8-30 horas	24-36 horas

FUENTE: Guía de atención de la diabetes 1. http://www.medicosgeneralescolombianos.com/Diabetes_1.htm 2012/03/12

1.3.2.1. Insulinas de acción rápida.

Tienen una duración media de 6 horas cuando se administran por vía subcutánea, motivo por el cual deben ser inyectados cuatro veces al día cuando se utiliza por esta vía. En situaciones especiales pueden emplearse por vía intravenosa (duración aproximada de su efecto 30 minutos) o intramuscular (duración media de 4 horas). Su aspecto es cristalino, es decir, transparente, lo que diferencia de todas las demás. Pertenecen a este grupo Velosulin, Actrapid y en general todas las denominas simples o regulares. (4)

1.3.2.2. Insulinas de acción intermedia.

Según el tipo su duración oscila entre 12 y 22 horas, de modo que se inyecta dos veces al día. Son de aspecto opalescente y, al igual que las de acción lenta, deben agitarse antes de uso para evitar el depósito de la solución en el fondo del frasco. Pertenecen a este tipo las siguientes: (4)

- Insulina Semilente.- Su duración global alcanza escasamente las 12 horas, por los que algunos suelen considerarla en el grupo de las insulinas de acción rápida. Se trata de una suspensión neutra de insulina porcina en estado amorfo. (4)
- Insulina Rapitard.- Su duración global es parecida a la anterior, motivo por el cual podría también considerarse rápida. La acción máxima es precoz, alrededor de 2 horas después de la inyección. Se trata de una suspensión neutra de cristales de insulina bovina (75%) en una solución porcina (25%). (4)
- Insulina Monotard.- Su duración global es de unas 20 horas y su acción máxima se produce entre las 3-7 horas de su inyección. Se trata de una suspensión neutra de insulina porcina, 30% en estado amorfo y 70% en estado cristalino. (4)
- Insulina Lente.- Su duración global alcanza las 24 horas, por lo que puede ser también considerada insulina de acción prolongada. La acción máxima se obtiene entre las 4-8 horas después de ser inyectada. Se trata de una suspensión neutra de insulina porcina en estado amorfo (30%) e insulina bovina cristalina (70%). (4)
- Insulina NPH (Insulatard).- La duración global es de 20 a 22 horas y su acción máxima se obtiene entre las 4 y las 10 horas después de la inyección. (4)
- La insulina Mixtard.- Es una mezcla de 30% de Velosulin y 70% de NPH, por lo que su acción máxima y duración global son el resultado de la combinación de ambas. La insulina Meztardía es una mezcla de las mismas insulinas en una proporción relativa de 50 y 50 %. (4)
- Insulina globina, de características similares a la insulina NPH. (4)

1.4. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES.

La medicación en un adulto mayor plantea numerosos problemas, y muchas veces los fármacos interactúan de manera compleja. La morbilidad múltiple de los ancianos obliga a consumir más medicamentos que a las personas jóvenes, provocando mayor riesgo de sufrir reacciones nocivas. Como consecuencia de la confusión originada por el uso de varios fármacos, frecuentemente el adulto mayor no cumple los regímenes farmacológicos y su administración, a lo cual se agregan las fallas de memoria, la menor agudeza visual y la disminución de las destrezas manuales. (1)

1.4.1. PLAN DE TRATAMIENTO.

Las hiperglucemias sintomáticas graves se tienen que tratar adecuadamente con el objeto de controlar una serie de alteraciones en diferentes vías metabólicas: (1)

- ✓ Una movilización y oxidación de ácidos grasos.
- ✓ Catabolismo exagerado de proteínas que producen causar atrofia muscular.
- ✓ Una producción excesiva de glucosa endógena. (1)

El planteamiento de un programa terapéutico a largo plazo para un paciente con diabetes debe tener en cuenta los siguientes aspectos:

- ✓ Valoración de la expectativa de vida;
- ✓ La existencia de complicaciones propias de la diabetes.
- ✓ El padecimiento de trastornos neuropsiquiátricos.
- ✓ La cooperación del paciente para comprender el programa terapéutico. (1)

1.4.2. ANTIDIABÉTICOS ORALES.

El tratamiento de la diabetes mellitus se inicia con actividad física, medidas dietéticas y educación. Cuando tales medidas no son lo suficientes para obtener un control adecuado de

glucemia, deben considerarse medidas farmacológicas, entre las que se incluyen diversos mecanismos de acción, a saber: (1)

- ✓ Los secretagogos de insulina: nateglinida, sulfonilureas y repaglinida.
- ✓ Antihiperglucemiantes: los inhibidores de las alfa-glucosidasas, las biguanidas y las tiazolidinedionas (rosiglitazona y pioglitazona).

Tales fármacos deben utilizarse inicialmente en monoterapia; si después de un periodo adecuado (por lo general de 3 a 6 meses), dicho esquema es insuficiente para tener un control adecuado de la glucemia, entonces se considera la necesidad de un tratamiento combinado. Es importante hacer énfasis en que no deben utilizarse medicamentos con mecanismo de acción similar (por ejemplo, dos sulfonilureas o una sulfonilurea con rapaglinida o nateglinida). (1)

Cuando los objetivos de control glucémico no se logran con dieta y ejercicio, podemos acudir a diversos antidiabéticos orales, y dentro de este grupo se sitúan los fármacos insulinosecretores que, como su nombre indica, son capaces de provocar un aumento de la secreción y liberación insulínica desde el páncreas, exigiendo un mínimo grado de funcionamiento de éste para que puedan ser útiles. Dentro de este grupo, se encuentran tradicionalmente las sulfonilureas (SU), descubiertas hace cerca de 60 años y de las cuales se fueron posteriormente identificando una serie de preparados que comenzó con la carbutamida y tolbutamida, clorpropamida, acetohexamida y tolazamida, que constituyen la primera generación de estos fármacos y, posteriormente desde 1966, una segunda generación en la que están glibenclamida, glipicida, gliquidona, glielacida y, más recientemente, glimepiride. Dentro de los fármacos insulinosecretores ha irrumpido recientemente la repaglinida. (35)

1.5. MEDICAMENTOS USADOS EN LA DIABETES.

1. **BIGUANIDAS.** Como la metformina. Aumentan la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina, actuando como normoglucemiante.
2. **SULFONILUREAS.** Como la clorpropamida y glibenclamida. Reducen la glucemia intensificando la secreción de insulina. En ocasiones se utilizan en combinación con Metformina.
3. **MEGLITINIDAS.** Como la repaglinida y nateglinida. Estimulan la secreción de insulina.
4. **INHIBIDORES DE A-GLUCOSIDASA.** Como la acarbosa. Reducen el índice de digestión de los polisacáridos en el intestino delgado proximal, disminuyendo principalmente los niveles de glucosa posprandial.
5. **TIAZOLIDINEDIONA.** Como la pioglitazona. Incrementan la sensibilidad del músculo, la grasa y el hígado a la insulina.
6. **INSULINA.** Es el medicamento más efectivo para reducir la glucemia aunque presenta hipoglucemia como complicación frecuente.
7. **AGONISTAS DEL PÉPTIDO SIMILAR AL GLUCAGÓN TIPO 1 (GLP-1).** Como la exenatida. El GLP-1 es un péptido de origen natural producido por las células L del intestino delgado, potencia la secreción de insulina estimulada por la glucosa.
8. **AGONISTAS DE AMILINA.** Como la pramlintida. Retarda el vaciamiento gástrico, inhibe la producción de glucagón de una manera dependiente de la glucosa.
9. **INHIBIDORES DE LA DI-PEPTIDIL-PEPTIDASA-IV.** Como la sitagliptina. Intensifican los efectos de GLP-1.

Para conseguir un buen control de la Diabetes Mellitus, en todos los tipos de ésta, es imprescindible la Educación Terapéutica en Diabetes que, impartida por profesionales sanitarios específicamente formados en Educación Terapéutica en Diabetes (médicos o enfermeros/as-Educadores Terapéuticos en Diabetes), persigue el adiestramiento de la persona con Diabetes y de las personas cercanas a ella, para conseguir un buen control de

su enfermedad, modificando los hábitos que fuesen necesarios, para el buen seguimiento del tratamiento (Dieta + Ejercicio Físico + Tratamiento medicamentoso si precisa). (28)

A continuación se describe el tratamiento farmacológico y no farmacológico, el cual estará dirigido invariablemente tanto al paciente menor de 60 años como al adulto mayor. (1)

TABLA N° 2. ESTRATEGIAS DE MANEJO DEL TRATAMIENTO DE LA DIABETES.

TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO.
Educación para la salud	Agente hipoglucemiantes orales (secretagogos de insulina).
Plan alimentario y control de peso	Antihiperoglucemiantes
Actividad física	Sensibilizadores de la insulina.
Tratamiento combinado	Insulina
	Terapia combinada.

FUENTE: TRATAMIENTO. ALPÍZAR, M. 2012/03/01

Los objetivos del tratamiento van encaminados a aliviar y prevenir tanto los síntomas como las complicaciones de la diabetes. Lograr el bienestar de los pacientes con diabetes mellitus e intolerancia a la glucosa, aliviando y previniendo los síntomas de la hiper e hipoglucemia.

Evitar o retardar las complicaciones de la diabetes mellitus, logrando un control metabólico óptimo y una reducción de los factores de riesgo cardiovascular para cada paciente. Esto incluye el peso corporal, los lípidos y la presión arterial, así como los niveles de glucosa en sangre. Dejar de fumar es vital. Detectar el desarrollo precoz de complicaciones, para poder instaurar el tratamiento en el momento adecuado. (1)

1.5.1. FARMACOLOGÍA DE LAS SULFONILUREAS.

Desde el punto vista químico, son sulfonamidas las distintas sulfonilureas que resultan de la sustitución en el anillo bencénico y en el grupo urea, obteniéndose así moléculas con diferente potencial y perfil farmacológico. Las sulfonilureas son el tratamiento de elección en los pacientes con peso normal o delgados que tienen déficit insulinoscretor e inician tratamiento con antidiabéticos orales. (15)

Además de actuar sobre el canal K_{ATP} , inhibiendo la salida de potasio de la célula beta pancreática lo que conduce a la despolarización de la membrana y a la entrada de Ca extracelular que, a su vez, favorece la exocitosis de los gránulos de insulina, se han comprobado unos efectos extra pancreáticos de las sulfonilureas. (47)

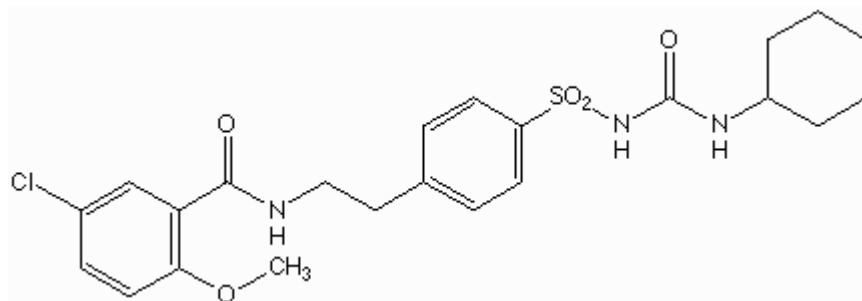
Estudios *in vitro* utilizando páncreas perfundido de rata han demostrado que las sulfonilureas estimulan la secreción de insulina de manera bifásica. El efecto insulínico aumenta en presencia de hiperglucemia y, al parecer aumenta la sensibilidad de la célula b pancreática a los diferentes tipos de estímulo. No hay evidencia, por el contrario, de que las sulfonilureas aumenten la síntesis de insulina. (47)

La disponibilidad sistémica de la insulina depende no sólo de su secreción por el páncreas sino también de su aclaramiento hepático. Algunos estudios sugieren que las sulfonilureas pueden reducir la extracción hepática de insulina, aumentando por tanto las concentraciones periféricas y, en efecto, en el hígado perfundido de rata disminuye significativamente la captación de insulina. Estos efectos sobre el hígado son más difíciles de demostrar en el hombre. La medida directa del aclaramiento de insulina después de la supresión endógena de la secreción de insulina inducida por la somatostatina no mostró ningún cambio con la administración de glibenclamida intravenosa. (47)

El principal mecanismo de las sulfonilureas consiste en potenciar la capacidad de la glucosa para estimular la secreción de insulina. Esta acción la ejercen uniéndose a unos receptores de las células de beta de Langerhans que permite la entrada de calcio. (15)

Estos receptores pueden estar asociados a un canal de potasio ATP dependiente o formar parte del mismo. Es probable que las sulfonilureas y el ATP se unan a zonas diferentes del canal. Los compuestos de segunda generación son más potentes que los de la primera generación, puesto que poseen dos zonas de interacción con el canal, la estructura sulfonilurea y una estructura benzamida. Las sulfonilureas producen hipoglucemia, facilitando la secreción de insulina, pero también reduciendo ligeramente la liberación del glucagón. (15)

1.5.2. GLIBENCLAMIDA.



FUENTE: Glibenclamide. <http://www.netdrugs.info/dci/gliben.shtml> 2012-02-14

FIGURA N° 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA GLIBENCLAMIDA.

1.5.2.1. Mecanismo de acción.

La glibenclamide es un hipoglucemiante oral del grupo de las sulfonilureas. La disminución de la glucosa sanguínea se basa en la liberación de insulina por el páncreas, la cual depende de la funcionalidad de las células β en los islotes pancreáticos. La glibenclamide puede ser efectiva en paciente que no responde a una o más sulfonilureas. Adicionalmente la glibenclamide produce un efecto diurético leve ya que incrementa la depuración de agua libre por el riñón. (37)

1.5.2.2. Farmacodinamia y Farmacocinética.

Farmacodinamia.- La glibenclamida disminuye la concentración de glucosa en sangre, al estimular la liberación de insulina desde las células beta pancreáticas, tanto en sujetos sanos como en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (no insulino dependiente). Este efecto entra en funcionamiento al interactuar con la glucosa (mejorando la respuesta de las células beta pancreáticas ante el estímulo fisiológico de la glucosa). También se ha reportado que la glibenclamida tiene efectos extrapancreáticos, ya que reduce la producción de glucosa hepática, y aumenta la unión y la sensibilidad de insulina en tejidos periféricos. (24)

Después de la administración de una dosis matutina, el efecto hipoglucemiante permanece perceptible por aproximadamente 24 horas. (24)

Durante la terapia prolongada, el efecto hipoglucemiante de la glibenclamida persiste, mientras que las concentraciones de insulina regresan al rango normal. La glibenclamida tiene una ligera acción diurética, y aumenta la depuración de agua libre. (24)

Farmacocinética.- Después de administrada una dosis de glibenclamida se alcanza su pico de absorción a la hora siguiente, y su administración regular no tiene efecto de depósito en los tejidos. Su vida media es de aproximadamente 10 horas. (37)

El efecto hipoglucemiante sanguíneo persiste por 24 horas después de su administración matutina en pacientes diabéticos que no están en ayuno. La glibenclamida se convierte en dos metabolitos principales, siendo eliminados por la bilis y la orina, aproximadamente en un 50% por cada vía. (37)

Esta eliminación por las dos vías es cualitativamente diferente a las otras sulfonilureas, las cuales se excretan principalmente por orina. Las sulfonilureas se unen ampliamente a las proteínas plasmáticas (enlace no iónico), por lo que su desplazamiento por otros medicamentos puede incrementar su acción hipoglucemiante. (37)

TABLA N° 3: CINÉTICA DE LAS DROGAS DE SEGUNDA GENERACIÓN.

	Glipizida	Gliburida (Glibenclamida)	Glimepirida.
Potencia	100	150	450
T^{1/2}	16-24 horas	18-24 horas	24 horas
Metabolitos	Inactivos-Activos	Moderadamente activos	Débilmente activos
Excreción	Urinaria y 12% fecal	50% urinaria y 50% fecal	60% urinaria y 40% fecal.

Fuente: Farmacología Endocrina. <http://www.monografias.com/trabajos18/farmacologia-endocrina/farmacologia-endocrina.shtml> 34. 2012/02/29

1.5.2.3. Indicaciones para uso de Glibenclamida.

La glibenclamida se usa en asocio con la dieta para disminuir los niveles de glucosa sanguínea en paciente diabéticos no-insulino dependiente (Tipo 2) cuya hiperglucemia no se ha logrado controlar con dieta únicamente. En pacientes en quienes se inicia el tratamiento con glibenclamida, se le debe enfatizar en el control de la ingesta calórica y el control de peso, especialmente en el paciente diabético obeso. (37)

1.5.2.4. Contraindicaciones del uso de Glibenclamida.

Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a la glibenclamida o en pacientes con cetoacidosis diabética (en coma o no) que deben ser tratados con insulina. Disfunción hepática y renal severas. Diabéticos insulino-dependientes. Embarazo. No deben ingerirse bebidas alcohólicas. (37)

1.5.2.5. Precauciones del uso de Glibenclamida.

Todas las sulfonilureas son capaces de producir hipoglucemia severa. Las personas de la tercera edad, pacientes malnutridos, debilitados y los pacientes con insuficiencia adrenal o pituitaria son susceptibles a la acción de los hipoglucemiantes. (37)

La hipoglucemia puede ser difícil de detectar en el anciano o en pacientes que están recibiendo β -bloqueadores adrenérgicos. La hipoglucemia es más frecuente que ocurra cuando se tiene una ingesta calórica insuficiente, después de ejercicio severo o prolongado, se ingiere alcohol, o cuando se usan más de un hipoglucemiante oral. El control del nivel de glucosa sanguínea se pierde en un paciente estabilizado o en un paciente diabético controlado con dieta cuando se le somete a estrés tal como fiebre, trauma, infección o cirugía, llegando en ocasiones ser necesario suspender la glibenclamida y necesitar tratamiento con insulina. La disminución en la efectividad de los hipoglucemiantes orales en disminuir los niveles sanguíneos de glucosa, incluyendo glibenclamida, puede ser debido en algunos pacientes al aumento en la severidad de la enfermedad o a una disminución de su respuesta al medicamento, fenómeno conocido como falla secundaria, para distinguirla de la falla primaria en la cual el medicamento es ineficaz en un paciente que inicia el tratamiento. (37)

1.5.2.6. Interacciones Medicamentosas.

Cuando se usa glibenclamida simultáneamente con otros fármacos, debe tomarse en cuenta lo siguiente: Fármacos que pueden potenciar la acción hipoglucemiante de la glibenclamida. Bloqueadores de receptores beta, fibratos, biguanidas, cloranfenicol, derivados cumarínicos, fenfluramina, inhibidores de la MAO, fenilbutazona, feniramidol, fosfamida, salicilatos, sulfpirazolona, sulfonamidas, compuestos de tetraciclina, miconazol, insulina, inhibidores de la ECA, esteroides anabólicos y hormonas sexuales masculinas, apazona, ciclofosfamida, disopiramida, fluoxetina, oxifenbutazona, ácido paraaminosalicílico, pentoxifilina (a altas dosis por vía parenteral), probenecid, quinolonas, guanetidina, tritocualeno, trosfosfamida. (33)

Fármacos que pueden disminuir la acción hipoglucemiante de la Glibenclamida. Abuso de laxantes, corticosteroides, ácido nicotínico (a dosis elevadas), estrógenos, progestágenos, derivados de la fenotiazina, saluréticos, agentes simpaticomiméticos, hormonas tiroideas, acetazolamida, barbitúricos, diazóxido, glucagón, difenilhidantoína, rifampicina. Otras interacciones: Los antagonistas de los receptores H₂, la clonidina y la reserpina pueden potenciar o disminuir la acción hipoglucemiante de la Glibenclamida. La acción de los fármacos simpaticolíticos tales como los β-bloqueadores, la clonidina, guanetidina y reserpina, pueden enmascarar parcial o totalmente los signos de respuesta adrenérgica compensatoria. La glibenclamida puede potenciar o disminuir el efecto de los derivados cumarínicos. (33)

1.6. TUNA (*Opuntia ficus-indica*).

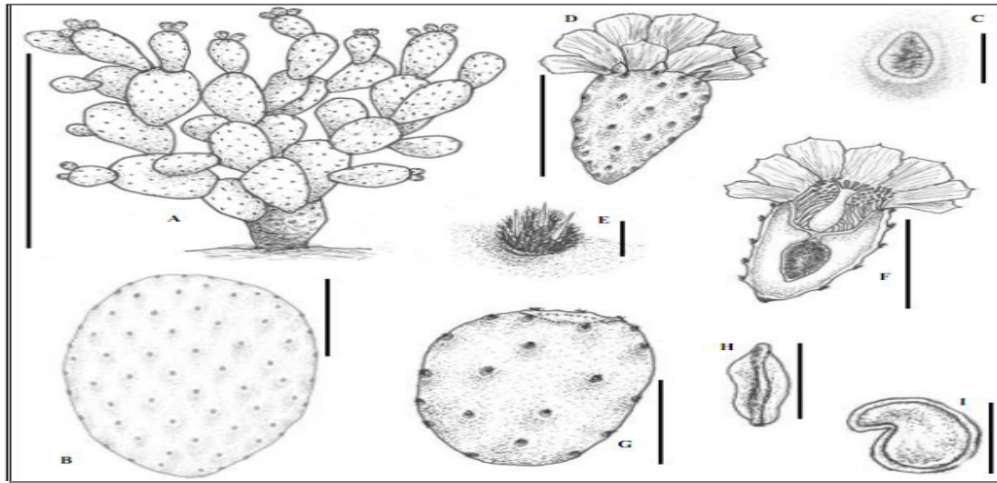


FUENTE: CARRASCO N.

FOTOGRAFÍA Nº 1. TUNA (*Opuntia ficus-indica*)

1.6.1. *Opuntia ficus-indica*.

Opuntia ficus-indica, pertenece a la familia Cactaceae. (52) Las cactáceas con los géneros *Opuntia* formado por 250 especies; *Echinocactus*, que tiene 300 especies; *Cereus*, con 200 especies; *Mammillaria*, con 200 especies, y *Rhipsalis*, *Phyllocactus*, *Melocactus*, etc. caracterizan el paisaje vegetal de las comarcas más secas de la América intertropical, lo mismo que el de la región mediterránea. (6)



Fuente: J. Antonio Reyes-Agüero /J. Rogelio Aguirre Rivera /Héctor M. Heranndez.2005.

FIGURA N° 2. *Opuntia ficus-indica*. A, hábito; B, cladodio; C, areola del cladodio; D, flor; E aréola de la flor; F, sección longitudinal de la flor; G, fruta; H, vista dorsal de la semilla; I, vista ventral de la semilla. Barras= 1 m (A), 10 cm (B), 5 mm (C,E), 4 cm (D,F), 5 cm (G), 4 mm (H,I).

El género *Opuntia* se divide en dos subgéneros: el *Cilindropuntia* (en general, este no tiene mayor importancia económica) el *Platyopuntia*. El subgénero *Platyopuntia* agrupa a las especies del género *Opuntia* que presentan tallos aplanados (penca, cladodios o raquetas). (6)

Las especies de *Opuntia* son plantas suculentas perennes resisten la desecación. La resistencia de estas plantas a la desecación está determinada básicamente por dos factores. El primero como su nombre lo indica, la suculencia: la presencia de células grandes de paredes delgadas que tiene la capacidad de almacenar agua y formar un tejido rodeado por una epidermis, cuya cutícula es densa e impermeable. (5)

El segundo factor es el metabolismo ácido de las crasuláceas (**CAM**) como se menciono, el bióxido de carbono se fija durante la noche en ácidos orgánicos los cuales, en el día se transforman mediante el proceso de la fotosíntesis en almidón. Esta combinación es combinada con un mecanismo por medio del cual los estomas se cierran firmemente durante la parte caliente y seca (cuando la transpiración puede ser muy elevada) y se abren únicamente la noche fresca y húmeda. (5)

Comúnmente conocida como nopal, tuna, chumbera, higuera de chumbo, pita, higuera de pala o palera, es una planta de la familia de las cactáceas. Es cultivada desde hace mucho tiempo y forma parte de la economía agrícola en muchas zonas áridas y semiáridas del mundo. Posiblemente sea originaria de México. Presente en climas seco, semiseco y templado, entre los 900 y los 2240 msnm. (46) (45)

1.6.1.1. Descripción.

Planta arbustiva de la familia de las cactáceas. Como la mayoría de los miembros de este género carece de hojas nomofilas, los segmentos o *cladodios* en que se divide, son tallos capaces de ramificarse, emitiendo flores y frutos. Estos tallos son planos, ovales y de color verde medio. Poseen dos clases de espinas, reunidas en los *gloquidios* (especie de cojincillos) de las areolas, unas largas y duras, y otras cortas y finas con aspecto veloso, conocidas como “penepes” en la zona cordillerana de Argentina. Sus ramas están formadas por pencas de color verde opaco con areolas que contienen espinas más o menos numerosas, amarillas y produce flores de 7 a 10 cm de largo, su fruto es oval de 5 a 10 cm. de largo x 4 a 8 cm. de diámetro y su color puede ser amarillo, anaranjado, rojo o purpúreo con abundante pulpa carnosa y dulce. (46) (32)

1. Longevidad.- En terrenos apropiados con pH Neutro y sin problema de plagas el Nopal puede llegar a vivir hasta 80 años. Las plantaciones comerciales de explotaciones intensivas, pueden durar 3 años. (32)

2. Cladodios.- Los cladodios (pencas) transforman la luz en energía química a través de la fotosíntesis, están recubiertos por una cutícula del tipo lipídica, interrumpida por la presencia de los estomas mismos que permanecen cerrados durante el día. La cutícula del cladodio evita la deshidratación provocada por las altas temperaturas del verano. La hidratación normal del cladodio alcanza hasta un 95% de agua en peso. (32)

3. Acidez.- La acidez contenida en el Nopal se determina en función de la hora en que se coseche. (32)

1.6.1.2. Composición Química.

Las pencas son ricas en agua y contienen además sales minerales (calcio, fósforo, hierro) y vitaminas sobre todo la vitamina C. Las tunas contienen alrededor de un 15% de azúcares. (52)

Los mayores componentes de los cladodios son polímeros hidrocarbonados, principalmente mucilagos y pectina. El jugo de la opuntia tiene interesantes propiedades antioxidantes, atribuibles a los derivados fenólicos. (44)

El fruto posee un valor nutritivo superior al de otras frutas en varios de sus componentes. Dentro de las vitaminas tiene un contenido considerable de ácido ascórbico, caroteno, niacina, tiamina, riboflavina y en 9 cuantos oligoelementos posee concentraciones importantes de hierro, zinc y manganeso. En su composición fitoquímica, es rica en sustancias con actividad antioxidantes como betalaínas, compuestos fenólicos, betacianinas y flavonoides. Se ha demostrado que posee actividad antioxidante, hipolipemiente, hipoglucemiante, gastroprotectora, neuroprotectora, hepatoprotectora y cicatrizante. Las pencas son ricas en agua y contienen además sales minerales (calcio, fósforo, hierro) y vitaminas, sobre todo la C. (22)

Los frutos de la opuntia son ricos en minerales, fibras y vitaminas. Los azúcares contenidos en los cladodios de la opuntia ficus-indica son principalmente glucosa y ácido galacturónico. Por cromatografía líquida de alto rendimiento se han detectado glucósidos de kaempferol e isoramnetina. También se ha encontrado cristales de oxalato en gran cantidad. (44)

Los segmentos frescos de este cactus contienen alrededor de un 90% de agua. Los frutos, contienen un 83.8 – 91.0 % humedad, un 12% de azúcar y 6,75% de materias nitrogenadas, además de ácidos orgánicos (alrededor del 0,10%) composición química de la tuna en (g/100 g pulpa), con un característico colorante entre rojo y anaranjado, lo que provoca que, al consumirlo, la orina se tiña de ese color. (46)

El fruto de *O. ficus-indica* contiene los alcaloides del indol, betanina y los isómeros iso y neobetanina y otros alcaloides, además de indicaxantina y opuntiaxantina. En hojas y tallos se han identificado los alcaloides mezcalina, tiramina y su ácido. Las flores contienen el flavonoide isoramnetín y el esteroil beta-sitosterol; y en el peciolo se encuentran los flavonoides camferol, luteolín, penduleetín, quercetín y rutín. (45)

1.6.1.3. Características Botánica.

Existen casi 300 especies del género *Opuntia* (Scheinvar, 1995). Solamente en México, Bravo (1978) registró 104 especies y variedades. De acuerdo con Scheinvar (1995), el nombre “*Opuntia*” viene de un antiguo pueblo griego en la región de Leocrid, Beocia: *Opus*, u *Opuntia*, en donde Tournefort encontró una planta con espinas que le recordó a la *Opuntia* americana, que incluye 11 subgéneros: *Opuntia*, *Consolea*, *Austrocylindropuntia*, *Brasilopuntia*, *Corynopuntia*, *Cilindropuntia*, *Grusonia*, *Marenopuntia*, *Nopalea*, *Stenopuntia* y *Tephrocactus*. (21)

Tallo: El tallo y las ramas están constituidos por pencas o cladodios con apariencia de cojines ovoides y aplanados, unidos unos a otros, pudiendo en conjunto alcanzar hasta 5 m de altura y 4 m de diámetro. En el Perú las variedades más usuales desarrollan portes de aproximadamente 1,5 m de altura. El tallo, a diferencia de otras especies de cactáceas, está conformado por tronco y ramas aplanadas que posee cutícula gruesa de color verde de función fotosintética y de almacenamiento de agua en los tejidos. (52)

Hojas: Las hojas caducas sólo se observan sobre tallos tiernos, cuando se produce la renovación de pencas, en cuyas axilas se hayan las aérolas de las cuales brotan las espinas, de aproximadamente 4 a 5 mm de longitud. Las hojas desaparecen cuando las pencas han alcanzado un grado de desarrollo y en cuyo lugar quedan las espinas. (52)

Flores: Las flores son solitarias, localizadas en la parte superior de la penca, de 6 a 7 cm de longitud. Cada aérola produce por lo general una flor, aunque no en una misma época de floración, unas pueden brotar el primer año, otras el segundo y tercero. Las flores se abren a los 35 a 45 días de su brotación. Sus pétalos son de colores vivos: amarillo, anaranjado, rojo, rosa. Sépalos numerosos de color amarillo claro a rojizo o blanco. Las flores, en forma de corona, nacen de las areolas en los bordes de los segmentos. Florece una vez al año y tanto el fruto como la flor pueden ser de diversos colores, desde el amarillo al rojo. (46) (52)

Frutos: El fruto es una baya polisperma, carnosa, de forma ovoide esférica, sus dimensiones y coloración varían según la especie; presentan espinas finas y frágiles de 2 a 3 mm de longitud. Son comestibles, agradables y dulces. El fruto es de forma cilíndrica de color verde y toma diferentes colores cuando madura; la pulpa es gelatinosa conteniendo numerosas semillas. El fruto tiene una cáscara gruesa, espinosa, y con una pulpa abundante en pepas o semillas. El fruto maduro es una baya de forma ovalada con diámetros de entre 5,5 y 7 cm, una longitud de 5 cm a 11 cm y un peso variable entre 43 y 220 g. (46) (52)

Las especies del subgénero *Opuntia* spp. han desarrollado adaptaciones estructurales, fenológicas y fisiológicas favorables para su desarrollo en ambientes áridos, donde el agua es la principal limitante en la mayoría de los vegetales. Su adaptación más notable es su reproducción asincrónica, y su Metabolismo del Ácido Crasuláceo (MAC), el cual, combinado con adaptaciones estructurales, tales como la succulencia, le permiten sobrevivir largos períodos de sequía, y alcanzar niveles de producción aceptables inclusive en años de sequías realmente severas. (21)

1.6.1.4. Taxonomía.

La taxonomía es complicada por diferentes razones: sus fenotipos, que varían en gran medida de acuerdo a las condiciones ecológicas y la poliploidía, con un gran número de poblaciones que se reproducen vegetativa y sexualmente; así como a la existencia de numerosos híbridos interespecíficos. Ya que casi todas las especies florecen durante el mismo período del año y no hay barreras biológicas que las separen. (21)

TABLA N° 4: TAXONOMÍA *Opuntia*

Reino	Vegetal
SubReino	Embryophita
División	Angiospermae
Clase	Dicotyledonea
Subclase	Dialipetalas
Orden	Opuntiales
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Opuntioideae
Tribu	Opuntiae
Genero	Opuntia

FUENTE: ANTECEDENTES GENERALES DE OPUNTIA. <http://www.fao.org/docrep/007/y2808s/y2808s04.htm> 2012/02/12

1.6.1.5. Farmacología de la tuna.

Se ha demostrado la actividad hipoglicémica en conejo de un extracto acuoso del tallo y de las de las hojas cuando se administró por vía intragástrica. Se ha observado una acción antiviral del extracto acuoso de la planta sobre el fago T4 de Escherichia coli el cual causa la ruptura de las células. (43)

Respecto al hombre, en dos estudios realizados con seis individuos voluntarios, sanos en un caso, y diabéticos tipo II en el otro, se probó la acción hipoglicémica de un extracto acuoso deshidratado del nopal a la dosis de 10l g/persona, midiendo los niveles de glucosa cada hora durante 3 horas, después de la ingestión del extracto, seguida de la ingestión de 74 g de dextrosa. Las betalainas confieren a la planta su efecto antioxidante. (43) (44)

De forma experimental se ha verificado que la opuntia reduce de forma significativa (22%) la concentración de glucosa en la sangre de los animales de experimentación, junto con una elevación del glucógeno hepático. También se han registrado la disminución del colesterol total y LDL. El efecto sobre los lípidos sería más aparente en ratas hiperlipémicas. (44)

La administración de una alimentación basada en polvo de semillas de opuntia redujo el peso de los animales de laboratorio, probablemente por una disminución de la tiroxina libre. En los animales tratados con opuntia se pudo observar también una disminución de la concentración de glucosa en sangre, un aumento de glucógeno en hígado y musculatura esquelética y una reducción del colesterol total y LDL. (44)

1.6.1.6. Propiedades curativas de la tuna.

Previene y ayuda en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, obesidad, cáncer y artritis, así como enfermedades del corazón y condiciones del sistema digestivo como diarreas (avalado por múltiples estudios nacionales e internacionales). (40)

El Nopal de castilla, es una especie de nopal que se recomienda en el Distrito Federal, Morelos y Tlaxcala, principalmente para tratar la diabetes. Para tal efecto, se licua la penca y se toma o se come cruda acompañada de limón o cocida a manera de ensalada. Generalmente se administra en ayunas. Las hojas de las tunas o nopal también llamadas almohadillas (cladodios), se utilizan normalmente para la gestión de la glucosa en la sangre y la diabetes. En la cultura mexicana, las almohadillas se utilizan en sopas, ensaladas, sandwiches, y guisos, pero el poder curativo de la planta también está disponible como suplemento en polvo. Una dosis sugerida para el tratamiento de la diabetes tipo 2 es de 60 a 115 mL diarios (41) (43)

Por contener saponinas, la tuna es un antidiabético natural. El consumo de sus frutos y cladios inducen a que el organismo obtenga una mayor sensibilidad a la insulina, produciendo baja elevación de la glucosa sanguínea en diabéticos. Para esto hay que consumirlos crudos, en ensalada o licuados en agua. (53)

1.7. *Mus musculus*.



FUENTE: CARRASCO, N. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.

FOTOGRAFÍA N° 2. *Mus musculus*

El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, que se utiliza para la investigación científica. Su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas y suelen ser albinos. Muchos procedimientos científicos y técnicos tienen como factor común la experimentación de sus procesos con animales. Ratas, monos, conejos, perros, gatos,

ratones, cobayas, entre otros, son usados en la investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza; denominándolos como reactivos biológicos. (17) (29)

Los animales para utilizar en un proceso de experimentación deben tener un peso aproximado de 18-22 g y 8-9 semanas de vida, provenientes de un Bioterio. Los animales deben ser alojados en el Bioterio en un lugar adecuado para la experimentación con una temperatura promedio de 22-24 °C con fotoperiodos de 12 horas y con libre acceso de agua y comida. (20)

Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. La cepa más utilizada ha sido la BALB/c (ratón albino). (51)

1.7.1. NORMAS ÉTICAS EN EL MANEJO DE ANIMALES.

Debemos hacer hincapié en las obligaciones que se tienen con los animales de experimentación dentro del laboratorio, mismas que han sido postuladas por las sociedades protectoras de animales como normas éticas para su manejo adecuado. (42)

- ✓ Tratarlos humanamente.
- ✓ Reducir al mínimo el dolor y la incomodidad.
- ✓ Evitar el sufrimiento innecesario.
- ✓ Que los animales permanezcan limpios y secos (de acuerdo con los requerimientos de las especies).
- ✓ Una ventilación adecuada.

- ✓ El acceso de los animales al agua y alimento, y también brindar facilidades para el lleno, relleno, cambio, servicio y limpieza de los utensilios con los cuales se proporcione el agua y el alimento.
- ✓ Tener un medio ambiente seguro, que impida el escape de los animales o el atrapamiento de sus apéndices entre superficies opuestas o en aberturas estructurales.
- ✓ Manipularlos adecuadamente, firme pero con suavidad, para evitar desencadenar reacciones agresivas hacia el experimentador.
- ✓ Evitar su uso innecesario. (18) (42)

Las características que han hecho del ratón de laboratorio el modelo biológico y biomédico más utilizado en las investigaciones científicas son: (51)

- ✓ Su fácil manejo.
- ✓ Su tamaño apropiado para la crianza y manipulación.
- ✓ No requieren demasiados cuidados.
- ✓ Tienen un sistema inmune similar al de los seres humanos.
- ✓ Tienen un alto número de crías.
- ✓ Poseen un breve período de gestación (19-21 días), y su destete es rápido.
- ✓ Las hembras producen un gran número de óvulos, los cuales al ser fecundados son muy resistentes.
- ✓ Al ser mamíferos euterios, poseen un genoma muy similar al de los seres humanos.

En la actualidad se utilizan ratones que se han manipulado genéticamente. Los modelos de ratón transgénico y *knock-out* son particularmente útiles para estudiar problemas biológicos complejos, ya que se puede analizar la acción de un gen o una proteína en particular. (51)

1.7.2. POR QUÉ UTILIZAR RATONES PARA EXPERIMENTACIÓN.

Los animales de laboratorio son biomodelos experimentales que tienen la cualidad necesaria para dar respuesta al cuestionamiento de cómo estudiar las enfermedades que afectan al hombre, a la especie que está estudiando, y a las demás especies productivas y domésticas, y las ratas y ratones están entre los que responden más uniformemente a estos requerimientos, son de fácil manejo y poseen las características zootécnicas adecuadas. (50)

1.7.3. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN.

VÍA ORAL: Por esta vía se administran soluciones y suspensiones por medio de una sonda de pequeño calibre (No. 8) que permite la introducción del fármaco a la cámara gástrica por el hocico del animal; se debe sumergir la sonda en agua para verificar que la sonda esté en estómago y no en pulmones, esto es, si la sonda burbujea en agua indica que se encuentra en los pulmones. Esta técnica se aplica con el conejo, la rata y el ratón. (42)

VÍA INTRAVENOSA: En el conejo se elige la vena marginal de la oreja, en donde se inserta la aguja con el bisel hacia arriba. En ratas y ratones se puede utilizar la vena marginal de la cola. (42)

VÍA INTRAPERITONEAL: Tomando en cuenta la rápida absorción por esta vía y el fácil acceso a la misma, es una de las vías más utilizadas en el laboratorio. En el ratón y la rata, se expone la región abdominal y se inyecta en el cuadrante inferior izquierdo; la aguja, de 27 X 6 mm, debe formar un ángulo de 10 grados con el plano corporal. (42)

VÍA INTRAMUSCULAR: En el caso de esta vía, se presenta el dorso del animal y el fármaco se deposita con una aguja de 27 X 13 mm en la parte posterior de los cuartos traseros. (42)

VÍA SUBCUTÁNEA: El fármaco es depositado por debajo de la piel del dorso con una aguja de 27 x 6 mm, levantando la piel con una mano e introduciendo la aguja con la otra. (42)

TABLA Nº 5: MÁXIMO VOLUMEN PERMITIDO DE SOLUCIONES DE FÁRMACO QUE PUEDEN SER ADMINISTRADOS.

ANIMAL	I.V.	I.M.	I.P.	ORAL
RATÓN (20-30g)	0.5	0.05	1-0	1.0
RATA (100g)	1.0	0.1	2.0-5.0	5.0
COBAYO (250g)	1.0	0.25	2.0-5.0	10.0
CONEJO (2.5kg)	5.0-10.0	0.5	0.5	20.0

FUENTE: MANEJO DE ANIMALES. http://html.rincondelvago.com/farmacologia-y-farmacia-clinica_1.html 2012-03-29

1.7.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.

Algunas de las características más importantes que deben conocerse de los animales de experimentación se encuentran en la siguiente tabla; el conocimiento de estas características será de gran utilidad para seleccionar el animal de laboratorio más adecuado para un experimento en particular. (42)

TABLA Nº 6: CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.

CARACTERÍSTICAS.	RATÓN (<i>Mus musculus</i>)	RATA (<i>Rattus rattus</i>)	CONEJO (<i>Oryctolagus coniculus</i>)
Pubertad	35 días	40-60 días	4 meses
Tiempo de crianza	Todo el año	Todo el año	Mayo- Septiembre.
Periodo de preñez	20 días	23 días	30 días
Crías por camada	4-12	6-8	5-6
Tiempo de vida	2-3 años	2-3 años	8 años
Temp. Corporal.	37.9-39.2 °C	37.7-38.8 °C	38.5-39.5 °C
Frec. Respiratoria.	136-216 min	100-150/ min	50-60 min
Vol. Sanguíneo.	7.5%	7.5%	5%

Fuente: Farmacología y Farmacia Clínica. http://html.rincondelvago.com/farmacologia-y-farmacia-clinica_1.html 2012-02-30

1.8. TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. (39) Uno de los objetivos del tamizaje fitoquímico es realizar ensayos directos sobre la materia vegetal, para cada uno de los productos naturales en análisis. Los ensayos más utilizados son:

- ✓ Saponinas y compuestos relacionados.
- ✓ Flavonoides.
- ✓ Cumarinas
- ✓ Taninos.
- ✓ Antraquinonas.
- ✓ Alcaloides. (9)

El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación. Debe de permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente en una orientación y debe de interpretarse en conjunto con los resultados del screening farmacológico. (39)

Así cuando una planta revela acción sobre el sistema nervioso central durante el tamizaje farmacológico y presencia de alcaloides en el tamizaje fitoquímico, es bastante probable que la acción farmacológica se deba a la fracción alcaloidal. De la misma manera, el hecho de evidenciarse acción anti-inflamatoria en el tamizaje farmacológico y la presencia de flavonoides en el tamizaje fitoquímico, puede dar lugar a procesos de aislamiento y sometimiento a pruebas más específicas de estos compuestos. Efectos catárticos pueden ser

asociados a las antraquinonas. La presencia de glicósidos cianogénicos durante la marcha fitoquímica puede dar lugar a la descartación de la planta por su alta toxicidad. (39)

1.9. TOXICIDAD AGUDA.

La toxicidad aguda tiene por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50% de los animales. (48)

La observación de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y autopsiados. En general, el test se realiza con 5 grupos de 10 animales de cada sexo, aunque existen algunos métodos abreviados que intentan reducir el número de animales a sacrificar. (48)

La determinación de la DL 50 se suele llevar a cabo en rata y ratón por al menos dos vías de administración entre las cinco posibles (i.v., i.m., i.p., s.v., y v.o.). En el perro y otros animales de tamaño parecido, el punto final del estudio no suele ser la muerte del animal, sino la determinación de la dosis que produce unos severos efectos adversos. (48)

1.9.1. CORTES HISTOLÓGICOS.

Corte histológico es una sección o rodaja fina de un tejido biológico adherida sobre un porta objetos y generalmente coloreada con alguna tinción específica para resaltar una parte de la estructura. Por lo general, se cortan con un micrótomo con un espesor de unos 0,5 a 10 micras, porque deben ser atravesados por la luz para que puedan ser observados bajo un microscopio. Se emplean con frecuencia en los laboratorios de histología y de anatomía patológica. (23)

La muestra se corta con el tamaño y la configuración adecuados antes de la fijación y corte en el micrótopo. La muestra se tiñe y se coloca con la orientación adecuada. Con la cirugía de Mohs la muestra se corta de manera que permita el montaje de todos los márgenes quirúrgicos en un solo plano. Con el corte transversal normal, la muestra se suele cortar habitualmente en varias secciones con el margen quirúrgico teñido. Algunos técnicos colorean el borde que debe ser orientado hacia el micrótopo. La muestra cortada es luego transferida directamente al medio de congelación para procesar la sección congelada, o se colocan en cassettes pequeños de deshidratación e inclusión en parafina. (23)

CAPÍTULO II

2.- PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN.

La presente investigación se llevó a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Laboratorio de Bromatología y Farmacia, Bioterio de la Facultad de Ciencias.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.

2.2.1. MATERIA VEGETAL.

La materia prima que se utilizó es el fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) con características organolépticas aceptables en cuanto a su olor, color, y sabor característico al fruto de la tuna. La materia prima fue recogida en la provincia de Chimborazo, cantón Guano, parroquia Santa Teresita, en el mes de Febrero del 2012.

2.2.2. MATERIAL BIOLÓGICO.

Ratones (*mus- musculus*) que se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.3. MATERIALES.

- Balones aforados de 100 mL y 10 mL
- Piceta
- Probeta de 100 mL y 10 mL
- Vasos de precipitación de 250 mL
- Reverbero
- Varilla de agitación
- Crisol
- Cápsulas de porcelanas
- Pinza para capsulas
- Embudo
- Trípode
- Papel filtro
- Pipetas volumétricas 10 mL y 5 mL
- Papel aluminio.
- Tubos de ensayo de 10 mL.
- Pinza para tubos de ensayo.
- Gradillas de tubos de ensayo.
- Probeta de 100 m L.
- Picnómetro.
- Pinza para tubos de ensayo
- Papel filtro.
- Licuadora
- Mortero con pistilo.
- Cánula para administración oral.
- Mascarilla
- Vaselina pura.
- Algodón.
- Calculadora.
- Esferos.

- Jaulas para ratones.
- Botellas con agua clorada.
- Etiquetas adhesivas.
- Desinfectante
- Detergente.
- Mandil
- Toca
- Guantes de nitrilo.
- Canasta.

2.2.4. EQUIPOS.

- Glucómetro PRODIGY.
- Balanza técnica AQT-1500 ae ADAM.
- Balanza analítica ae ADAM.
- Estufa Memmert.
- Mufla Vulcan TM A-550.
- Refractómetro Pro- Warsawa RL.
- pHmetro 211 Hanna.
- Computadora Compaq 515.

2.2.5. REACTIVOS.

- Agua destilada.
- Alcohol potable.
- Sacarosa.
- Tiras reactivas para examen de glucosa PRODIGY.
- Alcohol antiséptico.
- Formol al 10%.

- Ácido clorhídrico conc.
- Ácido sulfúrico conc.
- Alcohol amílico.
- Acetato de etilo.
- Sulfato cúprico.
- Hidróxido de sodio.
- Tartrato de sodio y potasio.
- Reactivo de Dragendorff.
- Reactivo de Mayer.
- Reactivo de Wagner
- Cloruro férrico 5%.
- Magnesio metálico.
- Metanol.
- Acetato de sodio
- Tricloruro férrico 5%.
- Cloruro de sodio 0.9%
- Cloruro de sodio.

2.3. TÉCNICAS Y MÉTODOS.

2.3.1. FASE EXPERIMENTAL.

2.3.1.1. Elaboración del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*).

Se elaboró el extracto acuoso del fruto de la tuna en base a una selección de la materia prima de óptima calidad, siguiendo los siguientes pasos:

- Al fruto de la tuna se realiza un chequeo visual en cuanto a sus características organolépticas, y de acuerdo a este parámetro se aprueba o se rechaza.

- Posterior se realiza un lavado y desinfección de la materia prima, poniendo énfasis en la cascara (parte del fruto donde se desarrolla unos pequeños espinos de 2 a 3 mm de longitud, ya que tiene gran cantidad de tierra e impureza).
- Luego se pesó 100 gramos del fruto de la tuna y se procedió a licuar.
- El licuado se paso por un fino cedazo para retener resto de cascara y semillas del fruto y obtuvimos el extracto al 100%, para luego a partir de diluciones de este extracto obtener los extractos al 70% y 40%.
- Los tres extractos al (40%. 70% y 100%) se pasteurizó y se los guardó en frascos vidrios, y deben permanecer en refrigeración por 8 días, luego de este periodo los extractos se deben rechazar y preparar unos nuevos.

2.3.1.2. Control de calidad de la materia prima del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*).

El análisis físico químico de una droga cruda nos permite establecer los parámetros de calidad y estabilidad.

2.3.1.2.1. Análisis Físico- Químico de la materia prima del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*).

- **Determinación del contenido de humedad: Método Gravimétrico.-** Se pesó 2 g. ± 0.5 mg de droga cruda y se transfirieron a un pesa filtro previamente tarado y se secó a 100 °C durante 3 horas. La pesa filtro se puso en un desecador donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se pesó; colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora y se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante. El ensayo se realizó por triplicado.

Cálculos:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M} * 100$$

FÓRMULA N° 1.

Donde:

H = Porcentaje de Humedad

M = masa de la muestra de ensayo (g).

M₁ = masa del pesa filtro con la muestra desecada (g)

M₂ = masa del pesa filtro con la muestra de ensayo (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

- **Determinación de cenizas totales.**- Se determina la masa de no menos de 2.0 g ni más de 3.0 g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5 mg en un crisol de porcelana o platino (en dependencia de la sustancia analizada) previamente tarado. Caliente suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en un horno mufla a una temperatura de 500-550 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante 2 horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5 mg por g (masa constante). Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

Expresión de los resultados.

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

FÓRMULA N° 2.

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂= masa del crisol con la ceniza (g)

100= factor matemático para los cálculos.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

- **Determinación de cenizas solubles en agua.-** A las cenizas totales obtenidas en A, se le añaden de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 500-550 °C, durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados.

$$C_a = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

FÓRMULA N° 3.

C_a = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M₂ = masa del crisol con las cenizas totales (g).

M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁ = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

Los valores se aproximan a las décimas.

- **Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.-** A las cenizas totales se añadió de 15 a 20 mL de HCl 10%. La cápsula se tapó y se puso a hervir suavemente directo a la llama del quemador durante 5 minutos. La solución se filtró a través de papel filtro libre de cenizas determinadas o

declaradas. Se lavó el residuo con agua caliente hasta que muestre negativo la prueba con AgNO₃ 0.1N. El papel con el residuo se transfirió a la cápsula inicial, se carbonizó en un quemador y luego se incineró en un horno mufla a 500-550 °C, durante 2 horas. Posteriormente se enfrió en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesó. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante. Expresión de los resultados:

$$\%B = \left(\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M} * 100 \right)$$

FÓRMULA N° 4.

B= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa de la capsula tarada (g).

M₁=masa de la capsula con la porción de ensayo (g).

M₂= masa del crisol con la ceniza (g).

100= factor matemático.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

2.3.1.3. Control de Calidad del extracto del fruto de la tuna (Opuntia ficus-indica).

2.3.1.3.1. Determinación de las características organolépticas.

- **Determinación del olor.-** Se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto.
- **Determinación del color.-** Se toma un tubo de ensayos bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

2.3.1.3.2. Análisis Físico-Químicos del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*)

- **Determinación del pH.** La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = -\log a [\text{H}^+]$$

$a [\text{H}^+]$ = actividad de los iones hidrógeno.

FÓRMULA Nº 5.

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente determínese el valor del pH de la muestra.

- **Determinación de la densidad relativa.** Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. Primeramente pésese el picnómetro vacío y secos 2° C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C (±1°C) durante 15 min y ajústesele el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira

de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro. Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpio el picnómetro. Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25 ° C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

FÓRMULA N° 6.

Donde:

M₁ = peso del picnómetro con la muestra (g)

M₂ = peso del picnómetro con el agua (g)

M = peso el picnómetro vacío (g)

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra.

- **Determinación del índice de refracción.** El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio. Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\text{Sen}_i}{\text{Sen}_r}$$

FÓRMULA N° 7.

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente. Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada. Utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionado la zona del espectro visible que aparece en la

línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua. Expresión de los resultados: Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002. Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$Nd_{25} = Ndt + 0.00044 (t-25)$$

FÓRMULA N° 8.

Donde:

Nd_{25} = índice de refracción a 25 °C.

Ndt = Valor leído en la escala del aparato a la temperatura.

T = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).

0.00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas

- **Determinación de Sólidos totales.-** La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales. 5.0 mL del extracto se llevan a una cápsula previamente tarada a 105 °C, se evapora sobre baño de agua hasta que el residuo esté aparentemente seco. Se pasa entonces hacia una estufa y se deja hasta peso constante (aproximadamente 3 horas). Se retira la cápsula de la estufa y se coloca, en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente. Para obtener la masa constante entre una

pesada y otra se mantendrá un tiempo de secado de 60 minutos. Expresión de los resultados: La cantidad de sólidos totales, expresado en %, R, se calcula por la siguiente fórmula;

$$St = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

FÓRMULA N° 9.

Donde:

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).

P == masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 == factor matemático para el cálculo.

2.3.1.4. Tamizaje Fitoquímico del Extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*).

El Tamizaje Fitoquímico se realizó en base a reacciones de coloración y precipitación para los grupos funcionales, se utilizó el siguiente esquema:



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309,311,312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 3. ESQUEMA DE LAS REACCIONES A REALIZAR EN EL EXTRACTO ACUOSO

2.3.1.4.1. Ensayo de Dragendorff.

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

2.3.1.4.2. Ensayo de Mayer.

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++). Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

2.3.1.4.3. Ensayo de Wagner.

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma, que en el ensayo de Ensayo de Mayer.

2.3.1.4.4. Ensayo del Cloruro Férrico.

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto

fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general: Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general. Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos. Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

2.3.1.4.5. Ensayo de Shinoda.

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

2.3.1.4.6. Ensayo de Fehling.

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma: Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Solución B: Se pesan 150 g

de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar. También pueden realizarse otros ensayos no comprendidos en este esquema de tamizaje, para la detección de otros compuestos.

2.3.1.4.7. Ensayo de Espuma.

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

2.3.1.4.8. Ensayo de Mucílagos.

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad de agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto de agua se enfría a 0 – 5 ° C y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo.

2.3.1.4.9. Ensayo de Principios Amargos.

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar.

2.3.1.5. Inducción a la hiperglucemia en Ratones (*Mus musculus*).

2.3.1.5.1. Animales de Experimentación.

Antes de provocar la hiperglucemia en los animales de experimentación se realiza un proceso de selección de los sujetos que van a ser utilizados en el experimento. Dicho proceso de selección consta en utilizar animales sanos y de una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. (51)

Se utilizó 3 ratones para (grupo Blanco o G1), 3 ratones para (grupo control negativo o G2), 3 ratones para (grupo control positivo o G3), y 9 ratones para (experimentos netos) que consta en 3 ratones para (Extracto al 40% o G4), 3 ratones para (Extracto al 70% o G5) y 3 ratones para (Extracto al 100% o G6)

A los 6 grupos de animales de experimentación de peso promedio de 35 ± 5 g y de 4 semanas de edad se los traslado al área de cuarentena por tres días, para poder controlar las condiciones fisiológicas de los mismos. En el area de cuarentena se les acondiciono en cajas de plástico con rejillas de acero inoxidable, y cumplieron con fotoperíodos de 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz.

La ración alimentación para los animales seleccionados es de formula peletizada y corresponde a 1.5 gramos por cada 10 gramos de peso corporal, y 1.5 ml de agua por cada 10 gramos de peso corporal.

2.3.1.5.2. Administración de Solución de Sacarosa.

Se administro a una solución de sacarosa (170 gramos de sacarosa en 100 ml de agua) a los 3 ratones para (grupo control positivo), 3 ratones para (grupo control negativo).y 9 ratones para (experimentos netos).

2.3.1.5.3. Obtención de Sangre de la Vena Safena.

A los 6 grupos de animales se debe realizar una depilación en el área de la vena safena (parte interna de la pierna) utilizando crema depiladora, con el objetivo de visualizar mejor la ubicación de la vena safena.

Para obtener la sangre de la vena safena, se debe realizar primero una desinfección con una torunda con alcohol antiséptico, y esperar que se seque el área de punción, para luego con la ayuda de una lanceta se procede a ser la punción

2.3.1.5.4. Determinación de la Glucosa Basal.

A los 6 grupos de animales de experimentación se debe realizar una depilación en el área de la vena safena (parte interna de la pierna) utilizando crema depiladora, con el único objetivo de visualizar mejor la ubicación de la vena safena.

Para tomar la glucosa basal de los 6 grupos de animales de experimentación se debe realizar un periodo previo de ayuno, que consta de la retirada de la formula peletizada y a libre disposición de agua 12 horas antes de la toma de la glucosa basal.

La muestra de sangre obtenida se le coloco en las tiras reactivas del glucómetro PRODIGY y se procedió a realizar la medición correspondiente de la glucosa.

Los parámetros que se debe considerar como condiciones basales son:

- ✓ Glicemia entre 80-110 mg/dL (según Charles River, 1984.)

2.3.1.5.5. Administración del Tratamiento

La administración de los tratamientos se lo realizó en base al siguiente cuadro:

GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN.	PROCEDIMIENTO.
G1	Sin inducción a la patología.
G2.	Se aplica 1 mL de sobrecarga de sacarosa por vía oral.
G3	Se aplica la 1 mL sobrecarga de sacarosa y a la hora se administra 1 mL del medicamento Glibenclamida en una relación de (0.0028 g/ml) por vía oral.
G4	Se le administra primero 1 mL de la sobrecarga, y a la hora se le administra por vía oral 1 mL del extracto al 40%.
G5	Se le administra primero 1 mL de la sobrecarga, y a la hora se le administra por vía oral 1 mL del extracto al 70%
G6	Se le administra primero 1 mL de la sobrecarga, y a la hora se le administra por vía oral 1 mL del extracto al 100%.

Debe transcurrir el tiempo de 1 hora desde la administración de la sobrecarga de sacarosa, hasta la nueva administración sea del medicamento o de los extractos del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) correspondientes a cada grupo, con la finalidad de dejar descansar al animal, y además porque una administración conjunta con la sacarosa de ciertas drogas con actividad hipoglucemiante, hace que los valores de glucosa sérica sean inferiores, al estar aumentada la velocidad de paso de la glucosa desde el suero a los tejidos. (13)

Por último se procedió a tomar muestras de sangre de la vena safena a los 36 minutos, 1 hora y 36 minutos, y 6 horas, para evaluar el comportamiento de la actividad hipoglucemiante del extracto del fruto de la tuna en los porcentajes antes mencionados.

2.3.1.6. Estudio de Toxicidad Aguda.

En el estudio de toxicidad aguda se utilizó tres ratones de peso corporal promedio de 35 ± 5 g, para luego asignar a cada ratón a un grupo experimental, el primer ratón se lo llamo blanco y no se le administro ningún tratamiento se lo utilizó como un grupo testigo, al segundo ratón se lo llamo e1 y se le administro por vía oral 1 ml del extracto del fruto de la tuna al 40%, y al tercer ratón se lo llamo e3 y se le administro por vía oral 1 ml del extracto del fruto de la tuna al 100%, esto se realizó diariamente durante 14 días y además se deberá evaluar el peso corporal, y el estado físico de los animales de experimentación.

Llegado el día 15, se practico eutanasia y se procedió a realizar las disecciones correspondientes a cada ratón, para obtener los órganos (hígado, riñón y estomago), los mismos que serán colocados en envases de plástico con formol al 10%.

Luego se realizó cortes histológicos del hígado riñón y estómago de cada ratón, para luego analizar las placas con los cortes histológicos y poder determinar si el extracto del fruto de la tuna al 40% y 100% tiene efecto toxicológico sobre los órganos antes mencionados.

2.3.1.7. Análisis Estadístico.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos en la sección 2.3.1.5 se utilizó el programa estadístico G Stat Student, ANOVA un factor y Tukey al 99%

Además se trabajó con un diseño experimental verdadero de series cronológicas múltiples (antes y después del tratamiento), cuando se está interesado en medir los efectos a largo plazo, aparecen los diseños cronológicos. Debido a que no se sabe cuando se producen o desaparecen los efectos, se realiza mediciones periódicas luego de realizado el experimento. (10)

Este trabajo de investigación está compuesto de: 1) Un grupo Blanco o G1 2) Un grupo control negativo o G2, 3) Un grupo control positivo o G3, y 4) Tres grupos de estudio (G4, G5, G6). Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y controles fueron determinados mediante ANOVA un factor, permitiéndonos con ello, evaluar la existencia de heterogeneidad de los grupos con respecto al factor respuesta (Glucemia), y posteriormente se realizó la prueba de comparaciones múltiples a un intervalo de confianza del 99% empleando la prueba de Tukey HSD, lo que permitió evaluar que grupos son similares y diferentes con respecto a los tratamientos.

CAPÍTULO III

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*).

CUADRO N° 1. RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*).LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. FEBRERO 2012.

ANÁLISIS QUÍMICOS DEL EXTRACTO ACUOSO	RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICOS.	VALORES DE REFERENCIA BIBLIOGRAFÍA (46)
% HUMEDAD	83.750%	83.8-91.0%

El % de humedad se encuentra dentro de los valores de referencia, según los datos expuestos en el cuadro N° 1, pues es un fruto con alto contenido de agua.

ANÁLISIS QUÍMICOS DEL EXTRACTO ACUOSO	RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICOS.	LIMITES DE ACEPTABILIDAD SEGÚN LA OMS(1998) Y USP 2001 DE LOS ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICOS
%CENIZAS TOTALES	0.7220%	Hasta 12%
%CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	0.4335%	Hasta 7%

%CENIZAS	0.2890%	Hasta 5%
INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO.		

El valor de las cenizas puede considerarse como una medida general de la calidad, y a menudo es un criterio útil para determinar la identidad de un alimento. Cuando hay un alto contenido de cenizas se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico, a menudo es aconsejable además, la determinación de cenizas insolubles en ácidos. Las cenizas totales miden el total de residuos sólidos filtrables, solubles en ácido, e insolubles en ácido Clorhídrico. Las cenizas insolubles en ácido (CIA), se hayan formadas por minerales no digestibles como el sílice, o bien por minerales que se encuentran formando compuestos muy estables (quelatos), que no pueden ser liberados por el medio predominante en el aparato digestivo. Por la razón anterior, para estimar la digestibilidad de ciertos alimentos “in vivo”, se mide el contenido de CIA que existe en el alimento, así como en las heces de los animales del experimento que consumen ese alimento.

El valor obtenido por triplicado del %H es de 83.50%, un valor alto debido a la gran cantidad de agua que contiene el fruto de tuna, pese a este contenido de humedad este fruto tiene un largo periodo de vida útil, debido a que es un fruto con un largo periodo de envejecimiento, al no ser un fruto con rápido periodo de descomposición fue perfectamente utilizado para este estudio.

El valor de las cenizas totales obtenidos del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) por triplicado es de 0.7220%, porcentaje que se encuentran por debajo del 12% valor de referencia sugerido por la OMS 1998 y la USP 2001, este valor bajo de cenizas totales nos indica que no contiene compuestos inorgánicos como metales pesados, además es un parámetro que concuerda con el valor obtenido por triplicado de las cenizas insolubles en ácido que es de 0.2890% por lo cual es una materia apta para la utilización en la elaboración de los extractos posteriores, y podemos concluir que con el valor tan bajo de cenizas insolubles en ácido no existe presencia de residuos de arena. Estas determinaciones

son primordiales, ya que la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica no deseada. (18)

El valor de las cenizas solubles en agua obtenidos en el extracto acuoso del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) por triplicado es de 0.4335%, porcentaje que se encuentran por debajo del 7% valor de referencia sugerido por la OMS 1998 y la USP 2001.

3.2. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*).

CUADRO N° 2. RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. FEBRERO 2012.

ANÁLISIS	CARACTERÍSTICAS	VALORES DE REFERENCIA BIBLIOGRAFÍA (16)
COLOR	Amarrillo	Amarrillo a rojo
OLOR	Característico al fruto.	Característico al fruto.
SABOR	Dulce	Agri-dulce

Las características organolépticas se encuentran dentro de los parámetros establecidos según la bibliografía. Además se aseguró que la materia prima sea de calidad, pues se realizó un muestreo a las frutas recogidas de una planta de tuna, ubicada en Santa Teresita Cantón Guano, con el único objetivo de siempre asegurar la calidad e inocuidad.

La tuna que se utilizó para este experimento pertenece al Género: *Opuntia*, Especie: *ficus-indica* y a la variedad pulpa amarilla.

CUADRO N° 3. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICOS DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*).LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA ESPOCH. FEBRERO 2012.

ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICO DEL EXTRACTO	RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO.
PH	5.58 a 22.1 °C
Densidad	1.059 g/MI
Índice de Refracción	1.346
Grados Brix	9.1
Sólidos Totales	3.658%

El pH expresa la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinadas sustancias. (18). En el extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) el pH es de 5.58 es decir un pH ácido, en estudios realizados a la tuna por REPO R y ENCINA C, el valor de pH es de 6.07 +/- 1, lo indica que el valor del pH de nuestro estudio se encuentra dentro de los valores de referencias.

En el extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) la densidad es de 1.059 g/mL, en estudios realizados a la fruta de la tuna por PANTASTICO 1979, el valor de la densidad fluctúa alrededor de 1.083 g/mL, lo que nos muestra que el valor obtenido en nuestro estudio se encuentra cercano a los valores bibliográficos.

Los grados Brix son relativos al contenido de sólidos disueltos (sobre todo sacarosa) en un líquido, es decir se refiere a la densidad del líquido, es una propiedad física muy utilizada en análisis de alimentos sobre todo de los zumos de frutas, ya que un valor de referencia es de 1-2% de azúcar por peso. En el análisis realizado al extracto del fruto de tuna (*Opuntia ficus-indica*) encontramos un valor de Grados Brix de 9.1 lo que significa que existe 9.1 gramos de azúcar en 100 g de líquido. Debido a la gran cantidad de azúcares presente en el extracto acuoso los Grados Brix son altos y además el índice de refracción es de 1.346 también alto debido a la presencia de sólidos solubles.

En estudios realizados a la tuna por Instituto Nacional de Ecología Coyoacán –México D.F se determinó que existe fructosa, y otros azúcares como la glucosa y galactamato, además en datos bibliográficos la composición de los frutos de la tuna contienen un 12% de azúcares, entre los que predominan la glucosa y ácido galacturónico. (44)

3.3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*).

El tamizaje fitoquímico nos permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en la fruta y además es un ensayo directo y rápido para posteriormente orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. (39)

CUADRO N° 4. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. FEBRERO 2012.

RESULTADOS.		
ENSAYO	METABOLITO	DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (<i>Opuntia ficus-indica</i>)
DRAGENDORFF	ALCALOIDES	++
MAYER	ALCALOIDES	++
WAGER	ALCALOIDES	++
CLORURO FERRICO	TANINOS	+
SHINODA	FLAVONOIDES	+
FEHLING	PRESENCIA DE AZUCARES	+
ESPUMA	SAPONINAS	+
MUCÍLAGOS	POLISACARIDOS.	+
PRINCIPIOS AMARGOS	ASTRINGENCIA	-

+++ : ALTA EVIDENCIA
 ++ : EVIDENCIA.
 + : BAJA EVIDENCIA
 - : NEGATIVO

En el cuadro N° 4 se muestra los metabolitos secundarios encontrados en el extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) y son: Alcaloides, Taninos, Flavonoides, Azúcares, Saponinas, y Polisacáridos.

En el cuadro N° 4 los ensayos de Dragendorff, Mayer, y Wager nos permitió identificar la presencia de alcaloides cuaternarios y/o amino- óxidos libres y el ensayo de Cloruro Férrico señaló la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos, en ambos ensayos se presentan metabolitos secundarios únicos en los extractos acuosos, como es el caso del extracto acuoso del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*).

El ensayo de Shinoda dio positivo para determinar la presencia de Flavonoides en el extracto del fruto de la tuna, desde el punto de vista farmacológico los flavonoides han mostrado diferentes actividades, tales como: Antiadiabéticos, hepatoprotectores, reguladores de la permeabilidad capilar, relajantes musculares, antioxidantes, cardiotónicos, antiinflamatorios, poseen actividad estrogénica, antitumoral, anticancerígeno, antitrombóticos, hipolipemiantes, gastroprotectores, antimicrobianos, etc. (18)

En el tamizaje fitoquímico realizado al extracto del fruto de la tuna, dio positivo Saponinas y Polisacáridos y según reportes de las propiedades farmacológicas de la tuna, la presencia de saponinas es indispensable para considerarse a la tuna como un antiadiabético natural, además la presencia de polisacáridos y otros compuestos hidrosolubles podrían ser los responsables de causar una reducción en los niveles circulantes de glucosa en plasma, aunque no se ha establecido de manera concreta el posible mecanismo involucrado. (Guevara Juan Investigador de la Universidad Autónoma de Hidalgo México-D.F).

3.4. INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA EN RATONES (*Mus musculus*) Y ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE.

3.4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA.

TABLA N° 7. EVOLUCIÓN DE LA GLUCOSA FRENTE A LOS TRATAMIENTOS DURANTE TRES DISTINTOS TIEMPOS.

TRATAMIENTOS	TIEMPOS. *		
	36 minutos	1 hora 36 min	6 horas
'G1	104.33±5.03 ^f	90.00±9.53 ^f	88.00±1.99 ^f
'G2	306.33±8.08 ^a	286.66±10.01 ^a	274.00±2.03 ^a
'G3	174.00±6.56 ^{cde}	163.00±8.00 ^{bc}	144.33±9.45 ^{bcd}
'G4	208.33±4.16 ^b	182.33±12.05 ^b	158.33±1.93 ^b
'G5	184.00±5.57 ^c	158.00±6.24 ^{bcd}	147.67±3.46 ^{bc}
'G6	182.00±6.56 ^{cd}	152.00±4.59 ^{bcd}	153.33±13. ^{bcd}

a, b, c, d, e, f. Promedio con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente, según Tukey 99%.

'G1: blanco, G2: Control negativo, G3: Control positivo, G4: extracto al 40%, G5: extracto al 70%, G6: extracto al 100%.

* Valores de las medias ± Desviación Estándar. N=3.

En la tabla N° 7 se muestra los 6 tratamientos que fueron aplicados a los grupos experimentales, y los tiempos a los cuales se les midieron la glucosa postprandial.

Utilizando el análisis de Tukey al 99% se obtuvo que para el tiempo de 36 min existen tres grupos estadísticamente similares que son G3, G5 y G6 y tres grupos estadísticamente diferentes que son G1, G2 y G4.

De la misma forma se utilizó el análisis de Tukey al 99% y se obtuvo que para los tiempos de 1 h 36 min y 6 horas existen cuatro grupos estadísticamente similares, que son G3, G4, G5 y G6 y dos grupos estadísticamente diferentes que son G1, y G2.

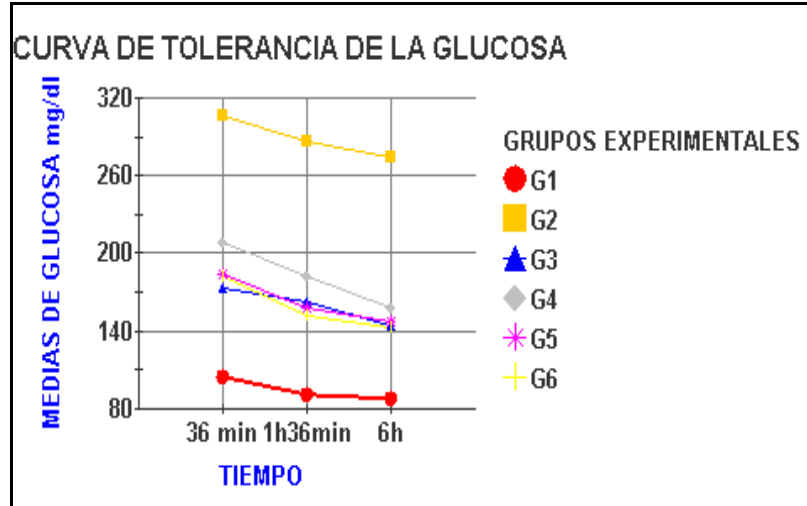


GRÁFICO N° 2. RESULTADO DE LA CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.

El gráfico N° 2 nos indica el comportamiento de la glucosa a lo largo del tiempo, para los grupos G3, G4, G5, y G6 el comportamiento de la glucosa es normal, sin embargo el comportamiento de la glucosa para el grupo control negativo o G2, es diferente pues transcurido 6 horas después de la administración de la sobrecarga de sacarosa el valor de la glucosa no regresó a los valores normales. El grupo blanco o G1 se mantuvo dentro de los valores normales de glucosa, pues no se le indujo a la patología.

3.5 TOXICIDAD AGUDA Y ESTUDIO DE LOS CORTES HISTOPATOLÓGICOS.

3.5.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS TOXICIDAD AGUDA Y ESTUDIO DE LOS CORTES HISTOPATOLÓGICOS. REALIZADO EN EL BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.

PRESENTACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

Hipótesis:

Hipótesis nula: $\mu_1 = \mu_2$

Hipótesis alternativa: $\mu_1 < \mu_2$

Hipótesis nula: Los tratamientos y los días de estudio no disminuyen el peso corporal de los animales.

Hipótesis alternativa: Los tratamientos y los días de estudio si disminuyen el peso corporal de los animales.

CUADRO N° 5. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL PESO CORPORAL EN FUNCION DE LOS GRAMOS AL DÍA /GRAMOS AL INICIO DEL EXPERIMENTO

Anova Dos Factores.

Variable Respuesta: g inicial /g final
 Variable(s) Explicativa(s): DÍAS DE ESTUDIOS, Tratamiento.
 Número de Casos: 70

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
DÍAS DE ESTUDIOS	0.0005	13	0.0004E-1	0.0000	0.0000
Tratamiento	0.0584	4	0.0146	0.0000	0.0000
DÍAS DE ESTUDIOS *Tratamiento	0.0058	52	0.0001	0.0000	0.0000
Residual	0.0001E-11	0	1.7976E308		
Total (corr.)	0.0647	69			

En el cuadro N° 5 se puede observar que el valor de p-valor, es inferior a 0.05 por lo cual se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula, es decir que los tratamientos y los días de estudio si influyen en la pérdida de peso corporal de los animales, en el estudio de toxicidad aguda.

Se utilizó Anova dos factores con interacciones pues existen dos variables explicativas (días de estudio y los tratamientos) y una variable respuesta que es (gramos del animal al día/gramos del animal al inicio del experimento).

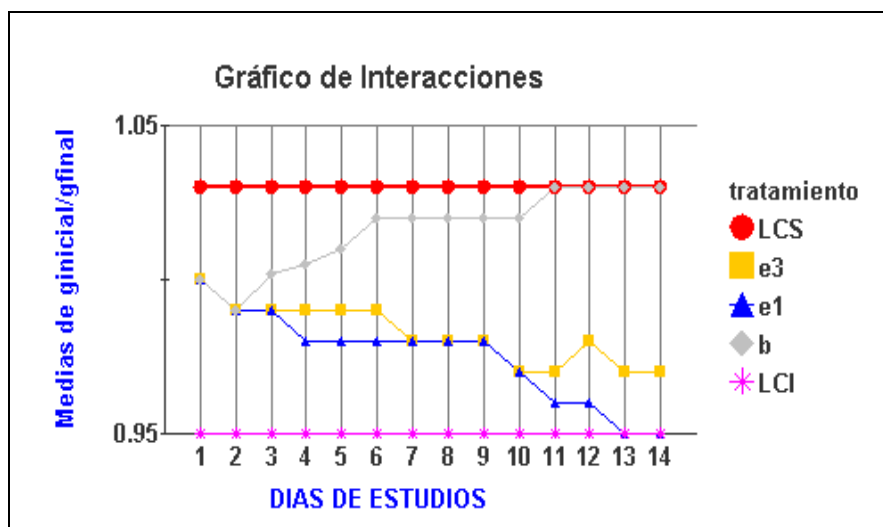


GRÁFICO N° 3. ANÁLISIS DE LAS MEDIAS DE LOS GRAMOS AL DÍA/ GRAMOS AL INICIO DEL EXPERIMENTO EN FUNCIÓN DE LOS DÍAS DE ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA.

En el análisis de toxicidad Aguda no existió muerte de los animales de experimentación utilizados, pero si observó que el comportamiento de los animales era diferente, en relación a su estado físico se notó un profundo decaimiento, pero a partir del sexto día los animales tomaron su estado físico normal, y su comportamiento se reguló conforme avanzaba los días del estudio.

En el gráfico N° 3 se muestra los resultados del estudio de toxicidad aguda, para desarrollar el gráfico se utilizó una carta de control por variables para el grafico de \bar{X} , donde existe un Límite de control superior e inferior, como se puede observar en el gráfico ningún valor de las medias de los gramos del animal al día/gramos del animal al inicio del experimento están fuera de los límites, lo que significa que este gráfico corresponde a un tipo de gráfico llamado Cambio de Nivel Repentino, que presenta un cambio súbito en una sola dirección. La toxicidad aguda se realizó en los tratamientos e1 y e2, en ambos tratamientos hubo una significativa pérdida de peso y el grupo que corresponde al blanco hubo un significativo aumento de peso, pues este grupo solo se lo utilizó como un grupo de control.

Además se evaluó la toxicidad que los extractos utilizados en el experimento puede tener en el organismo, se realizó cortes histológicos de los órganos Riñón, Hígado y Estómago, los resultados de la lectura de las placas con los cortes histológicos se muestran en el Anexo 8. Estudio que se llevo a cabo en SOLCA-RIOBAMBA-ECUADOR.

CAPÍTULO IV.

4.- CONCLUSIONES.

1. Se demostró científicamente a nivel pre- clínico in vivo, que el extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) tiene actividad hipoglucemiante, pues controla los niveles de glucosa igual que el medicamento hipoglucemiante utilizado en este experimento, y expuesto con mayor detalle en la tabla N° 7.
2. Los resultados obtenidos en la tabla N° 7 nos indica que el extracto acuoso de la tuna en los porcentajes (40, 70 y 100) % tienen igual actividad hipoglucemiante que el grupo control positivo, pues para realizar esta comparación se utilizó el análisis de comparación de múltiples a un intervalo de confianza del 99 %, empleando la prueba de Tukey HSD.
3. Los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos realizados en el control de calidad a la materia prima de la tuna, se encuentra dentro de los límites de aceptabilidad requeridos por Organismos internacionales como la USP 2001 y la OMS 1998, como se lo explico en el cuadro N° 1, como se muestra en el anexo N° 9, la materia prima de la tuna, cumple con los requisitos microbiológicos, propuestos por la Other herbal materials for internal use. OMS 2007.
4. Los resultados de las características organolépticas, pH, densidad, índice de refracción, Grados Brix, y Sólidos totales, obtenidos en el análisis de control de calidad al extracto acuoso del fruto de la tuna y expuesto en el cuadro N° 2 y 3 respectivamente, nos demuestra que el extracto acuoso de tuna, se encuentra dentro

de los valores de referencia y además tiene similitud con estudios anteriores realizados a la tuna en México.

5. Se realizó al extracto del fruto de la tuna el tamizaje fitoquímico, y se concluye que tiene la presencia de varios metabolitos secundarios como: Alcaloides, Taninos, Flavonoides, Azucares, Saponinas, y Polisacáridos, como se lo explico con mayor detalle en el cuadro N° 4. existen varios estudios realizados acerca de la actividad hipoglucemiante de la tuna y sugieren que los polisacáridos y otros compuestos hidrosolubles podrían ser los responsables de causar una reducción en los niveles circulantes de glucosa en plasma, aunque no se ha establecido de manera concreta el posible mecanismo involucrado. (Guevara Juan Investigador de la Universidad Autónoma de Hidalgo México-D.F).
6. Los animales de experimentación que recibieron el extracto acuoso del fruto de la tuna durante el estudio de toxicidad aguda y posterior análisis de los cortes histológicos de los órganos (hígado, riñón, y estómago) reporto que no existe daño en la parénquima gástrica, hepática y renal, de tal forma se concluye que el extracto acuoso de la tuna no es toxico.

CAPÍTULO V

5.- RECOMENDACIONES.

1. Se recomienda realizar trabajos posteriores que den seguimiento a este trabajo de investigación, para lograr aislar los metabolitos secundarios que le confieren a la tuna la actividad hipoglucemiante, en especial para cuantificar a las saponinas, pues según datos bibliográficos, las saponinas le confieren al fruto de la tuna la actividad hipoglucemiante, y de esta forma crear un fitomedicamento, con potencial aplicación en la diabetes mellitus.
2. Se recomienda que mientras se trabaje con animales de experimentación, siempre se debe mantener las mismas condiciones fisiológicas, el mismo alimento, y la misma manipulación.
3. Siempre se debe trabajar utilizando protocolos de trabajos de investigación, para tener en claro cuál es el proceso a seguir, y evitar errores durante la experimentación.
4. Mientras se realiza el control de calidad de la materia prima, se debe utilizar la misma materia prima para todas las determinaciones, pues de esta sencilla forma se evitara tener variaciones significativas en los resultados.

CAPÍTULO VI

6.-RESUMEN.

El presente trabajo de Tesis tiene como objetivo comprobar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*), en 18 ratones (*Mus musculus*), con Hiperglucemia inducida, divididos en seis grupos que durante el trabajo de investigación tomaron el nombre de Blanco, Control positivo, Control negativo, Extracto al 100%, 70% y 40%. Para comprobar la actividad hipoglucemiante, se administró a la hora seguida de la sobrecarga de sacarosa los extractos a los diferentes porcentajes a los grupos correspondientes. Se utilizaron los métodos científico analítico, y para el análisis de datos obtenidos, los test ANOVA, T-student y Turkey al 5%.

Los resultados obtenidos a la finalización de este trabajo de investigación fueron, el grupo que corresponde al Blanco mantuvo los valores normales de glucosa, tanto el grupo control positivo, negativo, extracto al 100%, 70% y 40% regresaron a los valores normales de glucosa a 12 horas después de la administración de la sobrecarga de sacarosa.

Se pudo concluir que el extracto acuoso del fruto de la tuna a los diferentes porcentajes si tiene efecto hipoglucemiante.

Se realizó también en la presente investigación una fase llamada Toxicidad Aguda en la que asegura que los extractos no afectan a la salud del consumidor. Después de realizado dicho estudio se concluyó que los extractos en sus diferentes porcentajes no presentan efecto toxico.

SUMMARY

The present thesis work aims to prove the hypoglycaemiant effect of the watery extract of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*), in 18 mice (*Mus musculus*), with inducted hyperglycemia, divided in six groups which took the name of White, positive control, negative control, Extract to 100%, 70% and 40%, during the research work. To prove the hypoglycaemiant activity, it was administrated an hour later to the sucrose overcharge, the extracts to the different percentages to the corresponding groups. The analytical scientific method was used, and for the analysis of data, ANOVA test, t-student and turkey at 5%.

The results obtained at the end of the research work were: The group corresponding to White kept their normal glucose rates, either the positive, negative, extract to 100%, 70%, and 40%, got back to the normal glucose rates after 12 hours of the sucrose overcharge administration.

It can be concluded that the watery extract of the prickly pear fruit at different percentages does have hypoglycaemiant effect.

In this research, it was also done a stage called Acute Toxicity in which it makes sure that extracts do not affect the consumers' health. After developing this study, it was concluded that extracts on their different percentages do not show toxic effects.

CAPÍTULO VII

7.- BIBLIOGRAFÍA.

- (1) ALPÍZAR, M. Guía para el manejo integral de pacientes diabéticos. México D.F-México. Ed. El Manual Moderno. S.A de C.V. 2001, Pp. 168-170.
- (2) BELÉNDEZ, M. y otros. Diabetes Infantil. Guía para padres, educadores y adolescentes. Madrid-España. Ed. Pirámide. 1999. Pp. 19-23.
- (3) CÁRDENAS, M. Farmacología. Riobamba- Ecuador. Ed. WORKCENTER. 2011. Pp. 1097-1099.
- (4) FIGUEROLA, D. Diabetes mellitus. Guía para su control para su conocimiento y control. Barcelona- España. Ed. Salvat S.A. 1985. Pp. 67-69.
- (5) GOLA, G. Tratado de Botánica. 2ª.ed. México D.F-México. Ed. Labor. S.A. 1965. Pp. 641-643.
- (6) JENSEY, W. Botánica. 2ª ed. México D.F-México. Ed. McGraw-Hill. 1988. Pp. 910-911.
- (7) LANGLEY, L. y otros. Anatomía y Fisiología. 4ª. ed. México D.F-México. Ed. Interamericana. S.A de C.V. 2001. Pp. 522-523.
- (8) LERMAN, I. Atención Integral del Paciente Diabético. 3ª ed. México D.F-México. Ed. McGraw- Hill. 2003. Pp. 4-10.

- (9) LOCK, O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Lima- Perú. Ed. Fondo. 1994. Pp. 284-288.
- (10) PAZMIÑO, R. Principios de Biometría y Diseño Experimental. Riobamba- Ecuador. Ed. Freire. 2010. Pp. 29-32.
- (11) RODRÍGUEZ, M. TIRADO, C. Vivir Diadevis con Diabetes. México D.F-México. Ed. Aguilar. 2008. Pp. 165-170.
- (12) SAMANIEGO, E. ESCALERAS, R. Fundamentos de la Farmacología Médica. 6ª ed. Quito-Ecuador. Ed. Pedro Jorge Vera de la CCE. 2005. Pp. 734-735.
- (13) SARAVIDA, A. Manual de ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales In vivo e in vitro. Guatemala -Guatemala. Ed. Universitaria. Pp.543-547.
- (14) TORTORA, G. REYNOLDS, S. Principios de Anatomía y Fisiología. 7ª ed. Madrid-España. Ed. Diorki. 1985. Pp. 826-890.
- (15) VELASCO, A. y otros. FARMACOLOGÍA CLÍNICA. Madrid-España. Ed. McGraw-Hill 2004. Pp. 393-397.
- (16) ALVARADO, M. 2010. Eficacia hipoglucemiante del extracto (*Smallanthus sonchifolius*) en comparación con (*Opuntia ficus-indica*) en *rattus rattus* con diabetes inducida. Universidad Privada Cesar Vallejo. Escuela académico profesional de nutrición. Riobamba- Ecuador. Pp. 1-34.
- (17) CARRILLO, P. 2011. Comprobación del efecto Hipoglucemiante del zumo de Noni

(*Morinda citrifolia*) en Ratas (*Rattus norvegicus*) con Hiperglucemia Inducida. Riobamba- Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Escuela Bioquímica y Farmacia. Pp. 68-70.

(18) LEÓN, J. 2011. Efecto Hipoglucemiante del Extracto de las hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en Ratas (*Rattus norvegicus*) con Hiperglucemia Inducida. Riobamba- Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Escuela bioquímica y Farmacia. Pp. 86-98.

(19) ROSERO, M. 2010. Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de Canela. (*Cinnamomum Zeylanicum*), en Ratas (*Rattus norvegicus*) con Hiperglicemia inducida. Riobamba- Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Escuela bioquímica y Farmacia. Pp. 43-44.

(20) NAVARRO, M. y otros. Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de Phyllanthus sellowianus (“sarandí blanco”) en Ratones C57BL/Ks. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Buenos Aires- Argentina. Pp. 520-523.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET.

(21) ANTECEDENTES GENERALES DE OPUTIA.

<http://www.fao.org/docrep/007/y2808s/y2808s04.htm>

2012/02/12

(22) ANTECEDENTES HISTORICOS SOBRE LA DIABETES.

<http://beyott84.blogia.com/temas/antecedentes-historicos-de-la-diabetes-mellitus.php>

2011/11/03

(23) CORTES HISTOLÓGICOS.

http://es.wikipedia.org/wiki/Corte_histol%C3%B3gico

2012/02/15

(24) DAONIL

<http://www.prescripcioninteligente.com/ippafullwh.php?id=754>

2012/02/12

(25) DIABETES

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>

2012/02/17

(26) DIABETES GENERALIDADES.

<http://www.latinsalud.com/articulos/00200.asp>

2012/02/17

(27) DIABETES MELLITUS TIPO 2.

<http://www.cun.es/area-salud/enfermedades/endocrinologicas/diabetes-mellitus-tipo-2>

2012/02/12

(28) DIABETES MELLITUS TRATAMIENTO.

http://es.wikipedia.org/wiki/Diabetes_mellitus

2012/02/19

(29) DIABETES MELLITUS: Definición y Etiopatogenia.

<http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/IntegradoTercero/ApFisiopSist/nutricion/NutricionPDF/DiabetesMellitus.pdf>

2012/02/17

(30) DIABETES TIPO 1 VS TIPO 2: ¿CUÁL ES LA DIFERENCIA?

<http://es.texaschildrens.org/enes/Parents/TipsArticles/ArticleDisplay.aspx?aid=7>

89

2012/02/13

(31) DIARIO EL COMERCIO.

Diabetes afecta a 800 000 personas en Ecuador

http://www.elcomercio.com/sociedad/DiabetespersonasEcuador_0_59034107hml

2011/11/14

(32) EL NOPAL.

http://www.giga.com/~mag/Tratado_Nopal.htm

2012/02/12

(33) EUGLUCON

<http://www.plmfarmacias.com/colombia/DEF/PLM/productos/27933.htm>

2012/02/12

(34) FACTORES DE RIESGO Y PREVENCIÓN EN DIABETES MELLITUS TIPO 1.
ACTUALIZACIÓN

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370410620010004002

2012/02/12

(35) FÁRMACOS INSULINOSECRETORES

<http://www.eisevier.es/es/revistas/medicine-62/tratamiento-diabetes-tipo-2-farmacos-insulinosecretores-14138-actualizaciones-enfermedades-endocrinologicas-metabolicas-2000.htm>

2012/03/14

(36) INSULEMIA, INGESTA ALIMENTARIA Y METABOLISMO ENERGÉTICO.

[http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071775182008000100003&script=sci_artt
ext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071775182008000100003&script=sci_artt
ext)

2012/02/12

(37) GLIBENCLAMIDA.

<http://farmasantisteban.com.ar/Farmacologia/glibenclamida1.htm>

2012/02/12

(38) INTRODUCCIÓN A LA DIABETES.

<http://www.bd.com/mexico/diabetes/main.aspx?cat=3258&id=3271>

2012/02/13

(39) INTRODUCCIÓN A LA FARMACOGNOSIA.

<http://farmacognosia-farmacauladech.blogspot.com/>

2012/02/12

(40) LA TUNA: UN ALIMENTO FUNCIONAL.

[http://www.nosotros2.com/mujer/025/articulo/4155/la-tuna-un-alimento-
funcional beneficios tuna](http://www.nosotros2.com/mujer/025/articulo/4155/la-tuna-un-alimento-
funcional beneficios tuna)

2012/02/12

(41) LAS TUNAS AYUDAN A BAJAR DE PESO Y TRATAN LA DIABETES

<http://www.livianito.com/las-tunas-ayudan-a-bajar-de-peso-y-tratan-la-diabetes/>

2012/02/12

(42) MANEJO DE ANIMALES.

http://html.rincondelvago.com/farmacologia-y-farmacia-clinica_1.html

2012/02/12

(43) NOPAL

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7631>

2012/02/12

(44) NOPAL *Opuntia ficus indica*.

<http://www.medizzine.com/plantas/nopal.php>

2012/02/12

(45) NOPAL *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller Cactaceae

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7631>

2012/02/12

(46) *Opuntia ficus-indica*

http://es.wikipedia.org/wiki/Opuntia_ficus-indica#Composici.C3.B3n

2012/02/12

(47) PRINCIPIOS DE FARMACOLOGÍA SULFUNILUREAS.

http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma03/parte09/antidiabeticos/s_ureas/s_004t_hm

2012/02/12

(48) PRINCIPIOS DE TOXICOLOGÍA

<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma05/tox/tox02.htm>

2012/03/29

(49) QUE ES LA DIABETES.

<http://www.servicioweb.cl/articulos/diabetes.htm>

2012/02/12

(50) RATÓN DE LABORATORIO.

<http://www.profesorenlinea.cl/fauna/RatasLaboratorio.htm>

2012/02/28

(51) RATÓN DE LABORATORIO.

http://es.wikipedia.org/wiki/Rat%C3%B3n_de_laboratorio

2012/02/12

(52) TUNA

<http://www.prodiversitas.bioetica.org/tuna.htm>

2012/02/12

(53) TUNAS, UN FRUTO REFRESCANTE Y SALUDABLE.

<http://www.zapaloverde.com/articulos/76-tunas-un-fruto-refrescante-y-saludable>

2012/02/12

CAPÍTULO VIII

8.- ANEXOS.

ANEXO N° 1. RECOLECCIÓN DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia- ficus indica*). BARRIO SANTA TERESITA. CANTÓN GUANO. PROVINCIA DE CHIMBORAZO.



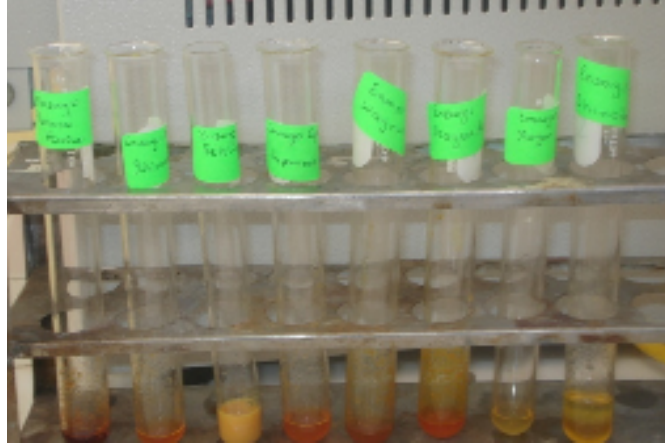
FOTOGRAFÍA N° 3. RECOLECCIÓN DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*).

ANEXO N° 2 ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia- ficus indica*).



FOTOGRAFÍA N° 4. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA AL 100%.

ANEXO N° 3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia- ficus indica*)



FOTOGRAFÍA N° 5. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE LA TUNA. EL ORDEN DE LOS ENSAYOS DE IZQUIERDA A DERECHA SON: ENSAYO CLORURO FÉRRICO, ENSAYO DE POLISACÁRIDOS, ENSAYO DE FEHLING, ENSAYO DE SAPONINAS, ENSAYO DE WAGNER, ENSAYO DE DRANGENDORFF, ENSAYO DE MAYER, Y ENSAYO DE SHINODA.

ANEXO N° 4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*)



FOTOGRAFÍA N° 6. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL FRUTO DE LA TUNA, EL ORDEN DE LAS DETERMINACIONES DE IZQUIERDA A DERECHA SON: % HUMEDAD, % CENIZAS TOTALES, % CENIZAS SOLUBLES EN AGUA, Y % CENIZAS INSOLUBLES EN AGUA.

ANEXO N° 5 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*)

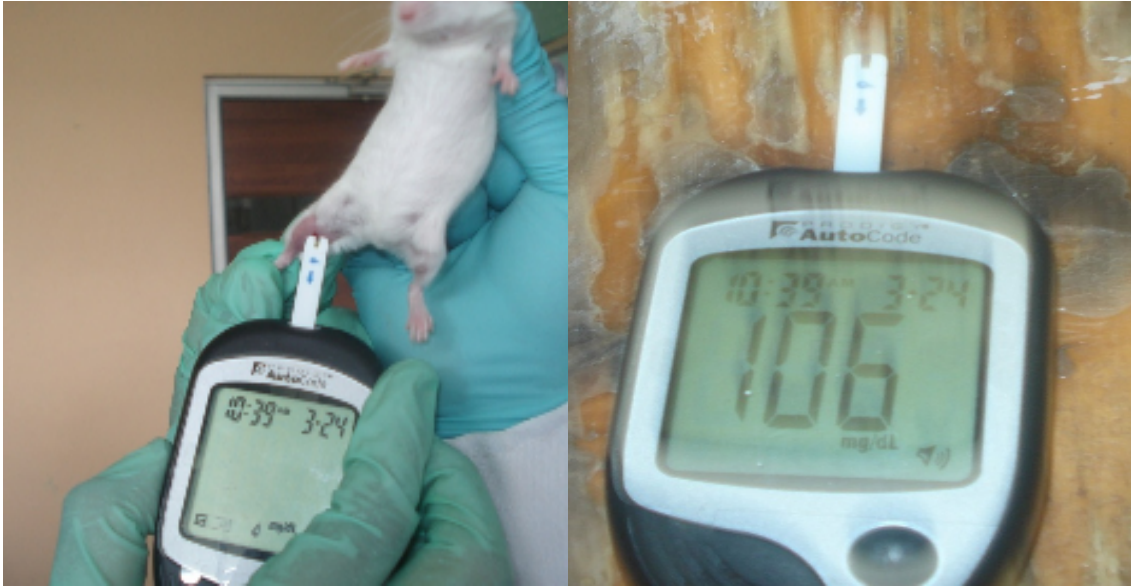


FOTOGRAFÍA N° 7. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL EXTRACTO AL 100% DEL FRUTO DE LA TUNA, EL ORDEN DE LOS ANÁLISIS DE IZQUIERDA A DERECHA SON: DETERMINACIÓN DEL pH, ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y GRADOS BRIX, DENSIDAD Y SÓLIDOS TOTALES.

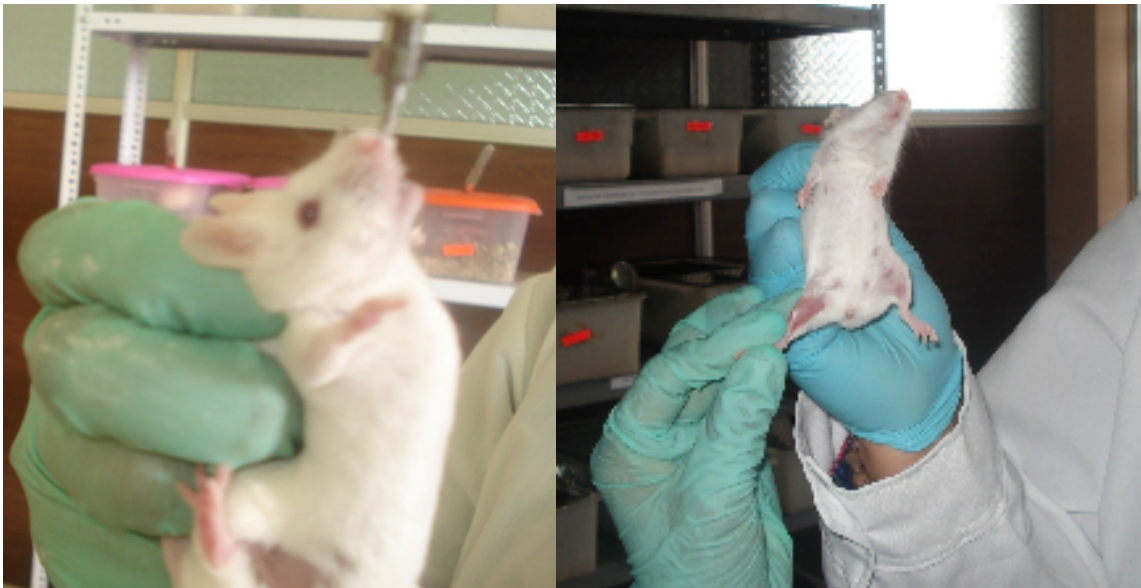
ANEXO N° 6 INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA EN RATONES (*Mus musculus*) Y ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE



FOTOGRAFÍA N° 8. PERÍODO DE CUARENTENA Y TOMA DE LOS PESOS EN g DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.



FOTOGRAFÍA N° 9. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE DE LA VENA SAFENA Y MEDICIÓN DE LA GLUCOSA BASAL.



FOTOGRAFÍA N° 10. ADMINISTRACIÓN DE SOBRECARGA DE SACAROSA Y DESINFECCIÓN EN EL ÁREA DE PUNCIÓN.

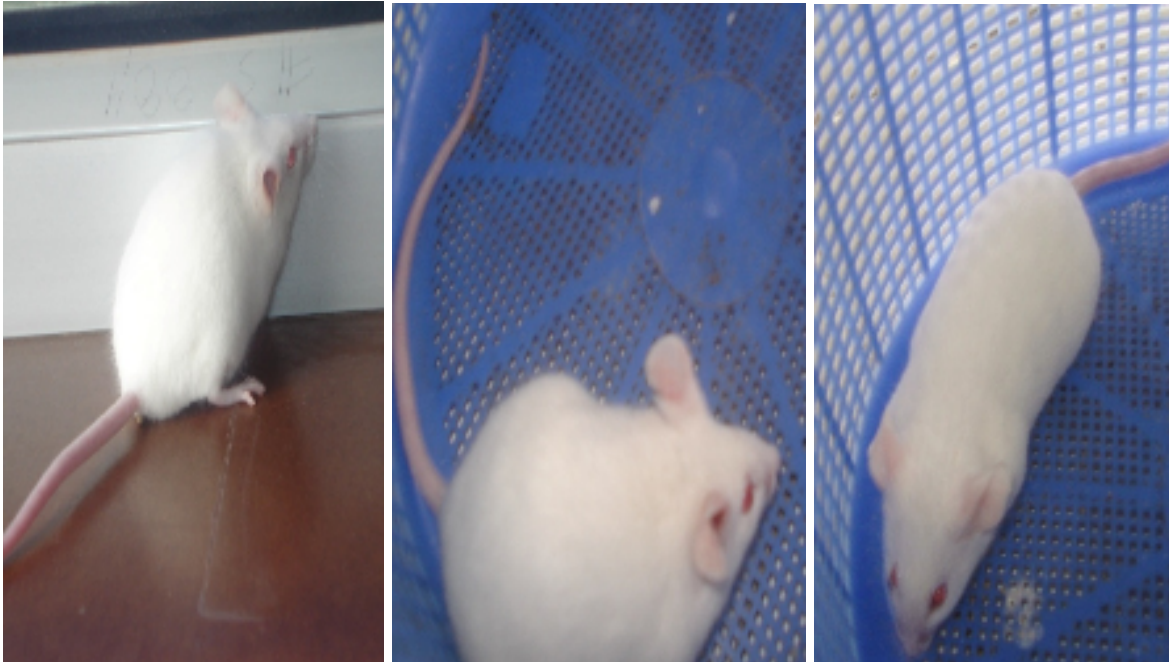


FOTOGRAFÍA N° 11. TOMA DE LA MUESTRA DE SANGRE DE LA VENA SAFENA, Y MEDICIÓN DE LA GLUCOSA EN EL GLUCÓMETRO PRODIGY.

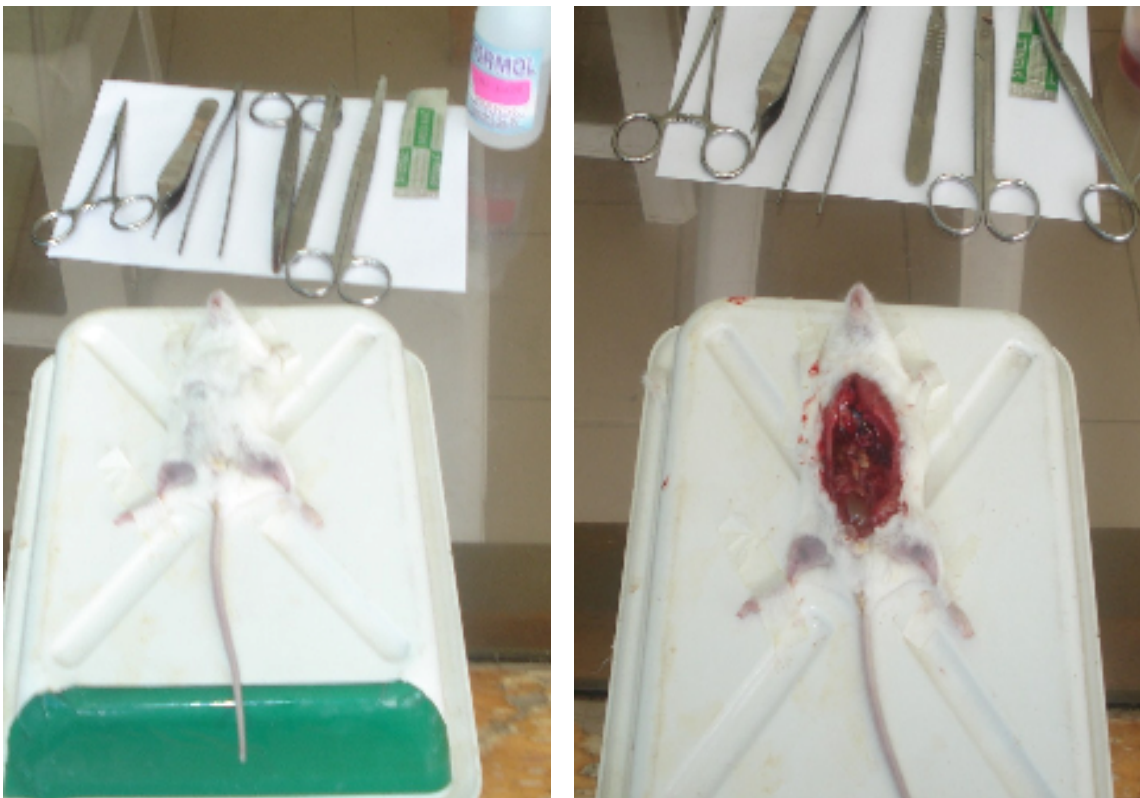
ANEXO N° 7. ELABORACIÓN DEL PROCESO DE TOXICIDAD AGUDA EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN ESCOGIDOS AL AZAR.



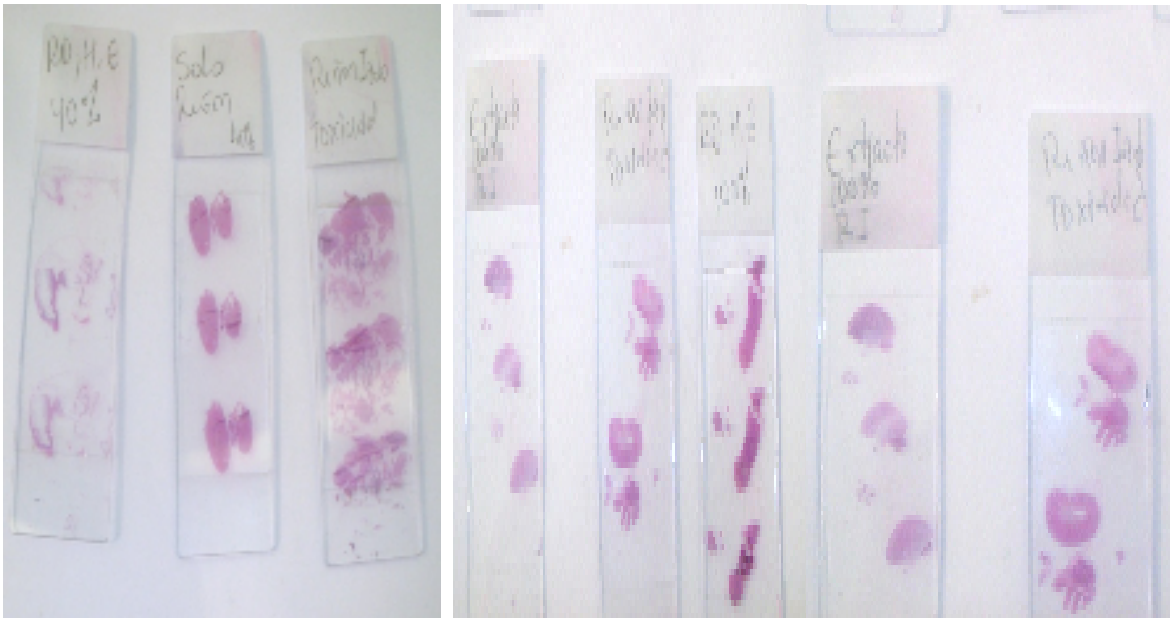
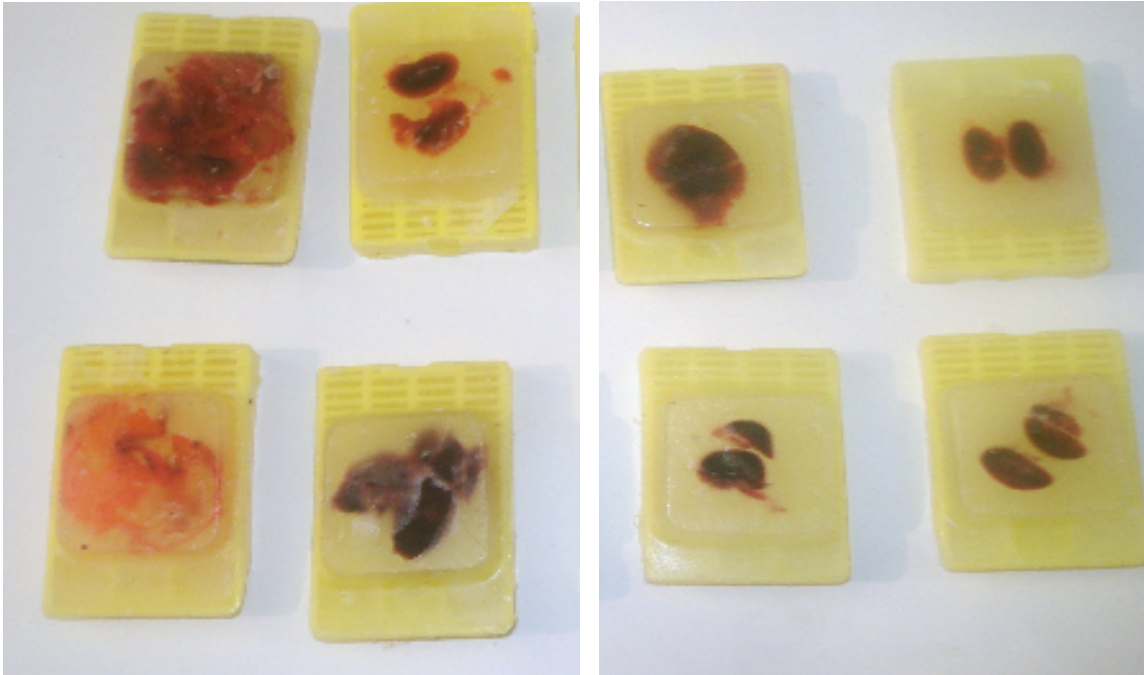
FOTOGRAFÍA N° 12. ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS A DOSIS DE 100%,70%,40%.



FOTOGRAFÍA N° 13. EVALUACIÓN DEL ESTADO FÍSICO DE LOS ANIMALES EN LA FASE DE TOXICIDAD AGUDA.



FOTOGRAFÍA N° 14. EUTANASIA Y DISECCIÓN A LOS 15 DÍAS PARA OBTENER EL RIÑÓN, HÍGADO Y ESTOMAGO, PARA PREPARAR LOS CORTES HISTOLÓGICOS.



FOTOGRAFÍA N° 15. CORTES HISTOLÓGICOS DE LOS ÓRGANOS UTILIZADOS EN LA TOXICIDAD AGUDA.

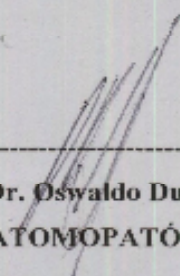
ANEXO N° 8. INFORME DE RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS EMITIDO POR EL Dr. OSWALDO DUQUE (Profesor de Histología, en la ESPOCH, Facultad de Ciencias, Riobamba- Ecuador).

PROTOCOLO HISTOPATOLOGICO DE ESTOMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE RATONES (*Mus musculus*) ADMINISTRADOS EXTRACTOS DE TUNA A DISTINTAS DOSIS PARA VER FECTO TOXICO.

Se analizó los cortes histológicos correspondientes a Estomago, Hígado y Riñón pertenecientes a ratones de experimentación, los cuales recibieron por vía oral los extracto a las dosis del 100% y 40%, se encontró los siguientes resultados a nivel de parénquima gástrica, hepática y renal respectivamente.

DOSIS ADMINISTRADA.	ESTOMAGO	HÍGADO	RIÑÓN
100%	Pared Gástrica normal.	Espacios porta congestionados, llenos de sangre así como venas centro lobulillares. Integridad de los hepatocitos y su Arquitectura.	Integridad de los glomérulos, vasos congestivos.
40%	Glándulas gástricas normales. Pared gástrica normal.	Vasos Congestivos.	Vasos Congestivos.

Nota: No existe efecto toxico por parte de los extractos en la parénquima gástrica, hepática y renal.



Dr. Oswaldo Duque.
ANATOMOPATÓLOGO.

ANEXO Nº 9. INFORME DEL EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE LA MATERIA PRIMA DE LA TUNA (*Opuntia ficus-indica*) EMITIDO POR LA TÉCNICA DE LABORATORIO MARITZA YANEZ (Encargada del Laboratorio de análisis técnicos. Área de Microbiología. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

ESPOCH
1960

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS
ÁREA DE MICROBIOLOGÍA
Panamericano Sur Km 1.5 Tel/Fax 03-2980581

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTO 009-12

Solicitado por: Natal E. Yanez
 Dirección: Mesero 2925 y Bolívar, Tumbaco, Quito
 Teléfono: 03-3681093
 Tipo de muestra: Tuna lavada y secada. Teste Escuela de Microbiología y Parasitología
 Marca: NA
 Lugar: Latacunga
 Fecha de recepción: 18 de Enero de 2012
 Código: 009-12

01. EXAMEN FÍSICO

Color: amarillento Oloror: peculiar, dulce y agradable, normal
 Aspecto: normal

ID	MÉTODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN	VALORES DE REFERENCIA *	VALORES ENCONTRADOS
01	Método IMEN (24-48°C) en placa de cultivo (Mue. Prueba) Coliformes totales y Coliformes aerobios	10	<1

* Concentración máxima para Other heat lab materials (see WHO Guidelines for essential quality of critical reagents with reference to contaminants and residues, QMS 8037).

02. OBSERVACIONES:

FECHA DE ANÁLISIS
 Inicio: 20/01/12 Final: 20/01/12

Maritza Yanez Rivas
Técnica de Laboratorio

NOTA: El informe solo afecta a la muestra solicitada a ensayo. El informe no es de reproducción sin la autorización previa del laboratorio.